

前処理不要な直接イオン化 (DART) によるMS分析

Introducing the latest in DART technology



機器分析ワークショップ
11月10日福岡会場
エーエムアール株式会社

AMR
AMR INCORPORATED

テーマ

- DART[®]とは
- DART[®] SVPの構造
- DART[®]のイオン化
- サンプルング方法
- アプリケーション
 - 前処理なく、かざすだけの測定
 - 新しいアプリケーション

DART®とは

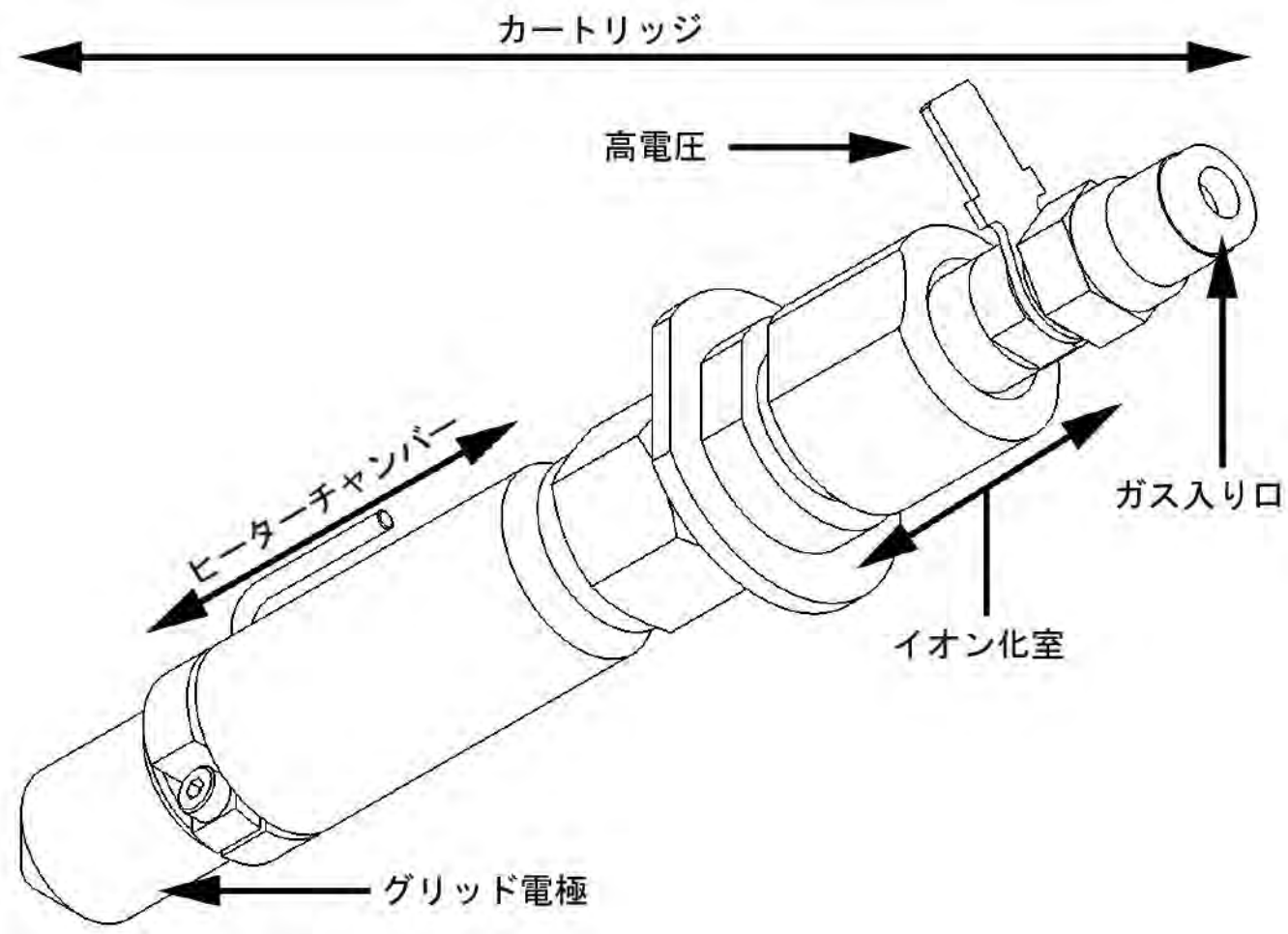
- DART (Direct Analysis in Real Time)は、2005年にLaraméeとCodyによって開発されました。
- DART は、大気中でガス、液体および固体を即座にイオン化する大気圧イオン源です。
- **サンプル前処理を必要としない**最初の開放系におけるイオン化技術の一つでした。
- **イオン化は、サンプル表面**(例えば、流通紙幣、タブレット、体液(血液、唾液と尿)、ガラス、植物の葉、果物と野菜と衣類も)で**直接行うことができます**。



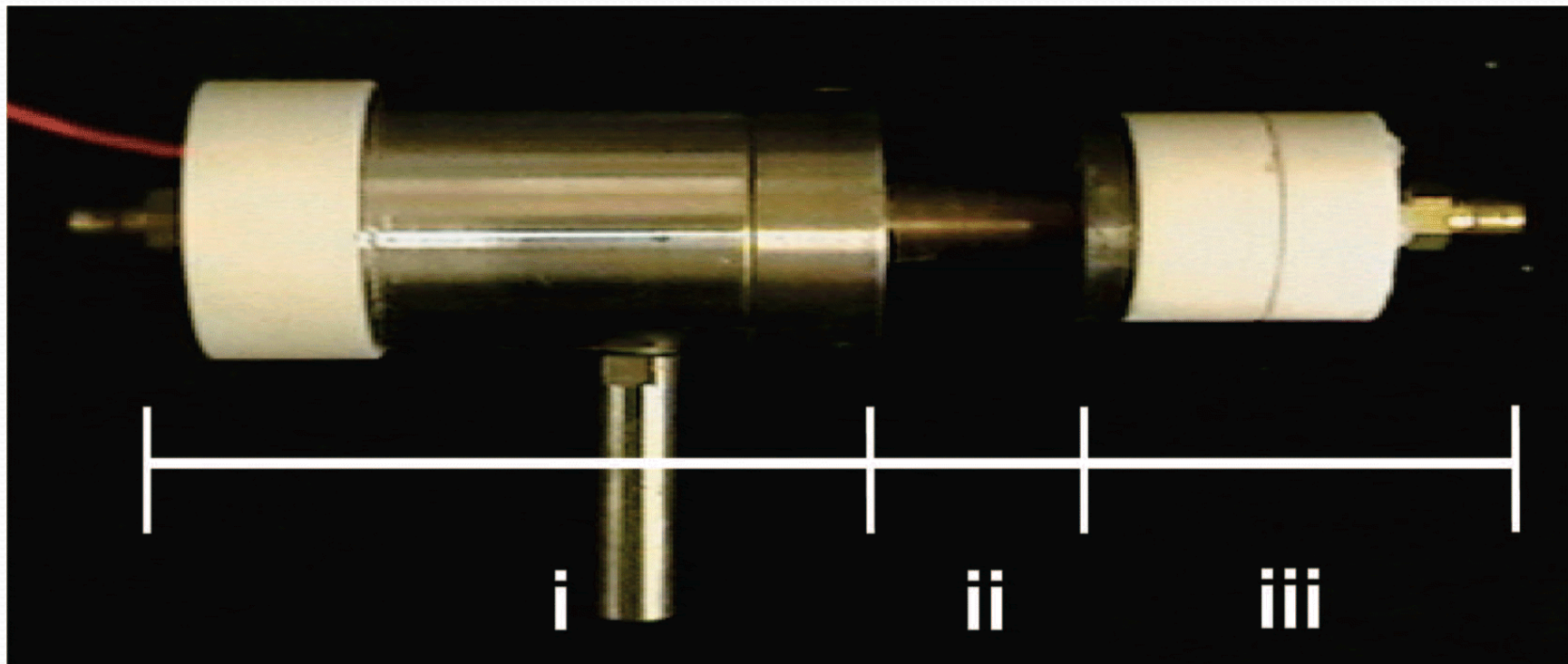
DART®とは

- DARTイオン源のもう一つの独特の特徴は、**分析することができる化学製品の範囲におけるその用途の広さ**です。
 - 化学兵器剤、医薬、代謝物、農薬、ペプチド、オリゴ糖類、依存性薬物、爆薬と毒性の化成物を含みます。
 - 液体は、対象（例えばガラスのロッド）を液体サンプルに浸して、そしてDARTイオン源にかざすことによって分析されます。
 - 蒸気は、直接DARTガスストリームに導入されます。

DART[®] SVPカートリッジ



DARTのカートリッジ



(i)ガスインレットとニードル電極(長さ7.5cm)

(ii)プラズマ加熱(2.0cm)

(iii)グリッド電極/プラズマ出口(3.5cm)

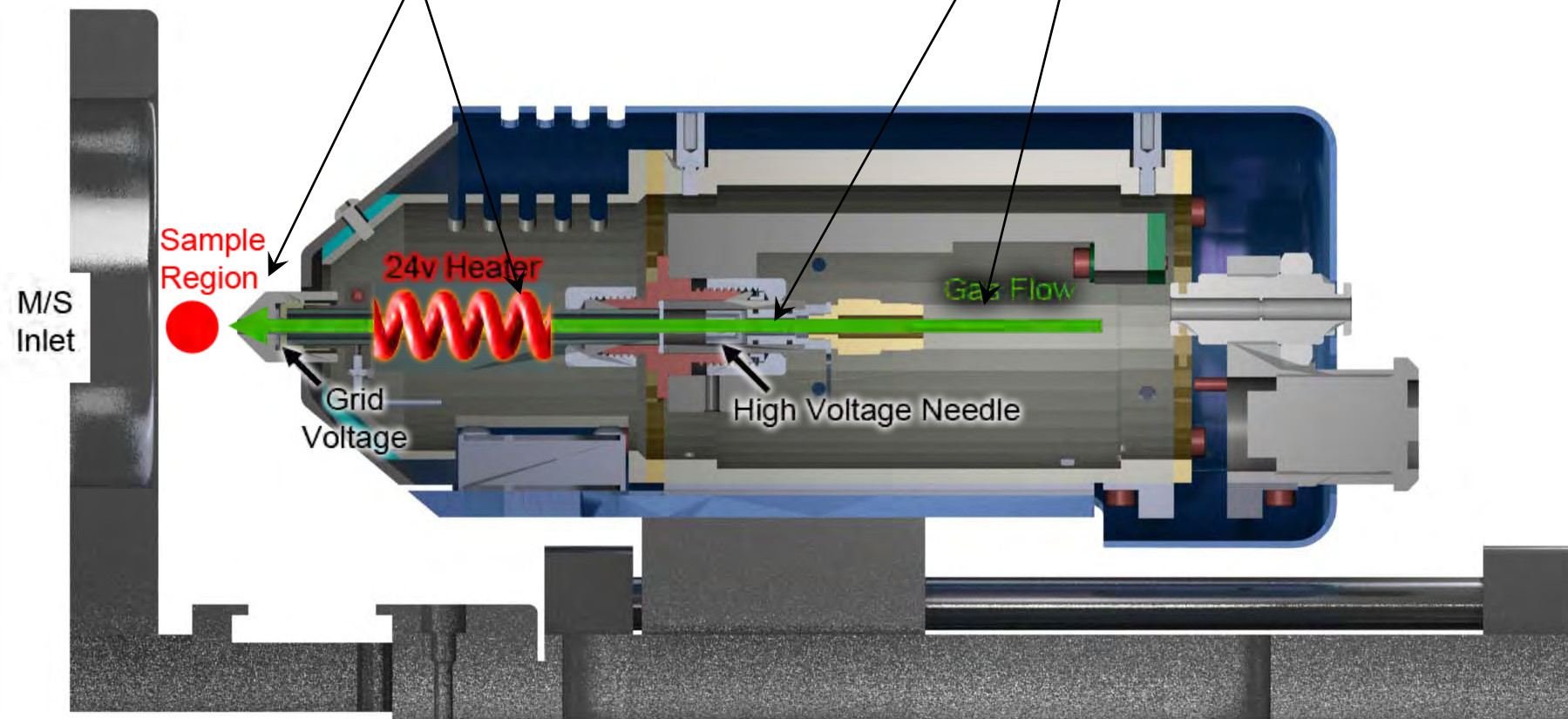
DARTのイオン源

- 24Vヒーター
- 温度:50°C~550°C

- グリッド電極:
- ポジティブイオン用:モリブデン
- ネガティブイオン用:モリブデン、銅
- 電圧:350V(-530から530 V)

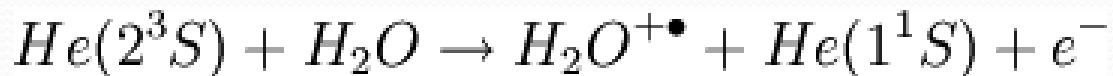
- コロナ放電ニードル電圧:-5,000V

- レギュレータの1次圧80 PSI
- 2次圧:20 PSI
- N2フローレート:~ 2.5 L/min
- He2フローレート:~ 3.5 L/min



イオン化(正イオン)

- 励起状態のHe原子は大気圧で水分子と衝突し、そして、イオン化します:



- イオン化された水分子は、プロトン化された水クラスタの形成に結びつく他の中性の水分子といくつかの反応を経ます:



- 水クラスタは、プロトン化された分子を作り出している分析物分子と相互に作用します。



イオン化(負イオン)

- DARTは、同様に負イオンモードで稼働することがで、負に荷電するスピーシーズを作ることができます。



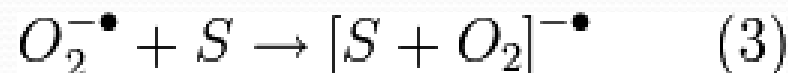
- 電子は、大気中のガス分子による衝突で減速します。



- そして、この電子は、負に荷電する酸素を形成している大気中の酸素分子によって捕獲されます。



- 分析物分子は、イオン化するために、アニオンの酸素で3種類の反応を受ける可能性があります



DARTイオン化:分析物

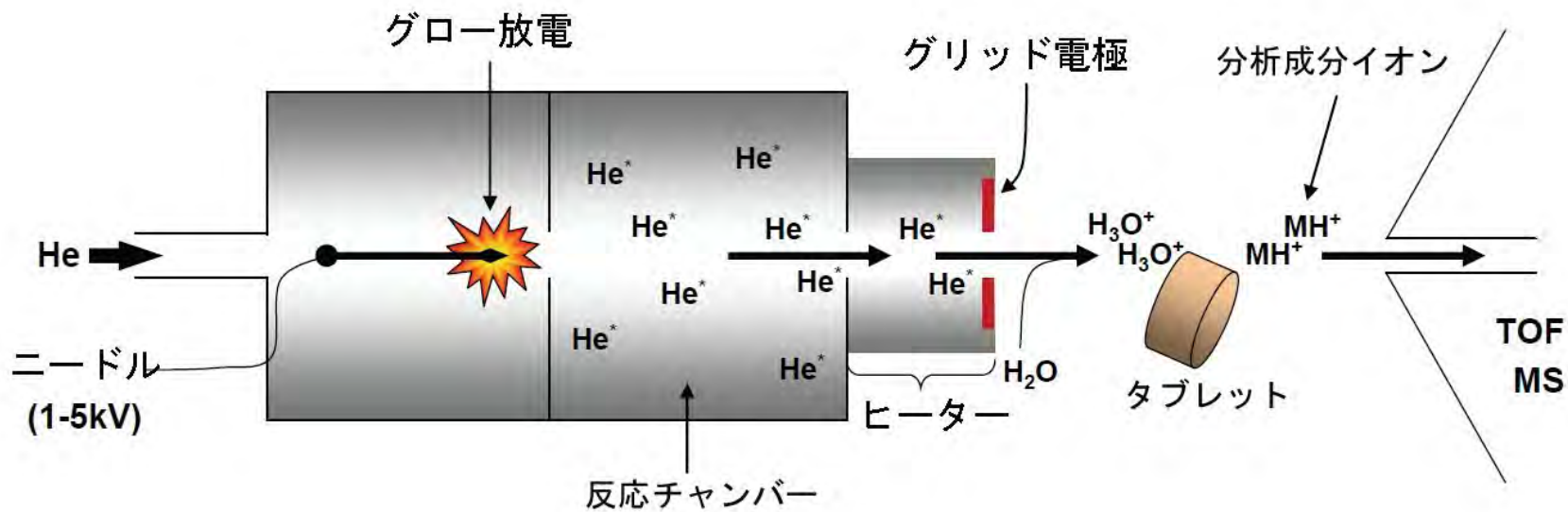
Negative ions

- ダイレクト($M^{\cdot-}$)
 - イオン性の化合物、いくつかの親電子物質
- プロトン引抜反応 $[M-H]^-$
 - 酸性化合物、芳香族ニトロ化合物
- 付加物形成 $[M+X]^-$
 - 不安定なニトロ化合物、いくつかのハロカーボン

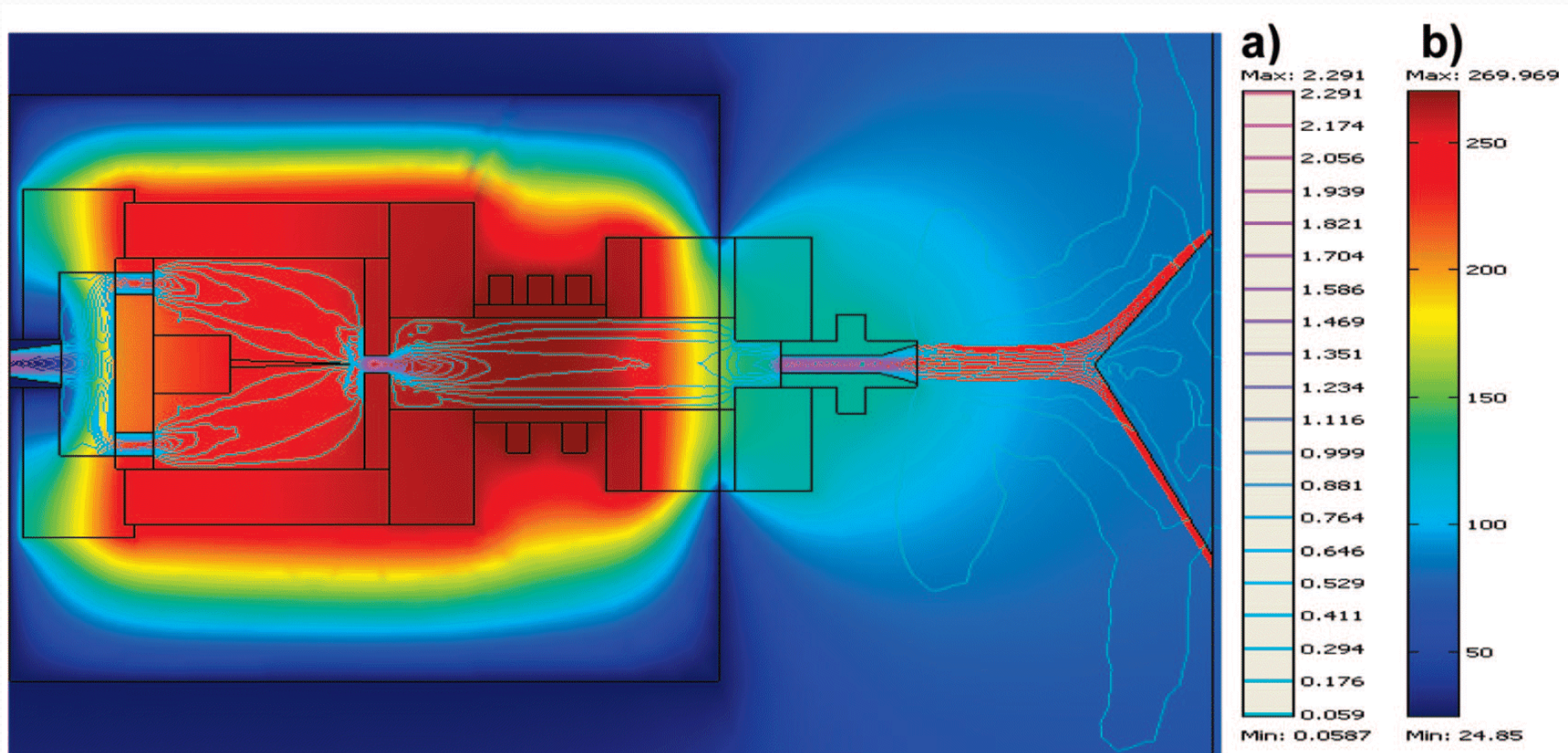
Positive ions

- ダイレクト(M^+ , $M^{\cdot+}$)
 - イオン性の化合物、低いイオンポテンシャルの有機化合物
- プロトントランスファー $[M+H]^+$
 - 塩基、アルケン、より小さいアルコール類、エーテル、ケトン類、アルデヒド
 - H/D交換
- 付加物形成 $[M+Z]^+$
 - 極性の化合物、エーテル、ケトン類、酸、過酸化物

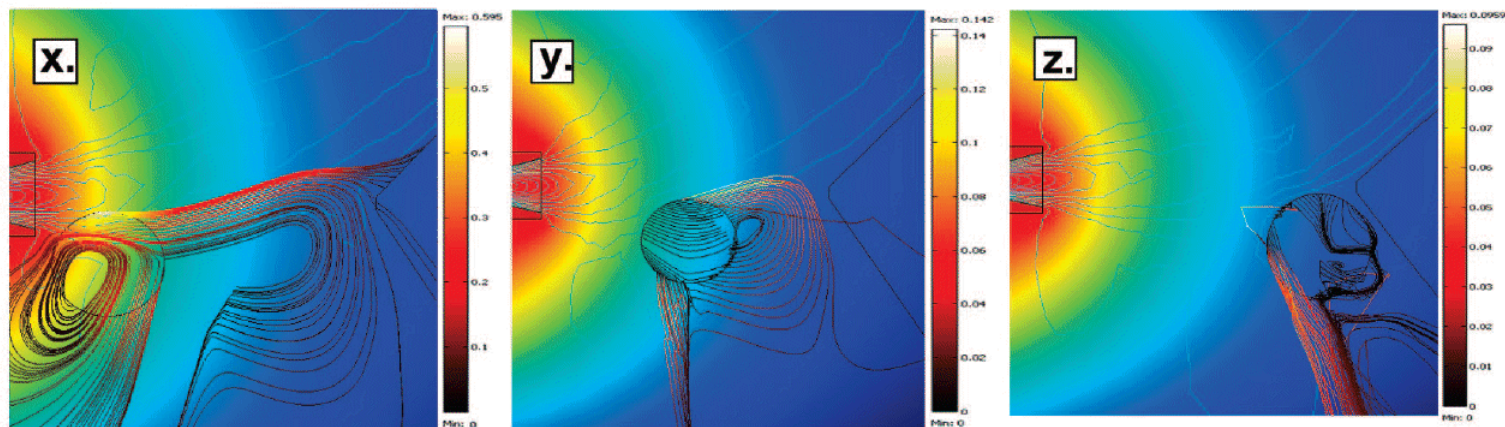
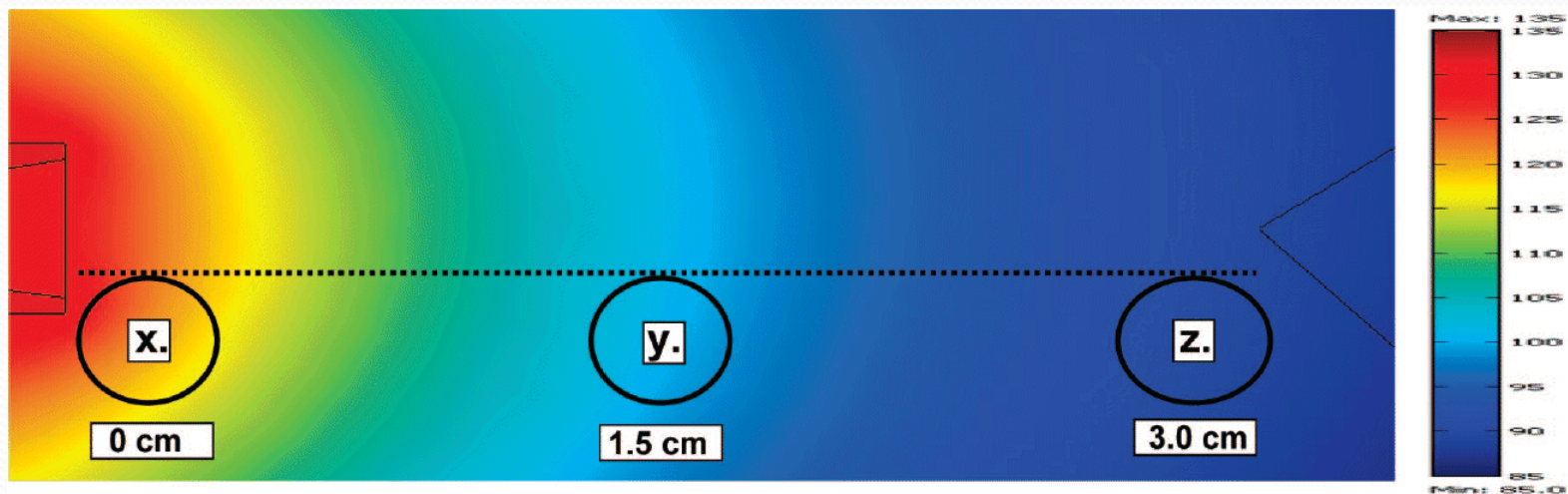
DARTのイオン化



DART™の熱とガスベロシティー分布

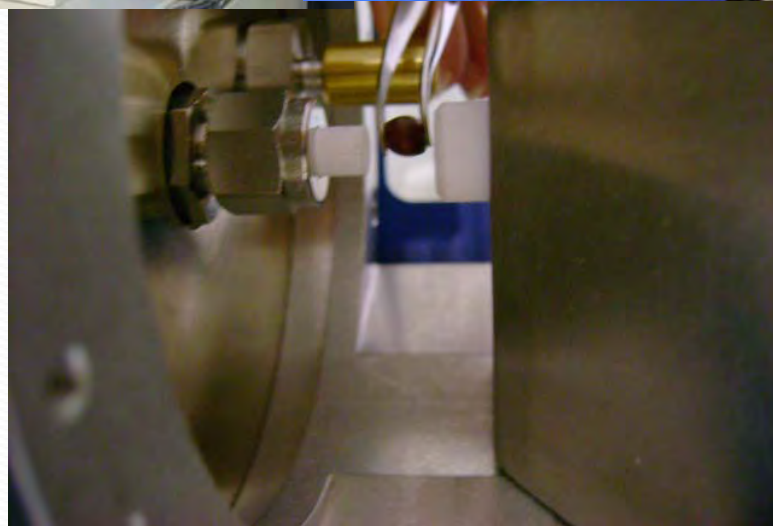
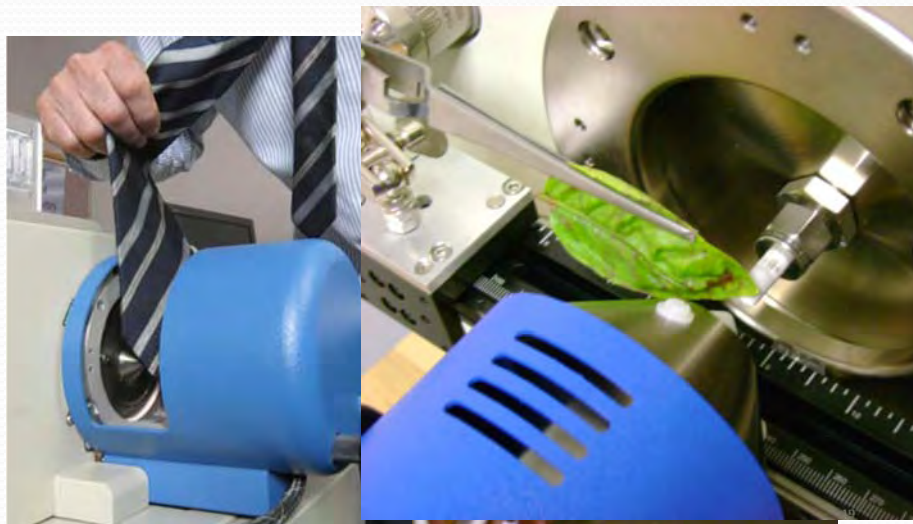
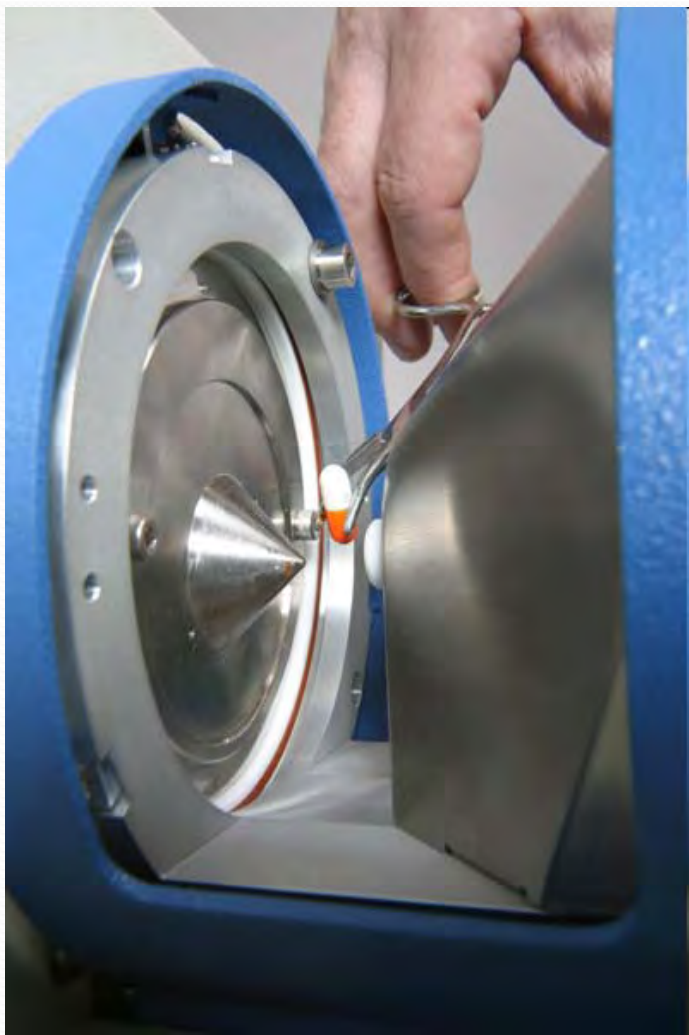


どこでサンプリングをすれば良いか



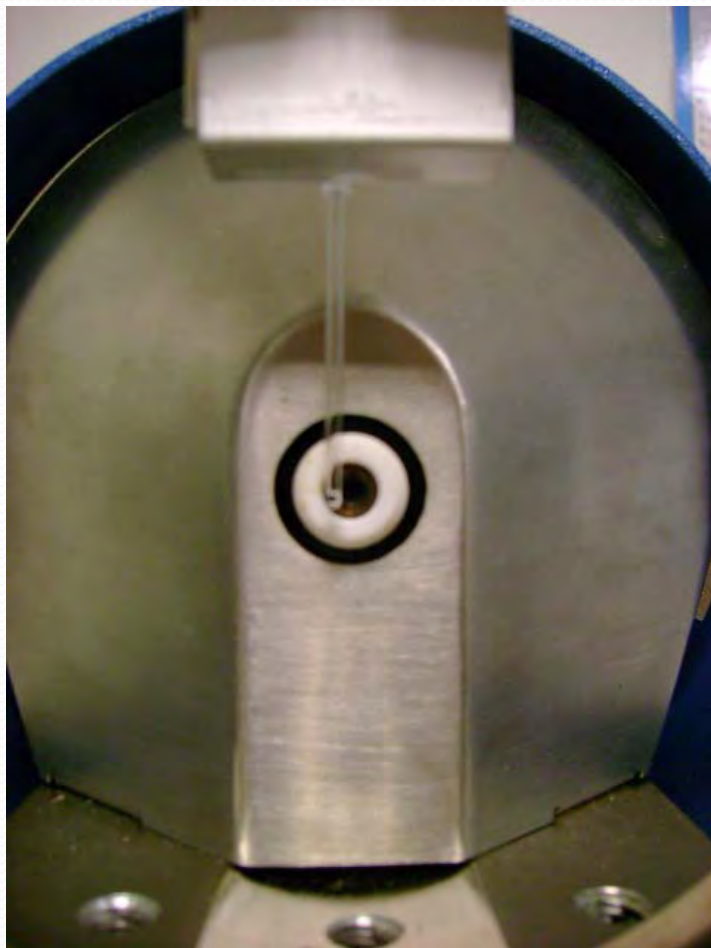
Harris, G. A.; Fernandez, F. M. Simulations and Experimental Investigation of Atmospheric Transport in an Ambient Metastable-Induced Chemical Ionization Source. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 322–329.

かざすだけでイオン化

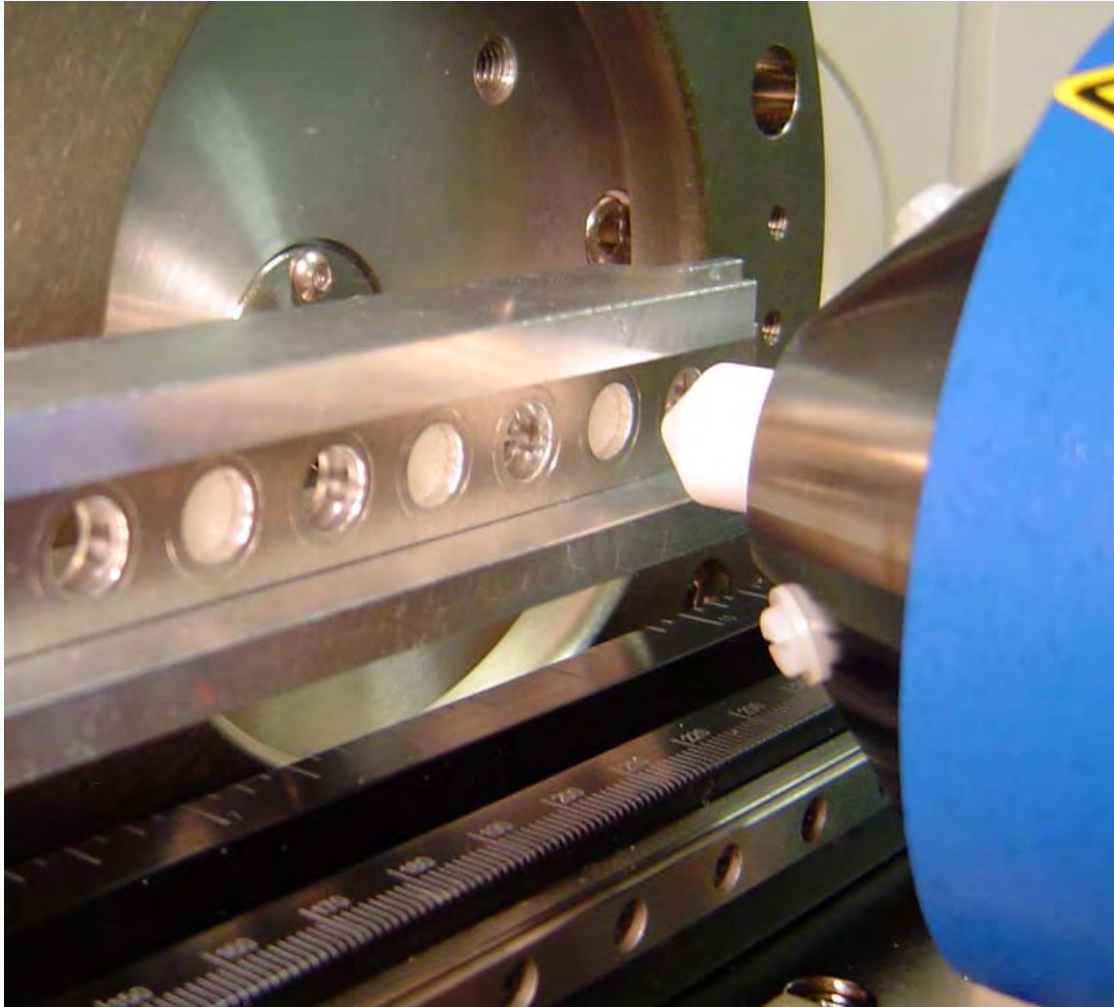


独特のDARTのサンプリング

キャリアガスの流路に液体または固体を置きます

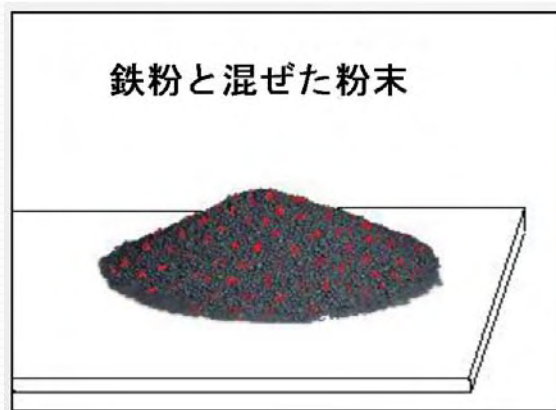
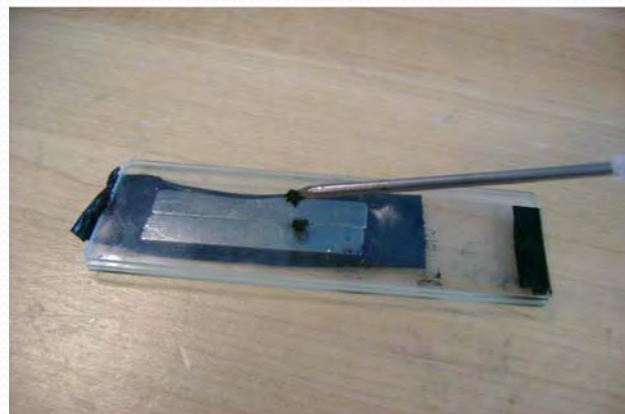
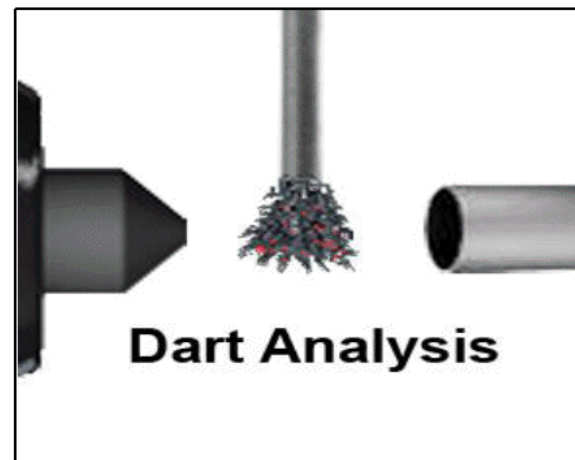
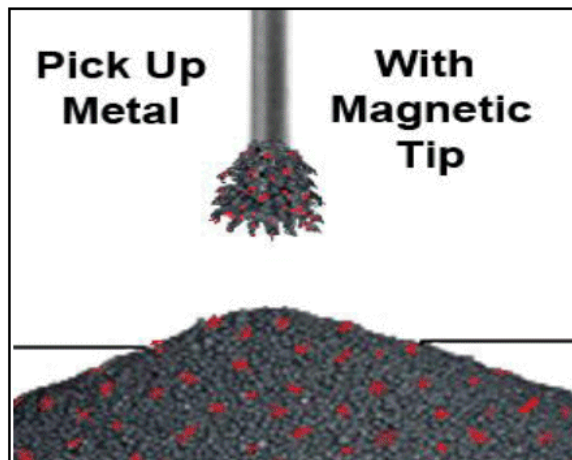
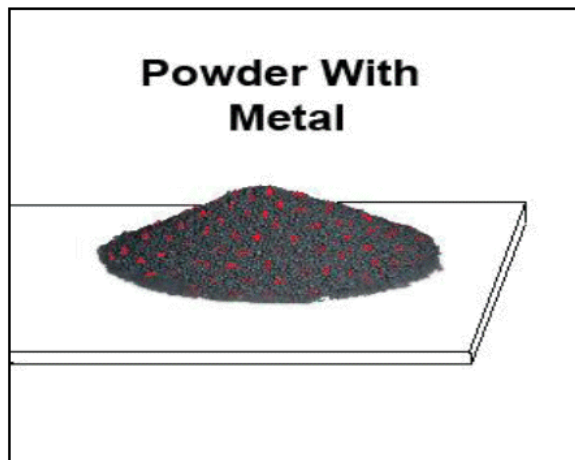


さらに新しいサンプリング

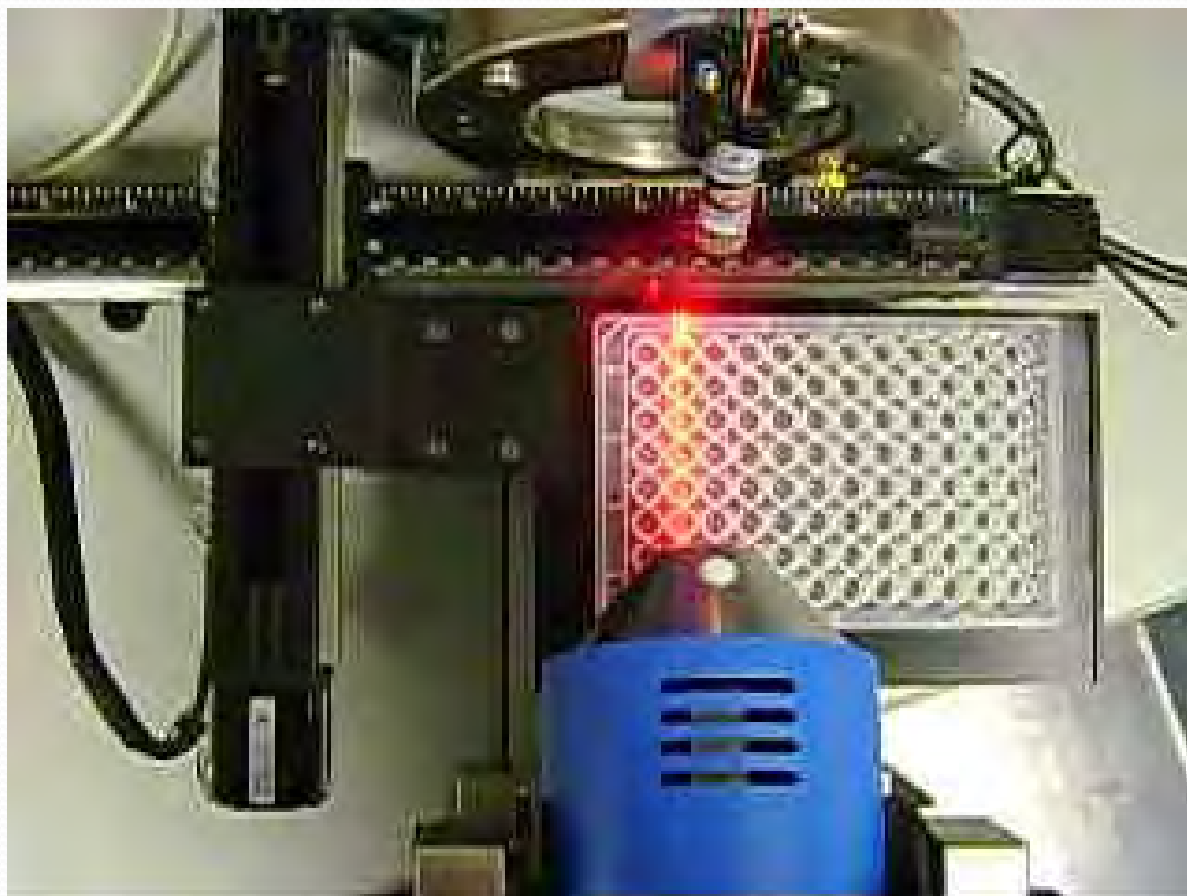


- 分析のためにスポンジに分析物のほんのわずかな量を濃縮します。
- ユーザーによって定義されたサンプリング時間とヒーター温度で温度スロープメソッドを使用し一回の測定で5つのスポンジをスキャンします。
- 加熱されたDARTガスは、スポンジを通過します。

さらに新しいサンプリング



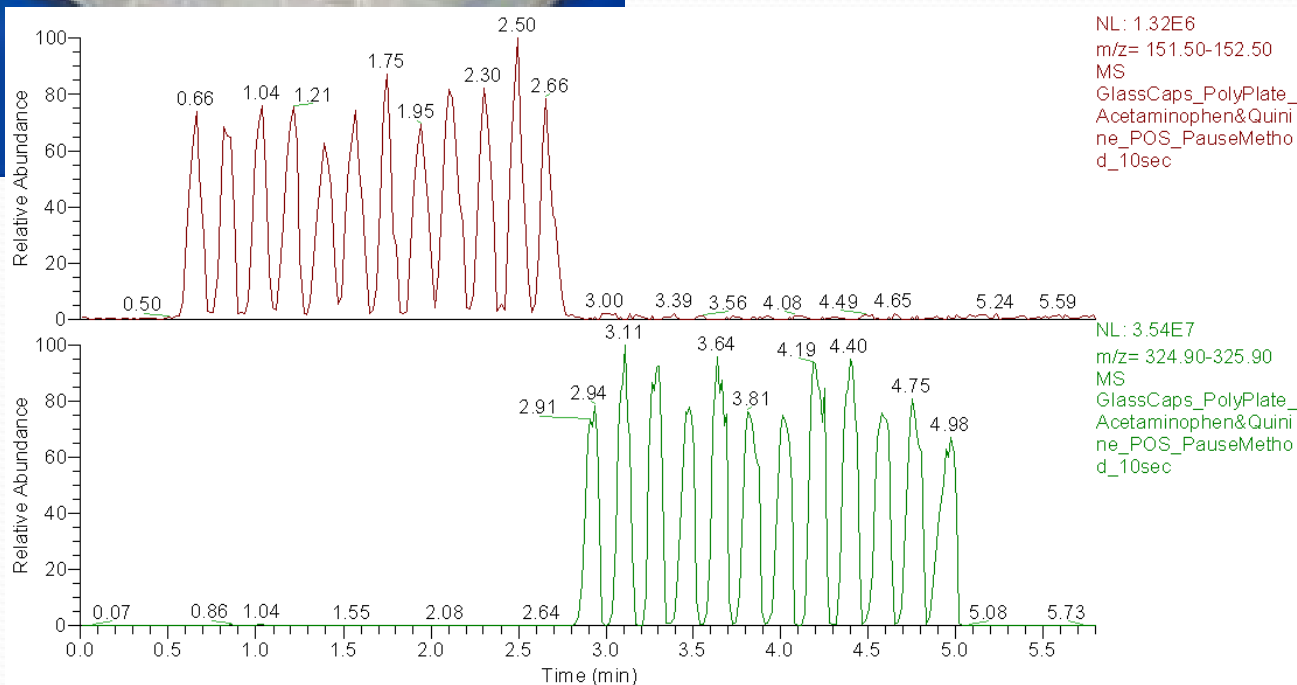
さらに新しいサンプリング



さらに新しいサンプリング



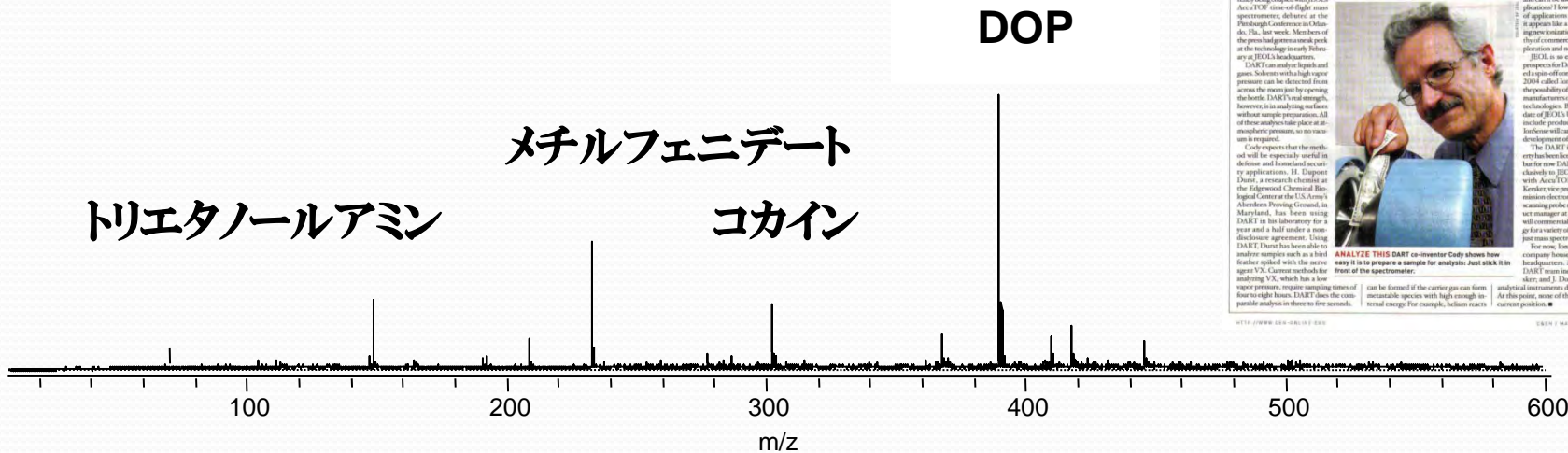
- 3+Dスキャナモジュールを使用してサンプリング。
- 液体のサンプルは、トップの上にガラス製のインサート上にピペットで分注。
 - Row A: アセトアミノフェン m/z 152
 - Row B: キニーネ m/z 325



DART® のアプリケーション

- 医薬品分析
 - 錠剤分析(偽造薬物・“Yaa Chud”)、薬物動態、探索等
- 食品・香料
 - 成分分析、表品評価(保存状態、偽造、模造、クレーム対応)、パッケージング分析、食品中に混入された毒物(メタミドホス、メラミン、ITX)
- 裁判化学
 - 違法薬物(血中、尿中、頭髪、錠剤)、インク、爆発物、燃焼剤等
- 国土安全保障
 - 爆発物、化学兵器
- 化学工業
 - ポリマー添加剤、モノマー評価(メーカー等の違い)、低分子ポリマー、難燃性添加剤、塗料、金属
- 有機合成
 - 合成の確認(TLCによる測定など)
- 環境
 - 農薬の一斉分析(スポンジスワブオプションによる分析)、QuEChERS法を用いた農薬の迅速分析
- その他

1ドル紙幣



1. トリエタノールアミンは、化粧品で用いられるpH調整用成分です
2. すべてのラベルをした化合物は、MH⁺として検出されます
3. 紙幣上の一般的な物質：日焼け止め、虫よけ (DEET)、ニコチン、グリセロール、ポリエチレングリコール (印刷工程から?)

SCIENCE & TECHNOLOGY

NO-PREP MASS SPEC

New atmospheric pressure ionization method is suitable for security and defense applications

CELIA M. HENRY, CAEN, WASHINGTON

RONNIE A. COOK, the mass spectrometry product manager at JEOL USA in Frisco, Mass., has had one of his last year's projects in mind: a mass spectrometer that can analyze a sample in real time. Just by sticking samples in front of a mass spectrometer, he analyzed paper money, chocolate, hot peppers, and even a needle-laced with a trace of nitrogllycerin.

He is able to do this no-sample preparation method that he and James A. Laramore of GAI Corp., Abingdon, Md., invented. They call the method DART, for direct analysis in real time. DART, which is currently being developed by JEOL, uses a spray of highly charged ions to ionize the sample, which is then analyzed by the mass spectrometer. The method is suitable for security and defense applications.

DART works by applying an electrical potential to a gas such as nitrogen or helium to form a plasma of excited atoms and molecules that then interact with the sample and the atmosphere. Different ionization mechanisms are possible, and operating conditions can be manipulated to favor one over the others. For example, proton transfer is the dominant mechanism of positive ionization.

This type of ionization occurs when molecules in the atmosphere react with water in the atmosphere to produce oxidized water clusters that can penetrate the sample molecule, forming positively charged ions. Under different conditions, electrons

with atmospheric water to form negative-ion clusters of oxygen and water that in turn react with analytes to form negatively charged ions.

In the negative-ionization mode, in turn, and the ions are not protonated because, in DART, plasma formation from the carrier gas is isolated from the air. These ions can interfere with the detection of nitrogen-based explosives and reduce the sensitivity of anion detection.

Cook described the technique publicly for the first time in late January at the 17th National Conference on Mass Spectrometry, John D. (Jack) Henion, a mass spectrometry who serves as chairman, president, and chief executive officer of Johnson BioSciences, Ithaca, N.Y., saw that presentation.

"IT APPEARED as a really simple and easy to use and provided easily interpretable data," Henion told CAEN. "Unanswered questions include whether it will handle larger molecules like peptides and proteins, and can be used for LC/MS applications." However, for the kinds of applications Cook described, it appears like a simple and exciting ionization technique near the commercialization and implementation and new applications.

"JEOL is so excited about the prospects for DART that it created a spin-off company in October 2004 called IonSense to explore the possibility of partnering with manufacturers of other detection technologies. Because the mandate of JEOL's U.S. office doesn't include product development, IonSense will carry out any further development of DART."

The DART intellectual property has been licensed to IonSense, but for now DART will be sold exclusively to JEOL for interfacing with ACQUITY, says Michael Reuter, vice president and transmission electron microscope and scanning probe microscopy product manager at JEOL. IonSense will commercialize the technology for a variety of applications, not just mass spectrometry.

For more, IonSense is a start-up company based at JEOL's headquarters. Members of the DART team include Celia Kerker, and J. Douglas Meibohm, analytical instrument director at JEOL. At this point, none of them is leaving his current position. ■

ANALYZE THIS DART co-inventor Cook shows how easy it is to prepare a sample for analysis: Just stick it in front of the spectrometer.

can be formed if the carrier gas can form ionizable species with high enough internal energy. For example, helium reacts

DOP

メチルフェニデート

トリエタノールアミン

コカイン

PHOTO JEOL USA (JEOL USA)

DATE MARCH 7, 2005

代表的なサンプル 風邪薬タブレット

● 昼用カプレット

- アセトアミノフェン
(Acetaminophen)
 - 325 mg/caplet
- デキストロメトルファン臭化水素酸塩
(Dextromethorphan HBr)
 - 10 mg/caplet
- 塩酸フェニレフリン
(Phenylephrine HCl)
 - 5 mg/caplet

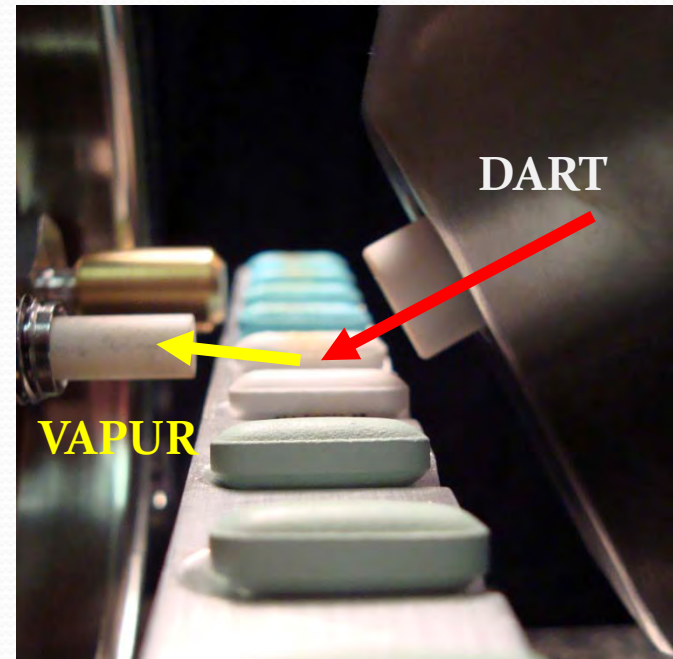
● 夜用カプレット

- アセトアミノフェン
(Acetaminophen)
 - 325 mg/caplet
- デキストロメトルファン臭化水素酸塩
(Dextromethorphan HBr)
 - 10 mg/caplet
- 塩酸フェニレフリン
(Phenylephrine HCl)
 - 5 mg/caplet
- クロルフェニラミンマレイン酸塩
(Chlorpheniramine Maleate)
 - 2 mg/caplet



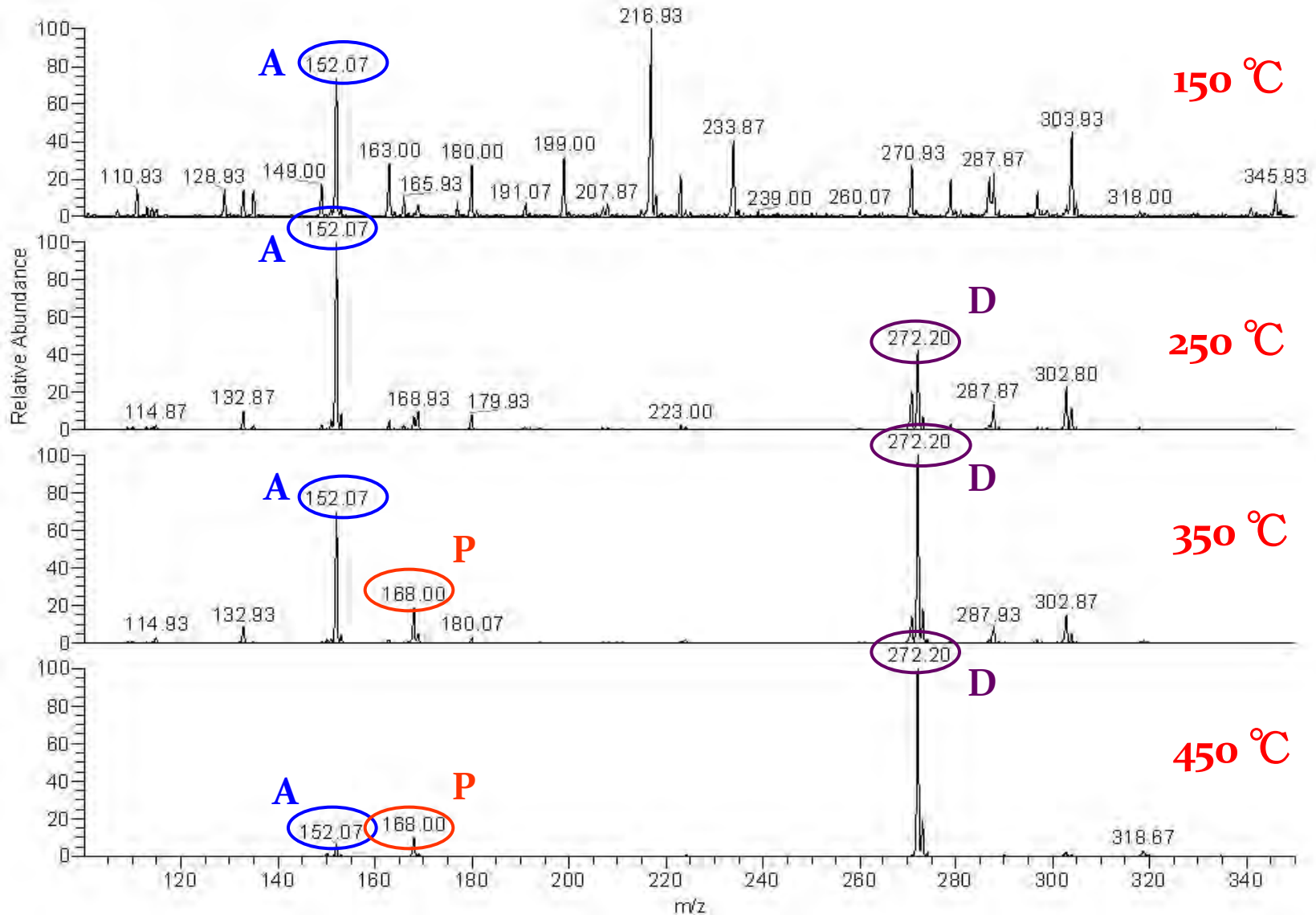
メソッド開発

- サンプルを移動可能な架台に置きます
- 脱離温度を変えます
 - 150°C、250°C、350°C、450°C
- サンプルング速度を変更します
 - 0.5mm/sec、1.0 mm/sec、2.0 mm/sec、
- 質量分析計にDARTを取りつけ15° の角度に設定します

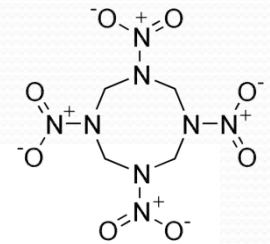


メソッド開発－温度プロフィールの評価

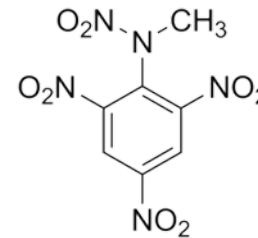
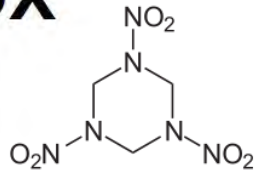
昼間用カプレット－ 4段階のDARTの温度－ 3種類の活性成分をサーチ



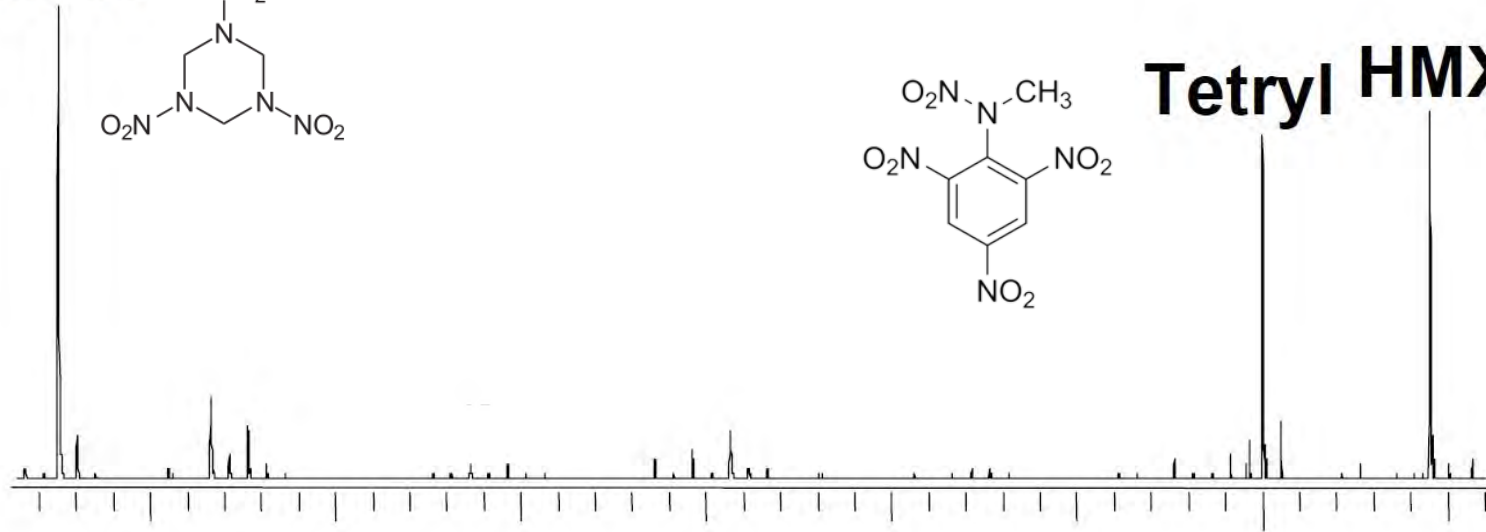
爆発物



RDX



Tetryl HMX



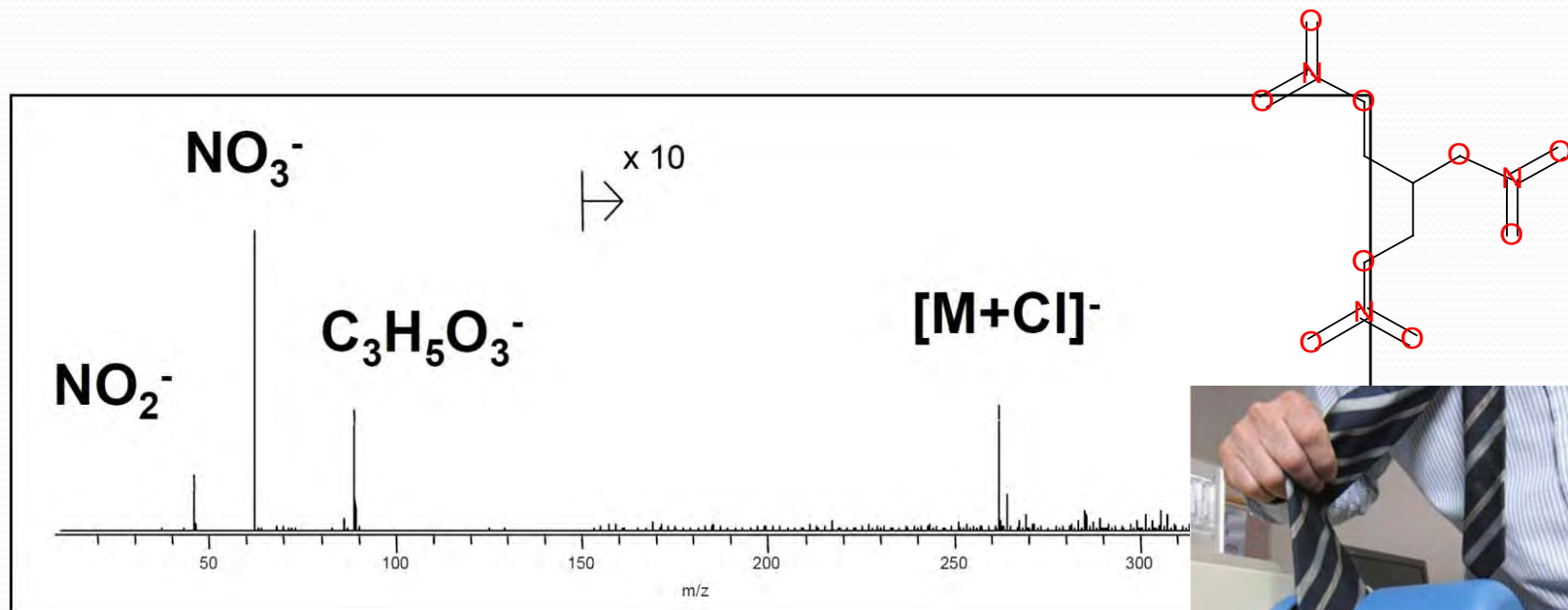
Tetryl: N-メチル-N-ニトロ-2,4,6-トリニトロベンゼンアミン

RDX: トリメチレントリニトロアミン

HMX: シクロテトラメチレンテトラニトラミン

Negative ion

ネクタイに着いた爆発物

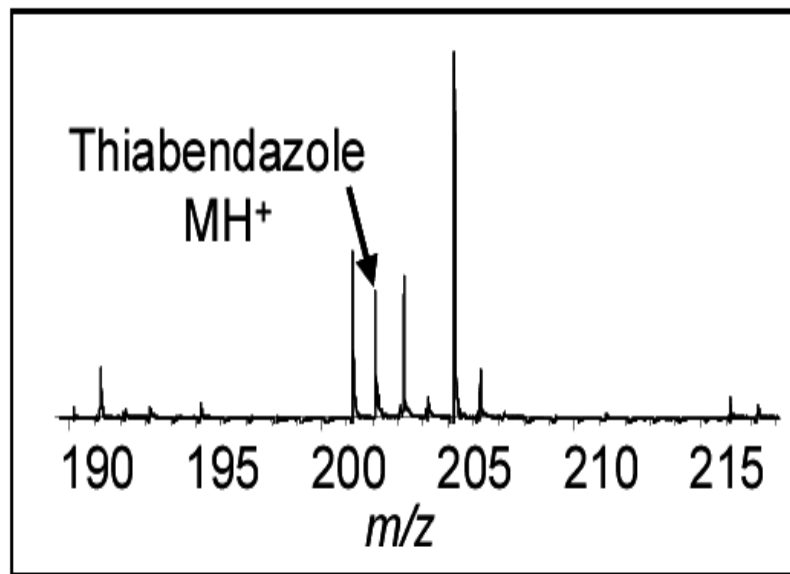


Dopant の添加

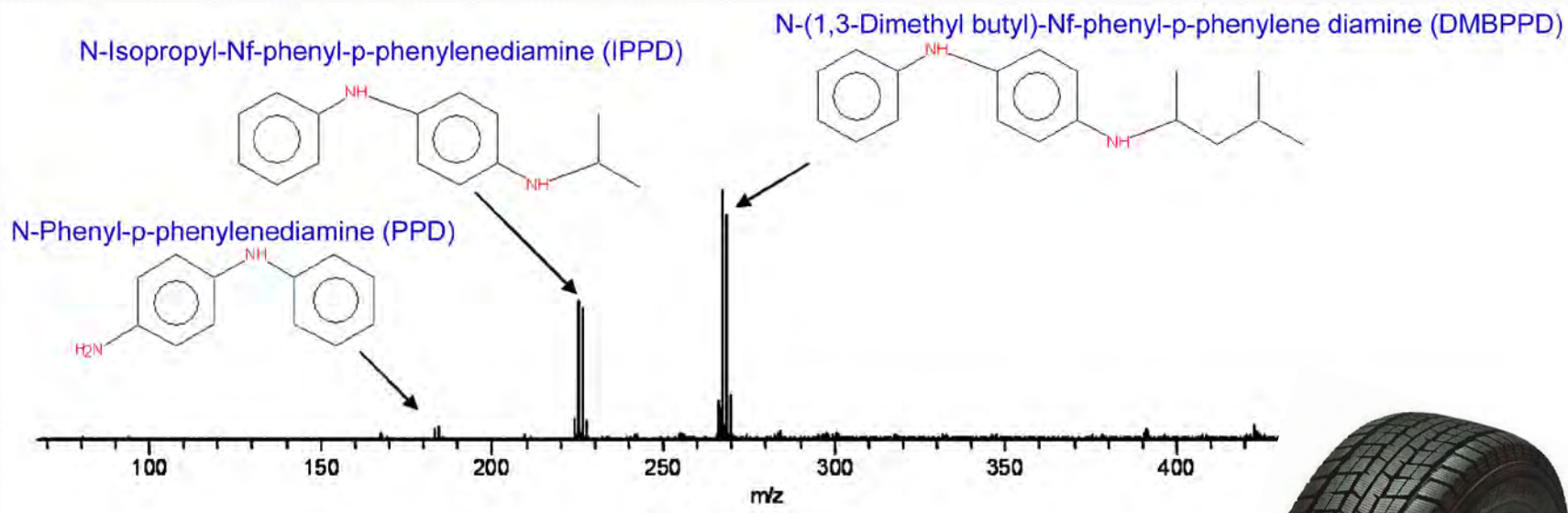
- 液体を滲み込ませたスワブをサンプルの前に置く
- あるいはキャピラリー付きのバイアル中の液体のガスのベーパーを利用



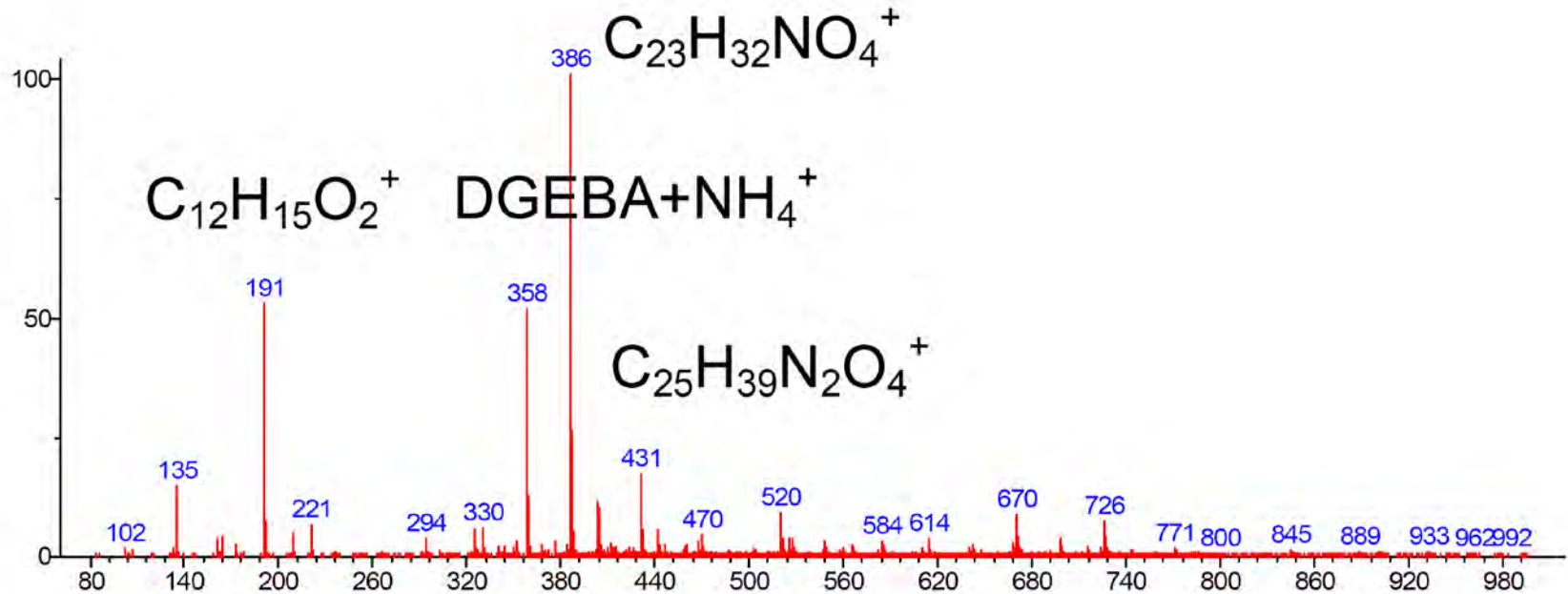
オレンジの皮の残留農薬(Positive ions)



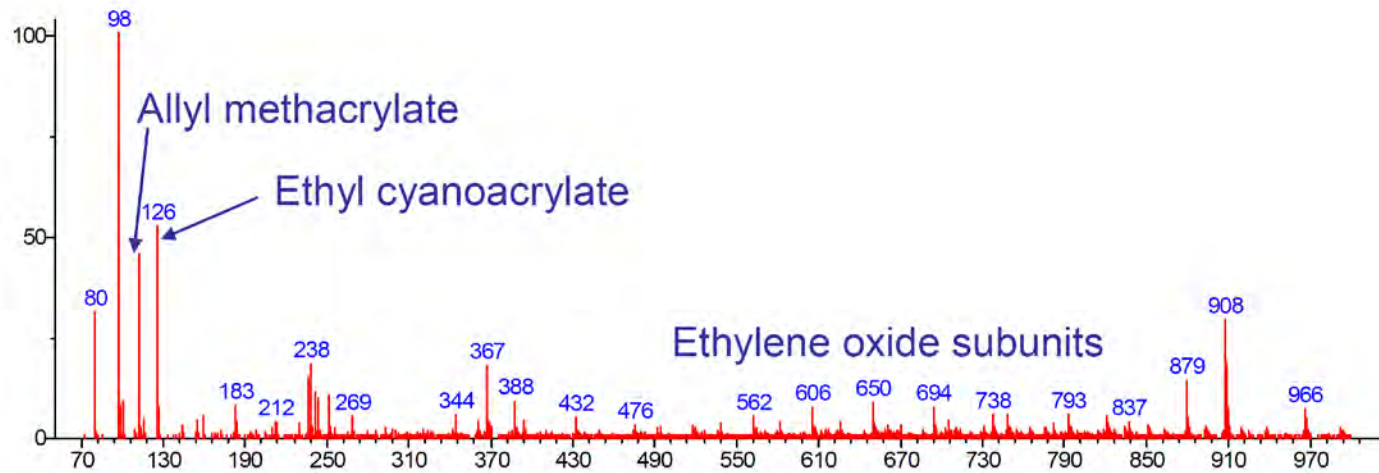
ゴム中のp-Phenylenediamine酸化防止剤の迅速な分析



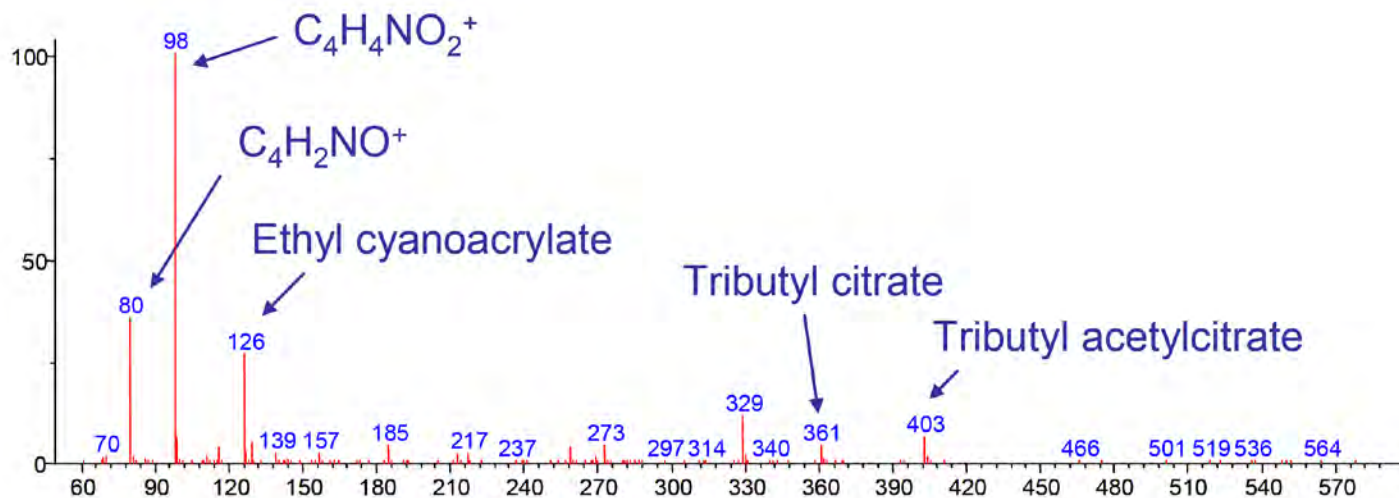
硬化後のエポキシ樹脂



瞬間接着剤の違い

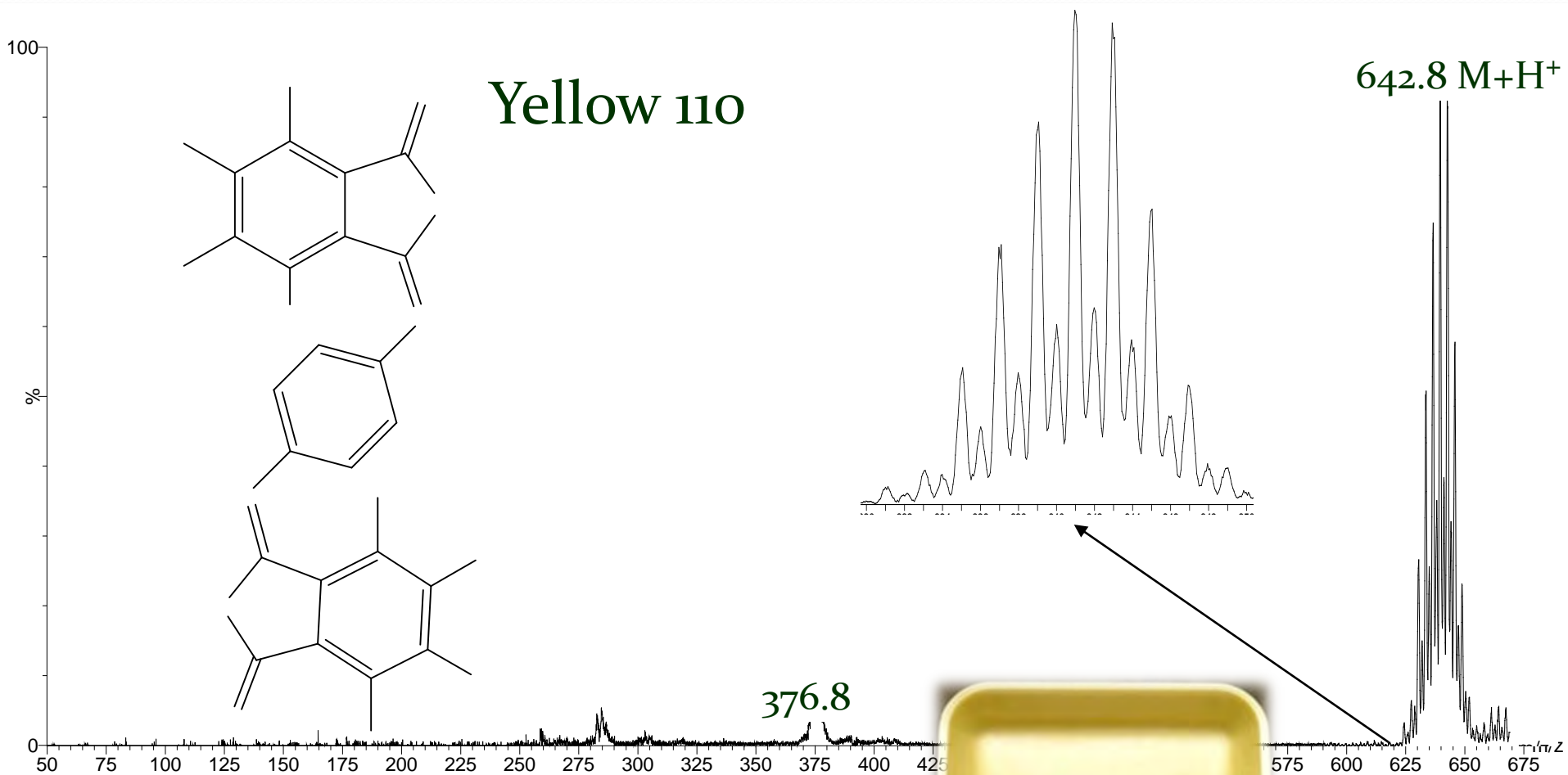


製品1

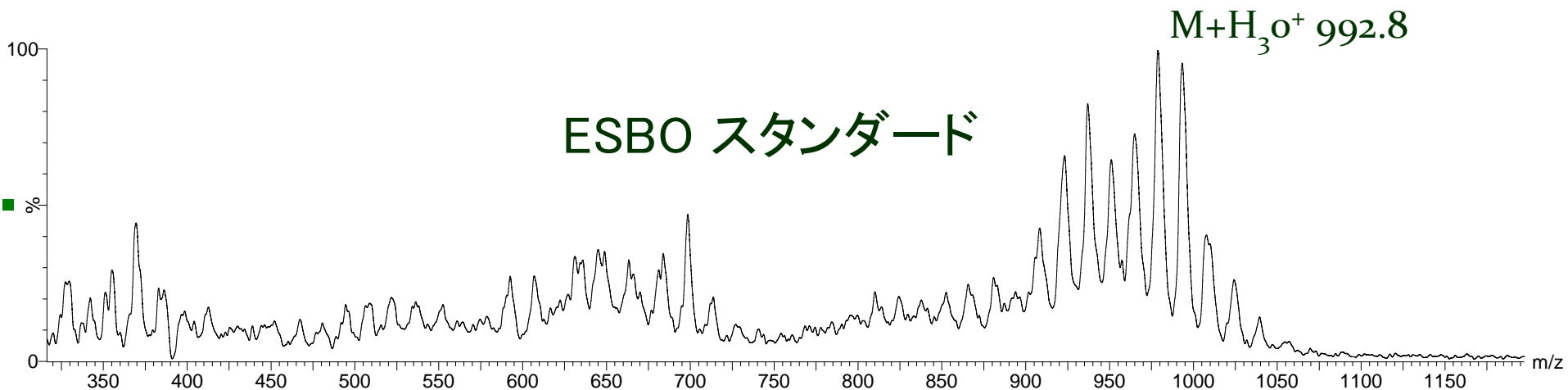
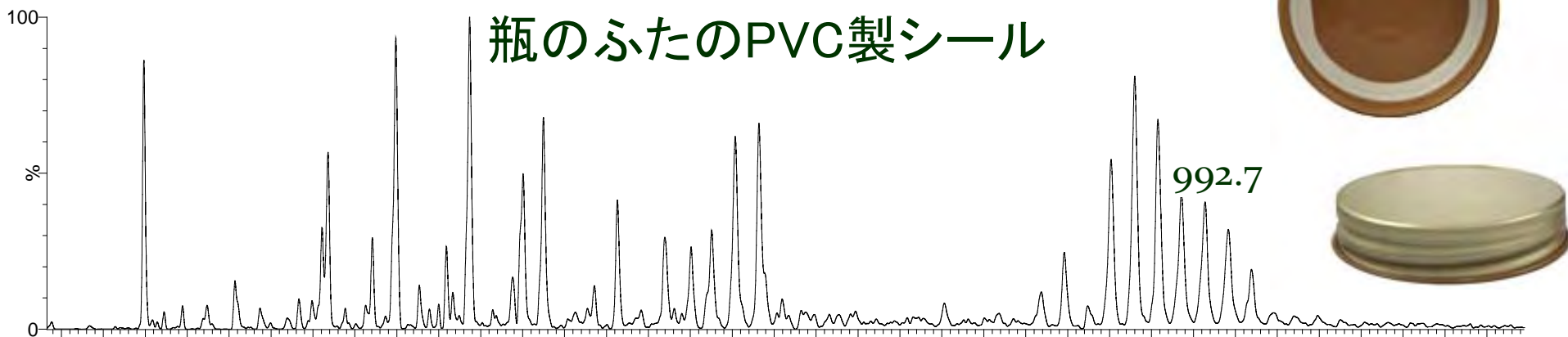


製品2

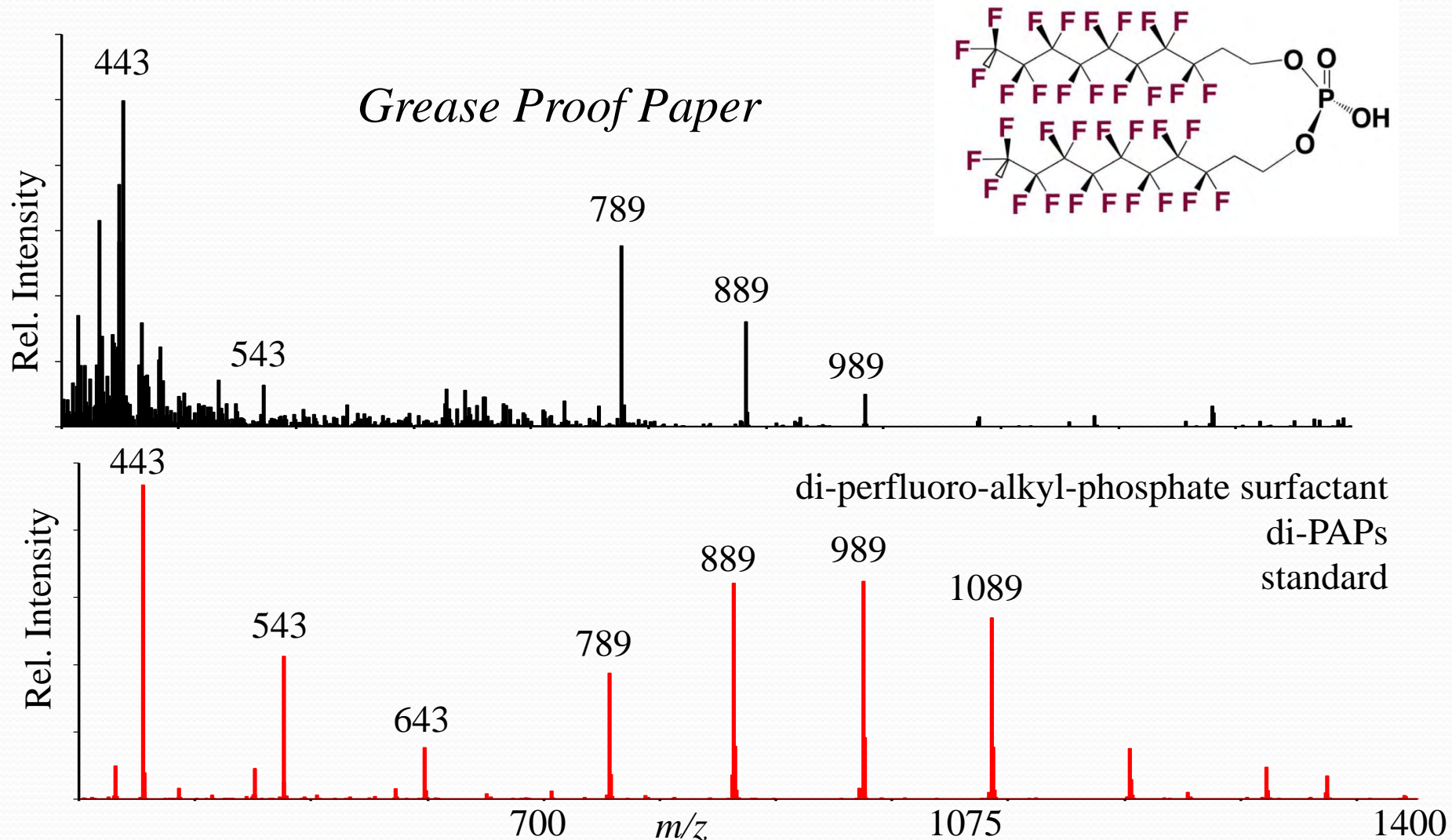
パッケージ添加剤のDART-MSスペクトル



パッケージ添加剤のDART-MSスペクトル



パッケージ添加剤のDART-MSスペクトル



DART®の新しいアプリケーション

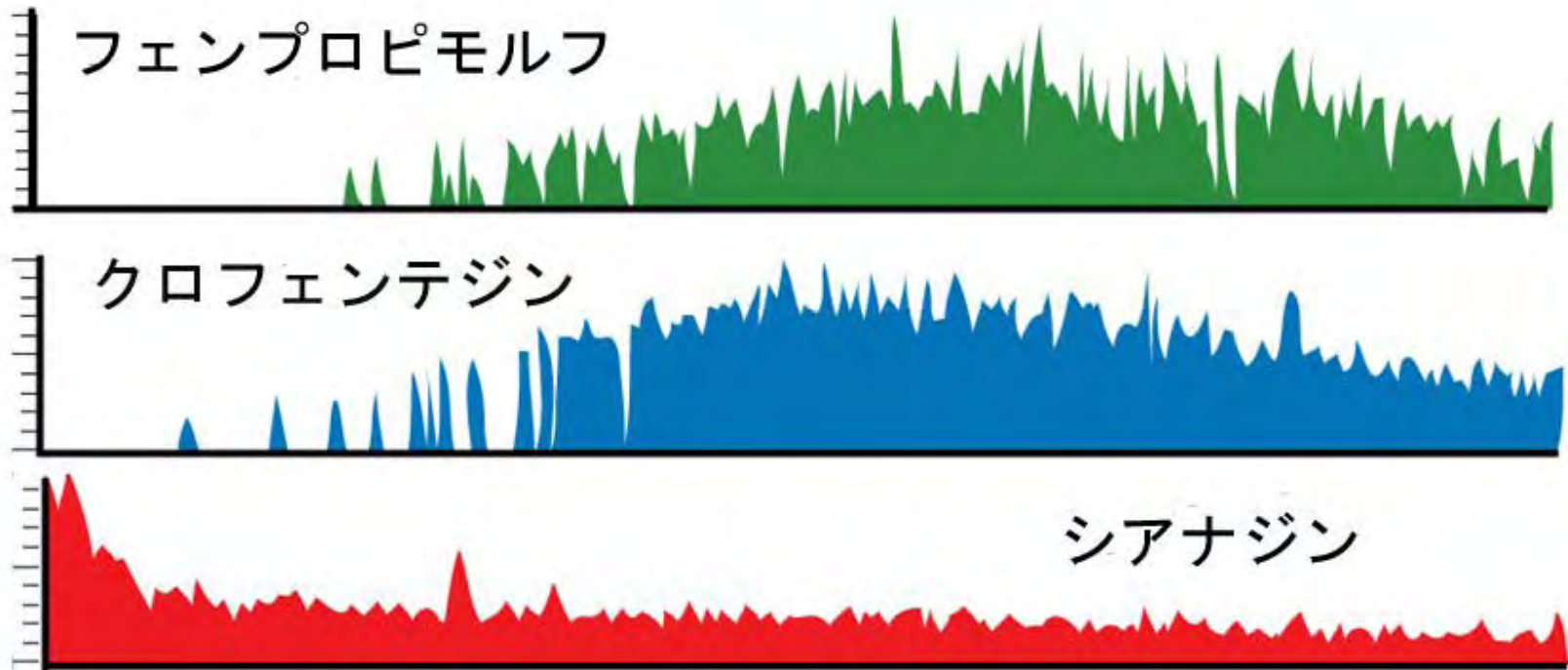
- DAR-MS分析のための最小限の前処理
 - ITSPによる前処理
 - 尿中の違法薬物の測定
 - SPMEファイバーによる濃縮
 - ウィスキーの測定、蜂蜜の測定、ビールの測定
 - QuEChERS法による前処理
 - 農薬分析等
 - 液液抽出
 - オリーブオイルとヘーゼルナッツ添加オリーブオイル
- 誘導体化、H/D交換
 - テトラメチルアンモニウムヒドロキシド (TMAH)
 - バチルス・チューリンゲンシス菌の胞子のバイオマーカーのジピコリン酸ジメチルエステルの誘導体化
 - Tri-Sil-Z®
 - シクロデキストリン、アミノグリコシド系抗生物質
 - D₂O
 - メラミンの測定
- その他
 - スワブによる濃縮
 - 農薬の一斉分析
 - ¹³C₃を用いた内部標準法
 - メラミン投の内部標準
 - 金属の測定
 - ブタントーチを用いた金属(船底用塗料)の分析



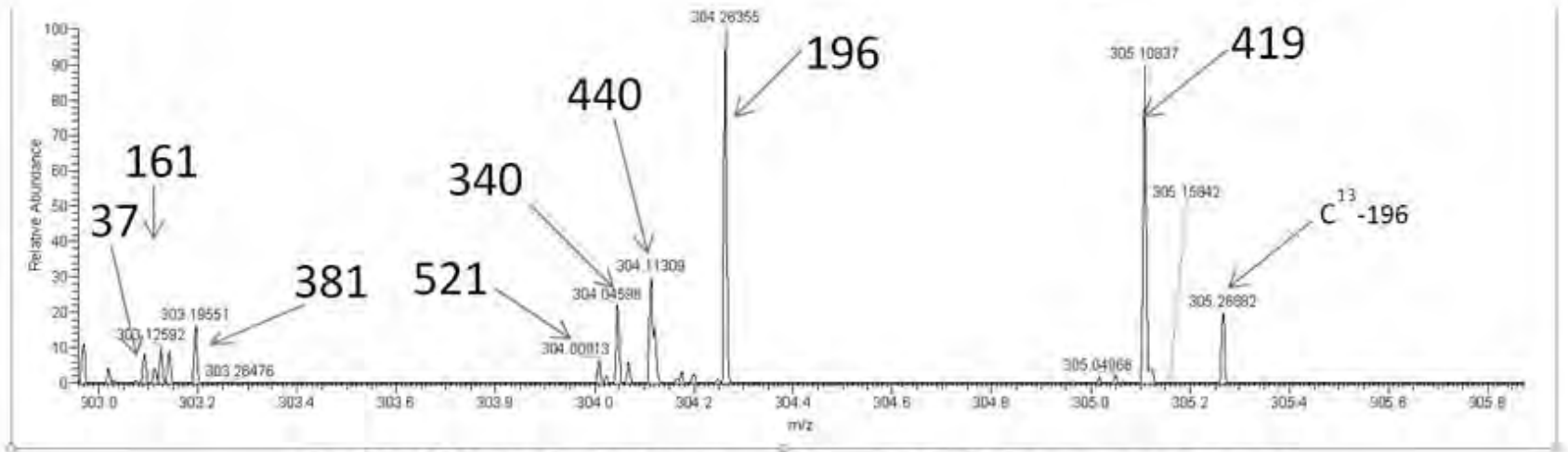
マスクロマトグラム

示差熱脱離法

- 529種類の農薬の混合物



3ダルトンのマスレンジにおける 8種類の農薬類の同時検出



Partial Mass Spectrum - 303 – 306 dalton mass range

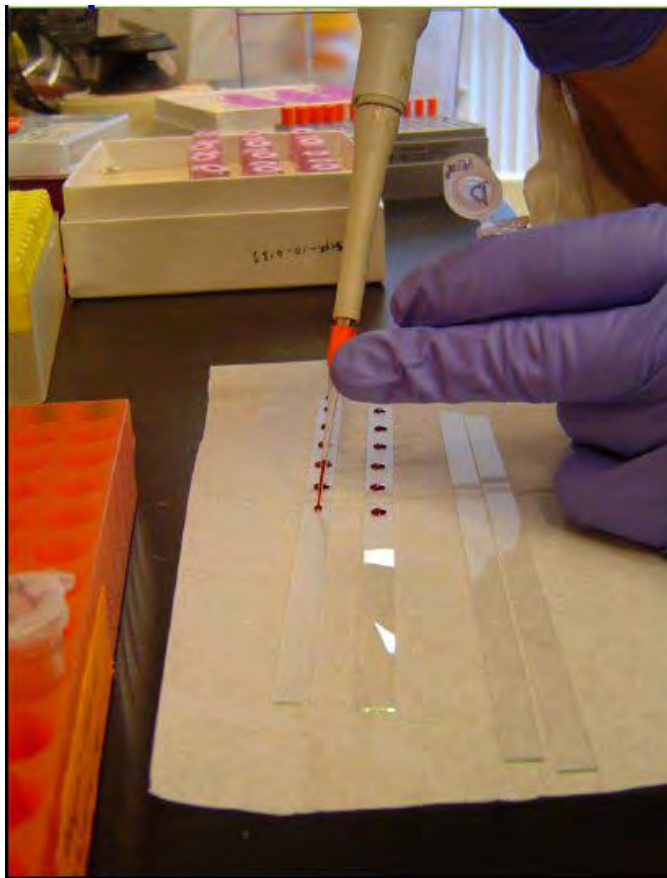
クロフェンテジン #37
ノルフラゾン #340

クミルロン #161
フェナミホス #440

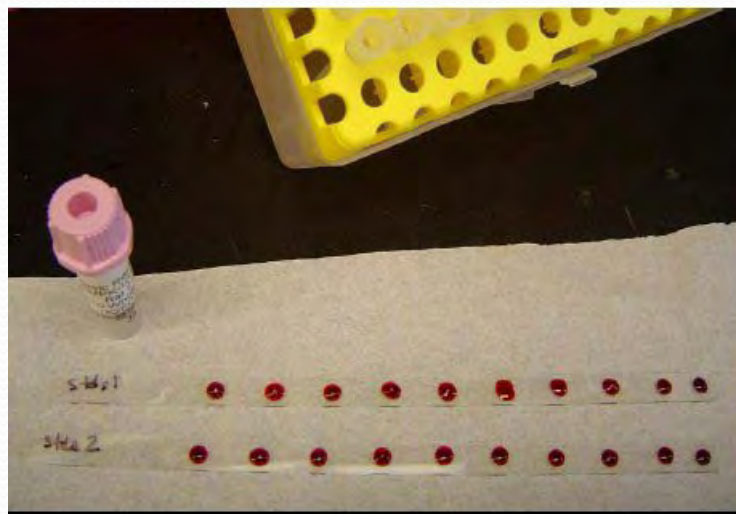
アレスリン #381
ダイアジノン #419

トリアレート #521
フェンプロピモルフ #196

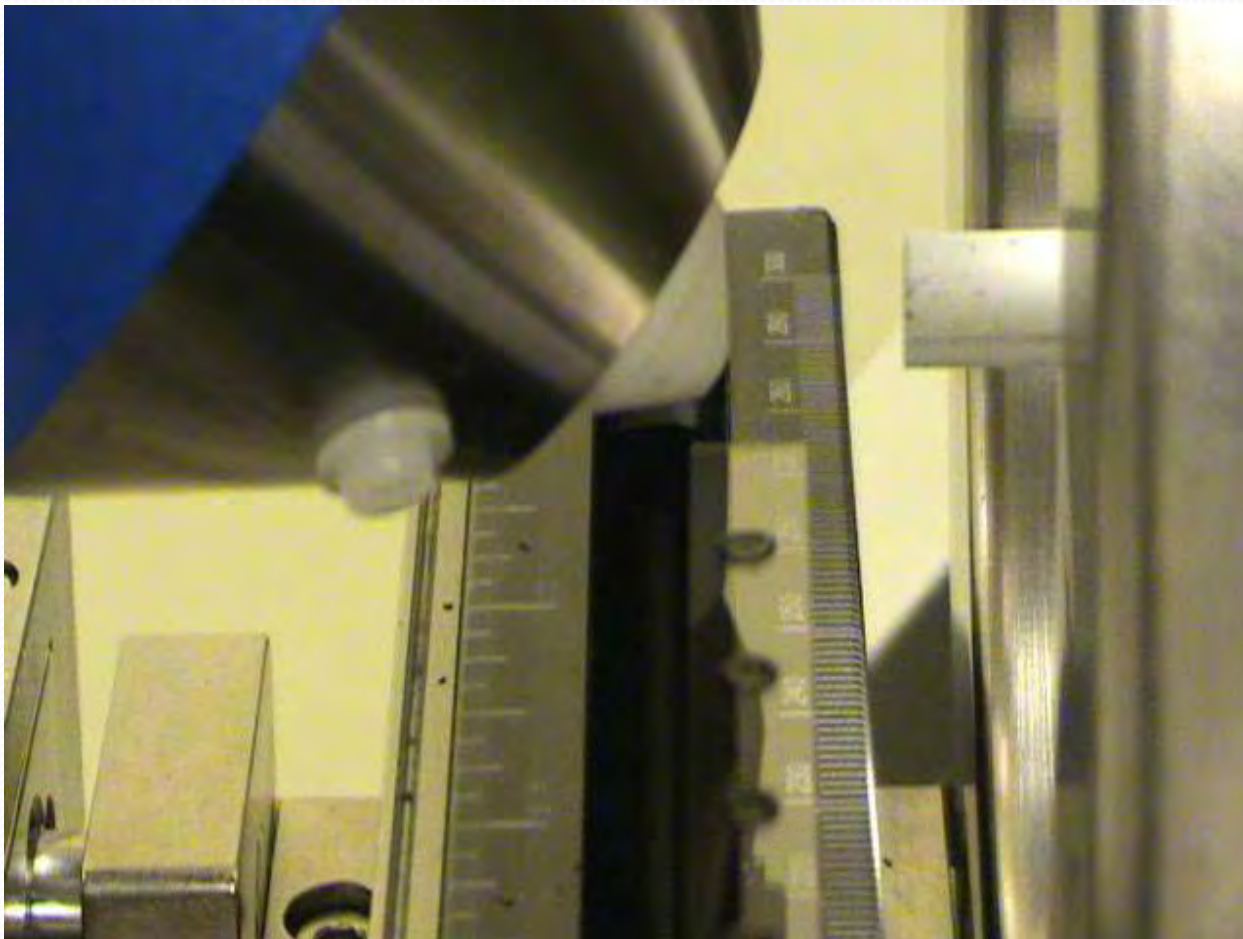
DBS サンプリング



DBSカードは最適でない、評価のために
ガラス製のスライドに移動

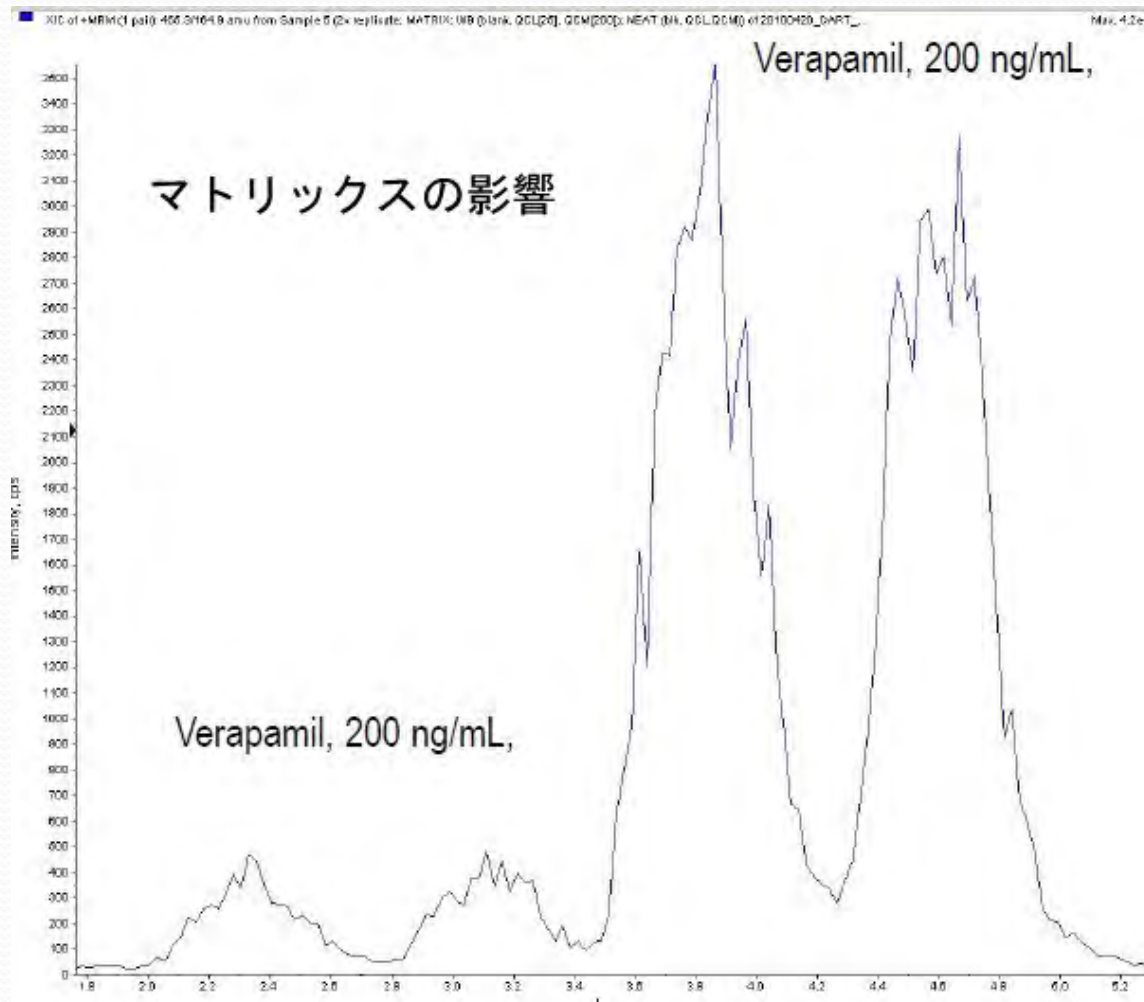


血中のベラパミルの測定

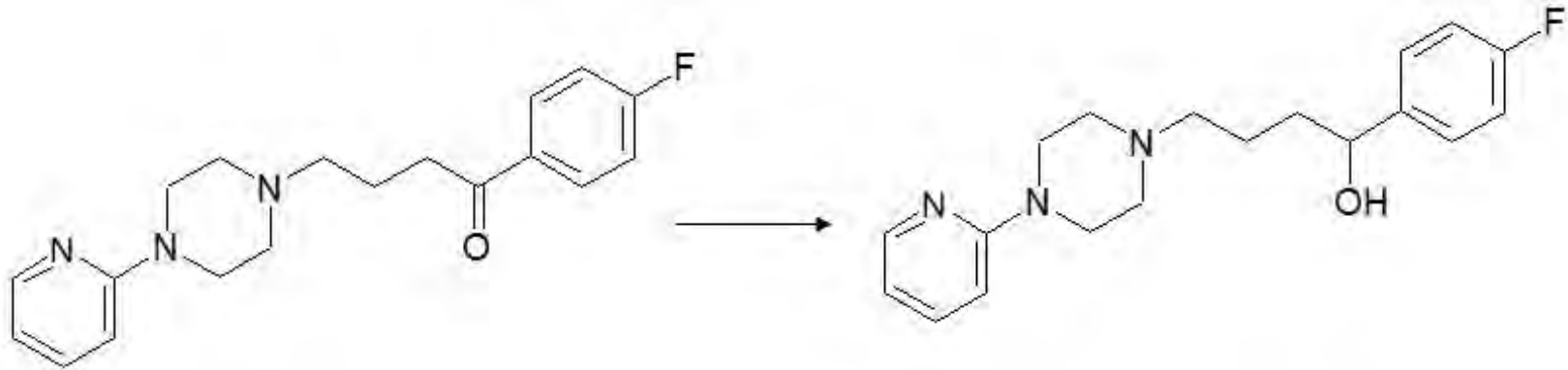


Justin Gordon; Elizabeth Crawford; Jing-Tao Wu; Brian D. Musselman; Ming-xiang Liao; Bei-Ching Chuang; Cindy Xia; David Ho; Lily Li; Shaoxia Yu , Quantitative Analysis of Dried Blood Spots by DART (Direct Analysis in Real Time) /MS/MS without Sample Preparation ,58th ASMS Conference on Mass Spectrometry (ASMS 2010), Utah, USA

血中のベラパミルーマトリックスの影響



DART—ブタの肝臓中のアザペロン



Azaperone

$m/z = 328.1820 [M+H]^+$

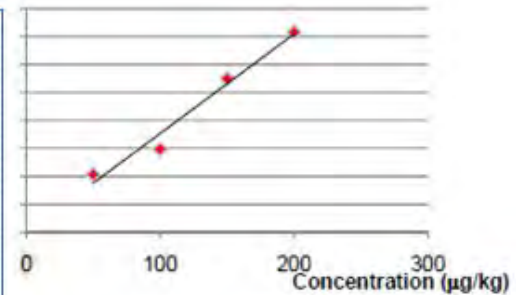
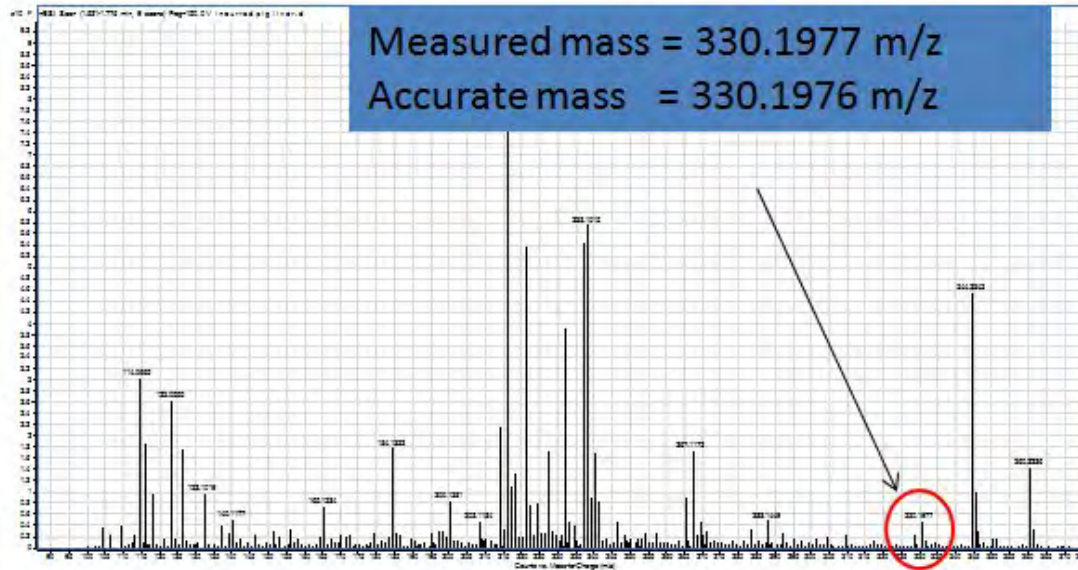
Azaperol (残留マーカ)

$m/z = 330.1976 [M+H]^+$

農薬・動物用医薬品の残留基準 (MRL) = $100 \mu\text{g}/\text{kg}$

DART-TOF: アザペロールを含む ブタの肝臓の抽出物

含有ブタ肝臓抽出物(MeCN:Acetic Acid 99:1)

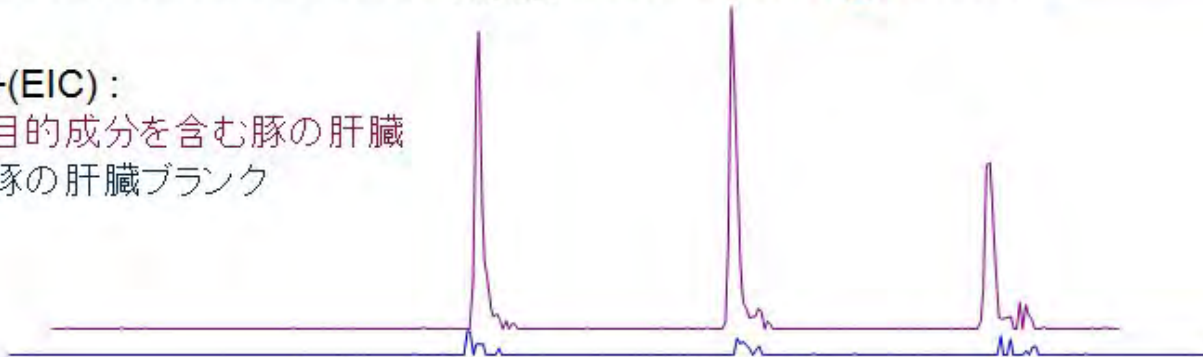


DART = 92 µg/kg

LC-MS/MS = 97 µg/kg

+(EIC) :

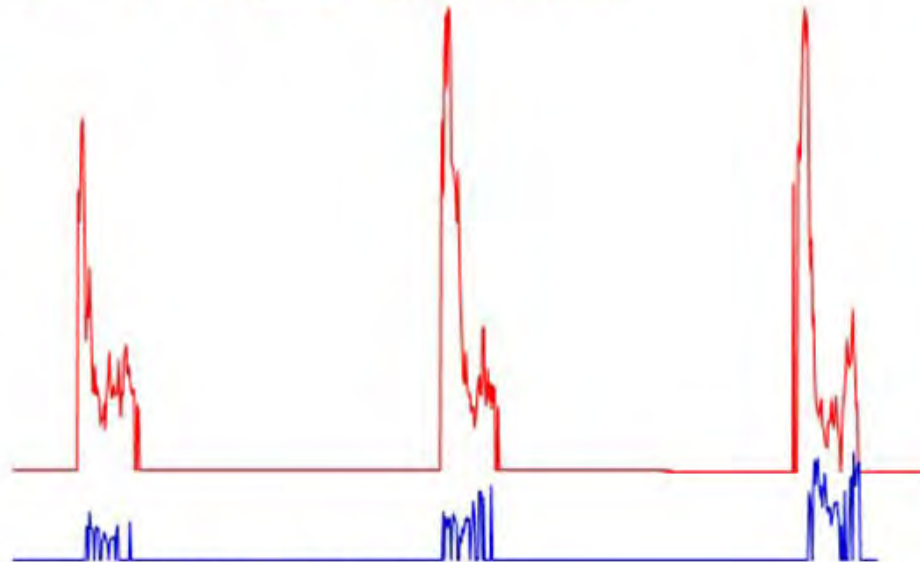
目的成分を含む豚の肝臓
豚の肝臓ブランク



DART-TOF: アザペロールの直接分析

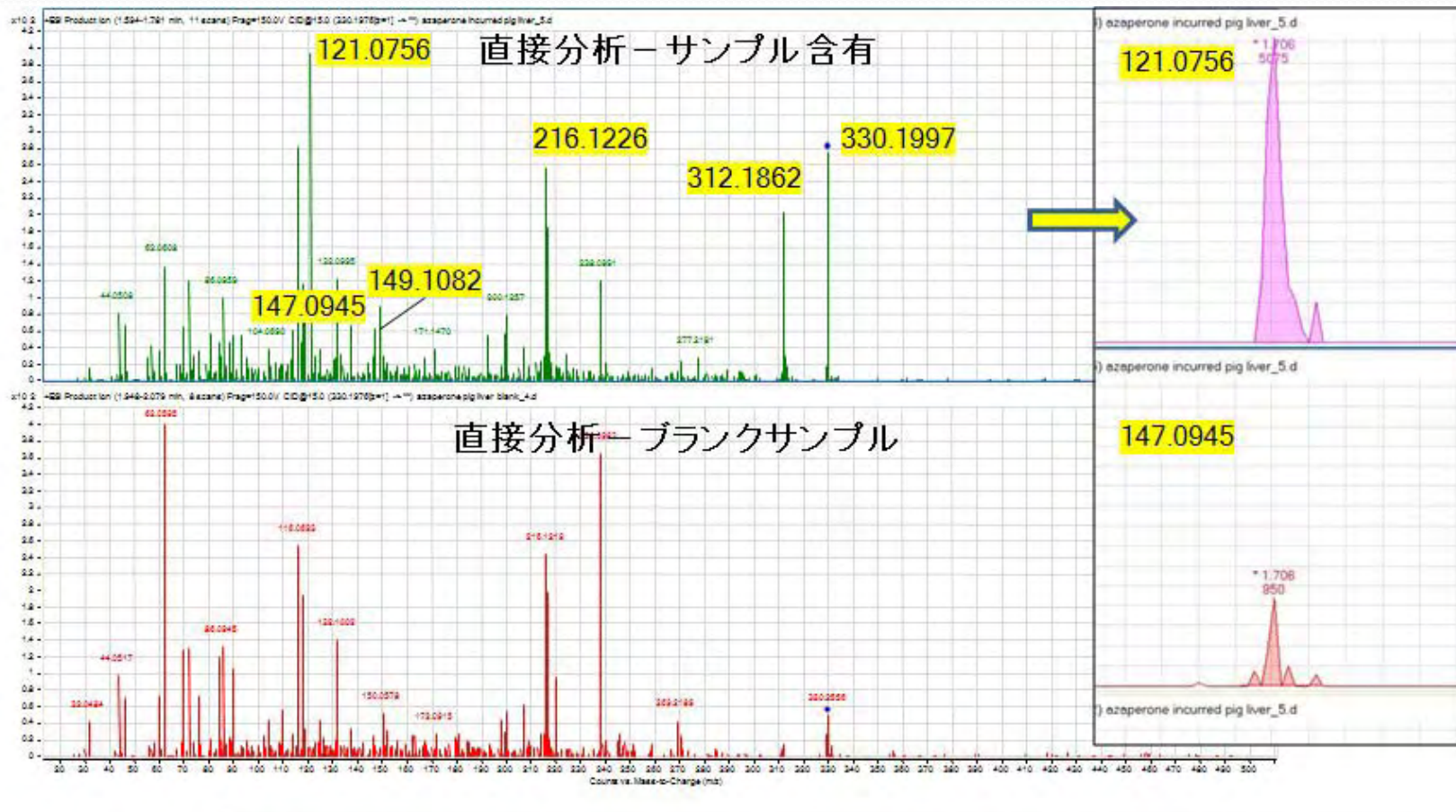
+ (EIC) m/z 330.1976

ブタ肝臓に含まれる97mg/kgの
アザペロールの直接分析による



EIC - 肝臓ブランク

DART-QTOF: ブタの肝臓に含まれるアザペロール

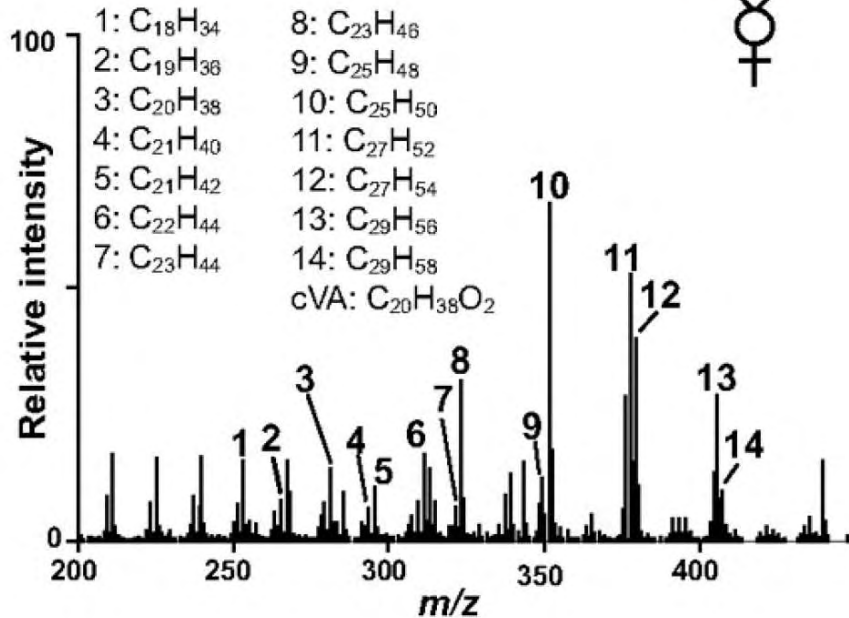


ショウジョウバエの体表炭化水素の分析

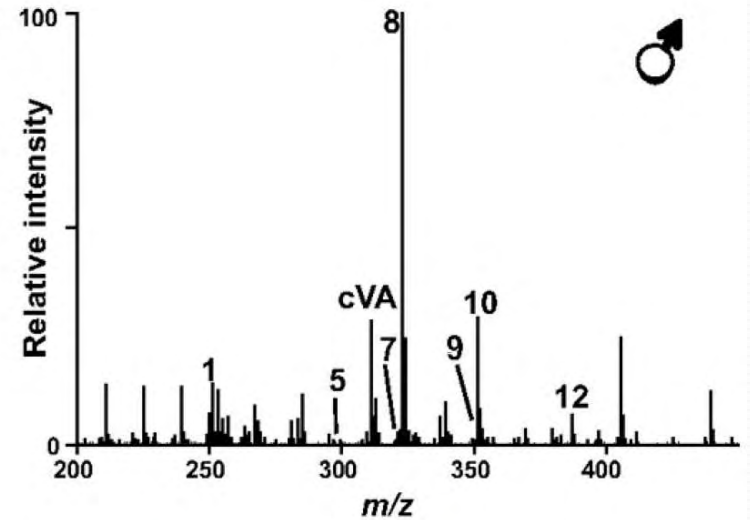
A



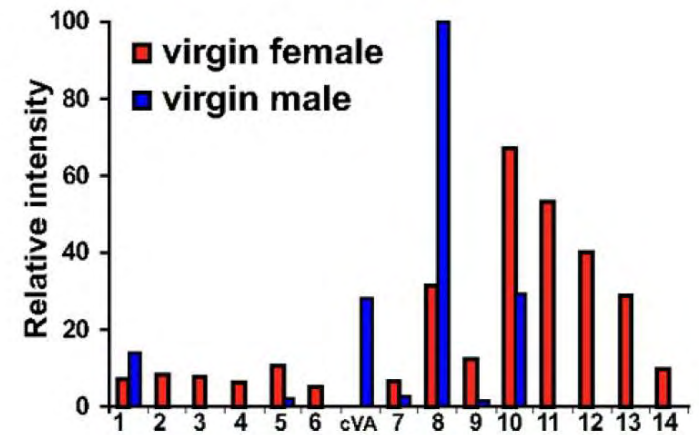
B



C

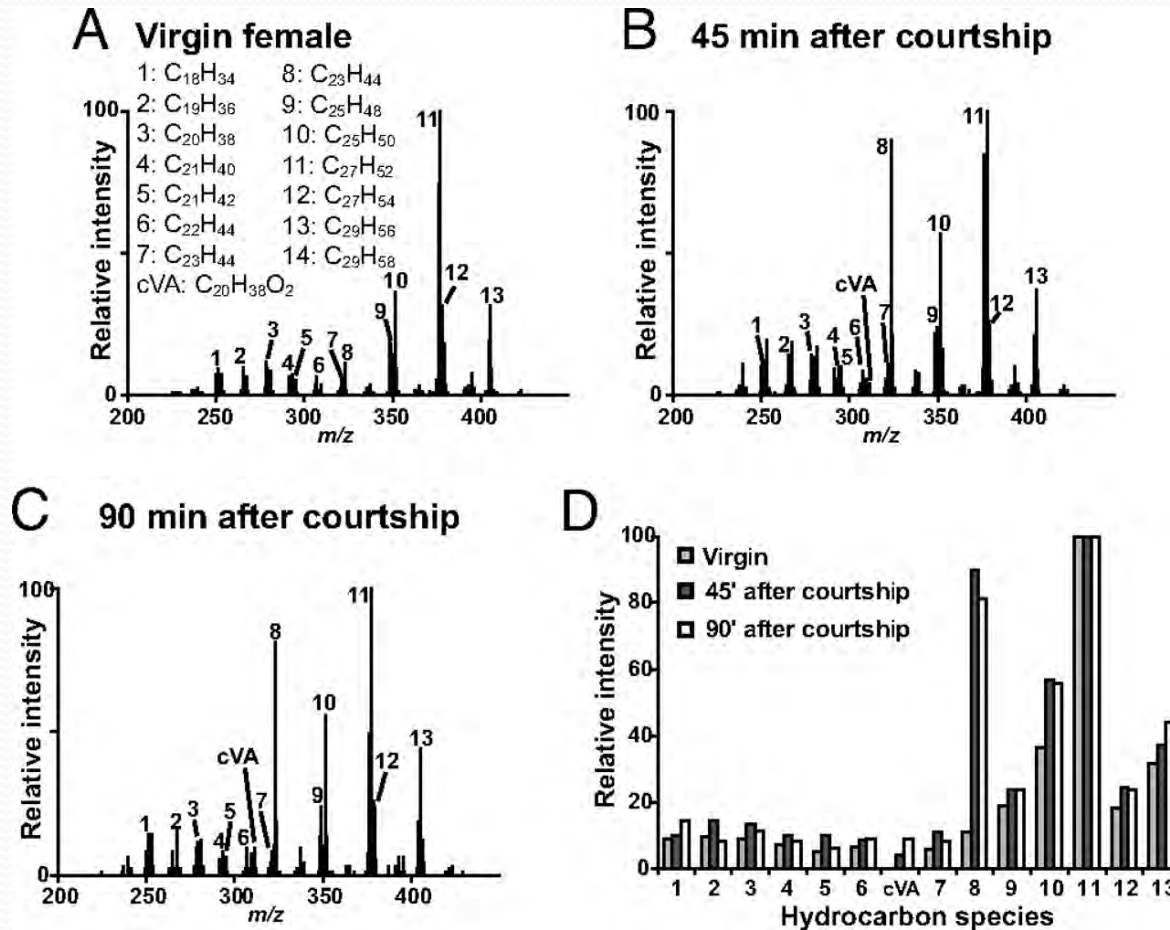


D



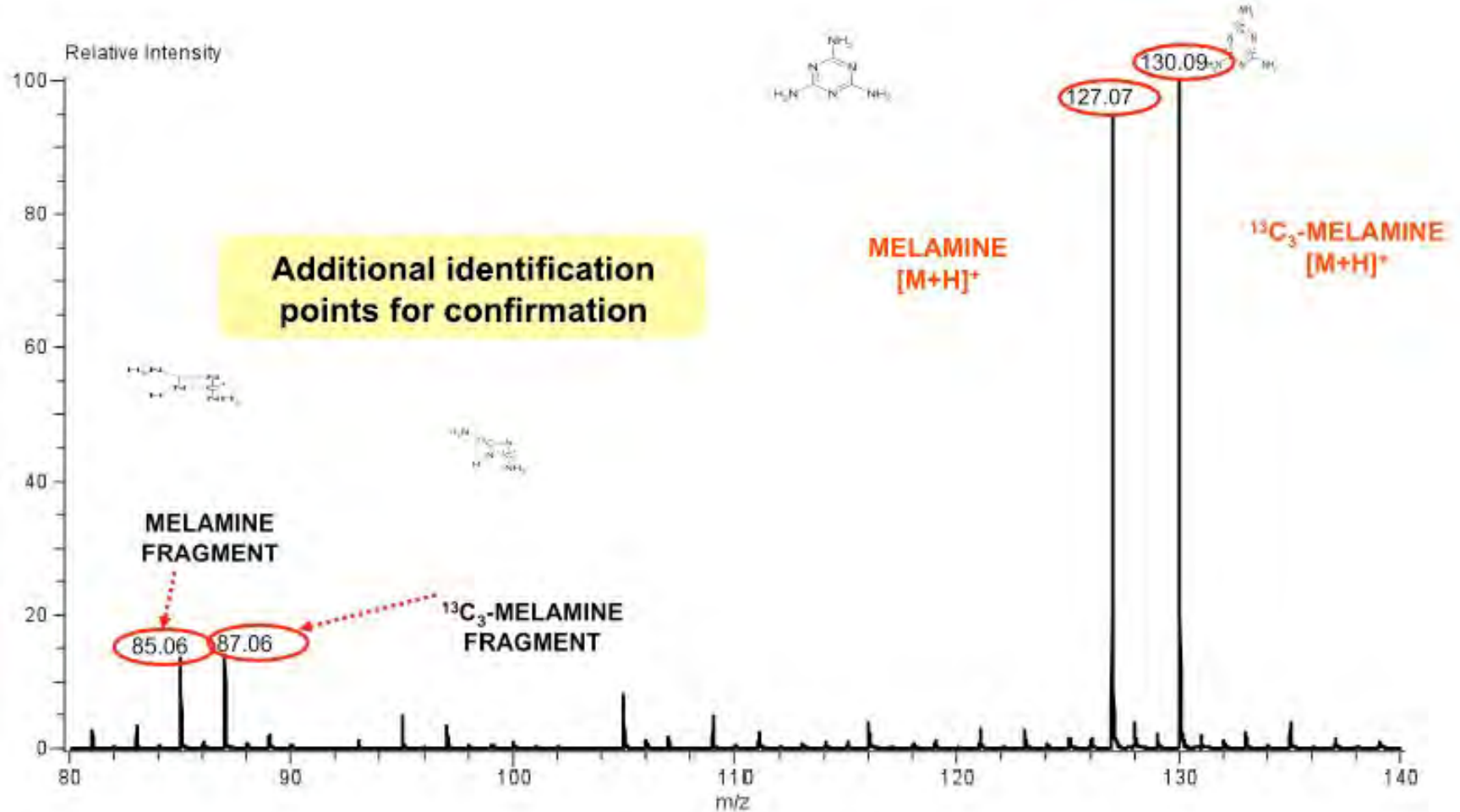
Joanne Y. Yew, Robert B. Cody, and Edward A. Kravitz, Cuticular hydrocarbon analysis of an awake behaving fly using direct analysis in real-time time-of-flight mass spectrometry, *PNAS*, **105**, 7135-7140 (2008)

同じ個体の雌のケミカルプロファイルの変化が 求愛の前後に観察されました



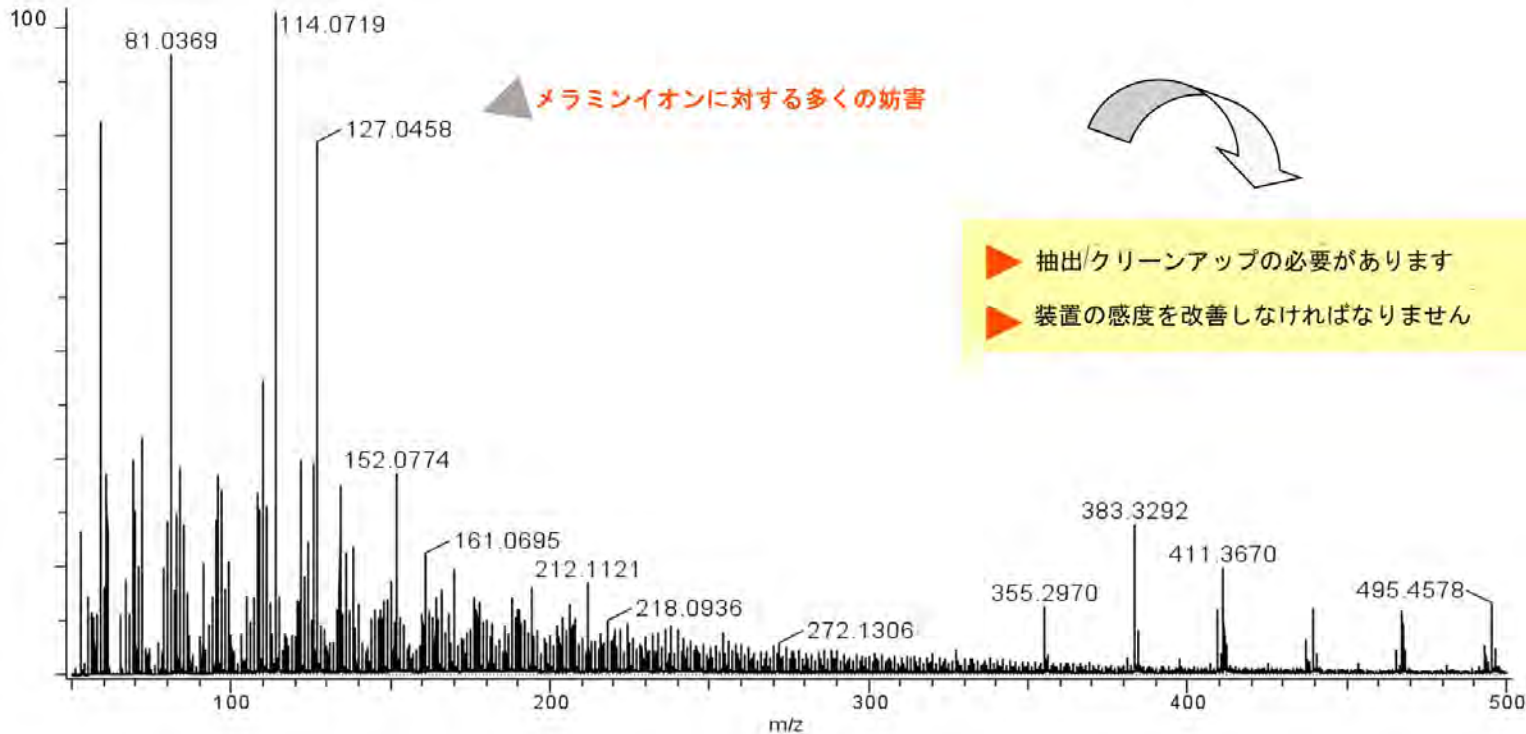
Joanne Y. Yew, Robert B. Cody, and Edward A. Kravitz, Cuticular hydrocarbon analysis of an awake behaving fly using direct analysis in real-time time-of-flight mass spectrometry, *PNAS*, **105**, 7135-7140 (2008)

DART-TOF MSによるポジティブマススペクトル: スタンダードと $^{13}\text{C}_3$ -メラミン(0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)溶液

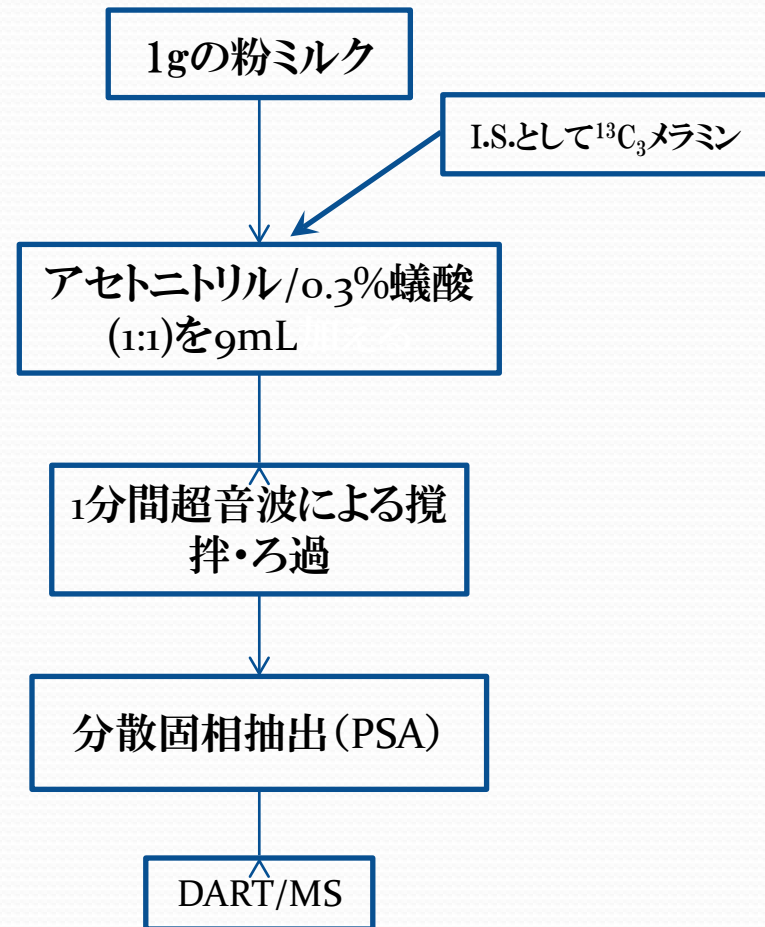
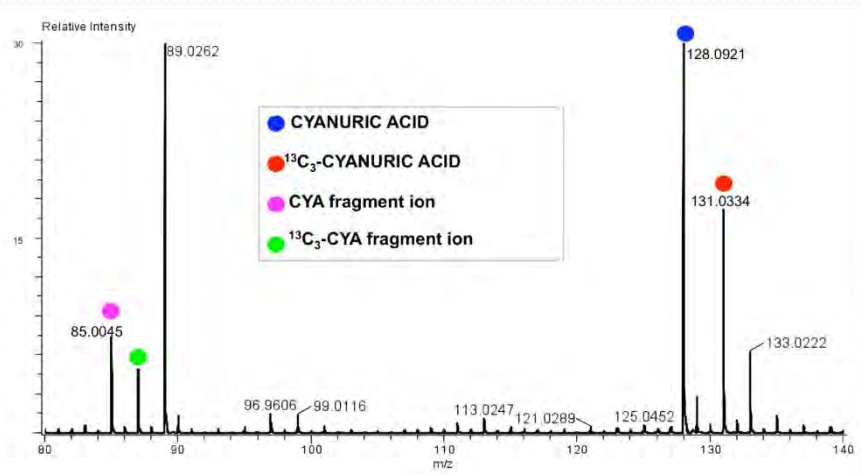
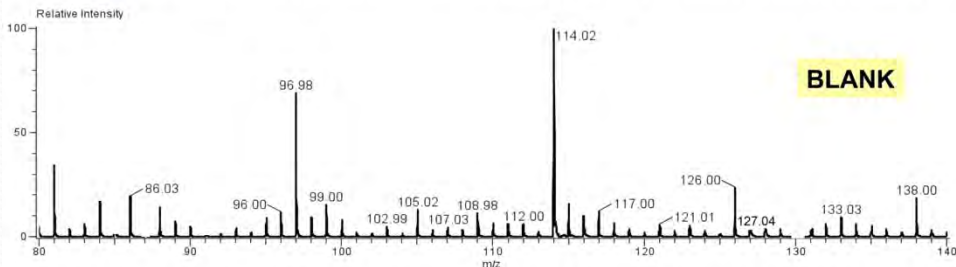
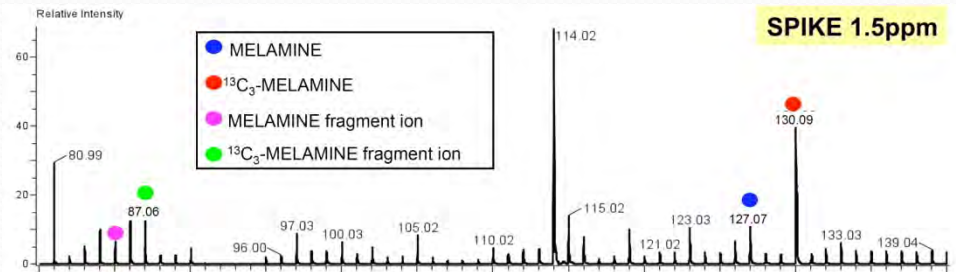


サンプル前処理を省くことができますか？

メラミンを添加した(5ppm)ミルクのDART/MS



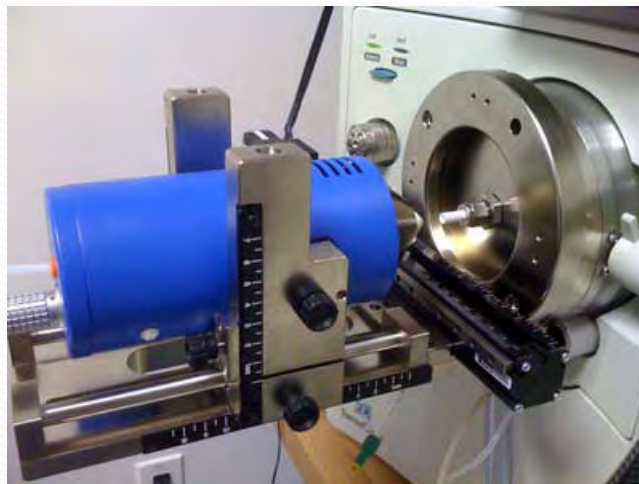
粉ミルクに添加したメラミンとシアヌル酸



互換性



AB SCIEX



Agilent Tech



BRUKER



Thermo
SCIENTIFIC

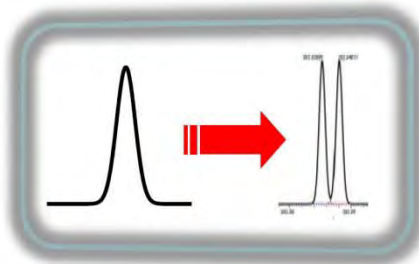


Waters

高分解能の威力



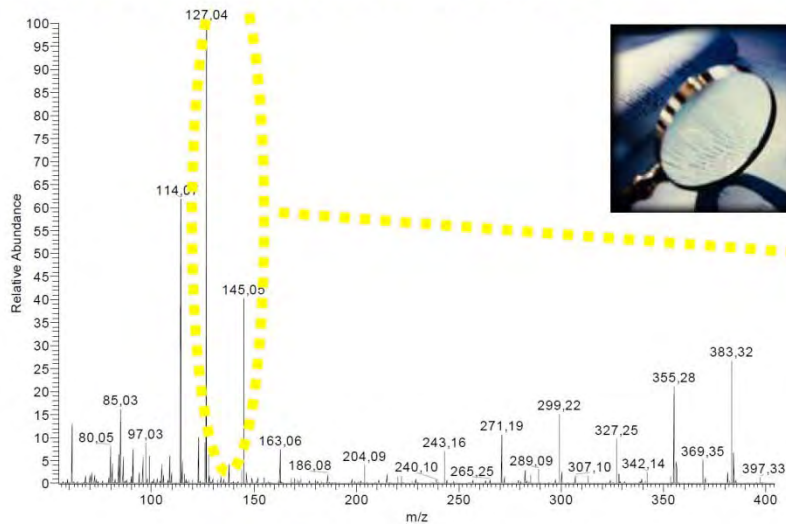
DART-TOF MS
medium resolution (1~ 6000 fwhm)



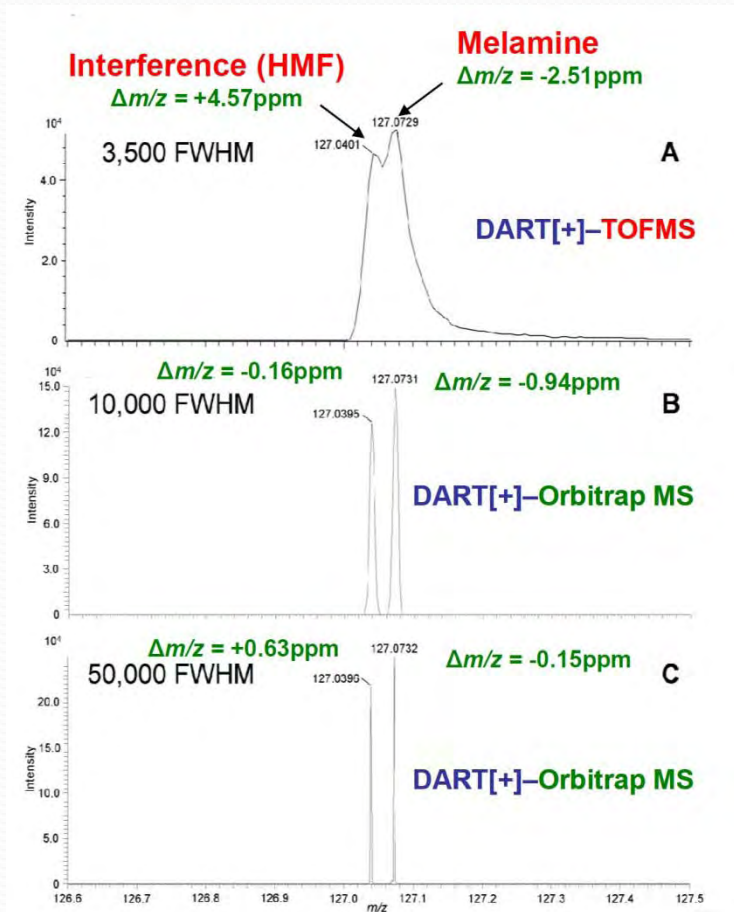
DART-Orbitrap MS
high resolution (10k-100k fwhm)

メラミンの直接分析

DART-MS FINGERPRINT OF MILK



- 高い分解能は、複雑なマトリックスにおけるメラミンの直接分析に必要です
- より高い分解能で質量の正確さは向上します
- ヒドロキシメチルフルフラール(HMF)とのインタフェア



まとめ

- DART®は、開放系におけるイオン化技術の一つです。全自動で多検体を処理することができます。
- DART®は、多少の前処理を行っても、全体のスループットは、従来のLC/MSやGC/MSに比べ非常に効率良く行うことができます。
- 液体による前処理を行ったLC/MSに比べ多くの成分を検出することができます。
- しかしDART®は、万能ではありません。温度や抽出溶媒、二量体イオンや脱水による問題をもっています。この事を踏まえて実験を行うことでガス体や揮発性の試料から金属の様な物まで幅広いアプリケーションに対応します。

使用した資料・参考文献

- Robert B. Cody, Direct Analysis Under Ambient Conditions without Sample Preparation: "Instant Gratification" for Small Molecule Analysis, Conference on Small Molecule Science **CoSMoS 2005** Presentations. August 8-11, 2005
- Harris, G. A.; Fernandez, F. M. Simulations and Experimental Investigation of Atmospheric Transport in an Ambient Metastable-Induced Chemical Ionization Source. *Anal. Chem.*, **81**, 322-329, 2009
- Jana Hajslova, Lukas Vaclavik, Lipodomic fingerprinting: a novel approach to detect fraudulent fats containing high levels of contaminants (3-MCPD esters and others), Detection Technologies for Intentionally Added Adulterants/Contaminants, 11th Annual Fera/JIFSAN Symposium, York – UK, 16-18 June 2010
- Joseph Tice, Douglas Simmons, Michael Festa, James A. Hill, Brian D. Musselman, Development of a "Greener" Ionization source for Ambient Desorption Ionization with Nitrogen Gas, *ASMS 2009*,
- Jana Hajslova, The Use of DART MS for Characterizing Food, 10th joint CSL / JIFSAN symposium on Food Safety and Nutrition, Methods and Systems for Tracking, Tracing, and Verifying Foods, MD, USA, May 13-15 2009,
- Matthew Sharman, Richard J Fussell & Danny Chan, Ambient ionization coupled to hybrid MS: A new technique for food quality / safety control?, 124th AOAC Annual Meeting & Exposition, Florida **USA**, September 26-29, 2010
- Justin Gordon; Elizabeth Crawford; Jing-Tao Wu; Brian D. Musselman; Ming-xiang Liao; Bei-Ching Chuang; Cindy Xia; David Ho; Lily Li; Shaoxia Yu, Quantitative Analysis of Dried Blood Spots by DART (Direct Analysis in Real Time) /MS/MS without Sample Preparation, 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry (ASMS 2010), Utah, USA

使用した資料・参考文献

- Robert B. Cody, DART and Trace Evidence (a bag of tricks for using DART), National Forensic Science Technology Center Largo, Florida, August 12-13, 2008
- Luke K Ackerman, Gregory O Noonan, Timothy H Begley, 4th International Symposium on Food Packaging, Praha, CzR November 19-21, 2008
- Screening of Forensic Drug Samples using Direct Analysis in Real Time (DART) with Time of Flight Mass Spectrometry :Pamela Reynolds Jeff Leibowitz and Robert Mothershead Chemistry Unit FBI Laboratory
- E.Jagerdeo, J. Leibowitz, J. Clark, L. Schumacher, M. Lebeau, Rapid Analysis with DART™ Source Coupled to TOF; Forensic Applications, Pittcon 2006, Orlando
- Joanne Y. Yew, Robert B. Cody, and Edward A. Kravitz, Cuticular hydrocarbon analysis of an awake behaving fly using direct analysis in real-time time-of-flight mass spectrometry, *PNAS*, **105**, 7135-7140 (2008)
- 草井明彦、リアルタイム直接質量分析法の原理と応用、ぶんせき、124 (2007)