

Strona czasopisma: <http://analit.agh.edu.pl/>

Plazmowe źródła jonów do analizy substancji psychoaktywnych

Plasma ion source for analysis of psychoactive substances

Agnieszka Pilch^[a], Marek Smoluch^[a]

[a] AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Polska

ABSTRAKT: W niniejszej pracy opisane zostały techniki jonizacji w otoczeniu atmosferycznym (ADI-MS). W szczególności przedstawiono budowę i sposób działania wybranych plazmowych źródeł jonów (Flowing Atmospheric-Pressure Afterglow, Direct Analysis in Real Time i Dielectric Barrier Discharge Ionization) oraz ich zastosowanie do badań substancji psychoaktywnych.

ABSTRACT: In this article Ambient desorption/ionization mass spectrometry methods were described. Especially construction, principle of operation of chosen plasma ion sources (Flowing Atmospheric-Pressure Afterglow, Direct Analysis in Real Time and Dielectric Barrier Discharge Ionization) and their application for psychoactive substances detection were highlighted.

Słowa kluczowe: spektrometria mas, plazma, źródła jonów, FAPA, DBDI, DART

1. Wstęp

Wraz z postępem techniki wzrastają wymagania stawiane aparaturze do analiz chemicznych. Istotnymi parametrami są nie tylko czułość oznaczeń, czy możliwość analizy śladów, ale także czas przeprowadzenia pomiaru oraz ilość zużywanych odczynników. W tym celu prowadzone są badania nad nowymi technikami jonizacji próbek. Przykładem takich nowoczesnych technik są metody jonizacji próbki w otoczeniu atmosferycznym oparte na jonizacji plazmą. Wykorzystują one wyładowania do tworzenia reaktywnych czynników pozwalających na jonizację lub desorpcję.

Techniki ADI-MS pozwalają na skrócenie czasu pomiarów, ze względu na brak etapu związanego z przygotowaniem próbki oraz zostały użyte w badaniach nad produkcją przenośnego spektrometru masowego. Obecnie istnieje kilkadziesiąt takich technik, choć nie wszystkie z nich znalazły zastosowanie. Przykładami ich stosowania mogą być badania proteomiczne, kryminalistyczne, czy środowiskowe.

Celem niniejszej pracy jest wskazanie zastosowań technik jonizacji plazmą (FAPA, DART, DBDI) do badań substancji psychoaktywnych.

Ze względu na skrócenie czasu przygotowania próbek oraz możliwość prowadzenia pomiarów poza komorą próżniową spektrometru rozwijanych jest wiele metod jonizacji w otoczeniu atmosferycznym (ang. ADI-MS - Ambient desorption/ionization – mass spectrometry) opartych na jonizacji plazmą, pozwalających na szybkie badania. Tylko do 2013 roku w literaturze zostało opisanych ponad 40 rodzajów technik jonizacji ADI, które głównie pasują do kategorii metod bazujących na mechanizmach generowania reaktywnych czynników jonizujących/desorbujących [1]. Czynniki te mogą być generowane na dwa sposoby:

- Poprzez wytwarzanie kropelek posiadających ładunek elektryczny – są to zazwyczaj warianty źródła jonów ESI;
- Poprzez powstawanie wzbudzonych atomów gazów – z wykorzystaniem plazmy w otoczeniu atmosferycznym generowane są kombinacje elektronów, jonów, a zarazem wzbudzonych i metastabilnych molekuł i atomów.

Techniki jonizacji w otoczeniu atmosferycznym są podobne do najbardziej znanych technik jonizacji API (ang. Atmospheric Pressure Ionization) takich jak ESI, czy APCI, jednak występujące między tymi technikami różnice wpływają na możliwości stosowania. Poza łagodnymi mechanizmami jonizacji niewątpliwymi atutami technik ADI jest minimalne przygotowanie próbki, łatwość w podłączeniu do większości spektrometrów masowych oraz fakt, że źródło nie ogranicza kształtu, rozmiarów, czy stanu skupienia próbki [2]. Wszystkie te cechy sprawiają, że jonizatory typu ADI mogą być stosowane zarówno w laboratorium, jak i w terenie.

2. Plazmowe źródła jonów

Poszczególne techniki ADI różnią się między sobą temperaturą, sposobem wytwarzania plazmy oraz typem jonów biorących udział w desorpcji/jonizacji [3].

Wytwarzana plazma zazwyczaj jest skierowana bezpośrednio na badaną próbkę, z możliwością podgrzania strumienia gazu w celu zwiększenia desorpcji. Ze względu na łagodną jonizację otrzymywane widma są zdominowane przez jony $[M+H]^+$ (w trybie jonów dodatnich) i $[M-H]^-$ (w trybie jonów ujemnych) oraz nieliczne jony wielokrotnie naładowane lub fragmentacyjne. Na podstawie badań stwierdzono, że źródła oparte o jonizację plazmą znajdują zastosowanie dla cząsteczek o słabej lub umiarkowanej polarności, których górny zakres mas cząsteczkowych mieści się w przedziale od kilkuset Daltonów do około 1 kDa [4].

W źródłach ADI-MS opartych na jonizacji plazmą mogą być wykorzystane wyładowania [5]:

- Koronowe – np. DART (ang. Direct Analysis in Real Time);
- Jarzeniowe – np. FAPA (ang. Flowing Atmospheric—Pressure Afterglow);
- Z barierą dielektryczną – np. DBDI (ang. Dielectric Barrier Discharge Ionization);
- Wyładowanie wzbudzone plazmą – np. MIPDI (ang. Microwave-Inducted Plasma Desorption/Ionization).

Więcej przykładów technik ADI wzbudzanych plazmą wraz z granicami wykrywalności i najwyższymi dopuszczalnymi masami zostało przedstawionych w tabeli 1.

Techniki te znalazły szerokie zastosowanie m.in. w badaniach materiałów biologicznych (np. bakterie, owady, tkanki, metabolity, peptydy, czy białka), w farmakologii, kryminalistyce, wykrywaniu materiałów wybuchowych, proteomice oraz w badaniach środowiskowych, czy w badaniach żywności [5]. W poniższych podrozdziałach zostało opisanych kilka przykładowych technik jonizacji ADI opartych na jonizacji plazmą.

Tabela 1. Podział technik ADI-MS opartych na jonizacji plazmą.

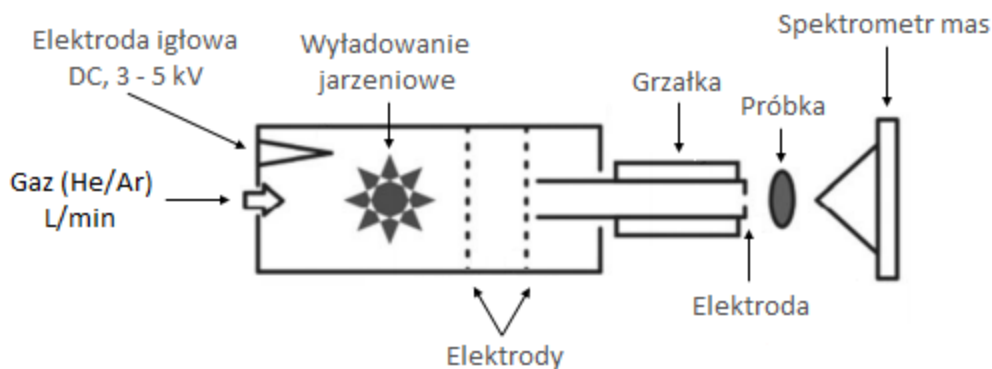
Mechanizm tworzenia plazmy	Nazwa techniki	Skrót	Granica wykrywalności	Najwyższa dopuszczalna masa [Da]
Wylądowanie koronowe	Direct Analysis in Real Time	DART	7fmol	1000
	Direct Atmospheric Pressure Chemical Ionization	DAPCI	3,4fg/mm ²	600
	Atmospheric Solids Analysis Probe	ASAP	Brak danych	700
	Desorption Corona Beam Ionization	DCBI	0,4ng	600
Wylądowanie jarzeniowe	Flowing Atmospheric-Pressure Afterglow	FAPA	0,043fmol	1200
	Plasma-Assisted Desorption Ionization	PADI	20μmol	300
	Microhollow Cathode Discharge	MHCD	0,4ng/mm ²	500
	Microfabricated Glow Discharge Plasma	MFGDP	0,25fg/mm ²	1100
Wylądowanie z barierą dielektryczną	Dielectric Barrier Discharge Ionization	DBDI	3,5pmol	400
	Low Temperature Plasma	LTP	0,6pg	500
Wylądowanie wzbudzone promieniowaniem mikrofalowym	Microwave Inducted Plasma Desorption/Ionization	MIPDI	13pg	1000
	Microwave Plasma Touch	MPT	0,5ng/mm ²	1000

2.1. Budowa źródeł jonów

2.1.1. DART

DART jest techniką ADI opartą na jonizacji plazmą, która wykorzystuje wylądowanie koronowe do wytworzenia metastabilnych atomów helu, które przepływają w podgrzanym strumieniu gazu, z którego naładowane jony i atomy są usuwane poprzez przyłożenie potencjału elektrostatycznego do płytek.

Schemat źródła jonów typu DART został przedstawiony na rysunku 1.



Rys.1 Schemat źródła jonów typu DART.

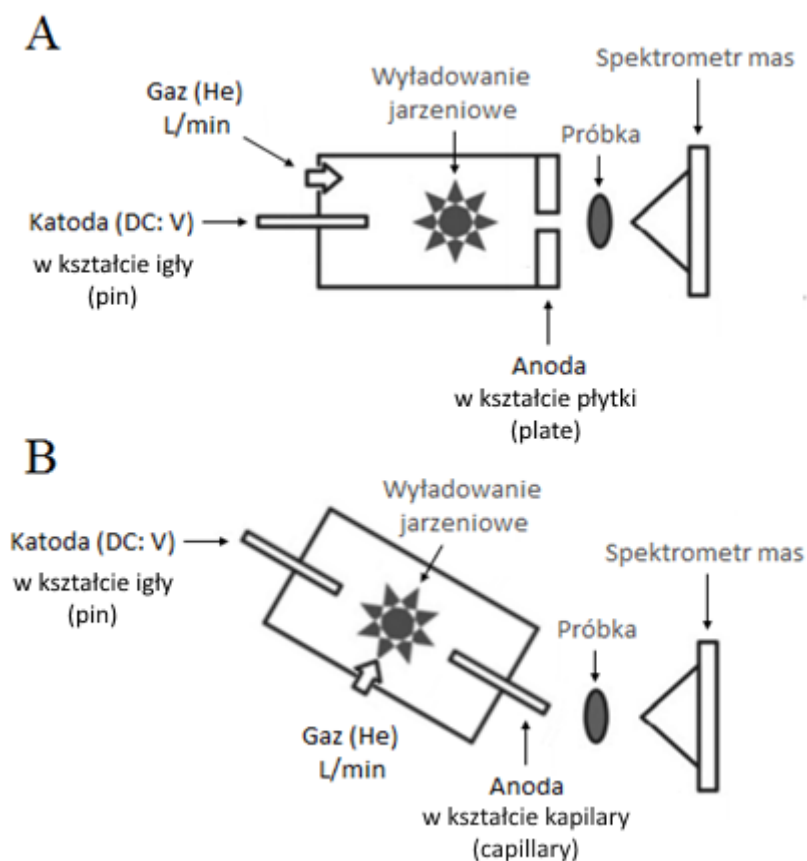
Źródło jonów DART zbudowane jest z tuby podzielonej na kilka części, przez którą przepływa argon lub hel, rzadziej azot. Na początku gaz wprowadzany jest do komory zawierającej anodę i katodę. Wyładowanie koronowe prowadzące do powstawania w plazmie jonów, elektronów i innych cząstek w stanie wzbudzonym zapoczątkowywane jest przez potencjał elektryczny rzędu kilku kilowoltów. Następnie gaz przechodzi przez komorę, w której znajduje się elektroda perforowana pozwalająca na usuwanie niepożądanych jonów ze strumienia gazu. Gaz przepływa przez trzecią część, gdzie może zostać podgrzany, a następnie kierowany jest do wylotu, gdzie może być bezpośrednio skierowany do detektora, czyli spektrometru masowego lub odbity od powierzchni próbki, a następnie wprowadzony do spektrometru [6].

W tej technice określone są optymalne kąty i odległości od próbki, jednak nie są one krytyczne, gdyż na widmach obserwowane są także jony, pochodzące ze źródeł znajdujących się w sporej odległości od jonizatora DART. Temperatura wprowadzanego gazu może wahać się od temperatury pokojowej, do nawet 250°C, jednak zazwyczaj jest to kilkadziesiąt stopni.

2.1.2. FAPA

Kolejną techniką opartą na jonizacji plazmą jest FAPA. Wykorzystywane jest wyładowanie jarzeniowe do generowania wzbudzonych atomów helu i reaktywnych jonów, które tworzą poza strefą tego wyładowania obszar zwany z ang. obszarem flowing afterglow [7].

Schematy źródeł jonów typu FAPA pin-to-plate oraz pin-to-capillary zostały pokazane na rysunku 2.



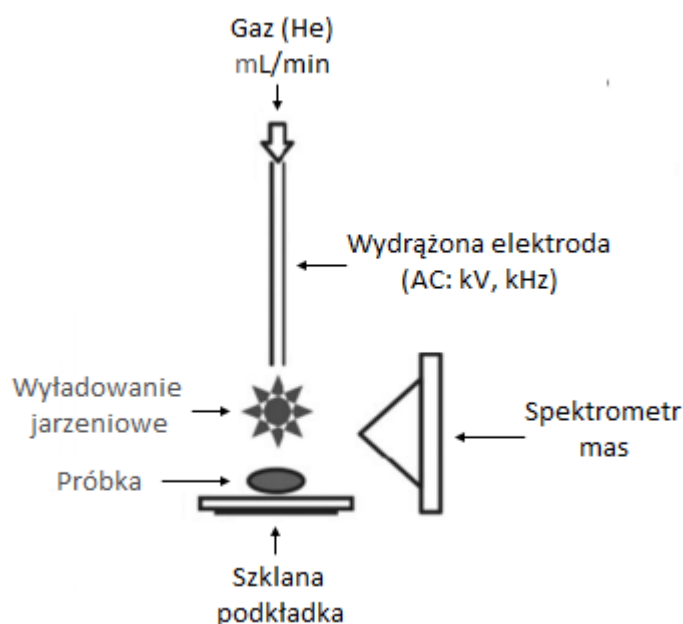
Rys.2 Schemat źródła jonów typu FAPA a) pin-to-plate oraz b) pin-to-capillary.

Jako pierwsze zostało opracowane źródło typu pin-to-plate, w którym wyładowanie jest wytwarzane pomiędzy ujemnie naładowaną katodą w kształcie igły o średnicy około 1 mm, a anodą, będącą płytką z niewielkim otworem, umożliwiającym przepływ powstających w wyniku wzbudzenia cząstek do otwartej atmosfery i reagowanie z próbką oraz gazami z otoczenia. Elektrody zostały przymocowane do obojętnej, dielektrycznej obudowy, a odległość między nimi wynosi od 4 do 10 mm. Do jonizacji wymagany jest prąd rzędu 5 do 50 mA, potencjał niższy niż 700 V oraz gaz, którym zazwyczaj jest hel. Temperatura plazmy to około 500°C, a poza nią poniżej 50°C. Ta technika pozwala na uzyskiwanie prostych widm, zawierających niemal wyłącznie protonowane jony. Limit detekcji zarówno związków polarnych jak i niepolarnych jest rzędu pojedynczego femtomola. W wyniku jonizacji występuje liczne utlenianie oraz rejestrowane jest znaczne tło, co ogranicza czułość techniki, dlatego opracowana została technika pin-to-capillary, w której zarówno anoda, jak i katoda mają kształt igieł o niewielkiej średnicy. Zapobiega to dyfuzji tlenu z atmosfery w obszar wyładowania oraz tworzeniu rodników tlenu, które były odpowiedzialne za utlenianie [8].

2.1.3. DBDI

Innym przykładem jest DBDI, która jest najnowszą z prezentowanych w niniejszej pracy techniką jonizacji plazmą w otoczeniu. Podczas tworzenia plazmy wykorzystywana jest bariera dielektryczna pomiędzy elektrodami.

Na rysunku 3 przedstawiono schemat źródła jonów DBDI.



Rys.3 Schemat źródła jonów typu DBDI.

Źródło DBDI zbudowane jest z kwarcowych kapilar o średnicy wewnętrznej około 1 mm. W źródle występują wyładowania elektryczne, między elektrodami rozdzielonymi barierą dielektryczną, która pozwala na ograniczenie średniej gęstości prądu w gazie, tworząc stabilną i niskotemperaturową plazmę o wysokiej zawartości wysokoenergetycznych elektronów [9]. W celu wytworzenia wyładowania, do elektrody przykładane jest wysokie napięcie (ok. 4 kV) oraz prąd zmienny o częstotliwości około 20 kHz. Jonizacja jest złożonym procesem i składa się z kilku etapów, takich jak bombardowanie szybkimi atomami, jonizację i przeniesienie elektronu oraz jest zależna od biegunowości gazu, powinowactwa protonów, czy rodzaju analitu [10].

2.2. Zastosowanie

2.2.1. DART

Jonizatory typu DART wykazały zdolność jonizacji substancji odurzających w różnych matrycach (mocz, krew, ślina) w ciągu kilku minut z pominięciem etapu przygotowania próbki, dzięki czemu możliwa była ich detekcja przy użyciu spektrometru mas. Wykorzystując DART-MS możliwe było wykrycie THC oraz kannabidiolu na próbkach włosów pochodzących od osób długotrwale palących marihuanę [11].

Źródło jonów DART zostało zastosowane także w kryminalistyce do określania składników mieszanin narkotyków. Technika ta wykazuje wysoki potencjał do badań substancji psychoaktywnych i leków. Pozwala na identyfikację próbek o wysokim stężeniu analitów (np. dla szybkiej analizy przesiewowej) lub o niskim stężeniu (biologiczne dodatki w napojach, zanieczyszczenia, czy narkotyki na powierzchniach lub w moczu). Analizy ilościowe przy użyciu techniki DART są skomplikowane, a miarodajne wyniki można uzyskać jedynie dla próbek ciekłych, ponieważ konieczne jest wykonanie kalibracji z użyciem próbek odniesienia (które nie są dostępne dla próbek stałych) [12].

DART pozwoliło na przebadanie narkotyków takich jak: amfetamina, pseudoefedryna, metamfetamina, ketamina, fencyklidyna (PCP), morfina, kokaina, THC, heroina i fentanyl. Dla wymienionych narkotyków zbadano optymalne parametry przeprowadzenia pomiaru (temperatura

strumienia helu, napięcie oraz rozpuszczalnik) [13]. Badania wykazały możliwość detekcji substancji znajdujących się na:

- 1) Tkaninach (np. dywany, ubrania);
- 2) Powierzchniach (szkło, ściany, podłogi);

Wciąż konieczne jest wykonanie wielu dodatkowych badań, gdyż brak jest wystarczającej ilości systematycznych wyników dających możliwość porównania i realnej oceny możliwości tej techniki.

2.2.2. FAPA

Jonizatory Flowing Atmospheric-Pressure Afterglow są nowoczesnymi narzędziami umożliwiającymi jednoetapowe badania nielegalnych substancji i ich metabolitów (np. amfetamina, kokaina, czy heroina), pozwalające nie tylko na ich detekcję, ale także na poznawanie mechanizmów uzależnień, wpływu narkotyków na organizm oraz metabolizmu [14].

Źródło jonów FAPA ze względu na możliwość szybkiej identyfikacji składników dopalaczy może być stosowane do przesiewowych badań na oddziałach ratunkowych (w sytuacji, gdy pacjent nie jest świadomy, co dokładnie zażył lub jest nieprzytomny). Możliwości analizy i czułość metody znacznie maleją w przypadku związków o masie cząsteczkowej wyższej od 400 Da [15].

2.2.3. DBDI

Technika DBDI wykorzystana została w przenośnym spektrometrze masowym ze względu na jej szerokie zastosowanie, wysoką czułość oraz zwiększenie przewodności pomiędzy źródłem, a analizatorem masy. Tak skonstruowane urządzenie pozwoliło na czułość wystarczającą do wykrycia 1ppm amfetaminy, 0,1 ppm metamfetaminy, czy 10ppm kokainy rozpuszczonej w roztworze węgla potasu [16].

Przy użyciu DBDI sprzężonego z chromatografią cieczową i spektrometrem masowym przeprowadzone zostały badania antybiotyków oraz substancji psychoaktywnych, takich jak 9THC, czy kokaina [17].

Literatura

- [1] Horvatic V., Vadla C., Franzke J.: Discussion of fundamental processes in dielectric barrier discharges used for soft ionization, *Spectrochimica Acta Part B* 100 (2014) 52–61.
- [2] Marcus R.K., Burdette C.Q., Manard B.T., Zhang L.X.: Ambient desorption/ionization mass spectrometry using a liquid sampling–atmospheric glow discharge (LS-APGD) ionization source, *Anal Bioanal Chem* (2013) 405:8171–8184.
- [3] Harris G.A., Galhena A.S., Fernández F.M.: Ambient Sampling/Ionization Mass Spectrometry: Applications and Current Trends, *Anal. Chem.* 2011, 83, 4508-4538.
- [4] Shelley J.T., Wiley J.S., Chan G.C.Y., Schilling G.D., Ray S.J., Hieftje G.M.: Characterization of direct-current atmospheric-pressure discharges useful for ambient desorption/ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 20, 837–844 (2009).
- [5] Ding X., Duan Y.: Plasma-based ambient mass spectrometry techniques: The current status and future prospective, *Mass Spectrom Rev.* 2015 Jul-Aug; 34(4):449-73.
- [6] Cody R.B., Laramée J.A., Durst H.D.: Versatile New Ion Source for the Analysis of Materials in Open Air under Ambient Conditions, *Anal. Chem.*, 2005, 77 (8), pp 2297–2302.
- [7] Albert A., Shelley J.T., Engelhard C., Plasma-based ambient desorption/ionization mass spectrometry: state-of-the-art in qualitative and quantitative analysis, *Anal Bioanal Chem.* 2014 Oct;406(25):6111-27.
- [8] Brüggemann M., Karu E., Hoffmann T., Critical assessment of ionization patterns and applications of ambient desorption/ionization mass spectrometry using FAPA–MS, *Journal of Mass Spectrometry* 2016, Volume 51, Issue 2, 141–149.
- [9] Domin M., Cody R., Ambient Ionization Mass Spectrometry, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2015.
- [10] Cegłowski M., Smoluch M., Babij M., Gotszalk T., Silberring J., Schroeder G., Dielectric barrier discharge ionization in characterization of organic compounds separated on thin-layer chromatography plates, *PLoS One.* 2014 Aug 29;9(8).

- [11] Smoluch M., Mielczarek P., Silberring J., Plasma-based ambient ionization mass spectrometry in bioanalytical sciences, *Mass Spectrom Rev.* 2016 Jan-Feb;35(1):22-34.
- [12] Duvivier, W. F., Beek, T. A., Pennings, E. J., Nielen, M. W. (n.d.). Rapid analysis of Δ -9-tetrahydrocannabinol in hair using direct analysis in real time ambient ionization orbitrap mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 28(7):682-90.
- [13] Chernetsova E.S., Morlock G.E., Determination of drugs and drug-like compounds in different samples with direct analysis in real time mass spectrometry, *Mass Spectrom Rev.* 2011 Sep-Oct;30(5):875-83.
- [14] Sovocool G.W., Grange A. H., Detection of illicit drugs on surfaces using direct analysis in real time (DART) time flight mass spectrometry, *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2011 May 15;25(9):1271-81.
- [15] Smoluch M., Mielczarek P., Reszke E., Hieftje G.M., Silberring J., Determination of psychostimulants and their metabolites by electrochemistry linked on-line to flowing atmospheric pressure afterglow mass spectrometry, *Analyst.* 2014 Sep 7;139(17):4350-4355.
- [16] Smoluch M., Reszke E., Ramsza A., Labuz K., Silberring J., Direct analysis of methcathinone from crude reaction mixture by flowing atmospheric-pressure afterglow mass spectrometry, *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2012 Jul 15;26(13):1577-80.
- [17] Kumano S., Sugiyama M., Yamada M., Nishimura K., Hasegawa H., Morokuma H., Inoue H., Hashimoto Y., Development of a portable mass spectrometer characterized by discontinuous sample gas introduction, a low-pressure dielectric barrier discharge ionization source, and a vacuumed headspace technique, *Anal Chem.* 2013 May 21;85(10):5033-9.
- [18] Gilbert-López B., García-Reyes J.F., Meyer C., Michels A., Franzke J., Molina-Díaz A., Hayen H., Simultaneous testing of multiclass organic contaminants in food and environment by liquid chromatography/dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry, *Analyst.* 2012 Nov 21;137(22):5403-10.