

## Ionenmobilitätsspektrometrie für Bio- und Prozessanalytik

Jörg Ingo Baumbach

Hochschule Reutlingen, Fakultät Angewandte Chemie, Lehr- und Forschungszentrum Process Analysis & Technology (PA&T)

### Kurzfassung

Die Ionenmobilitätsspektrometrie ist eine gasanalytische Methode, die analytisch zwischen Sensoren auf der einen Seite und Spektrometern auf der anderen angesiedelt ist. Ihre Vorteile liegen darin, auch komplexere Gasgemische als Sensoren erfolgreich vor Ort und on-line sowie bettseitig im Krankenhaus analysieren zu können. Beispiele aus dem Bereich Bio- und Prozessanalytik sollen die jeweiligen Ansätze und das Potential von der Fragestellung über die jeweils spezifische Lösung bis hin zum Ergebnis am Prozess exemplarisch zusammenstellen. Hierbei werden sowohl die analytische Sicht als auch die Marktsicht thematisiert.

### Methodensicht – Analytik

Ionenbeweglichkeitsspektrometer (IMS) sind vielen Flugreisenden schon einmal begegnet, meist ohne dass der Betroffene es weiß. Sie werden zur Detektion von Spuren von Sprengstoffen oder Drogen eingesetzt. Es sind weltweit mehr als 80.000 solche Geräte im Einsatz. Die Laufzeit der aus den Analyten gebildeten Ionen wird bei Umgebungsdruck und häufig auch -temperatur bestimmt.

Die Ionenbeweglichkeitsspektrometrie ist *keine* Methode zur Identifizierung unbekannter Verbindungen in einem Gas, jedoch können unter bestimmten Bedingungen sehr niedrige Nachweisgrenzen (ng- bis pg-, ppm<sub>v</sub>- bis ppt<sub>v</sub>-Bereich) auch ohne Voranreicherung realisiert werden. Besonders attraktiv sind Kopplungen mit geeigneten gaschromatographischen Säulen, so dass auch Gemischtrennungen innerhalb weniger Minuten durchgeführt werden können, womit sich das Feld potentieller Anwendungen deutlich erweitert hat. Mit miniaturisierten Systemen sind on-line und on-site prozessanalytische Anwendungen kostengünstig realisierbar.

Während viele andere spektroskopische oder massenspektrometrische Verfahren nur mit vergleichsweise hohem finanziellen Aufwand für Geräte und qualifiziertes Personal betrie-

ben werden können, sind für eine Reihe Problemstellungen, wie das Monitoring oder Fast Screening bestimmter, häufig gezielt ausgewählter Analyten kostengünstigere Systeme wünschenswert. Ausgewählte Problemlösungen, beispielsweise wenn Umgebungsluft als Trägergas in Frage kommt, und die Arbeitsweise bei Umgebungsdruck sind häufig Entscheidungsgründe für den Einsatz von IMS, manchmal spielen auch die vergleichsweise kurzen Analysenzeiten – ein Spektrum dauert weniger als 50 ms – eine Messung liegt im Minutenbereich eine Rolle.

Im Gegensatz zu einem Massenspektrometer, wo die Drift im elektrischen Feld im Vakuum erfolgt und somit möglichst keinerlei Stöße der Ionen mit neutralen Molekülen auftreten, kommt es im IMS in jeder Sekunde zu sehr vielen Stößen der Ionen mit den umgebenden neutralen Gasmolekülen. Auf diese Weise kommt es zu einer laufenden Energieaufnahme des Ions im elektrischen Feld und nahezu sofortiger Abgabe an die umgebenden neutralen Gasmoleküle, sodass sich sehr schnell eine konstante Driftgeschwindigkeit einstellt.

Die Ionenbeweglichkeitsspektrometrie beruht auf der geeigneten Ionisierung eines gasförmigen Analyten (beispielsweise mittels radioaktiver Strahlung (<sup>63</sup>Ni, <sup>3</sup>H), UV-Licht (8,5 bis 11,8 eV) oder mittels elektrischer Entladungen) und nachfolgender Trennung der so

gebildeten positiven oder negativen Ionen in einer Driftröhre. Hierzu gelangen Schwärme von Ionen für kurze Gitteröffnungszeiten (üblicherweise 10 µs bis 1 ms) in Driftröhren weniger cm Länge und werden dort idealerweise in elektrischen Feldern unter 1.000 V/cm getrennt. Zur exakten Bestimmung des Startpunktes der Ionen am Gitter und zum Schutz vor dem Eintreten von Analytmolekülen in den Driftraum wird häufig ein sogenanntes Driftgas eingesetzt, welches in Richtung Faraday-Platte driftenden Ionen entgegenströmt. Die an einer Faraday-Platte abgreifbare Ladungsmenge bildet das Laufzeitspektrum. Da in der Driftröhre im Gegensatz zum Massenspektrometer Umgebungsdruck herrscht, bestimmt neben der Masse der Ionen auch die Anzahl der Kollisionen mit den Neutalmolekülen die Driftzeit der Ionen. So spielt die Molekülstruktur eine wesentliche Rolle. Auf diese Weise können Isomere getrennt werden, was die Methode gelegentlich zusätzlich interessant macht.

Die Zeit, die die Ionen für das Durchlaufen einer bestimmten Driftstrecke in einem möglichst homogenen elektrischen Feld benötigen ist, umgekehrt proportional zur Beweglichkeit der Ionen. Über die Beweglichkeit kann so unter bestimmten Bedingungen eine Identifizierung der Analyten erfolgen. Zwar sind die heute verfügbaren Analyt-Datenbanken mit einigen hundert bis wenigen tausend Analyten deutlich kleiner als solche für die

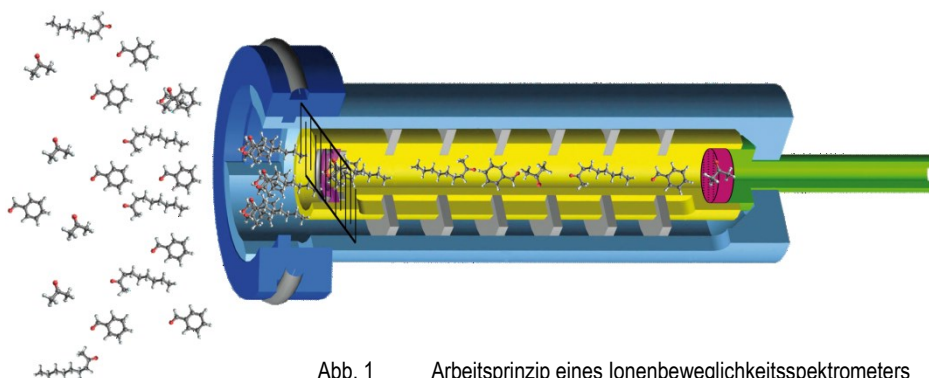


Abb. 1 Arbeitsprinzip eines Ionenbeweglichkeitsspektrometers

Massenspektrometrie, jedoch steigt die Verfügbarkeit seit direkte parallele Messungen z.B. mittels Thermodesorptionsröhrchen und GC/MSD-Analyse parallel zu MCC/IMS deutlich an.

Die Nachweisgrenzen von IMS liegen häufig deutlich unter der von massenspektrometrischen Systemen, wo häufig eine Voranreicherung erfolgen muss. Analog zu Massenspektrometern, die mit gaschromatographischer Vortrennung arbeiten (GC/MS) wird im Gegensatz zu Lösungen am Flughafen meist ebenso eine gaschromatographische Vortrennung eingesetzt, bei IMS häufig mittels sogenannter Multi-Kapillarsäulen (MCC). Hierbei verlaufen rund 1.000 Kapillaren parallel und es wird eine ausreichende Trennleistung erreicht. Außerdem kann mit feuchter Luft gut umgegangen werden. Zusätzlich zur Driftzeit im IMS steht dann die Retentionszeit durch die gaschromatographische Trennsäule als Parameter zur Verfügung. Es ergeben sich charakteristische, dreidimensionale sog. IMS-Chromatogramme.

Ein einzelnes Spektrum dauert in der Regel weniger als 50 ms, bei manchen Spektrometern sogar nur 20 ms. Ein IMS-Chromatogramm läuft bei Umgebungstemperatur (neben der Zimmertemperatur sind häufig eingestellte Parameter 30°C oder 40°C) rund 10 Minuten. Dies begründet sich darin, dass in der Regel Driftstrecken zwischen 6 cm und 24 cm verwendet werden, elektrische Felder um 300 V/cm, so dass sich meist 20 ms bis 50 ms Spektrendauern ergeben – häufig wird mit anschließender Mittelung gearbeitet. Die Abtastrate liegt z.B. bei 150 kHz und 3.000 Punkten pro 20 ms Spektrum oder 250 kHz und 12.500 Punkten pro 50 ms Spektrum bei allen kommerziellen Geräten in ähnlichen Größenordnungen.

Praktischerweise können für bestimmte Betriebsbedingungen direkte Vergleiche zwischen den Ergebnissen aus GC/MS- und denen aus MCC/IMS-Untersuchungen realisiert werden.

Neben traditionellen Anwendungen für die Detektion chemischer Kampfstoffe, Sprengstoffe oder Drogen treten seit der Jahrtausendwende prozessanalytische und medizinische Anwendungen immer häufiger auf. Im Online Magazin ANALYTIK NEWS wurde kürzlich über eine **Ionenmobilitäts-spektrometrische Methode zum schnellen Nachweis von mikrobiellen Stoffwechselprodukten** (5.6.2012) und den **Schnellen Nachweis von Betäubungsmitteln mittels SPI-Massenspektrometrie und Laser-Ionenmobilitätsspektrometrie** (21.6.2010) berichtet. Darüber hinaus sind Anwendungen zur Raumluftüberwachung (z.B. im Deutschen

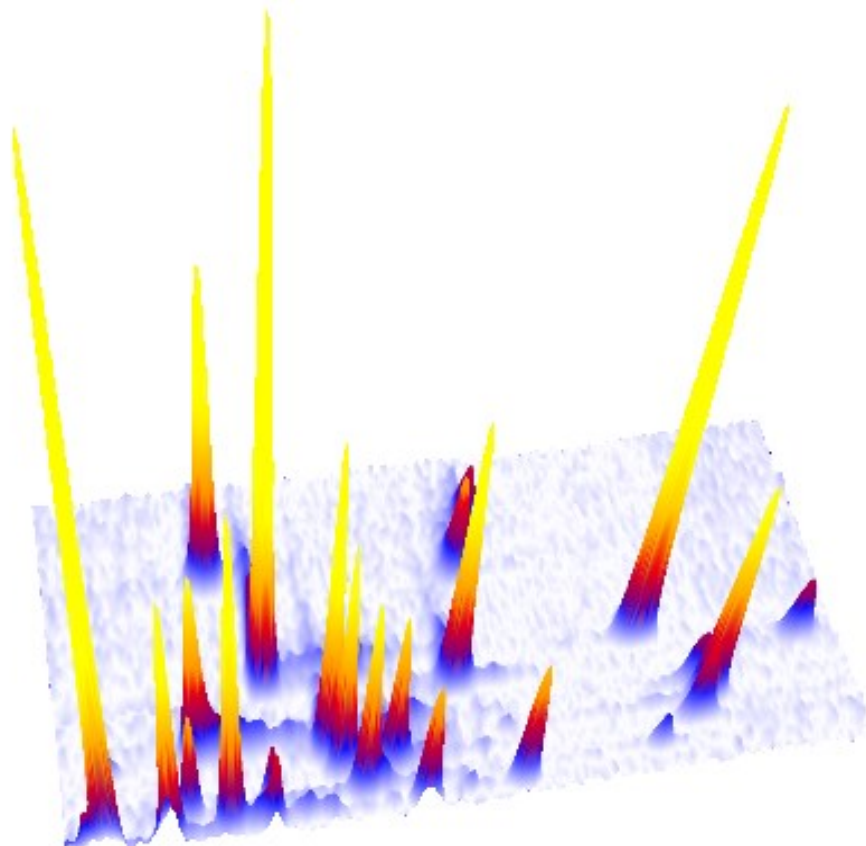


Abb. 2: Ausschnitt aus einem IMS-Chromatogramm mit verschiedenen Peaks, y-Achse Driftzeit, y-Achse Retentionszeit, z-Achse Intensität

Bundestag), bei medizinischen Fragestellungen (z.B. Atemluftdiagnostik bei der (Früh-)Erkennung von Krebs, Infektionen, Sepsis, Entzündungen, Medikamentenwirkung, Messungen von Ausatemluft oder über der Haut), zur Detektion von Metaboliten von Bakterien oder Krebszelllinien und immer häufiger zur Prozesskontrolle (z.B. gasisolierte Hochspannungsschaltanlagen, Fermentationsprozesse) und Lebensmittelqualitätsüberwachung (z.B. Olivenöle) im Einsatz.

### Marktsicht – Beyond Detection Blicke hinter die Detektion selbst

Jenseits von wissenschaftlich interessanten Fragen der Ionenmobilitätsspektrometrie wie Detektion, Probenahme, Nachweisgrenze, Linearbereich oder Querempfindlichkeiten/Matrix interessiert aus Anwendersicht eher ein Produkt, für dessen Funktionalität man bereit ist, Geld zu bezahlen.

Dieser Widerspruch zwischen Grundlagenforschung auf der einen Seite und anwenderspezifischen gerätetechnischen Lösungen auf der anderen erfordert den laufenden Brückenschlag jenseits der eigentlichen Detektionsfrage hin zu den Bedürfnissen des Anwenders. Eine Herausforderung besteht darin, nicht nur ein Spektrometer zu entwickeln, sondern dieses von Anfang an als Bestandteil einer kundenspezifischen Lösung

zu sehen. Sonst könnte das *Produkt* schnell selbst zum *Problem* werden. Weil der Anwender möglicherweise nicht alle Aspekte des analytischen Problems kennt und der Spektrometerhersteller ein Produkt für nahezu alle erdenklichen Probleme anbieten möchte ist das Zusammenkommen von wissenschaftlicher Sicht und Marktsicht zusätzlich erschwert.

An Beispielen von erfolgreichen Anwendungen der Ionenmobilitätsspektrometrie für medizinische Fragestellungen und bei der Prozessanalytik soll aufgezeigt werden, wie aus dem Potential der analytischen Methode eine kundenspezifische Lösung werden kann. Dies schließt neben der Analytik automatische Auswertungen von IMS-Chromatogrammen (Peakfindung), datenbankgestützte Identifizierungen (Peakzuordnungen) unter Ressourcenbeschränkungen und die Einbeziehung von anwenderspezifischen Daten (Anamnese, Medikamentierung, Details der Prozessführung und Ablaufhistorie etc.) sowie geeignete Mensch-Spektrometer-Schnittstellen ein. Der Forschungs- und Entwicklungsaufwand hierfür ist meist deutlich höher, als für die analytische Methode selbst. Diese tritt dafür in den Hintergrund, solche notwendigen Punkte werden forschungsseitig häufig als fremd empfunden, bis man bemerkt, dass ein Kunde das Fehlen solcher Lösungen als befremdlich empfindet.



Erfordernisse wie beispielsweise nach Robustheit, Reproduzierbarkeit und Übertragbarkeit/Vergleichbarkeit lassen sich nicht leicht mit einer MATLAB – Software befriedigen. Neue Ionisationsquellen mit Lebensdauern von Minuten beispielsweise sind weit weg von Routine-anwendungen. Detektionen, bei denen der Analyt in einen bestimmten Konzentrationsbereich innerhalb einer einzigen Größenordnung erwartet wird, lassen sich andererseits meist nicht sichern – es sei denn, man wüsste stets, welche Analyte in welchem Konzentrationsbereich möglichst matrixfrei vorliegen. Alle Entwicklungsschritte im Rahmen standardisierter Dokumentationsprozesse zu realisieren muss häufig erst nach einer universitären Ausbildung erlernt werden. Leider ist eine Diskussion der Planung von Experimenten z.B. im Rahmen von Design einer Entwicklung oder eine Betrachtung der Auswertung unter multivariaten Aspekten nicht generell Bestandteil der Ausbildung. Andererseits interessiert nicht ein schönes dreidimensionales Gebirge mit diversen Peaks sondern die Antwort auf eine spezifische Fragestellung. Beides, die analytische Lösung oder das Produkt wie auch die Fragestellung zeigen gewisse Unschärfen

Solche Widersprüche und Unschärfen aufzulösen ist eine der Aufgaben praktischer Ausbildung. Die Verbindung von Produkt- und Marktsicht verlangt zwar nicht, die gleiche Sprache zu sprechen, jedoch wenigstens einander zu verstehen.

**Anwendungsbeispiele**

**Lungenkrebscharakterisierung – die Suche nach diskriminierenden Analyten**

Die Herausforderung ist es, unter mehreren hundert bis tausend ausgeatmeten Analyten jene zu identifizieren, die unabhängig von anderen Stoffwechselprozesse und insbesondere der individuellen Ernährung eine bestimmte medizinische Frage zu beantworten. Hier stellt sich die Frage, diejenigen – möglichst wenigen – Analyte zu finden, die diese Frage beantworten, ohne dass man den Konzentrationsbereich und die Matrix kennt.

Um sicher zu sein, dass ausgeatmete Stoffwechselprodukte z.B. dem Adeno-Karzinom der Lunge richtig zugeordnet werden können, wurde in einem Projekt an der Ruhrländlinik Essen während der Bronchoskopie Luftproben direkt in der Lunge unter visueller Kontrolle über der Lungen Seite mit einem Tumor mit jenen Proben der Nicht-Tumor-Seite des Patienten verglichen. Danach wurden jene Analyte gesucht, die die Unterscheidung realisieren, im konkreten Fall n-Dodecan als potentiellen Marker für Adeno-Karzinome. Inzwischen konnten die Ergebnisse durch die

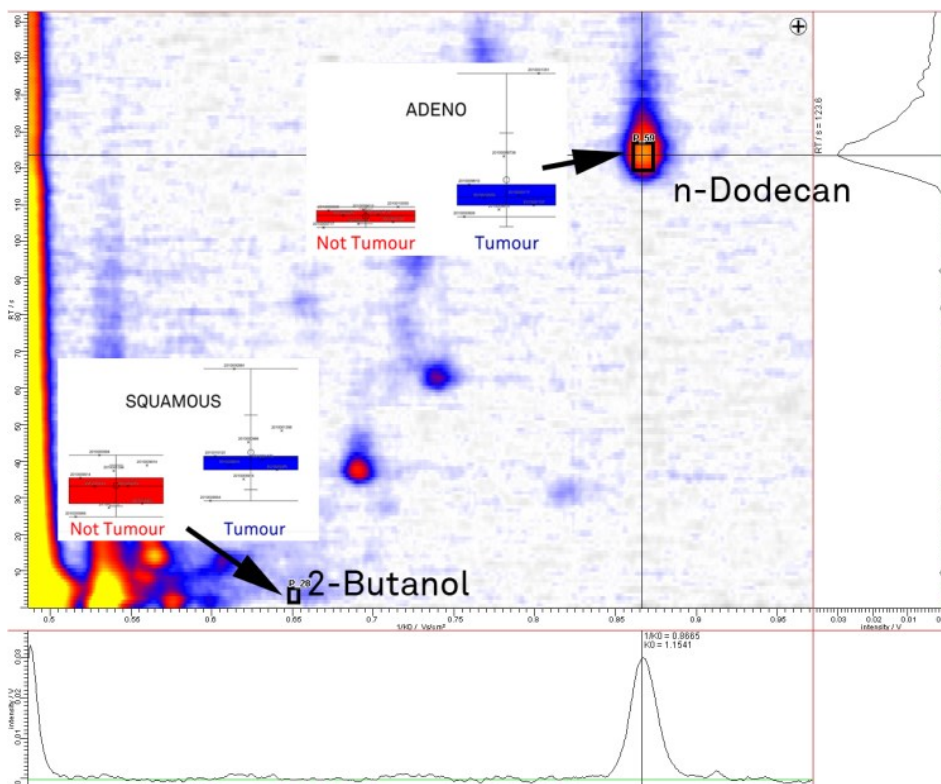


Abb. 3: IMS-Chromatogramm (links), Einzelspektrum (unten) und Chromatogramm (rechts) rechts oben: Signal von n-Dodecan als potentiellm Marker für Adeno-Karzinom links unten: Signalposition von 2-Butanol als potentiellm Marker für Squamous-Karzinom Einfügungen: zugehörige Box-and-Whisker-Darstellungen

St. Marianna School of Medicine, Kanagawa, Japan, bestätigt werden.

n-Nonanal, 2-Heptanol, 3-Pentanon, Phenylacetylen, 2-Butanon und Isoprene.

Vom Interesse ist hier nicht das IM-Chromatogramm, sondern die Frage, mit welcher Sensitivität und Spezifität eine Charakterisierung erfolgen kann. An der Lungenklinik in Hemer sind eine Reihe Signale von Analyten gefunden worden, die 99% Signifikanz-Niveau erreicht haben, hierunter 2-Methylfuran, 2-Methylpentan, 1-Butanol, Butanal, Cyclohexanol, Propanal, 1-Hexanol,

**Prozessanalytik im Operationssaal – die schnelle Detektion eines bekannten Analyten unter hohem Matrixeinfluss**

Propofol ist ein intravenöses Anästhetikum und wird sowohl für die Einleitung, als auch für die Aufrechterhaltung einer Allgemeinanästhesie verwendet. Für Propofol gibt es lediglich spezielle computergestützte Sprit-

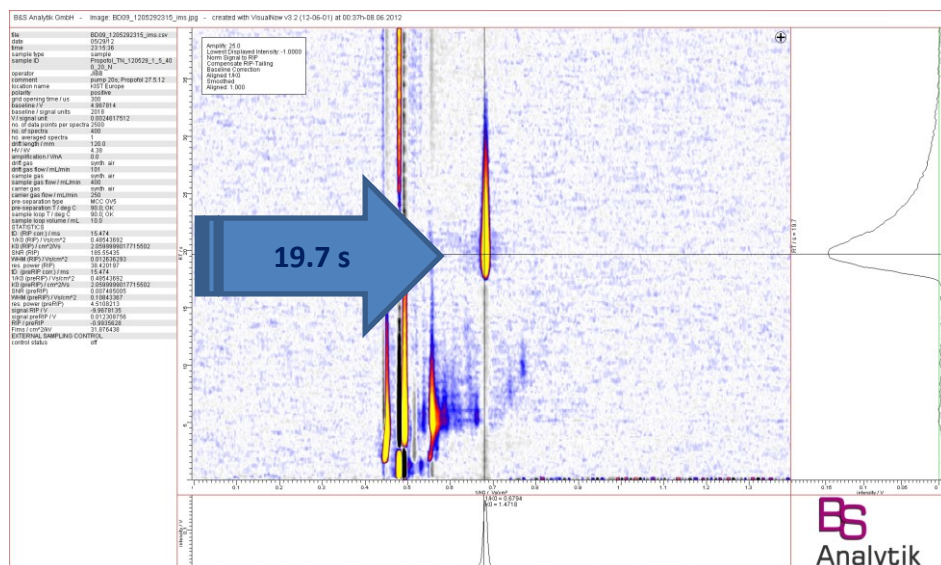


Abb.4: Lage des Propofol-Peaks in der Ausatemluft

zenpumpen, die die Konzentration im Blut aufgrund der Zufuhr und der demographischen Daten des Patienten berechnen. Die hinterlegten pharmakologischen Modelle haben eine Genauigkeit von ca. 20% bei gesunden Patienten. Bei Patienten mit Organdysfunktionen besteht eine noch größere Abweichung. Das Problem einer adäquaten Dosierung wird dadurch erschwert, dass dem Anästhesisten Informationen über die Konzentration der verabreichten Anästhesiemittel am eigentlichen Wirkort nur eingeschränkt zur Verfügung stehen. Bei gasförmigen Anästhetika gehört es seit vielen Jahren zum Stand der Technik, die Konzentration am Ende der Ausatmung des Patienten – endtidal – zu bestimmen.

Mittels Ionenmobilitätsspektrometrie können neben einer kontinuierlichen Untersuchung der Ausatemluft mit entsprechenden Konzentrationsbestimmungen Messungen auch zeitlich getaktet mit kurzen Messintervallen von weniger als 60 s durchgeführt werden, so dass ca. alle 3-5 Atemzüge des Patienten ein aktueller Konzentrationswert, in das Pharmakokinetische/Pharmakodynamische-Modell einfließen kann. Hier ist nicht nur die Messung selbst zu betrachten, sondern auch die geeignete Probenahme im Operationssaal. In Zusammenarbeit mit der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums des Saarlandes und der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes und der Dortmunder Firma B&S Analytik GmbH wurde nicht nur eine analytische Lösung zur Detektion von Propofol gefunden, sondern auch ein Mensch-Spektrometer-Interface so entwickelt, dass den Notwendigkeiten im Operationssaal während der Anästhesie entsprochen werden konnte. Im konkreten Fall setzt dies die Einbindung von anderen Messsystemen wie EEG voraus, aber auch die zeitliche Markierung wesentlicher Schritte während einer Anästhesie. Die erreichte Nachweisgrenze erlaubt eine Propofoldetektion mittels IMS unterhalb von 1 ppt<sub>v</sub>. Dies bedeutet, dass noch Propofol nachgewiesen werden kann, wenn die Patienten bereits das Krankenhaus schon wieder verlassen dürfen.

### Zeitreihen als Basis für SEPSIS-Erkennung

Um eine Früherkennung von SEPSIS zu ermöglichen, wurden in einem Projekt mit der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums des Saarlandes und der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes und der Dortmunder Firma B&S Analytik GmbH Unterschiede in der zeitlichen Entwicklung verschiedener Analyten bei Ratten mit polymikrobieller Sepsis und scheinoperierten

Tieren mittels IMS gesucht. Dabei stellt sich die Frage, nach welcher Zeit sich Unterschiede ergeben und andererseits auszuschließen, dass Entzündungen oder hämorrhagischer Schock möglicherweise hierfür verantwortlich wäre.

Eine typische Zeitreihe ist in Abbildung 5 inklusive der Fehlerbalken wiedergegeben. Man erkennt, dass für den hier betrachteten Analyten die zeitlichen Verläufe unterschiedlich sind.

### Zeitreihen für Raumluftüberwachungen

Aus der zeitlichen Variation können Schlussfolgerungen auf veränderte Randbedingungen gezogen werden. Die Abbildung 6 zeigt die Variation eines Analyten aus täglichen Messungen mittels IMS im Zeitraum 2008 bis 2013, wobei sich erhöhte Konzentrationen um den Jahreswechsel 2011 ergaben.

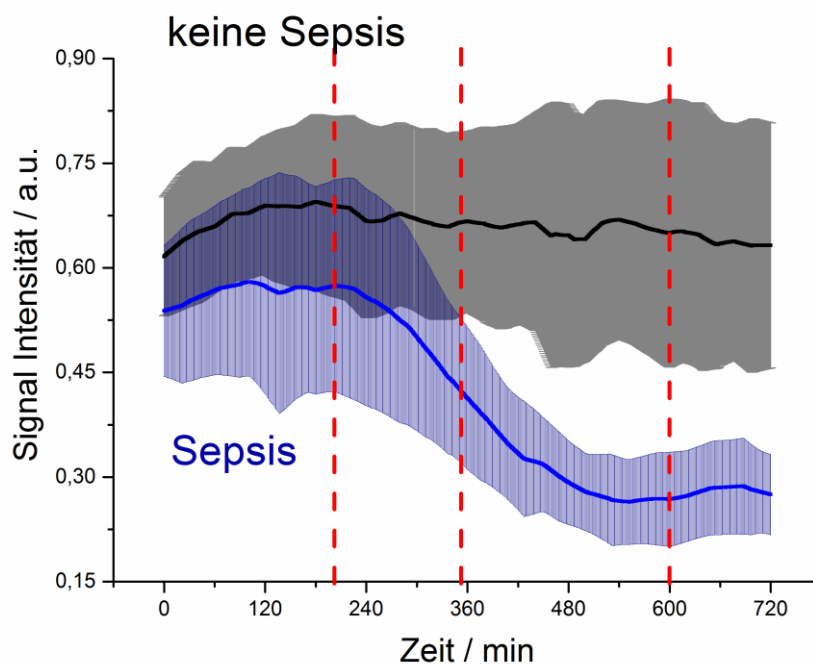


Abb. 5 Zeitlicher Verlauf der Konzentration eines Analyten in der Ausatemluft bei Ratten mit polymikrobieller Sepsis und scheinoperierten Tieren

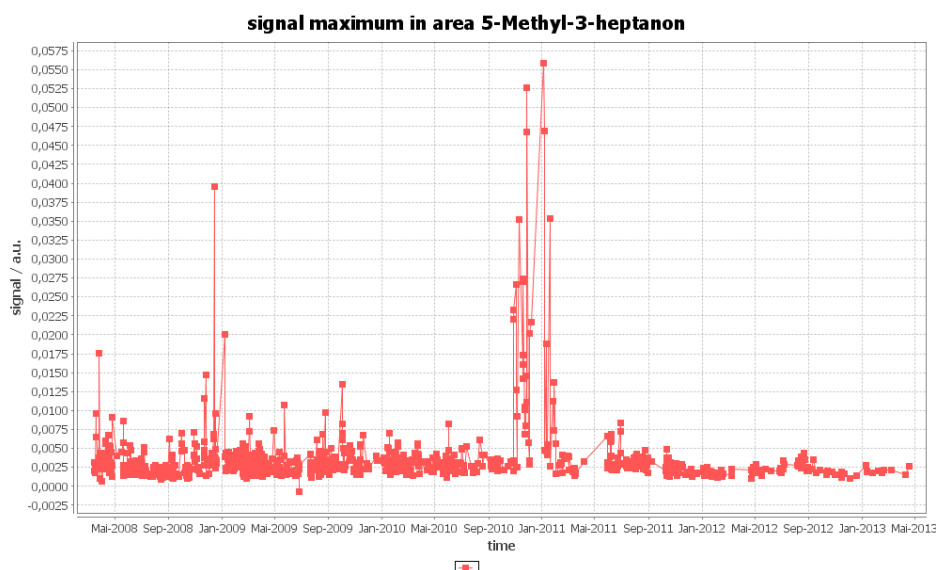


Abb. 6: Zeitlicher Verlauf eines Analyten im Zeitraum 2008 bis 2013



### Zustandsbeschreibung des Ernährungszustandes in Fermentern mittels flüchtiger Metaboliten

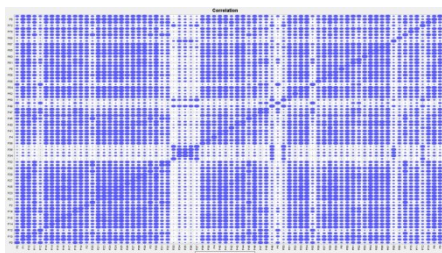
Für viele Prozesse beim Wachstum von Zellkulturen müssen Informationen über den aktuellen Ernährungszustand ermittelt werden. Hierfür kann man beispielsweise die Konzentrationen flüchtiger Metaboliten heranziehen. Diese sind häufig korreliert, so dass das Ansteigen eines Analyten mit dem Ansteigen oder dem Abfallen der Konzentrationen anderer Stoffwechselprodukte in Zusammenhang stehen. Ohne auf die Details einzugehen sind die Unterschiede in den 4 im Rahmen eines Projektes mit der B&S Analytik GmbH Dortmund untersuchten Korrelationen normal ernährte, hungernde und sterbende Zellen (sowie Hintergrund) in Abbildung 7 wiedergegeben.

### Zusammenfassung

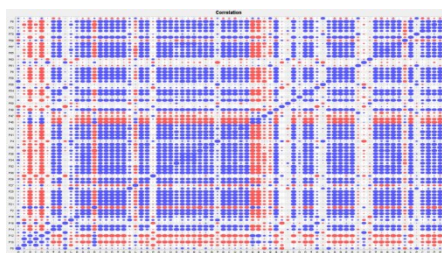
Ionenbeweglichkeitsspektrometer erlauben die Detektion von gasförmigen Analyten im Spurenbereich bis hinab in den ng/L bis pg/L-Bereich innerhalb von Minuten auch in komplexen Gemischen. Für die Anwendung in Prozessen, an Fermentern, in der Medizin müssen neben der Probenahme auch die Fragen des konkreten Interfaces zum Prozess betrachtet werden, so dass ganzheitliche Lösungen Prozessstauglichkeit erfolgreich nachweisen können.

### Danksagung

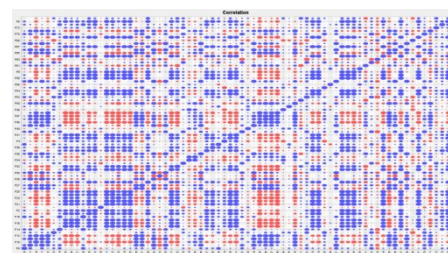
Ich bedanke mich herzlich bei den medizinischen Partnern aus der Lungenklinik Hemer (M. Westhoff, P. Litterst, B. Obertriffter), Ruhrlandklinik Essen (u.a. L. Freitag, L. Darwiche, U. Sommerwerck), St. Marianna School of Medicine (T. Miyazawa, H. Handa, A. Usaba, M. Mineshita, T. Inuoe) und der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie Homburg (u.a. S. Kreuer, Th. Volk, F. Maurer, T. Fink, A. Wolf, F.W. Albrecht, N. Heim, B. Wolf, R. Hellbrück, H. Buchinger), den beteiligten Informatikern und Statistikern aus dem SFB 876 „Providing Information by Resource-Constrained Analysis“ der DFG (S. Rahmann, J. Rahnenführer, S. Horsch, D. Kocczynski, M. D'Addario, St. Mau), Frau A.-C. Hauschild vom Max-Planck Institut für Informatik Saarbrücken, B. Bödeker, P. Kaiser und S. Maddula von der B&S Analytik GmbH Dortmund.



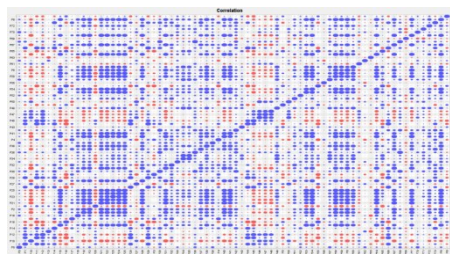
Hintergrund



normale Ernährung



Hunger



Absterbende Zellen

Abb. 7: Korrelationsanalysen der Signalintensitäten verschiedener Stoffwechselprodukte über Zellkulturen (Hintergrund, normale Ernährung, Hunger und absterbende Zellen) – blau: positive, rot: negative Korrelation