

УДК 543.51

Современные методы масс-спектрометрического анализа органических соединений

Н. А. Ключев, Е. С. Бродский

НИКОЛАЙ АЛЕКСЕЕВИЧ КЛЮЕВ — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией аналитической экотоксикологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН. Область научных интересов: структурный анализ органических соединений, теоретическая органическая химия, молекулярная масс-спектрометрия, экология.

ЕФИМ СОЛОМОНОВИЧ БРОДСКИЙ — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической экотоксикологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН. Область научных интересов: анализ нефтей, молекулярная масс-спектрометрия и хромато-масс-спектрометрия, экология.

119071 Москва, Ленинский просп., 33. тел./факс (095)135-13-80, E-mail kluyv@online.ru, efbr@mail.ru

Масс-спектрометрия — один из наиболее мощных и информативных методов исследования структуры органических соединений и химического анализа сложных веществ и их смесей. Это прямой метод, позволяющий непосредственно определять молекулярную массу, элементный состав молекул и их фрагментов, их связь между собой и взаимное расположение, изучать механизмы фрагментации [1]. На основании этих данных находятся корреляционные зависимости между структурными характеристиками молекул и ионов, образующихся в результате распада молекул при ионизации. Помимо этого в масс-спектрометрическом эксперименте изучают процессы передачи энергии при взаимодействии молекул с электронами и ионами, перегруппировки атомов в образующихся ионах и влияние определенных функциональных и структурных групп на процессы ионизации и фрагментации.

Масс-спектральная информация может служить базой для выяснения связи между структурой молекулы и ее реакционной способностью в химических реакциях. Это касается, прежде всего, термолиза, фотолиза и реакций радикального типа, а также перегруппировок, протекающих, согласно принципам сохранения орбитальной симметрии, через циклическое переходное состояние (реакции Фишера, Пилоти, перегруппировка Бекмана и др.) [2—6]. Важность этого направления масс-спектрометрии связана не только с решением структурных задач, но и возможностью исследования механизма ионных реакций, которые играют большую роль в органической химии. В связи с этим развитие метода шло по пути поиска новых способов ионизации термолабильных, высокополярных, координационных соединений и органических солей, а также совершенствования техники установления структуры ионов — масс-спектрометрия метастабильных ионов и ионный циклотронный резонанс [7—11].

В последнее время приоритетными задачами в практике масс-спектрометрии стали аналитический контроль окружающей среды, исследование лабильных органических веществ и больших природных биомолекул, многокомпонентный анализ сложных смесей органических веществ, в том числе ультраследовый анализ (10^{-9} — 10^{-15} г), установление строения больших органических молекул, таких как витамины, пептиды, последовательности нуклеотидов и нуклеозидов, изучение метаболизма и др. [7, 8].

Аналитическое применение масс-спектрометрии, требующее получения высокой чувствительности и селективности определения, реализуется путем сочетания ее с эффективными методами разделения, такими как газовая и жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез.

Методы ионизации, разделения ионов и детектирования

Основным, наиболее часто применяемым в масс-спектрометрии методом ионизации до сих пор остается электронный удар. Молекулы в газовой фазе бомбардируются пучком электронов, эмиттируемых нагретым до высокой температуры катодом и ускоренным до заданной энергии разностью потенциалов между анодом и катодом. Катод изготовлен обычно из вольфрамовой или ренийевой проволоки. Ионизация происходит в вакууме (10^{-5} — 10^{-7} торр). Для большинства органических молекул энергия ионизации равна 7—12 эВ. Эффективность ионизации растет с увеличением энергии ионизирующих электронов, достигая максимума при 30—40 эВ, затем медленно спадает. Энергия электронов в масс-спектрометрах с ионизацией электронным ударом обычно составляет 50—70 эВ. Под воздействием ионизирующих электронов молекулы приобретают избыточную энергию, которая вызывает деструкцию молекулярного иона $[M]^+$ с обра-

зованием осколочных (фрагментных) и перегруппировочных ионов, характеризующих структуру изучаемого вещества. Масс-спектрометрия электронного удара дает наиболее воспроизводимые масс-спектры индивидуальных соединений. Основной вклад в среднюю относительную погрешность измерений вносят малоинтенсивные пики ионов, которые, как правило, не используются для структурных отнесений. Средняя относительная погрешность значений пиков ионов, зарегистрированных на различных масс-спектрометрах при одинаковом их режиме, составляет 15 %.

Кроме осколочных и перегруппировочных ионов при ионизации электронным ударом образуются многозарядные ионы (преимущественно двузарядные $[M]^{2+}$) и метастабильные ионы, масс-спектры которых (техника IKES [9], MIKES [10], DADI [11] и др.) показывают последовательность фрагментации от каждого иона. Масс-спектрометрия метастабильных ионов позволяет отсортировать ионы в органических смесях и дает хорошие результаты в тех случаях, когда сочетания газо-жидкостная хроматография—масс-спектрометрия или ВЭЖХ—масс-спектрометрия малоэффективны (анализ трудноразлетучих или малорастворимых веществ) [12]. Двузарядные ионы служат критерием ароматичности соединений и определяют их принадлежность к π -донорным или π -акцепторным системам [13, 14]. Теоретическое обоснование правомерности проведения аналогий между масс-спектрометрической фрагментацией и химическими реакциями в газовой фазе изложено в ряде работ [15—22].

К сожалению, масс-спектрометрия электронного удара имеет существенный недостаток. Из сферы ее применения, как структурного метода, выпадают термолabile соединения (в большинстве своем природные соединения), высокомолекулярные вещества, органические соли, металлокомплексные соединения и даже некоторые классы органических соединений (углеводороды, алифатические спирты и амины и т.д.), не дающие пика $[M]^+$ в масс-спектрометрии электронного удара.

Другой метод ионизации — химическая ионизация с образованием положительных и отрицательных ионов (положительная и отрицательная химическая ионизация) базируется на протекании ионно-молекулярных реакций в газовой фазе.

В 1952 г. Тальрозе и Любимова [23] впервые обнаружили в ионизационной камере масс-спектрометра ион метония $[CH_5]^+$. Первые масс-спектры с химической ионизацией простых веществ C_2H_6 , $n-C_3H_8$, H_2O , NH_3 были получены в 1965 г. Филдом и Мансоном [24, 25]. В настоящее время этот вариант масс-спектрометрии широко используется в практике научных исследований и аналитической химии.

Химическая ионизация с образованием положительных ионов позволяет увеличить интенсивность пика молекулярного иона и в случае лабильных молекул более четко проследить основные направления фрагментации. Для получения оптимального масс-спектра по соотношению пиков молекулярных и осколочных ионов требуется подбор газа-реагента и условий ионизации. Чувствительность метода зависит от природы исследуемого вещества и условий ионизации и не превышает чувствительности метода с ионизацией электронным ударом.

Система газовая хроматография—масс-спектрометрия с положительной химической ионизацией используется в основном для получения масс-спектров, содержащих пик молекулярного иона $[M]^+$ или квази-молекулярного иона $[M+H]^+$, по которому можно определять молекулярную массу анализируемого соединения. При этом осколочных ионов регистрируется мало, что затрудняет определение структуры молекул, поэтому этот метод применяется в основном как дополнительный к системе газовая хроматография—масс-спектрометрия электронного удара.

Масс-спектрометрия с отрицательной химической ионизацией обладает очень высокой чувствительностью и селективностью к соединениям с большим сродством к электрону, например, галогенсодержащим веществам. Рекордная чувствительность в масс-спектрометрии достигнута именно этим методом — ниже 10^{-16} г. Так же, как и в случае положительной химической ионизации, требуется подбор газа-реагента и условий ионизации. Чувствительность зависит от структуры молекул и условий ионизации [26].

Многие органические вещества невозможно испарить без разложения, следовательно, их нельзя ионизировать электронным ударом и методом химической ионизации. К таким веществам относятся большинство биологических молекул (белки, ДНК и т.д.), физиологически активные вещества, полимеры, а также многие высокополярные вещества. Для масс-спектрометрического анализа таких веществ используются специальные методы ионизации.

Десорбционно-полевая ионизация осуществляется путем десорбции ионов органического вещества, нанесенного на эмиттер (специальный активированный анод), под действием сильного неоднородного электрического поля. Активированный анод обычно представляет собой вольфрамовую проволоку диаметром 10 мкм, покрытую микроскопическими углистыми иглами-дендритами, получаемыми пиролизом бензонитрила. Чувствительность этого метода зависит от природы вещества, а также от качества игл эмиттера и других экспериментальных факторов, она может достигать 10^{-11} г [27, 28]. Качество масс-спектров при десорбционно-полевой ионизации зависит от смачиваемости эмиттеров.

Поскольку оптимальные условия ионизации и десорбции различны для каждого вещества, для анализа смесей этот метод непригоден. Главным образом данный метод применяется для определения малых количеств высокополярных веществ в свободном виде. Основные объекты анализа: сахара, фосфорорганические соединения, олигосахариды, гликозиды, глюкоурониды, нуклеозиды и нуклеотиды, витамины, аминокислоты и пептиды, лекарственные препараты и их метаболиты [29—37].

Молекулярно-вторично-ионная масс-спектрометрия и масс-спектрометрия с бомбардировкой быстрыми атомами получили свое развитие в период 1979—1982 гг. [38—40]. Эти методы по существу вытеснили метод масс-спектрометрии с десорбционно-полевой ионизацией. Такой успех связан прежде всего с простотой эксперимента, воспроизводимостью масс-спектров, появлением наряду с ионами $[M]^+$ и $[M+H]^+$ осколочных ионов, отвечающих за определение структурных фрагментов изучаемой молекулы, возможностью работы с положительными и отрицательными ионами.

Различий между двумя указанными методами ионизации фактически нет. В обоих методах исследуемые вещества бомбардируются быстрыми частицами и производится измерение вылетевших из матрицы (обычно глицерин) вторичных ионов. Единственное различие заключается в природе бомбардирующих частиц — ионы в первом случае и нейтральные частицы (Xe, Ar) во втором случае. Ограничивающим фактором является полное растворение вещества в глицериновой матрице, но в настоящее время ассортимент предлагаемых матриц существенно расширен (триэтиленгликоль, полиэтиленгликоль, тритон X, триэтанолламин и др.) [41, 42].

Метод бомбардировки быстрыми атомами используется для ионизации труднолетучих и нелетучих веществ. По этому методу ускоренный поток атомов инертного газа, чаще всего ксенона, с энергией 3—10 кэВ (полученный нейтрализацией пучка ионов путем перезарядки или захвата электронов) бомбардирует мишень с пробой. Анализируемое вещество вводится в специальную матрицу из глицерина, тиоглицерина или другого материала, обеспечивающего постоянное обновление поверхности молекулами анализируемого веществ. Для получения полного масс-спектра достаточно 5 нг вещества. Масс-спектры содержат пики протонированных и депротонированных молекулярных ионов $[M+H]^+$ и $[M-H]^+$, а также осколочных ионов. Характерной особенностью масс-спектров, регистрируемых при бомбардировке быстрыми атомами, является наличие пиков ионов-аддуктов с катионами Na^+ , K^+ или Li^+ . Ионы, образующиеся из самой матрицы, создают значительный фон, который частично может быть уменьшен добавлением соединений, «тушащих» процессы ионизации матрицы. При современных методах обработки масс-спектров возможна операция по вычитанию фона («шума») матрицы. Названные методы лишены недостатков масс-спектрометрии с десорбционно-полевой и химической ионизацией. Однако следует иметь в виду, что используемая жидкая матрица представляет собой реакционную среду, и некоторые вещества, например иммониевые соли, взаимодействуют с ней (в частности с глицерином).

Возможные объекты структурных исследований методами молекулярно-вторично-ионной масс-спектрометрии и масс-спектрометрии с бомбардировкой быстрыми атомами чрезвычайно многообразны. Это прежде всего лабильные органические соединения [39, 40, 46], природные соединения [41, 42] и координационные соединения [32, 33], органические соли [43—45].

В настоящее время в масс-спектрометрии находят применение и такие методы, как электрораспыление, химическая ионизация при атмосферном давлении, а также лазерная десорбция из матрицы [38, 43, 47, 48]. В случае электрораспыления раствор анализируемого вещества (в частности элюат ВЭЖХ) подается под давлением из узкого капилляра с огромной скоростью в область неоднородного электрического поля. Образующиеся при распылении раствора микрокапли приобретают электрический заряд. При столкновениях с молекулами газа из этих микрокапель выбиваются нейтральные молекулы растворителя, генерируемые при этом молекулярные ионы поступают через сопло

в высоковакуумную область масс-спектрометрического анализатора. Ионизация электрораспылением дает большое количество многозарядных ионов, что очень важно при анализе относительно высокомолекулярных веществ, поскольку траектории тяжелых многозарядных ионов такие же, как и более легких однозарядных ионов (траектории ионов в анализаторе определяются отношением массы к заряду).

В методе лазерной десорбции лазерный луч выбивает ионы с поверхности мишени, на которую нанесен образец со специально подобранной матрицей [49, 50]. Этот метод позволяет ионизовать молекулы с массами более 10^6 дальтон, а для усовершенствованных время-пролетных масс-анализаторов диапазон измеряемых масс теоретически неограничен. С помощью этого метода при работе лазера в импульсном режиме (5—10 нс) были зарегистрированы сверхтяжелые ионы массой 15000—20000 дальтон. Этим методом были исследованы олигосахариды, нуклеотиды и нуклеозиды, антибиотики и др. [38, 43, 49]. Данные по масс-спектрометрии с лазерной десорбцией обобщены в обзорах [51—53].

Следующий этап масс-спектрометрического процесса — разделение ионов и регистрация масс-спектра. Первыми анализаторами, использовавшимися для разделения ионов, были магнитные секторные анализаторы. В комбинации их с электростатическими секторными анализаторами, в которых разделение ионов происходит в постоянном электрическом поле, обеспечивается двойная фокусировка — по направлениям и по энергиям. При этом достигается высокая разрешающая способность по массам ионов — до 100000 и выше [7, 8]. Магнитные анализаторы применяются в масс-спектрометрии высокого разрешения для органического анализа, а также для изотопного анализа и высокоточного элементного анализа.

Наряду со значительными преимуществами современных магнитных масс-анализаторов, существенными недостатками их являются относительно большие размеры и высокая стоимость.

Квадрупольные анализаторы, появившиеся в конце 1960-х годов, получили сейчас широкое распространение благодаря небольшим размерам, малой стоимости, легкости управления, возможности быстрого сканирования масс-спектров (за доли секунды). В отличие от магнитных квадрупольные анализаторы не требуют использования высоких напряжений порядка тысяч вольт, и это упрощает их конструкцию и уменьшает размеры и стоимость.

Ионные ловушки — относительно новый тип анализатора. Они появились в 1983 г. и в настоящее время успешно конкурируют с квадрупольными анализаторами в хромато-масс-спектрометрии. Ионная ловушка, иногда называемая трехмерным квадрупольным анализатором, имеет трехмерную систему электродов: два концевых полюса гиперболической формы и центральный кольцевой электрод, также имеющий гиперболическую поверхность. Ионизация производится внутри пространства ионной ловушки импульсами электронов, пропускаемыми специальным запирающим электродом. В некоторых моделях ионизация осуществляется в источнике ионов, вынесенном за пределы ионной ловушки. Образовавшиеся ионы циркулируют в пространстве между электродами в высокочастотном поле, создаваемом высокочастотным

напряжением, приложенным к центральному электроду. При малой амплитуде приложенного напряжения все ионы циркулируют внутри ловушки. При постепенном увеличении амплитуды высокочастотного напряжения радиусы траекторий ионов возрастают, в результате достигается последовательное удаление ионов из ловушки и регистрация их детектором, расположенным за апертурной диафрагмой в центре одного из полюсов. Движение ионов происходит в атмосфере гелия при давлении около 0,1 Па [54—56].

Особенностью ионной ловушки является то, что реализуемый в ней режим SIM (селективное ионное детектирование) не дает такого значительного выигрыша в чувствительности, как в случае квадрупольного масс-анализатора, но чувствительность регистрации полного масс-спектра сравнима с чувствительностью квадрупольного масс-анализатора в этом режиме. Ионная ловушка обладает высокой чувствительностью и открывает наиболее простую возможность реализации тандемной масс-спектрометрии (последовательное соединение до десяти масс-спектрометров). Тандемные масс-спектрометрические системы, сочетающие двух-, трех-, четырехсекторные анализаторы, двойные и тройные квадруполи, системы ионциклотронного резонанса, ионные ловушки, позволяют достичь наибольшей селективности. В этом случае большинство примесных ионов удаляется на первом этапе анализа в первом анализаторе, а оставшиеся молекулярные или характерные осколочные ионы анализируемых соединений подвергаются искусственно вызванной фрагментации.

В последнее время все большую популярность получают время-пролетные (Time Of Flight, TOF) масс-анализаторы. В них ионы из источника разгоняются электрическим полем, приобретая достаточно большую кинетическую энергию, и вылетают в бесполевое пространство. На входе в это пространство все ионы имеют одинаковую кинетическую энергию. Следовательно, в зависимости от массы они будут двигаться с разными скоростями и соответственно в разное время достигнут детектора. Время пролета ионов составляет микросекунды [7, 8, 57]. На основе такого масс-анализатора можно построить масс-спектрометр с очень большим быстродействием, позволяющий получать широкий диапазон масс, т. е. с его помощью можно измерять массы макромолекул в десятки и сотни тысяч атомных единиц.

В качестве детектора ионов, как правило, используются диодные вторично-электронные умножители, в которых ион, попадая на первый диод, выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него еще большее количество электронов и т.д. В некоторых системах применяются фотоумножители, регистрирующие свечение, возникающее при бомбардировке ионами люминофора. Используются также микроканальные умножители, системы типа диодных матриц и коллекторы Фарадея [58].

Математическое обеспечение играет важную роль особенно в современном хромато-масс-спектрометрическом анализе. Это, во-первых, управление прибором и ходом эксперимента, и во-вторых, накопление и обработка данных.

Идентификация по масс-спектрам проводится после вычитания фона и разделения перекрывающихся

хроматографических пиков. Эта операция может производиться для отдельного пика и для всей хроматограммы или ее части.

Система обработки данных комплектуется библиотекой масс-спектров (универсальной, самые известные библиотеки NIST — более 100 тыс. масс-спектров и WILEY — более 230 тыс. масс-спектров, или специальной для определенного класса соединений — пестицидов, наркотиков и т.п.) и системой поиска. При невозможности найти анализируемое вещество в базе данных могут использоваться интерпретирующие системы анализа масс-спектров. Помимо данных масс-спектрометрии используются показания и других методов (хроматографические параметры удерживания, ИК- и УФ-спектры, результаты элементного состава).

Масс-спектрометрия в структурном анализе органических молекул и в изучении химических реакций

Первичные масс-спектрометрические данные позволяют сделать следующие предварительные выводы о структуре вещества:

— установить истинную молекулярную массу анализируемого соединения, фиксируя одно и то же значение массового числа (m/z) в различных условиях ионизации;

— предположить число атомов азота в соединении («азотное правило») [8];

— по мультиплетности иона $[M]^+$ определить возможное число атомов Cl, Br, S, Si в составе молекулы;

— по изотопной поправке для $[M]^+$ установить приблизительное число атомов C в составе изучаемой молекулы с погрешностью ± 2 атома [59].

На основании полученных результатов делается предварительная оценка качественного и количественного брутто-состава исследуемого соединения и уже по данным масс-спектрометрии электронного удара высокого разрешения ($M/\Delta M \geq 10000$) окончательно устанавливается элементный состав.

Такой подход к установлению структуры неизвестных веществ был реализован при изучении батуминовой кислоты, выделенной из культуры *Pseudomonas batumici nov. sp.* [60], антибиотиков кафамицина [61], гранатицина [62], галтамицина [63] и др. [64, 65], примесных компонентов в лекарственных препаратах [66], продуктов термоллиза [6, 67], фотолиза [68] и других химических реакций [69—73].

Самостоятельным разделом в масс-спектрометрии электронного удара является поиск аналогий между поведением веществ в условиях химического эксперимента и спецификой их фрагментации в масс-спектрометре. Рассмотрим такой пример. Реализация того или иного направления многих химических реакций определяется таутомерной формой соединения (в масс-спектрометрии электронного удара таутомерной формой молекулярного иона $[M]^+$). Если рассматривать таутомерные превращения в газовой фазе как обратимую формально мономолекулярную реакцию, протекающую с разрывом или образованием связей между атомами, то возможность аналитического обнаружения таутомерных форм в масс-спектрометрии [5, 74—77] очевидна, поскольку сама диссоциация иона $[M]^+$, как химического процесса, представлена мо-

номолекулярными реакциями. Время перехода одной таутомерной формы в другую составляет около $1 \cdot 10^{-7}$ с. Это значение соизмеримо с временем жизни ионов в масс-спектрометре (от их образования до их регистрации $1 \cdot 10^{-5}$ — $1 \cdot 10^{-8}$ с [8, 77, 78—84]), что показывает правомерность применения метода для определения таутомерных форм [78, 79].

В масс-спектрометрическом эксперименте были выявлены признаки, характерные для азидо-тетразольной таутомерии в различных 1,5-замещенных тетразолах [77—80]. Показано, что термолит данных соединений осуществляется через открытую азидную форму, приводящую к нитренам, способным к полимеризации и образованию замещенных имидазолов [77, 80]. Исследована прототропная таутомерия (амино-иминная) в ряду формазапов, являющихся прекрасными хелатообразующими агентами, способными к термохромным и фотохромным превращениям [81, 82]. Изучалась кето-енольная таутомерия в системе 1,2,3-триазино[2,3-*a*]бензимидазол-(4H)-3-она [83] и близких к ним триазоло[1,5-*a*]пиримидо[2,3-*d*]пиримидинов [84].

Установлено, что ход реакции Пилоти [15] определяется преимущественно диенгидразиновой формой [16]. В случае проведения реакции в другом температурном режиме (доминирует азидная и энгидразиновая форма метиларилкетазинов) таутомерная форма определяет образование других конечных продуктов — вместо замещенных пирролов и дигидропиримидинов (диенгидразиновая форма) [16] получают замещенные пиразолы и циклопропаны (енгидразиновая форма), а также производные фталазина и индазола (азидная форма) [16—18].

Теоретическое обоснование правомерности таких исследований в газовой фазе с помощью масс-спектрометрии дано в ряде работ [15—22].

Наблюдалась полная аналогия между характером фрагментации и механизмом действия гетарилированных N-ацильных гетероароматических соединений, используемых в качестве антиоксидантов [85]. В ходе изучения методом масс-спектрометрии электронного удара массива тетрагидропиримидинов, сочлененных с пяти- и шестичленными гетероциклическими и карбоциклическими остатками, установлены признаки, характеризующие устойчивость этих конденсированных систем [86]. Результаты масс-спектрометрических исследований процессов ароматизации дигидроазинов сопоставлены с экспериментальными данными по химическому окислению этих соединений и полностью коррелируют с направлением реакции окисления (моделируют гидридный перенос, протекающий при метаболизме с участием коферментов НАД(Ф)-Н [87].

Таким образом, масс-спектрометрия электронного удара является превосходным структурным методом, с помощью которого можно исследовать процессы диссоциативной ионизации в сопоставлении с механизмом протекания химических реакций самой различной природы: свободнорадикальные реакции [88], ретродиеновый распад [89, 90], фотолиз и термолит [90, 91], перегруппировки [92, 93].

Масс-спектрометрия с химической ионизацией успешно применяется для изучения структуры нелетучих и термически лабильных молекул. В качестве при-

меров можно привести применение комбинации ВЭЖХ—масс-спектрометрия для анализа синтетических пенициллинов [94—96], для исследования метаболизма лекарственных средств и пестицидов [46, 57, 64, 71], различных природных веществ [97, 98], липидов [99, 100] и многих др. Масс-спектрометрия с химической ионизацией применима для количественного определения углеводов [101], спиртов [102], аминокислот и пептидов [102, 103], стероидов [103], простагландинов, флавоноидов и других органических веществ [104—108]. Прослеживается корреляционная зависимость между интенсивностью линий ионов $[M+H]^+$ и $[M+NH_4]^+$ (газ-реагент NH_3) и основностью замещенных анилинов в газовой фазе в масс-спектрометре [25—27].

Перспективным направлением применения tandemной масс-спектрометрии с ионизацией электропылением и фрагментацией, индуцированной столкновениями, с использованием отрицательных родительских ионов, дочерних ионов и нейтральных частиц является идентификация взрывчатых веществ на основе нитроароматических соединений, нитроаминов и эфиров азотной кислоты. Пределы обнаружения большинства взрывчатых веществ составляют 5—10 пг [58].

Хромато-масс-спектрометрия и ее аналитические возможности

Применимость и аналитические качества масс-спектрометрии в значительной мере определяются возможностью ее комбинации с другими методами, такими как газовая хроматография, ВЭЖХ, капиллярный электрофорез и пиролиз [109]. Одно из первых мест в органическом анализе занимает хромато-масс-спектрометрия, которая благодаря непосредственной связи получаемых данных со структурой органических молекул обеспечивает высокую селективность определения, а также возможность идентификации неизвестных соединений в сложных смесях. Это имеет особую важность для контроля загрязнений окружающей среды, компонентов биологических жидкостей, пищевых продуктов и технических материалов [46, 65, 66].

Соединение газового хроматографа при использовании насадочных и капиллярных колонок большого диаметра и масс-спектрометра осуществляется через специальный интерфейс, который служит для уменьшения потока газа, поступающего в масс-спектрометр, путем сброса избытка газа-носителя и обогащения газового потока анализируемыми веществами. В случае капиллярных колонок обычного (0,25 и 0,32 мм) и малого (менее 0,2 мм) диаметра конец колонки вводится непосредственно в источник ионов масс-спектрометра, и весь поток газа поступает в источник ионов [7, 56, 57].

Соединение жидкостного хроматографа и масс-спектрометра также осуществляется с помощью интерфейса, обеспечивающего удаление большей части жидкой фазы из пробы перед поступлением ее в масс-спектрометр. Предложено много различных типов интерфейсов для сочетания ВЭЖХ и масс-спектрометрии: движущийся транспортер, термоструйный, электроструйный, с ионизацией при атмосферном давлении, с тлеющим разрядом и др. В настоящее время применяются преимущественно устройства с электро-

распылением и ионизацией при атмосферном давлении, которые выполняют функции удаления жидкой фазы и ионизации молекул анализируемых веществ [57, 58].

Анализ данных хромато-масс-спектрометрии производится двумя способами. По первому способу осуществляется анализ масс-спектров, зарегистрированных в различных точках масс-хроматограммы, путем сравнения с масс-спектрами эталонов, собранными в базе данных (библиотечный поиск), или же структурные фрагменты молекулы определяются с использованием спектро-структурных корреляций. По второму способу регистрируются и анализируются масс-хроматограммы по полному ионному току, по отдельным ионам или группам ионов. Такие ионные масс-хроматограммы позволяют обнаруживать и подтверждать структуру компонентов смеси и селективно выделять гомологические ряды.

Для увеличения селективности применяются дополнительные дискриминирующие факторы. Это может быть получение производных, позволяющих выявить определенные функциональные группы, или же использование методов селективной ионизации. Например, фотоионизация селективно воздействует на молекулы с потенциалом ионизации выше определенного порога (наибольшая селективность достигается в случае резонансной фотоионизации), при отрицательной химической ионизации повышается вероятность образования ионов соединений с высоким сродством к электрону. Используются также дополнительные методы селекции образовавшихся ионов, такие как масс-спектрометрия высокого разрешения, когда регистрируются только ионы с определенным элементным составом, или тандемная масс-спектрометрия, обеспечивающая регистрацию ионов, образующихся в результате заданных процессов распада выбранных молекулярных или осколочных ионов.

Одним из важных направлений хромато-масс-спектрометрического анализа является химический анализ, в частности, следовый анализ потенциально опасных веществ в окружающей среде, пищевых продуктах, биологических жидкостях и тканях. В качестве примера можно привести определение полихлорированных дибензо-1,4-диоксинов и дибензофуранов, обладающих чрезвычайной токсичностью (ПДК для этих соединений составляет 20 пг/л для воды, 1—10 нг/кг для мясо- и рыбопродуктов) [110—112]. Для определения этих соединений используется исключительно хромато-масс-спектрометрия высокого или низкого разрешения преимущественно с ионизацией электронным ударом (иногда применяется отрицательная химическая ионизация и тандемная масс-спектрометрия) и с применением метода изотопного разбавления. Анализ должен обеспечивать абсолютную чувствительность определения диоксинов на уровне не хуже 0,1 пг, при этом необходимо газохроматографическое разделение всех 17 дибензодиоксинов и дибензофуранов, для которых установлены значения эквивалентов токсичности, от других изомеров и мешающих соединений, возможность одновременной регистрации нескольких (не менее двух) ионов для каждого определяемого соединения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Строение и реакционная способность ионов органических соединений в газовой фазе. Под ред. акад. Г.А. Толстикова. Уфа, БФАН СССР, 1986, 147 с.
2. Megerson S. Chem. Technol., 1979, v. 9, №9, p. 560—566.
3. Wentrup C. Chimia, 1977, v. 31, №7, p. 258—262.
4. Holmes J.L. Org. Mass Spectrom., 1985, v. 20, №3, p. 169—183.
5. Ключев Н.А. Известия СХНЦ ВШ (естественные науки), 1989, №3, с. 50—67.
6. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И. Химия гетероцикл. соед., 1985, №6, с. 723—741.
7. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Хромато-масс-спектрометрия. М.: Химия, 1984, 212 с.
8. Заикин В.Г., Варламов А.В., Микая А.И., Простаков Н.С. Основы масс-спектрометрии органических соединений М.: МАИК "Наука"/Интерпериодика, 2001, 286 с.
9. Chait E.M., Askew W.B. Org. Mass Spectrom., 1971, v. 5, p. 147—156.
10. Bozorgzadeh M.H., Morgan R.P., Beynon J.H. Analyst, 1978, v. 103, p. 613—622.
11. Ключев Н.А., Истратов Э.Н., Хмельницкий Р.А., Субоч В.П., Русинов В.Л., Зырянов В.А. Ж. орган. химии, 1977, т. 13, вып. 7, с. 1501—1507.
12. Fraefel A. Seibl J. Mass Spectrom. Rev., 1985, v. 4, p. 151—221.
13. Mathur B.P., Burgess E.M., Bostwick D.L., Moran T.F. Org. Mass Spectrom., 1981, v. 16, №2, p. 92—98.
14. Ключев Н.А., Абраменко П.И., Шпилева И.С., Пинкин Л.Д. Химия гетероцикл. соед., 1982, №6, с. 758—761.
15. Ключев Н.А., Грандберг И.И., Субоч В.П., Вильчинская В.И., Ларшин Ю.А. Ж. орган. химии, 1979, т. 15, вып. 11, с. 2267—2273.
16. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И. Там же, 1985, т. 21, вып. 10, с. 2057—2063.
17. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И. Химия гетероцикл. соед., 1986, №5, с. 662—665.
18. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И. Ж. орган. химии, 1987, т. 23, вып. 5, с. 1063—1069.
19. Levsen K., Schwarz H. Mass Spectrom. Rev., 1983, v. 2, p. 77—148
20. Williams D.H. Isr. J. Chem., 1975, v. 14, №1, p. 33—47.
21. Levsen K. Tetrahedron, 1975, v. 31, p. 2431—2433.
22. Wentrup C. Ibid., 1970, v. 26, p. 4964—4983.
23. Тальрозе В.Л., Любимова А.Л. Докл. АН СССР, 1952, т. 86, с. 909—912.
24. Munson M.S.B., Field F.H. J. Amer. Chem. Soc., 1965, v. 87, p. 3294—3303.
25. Соловьев А.А., Каденцев В.И., Чижов О.С. Успехи химии, 1979, т. 48, вып. 7, с. 1180—1206.
26. Прокофьев А.К. Там же, 1990, т. 59, вып. 11, с. 1799—1816.
27. Ионно-молекулярные реакции органических соединений в газовой фазе, 1987, Уфа, БФАН СССР, 107 с.
28. Бекай Х.Д., Шультен Х.Р. Биоорганическая химия, 1977, т. 3, с. 437—451.
29. Woodfin V., Ligon Jr. Science, 1979, v. 205, p. 151—159.
30. Calas B., Mery J., Parello J. e.a. Biomed. Mass Spectrom., 1980, v. 7, №7, p. 288—293.
31. Grames D. E., Jackson A.N., Millington D.S. Tetrahedron Lett., 1973, №32, p. 3063—3066.
32. Westmore J.B. Chem. Rev., 1976, v. 76, p. 695—715.
33. Гайворонский П.Е., Ларин Н.В. Успехи химии, 1974, т. 43, с. 1035—1047.
34. Ключев Н.А., Сучкова Г.С., Локшин Г.Б., Кузовков А.Д. Химия прир. соед., 1981, №2, с. 228—232.
35. Сучкова Г.С., Локшин Г.Б., Ключев Н.А., Кузовков А.Д., Шилова С.В. Антибиотики, 1981, №10, с. 73—77.
36. Ключев Н.А., Есипов С.Е., Жильников В.Г., Сабурова Л.А., Соифер В.С. Основные направления исследований для обеспечения качества антибиотиков и полупродуктов для их производства. Тезисы, 1986, Москва, 26-27 ноября, с. 103—105.
37. Rinehart K.L., Cook J.C., Maurer K.H., Rapp U. J. Antibiot., 1974, p. 1—13.

38. Галль Л.Н., Туркина М.Я. Успехи химии, 1985, т. 54, № 5, с. 741—763.
39. Komori T., Kawasaki T. Mass Spectrom. Rev., 1985, v. 4, p. 255—293.
40. Покровский В.А., Мосин В.В. Теор. и экперим. химия, 1987, № 1, с. 62—78.
41. Gower J.L. Biomed. Mass Spectrom., 1985, v. 12, № 5, p. 191—196.
42. De Pauw Ed. Mass Spectrom. Rev., 1986, v. 5, p. 191—212.
43. Мильман Б.Л. Ж. анализ. химии, 1986, т. 41, № 11, с. 1934—1956.
44. Barber M., Bordoli R.C., Sedgwick R.D., Tyler A.N. Org. Mass Spectrom., 1981, v. 16, p. 256—271.
45. Kambara H., Ogawa Y., Mochizuki K. Mass Analysis, 1982, v. 30, p. 169—175.
46. Кулешова Е.Ф., Анисимова О.С., Шейнкер Ю.Н. Хим.-фармацевт. ж., 1992, № 11—12, с. 6—18.
47. Macfarlane R.D. Acc. Chem. Res., 1982, v. 15, p. 268—273.
48. Torgerson D.F., Skowronsky R.P., Macfarlane R.D. Biophys. Res. Commun., 1974, p. 616—623.
49. Архилова Д.Б., Галль Л.Н. Ж. анализ. химии, 1999, т. 54, № 6, с. 585—592.
50. Macfarlane R.D., Uemura D., Uede K., Hirata Y. J. Amer. Chem. Soc., 1980, с. 102, p. 876—881.
51. Honig R.E., Woolston J.R. Appl. Phys. Lett., 1963, v. 2, p. 138—147.
52. Becker C.H., Jusinski L.E., Moro L. Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc., 1995, v. 58, R1—R4.
53. Beavis R.C., Chait B.T. Chem. Phys. Lett., 1991, № 181, p. 479—485.
54. Бродский Е.С., Ключев Н.А. Экологич. химия, 1994, т. 3, № 1, с. 49—57.
55. Ключев Н.А., Бродский Е.С., Муренец Н.В., Жильников В.Г. Водные ресурсы, 1993, т. 20, № 4, с. 479—485.
56. Ключев Н.А., Бродский Е.С. Зав. лаб., 1993, т. 59, № 8, с. 1—6.
57. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды. М.: Химия, 1990, 182 с.
58. Yinor J., McClellan J.E., Yost R.A. Rapid Commun. in Mass Spectrom., 1997, v. 11, p. 1961—1970.
59. Сильверстейн Р., Басслер Г., Меррил Т. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: Мир, 1977, 422 с.
60. Klyuev N.A. Eur. J. Mass Spectrom., 2002, v. 8 (in press).
61. Муренец Н.В., Кудинова М.К., Короткова Т.П., Дробышева Т.Н., Ключев Н.А., Янцева Н.В. Антибиотики и мед. биотехн., 1987, т. 32, № 1, с. 811—813.
62. Ключев Н.А., Жильников В.Г., Кудинова М.К., Шаройко Е.С. Там же, 1987, т. 33, № 9, с. 668—671.
63. Муренец Н.В., Кудинова М.К., Ключев Н.А., Шашков А.С. Там же, 1988, т. 34, № 4, с. 257—262.
64. Borders D.B., Carter G.T., Hargreaves R.T., Siegel M.N. Mass Spectrom. Rev. 1985, v. 4, p. 295—367.
65. Ключев Н.А. Ж. анализ. химии, 2002, т. 57, № 7, (в печати).
66. Ключев Н.А. Аналитика и контроль, 1998, т. 2, № 4, с. 4—14.
67. Dougherty R.S. In: Topics current chemistry, v. 45, Berlin, Heidelberg, N.-Y. Springer-Verlag, 1974, p. 93—139.
68. Reisch J. Gyogyszereszet, 1979, v. 23, № 11, p. 401—408.
69. Green M.M. Tetragedron, 1980, v. 36, № 19, p. 2587—2699.
70. Susumi T. Mass Spectroscopy, 1982, v. 30, № 4, p. 265—280.
71. Ключев Н.А. Аналитика и контроль, 2000, т. 4, № 1, с. 47—61.
72. Kingston E.E., Channon J.S., Lecey M.Y. Org. Mass Spectrom., 1983, v. 18, № 5, p. 183—192.
73. Alexandru G. Inter. J. Mass Spectrom. Ion Phys., 1982, v. 44, p. 293—295.
74. Maguestiau A., Fiammang R. Mass Spectrom. Rev., 1982, v. 1, № 3, p. 237—255.
75. Bently T.W., Johnstone R.A.W. Adv. Phys. Org. Chem., 1970, № 8, p. 151—263.
76. Шейнкер Ю.Н. Известия Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим., 1980, № 2, с. 37—46.
77. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И. Химия гетероцикл. соед., 1986, № 7, с. 908—917.
78. Минкин В.И., Олехнович Л.П., Жданов Ю.А. Молекулярный дизайн таутомерных систем. Ростов-на-Дону, 1977, 272 с.
79. Ключев Н.А., Адамин В.М., Постовский И.Я., Азев Ю.А. Химия гетероцикл. соед., 1983, № 4, с. 547—549.
80. Шурухин Ю.В., Ключев Н.А., Грандберг И.И., Кончиц В.А. Там же, 1984, № 10, с. 1422—1427.
81. Ключев Н.А., Жильников В.Г., Александров Г.Г., Грандберг И.И., Липунова Г.Н. Ж. орган. химии, 1983, т. 19, вып. 12, с. 2515—2623.
82. Липунова Г.И., Александров Ю.И., Ключев Н.А., Недзвецкий В.С., Шарова Л.И., Еремина В.Г., Беднягина Н.П. Ж. общей химии, 1985, т. 55, в. 6, с. 1414—1421.
83. Ключев Н.А., Повстяной М.В., Орлов В.М. Химия гетероцикл. соед. 1992, № 7, с. 937—943.
84. Ключев Н.А., Баклыков В.Г., Русинов В.Л. Там же, № 1, с. 116—120.
85. Ключев Н.А., Жильников В.Г., Шейнкман А.К. Докл. АН СССР, 1977, т. 232, № 3, с. 618—621.
86. Ключев Н.А., Баклыков В.Г., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Химия гетероцикл. соед., 1989, № 4, с. 532—538.
87. Чупахин О.Н., Баклыков В.Г., Ключев Н.А., Матерн А.И. Там же, 1989, № 8, с. 1083—1087.
88. Тодрес З.В. Ион-радикалы в органическом синтезе. Москва, ВИНТИ, 1986, 240 с.
89. Turecek F., Hanas V. Mass Spectrom. Rev., 1984, v. 3, № 1, p. 85—152.
90. Kametani T. Mass Spectroscopy, 1981, v. 101, № 1, p. 1—19.
91. Windig W., Kistemaker P.G., Haverkamp J. J. Analyt. and Appl. Pyrolysis, 1982, v. 3, p. 199—212.
92. Morton Th.H. Tetragedron, 1982, v.38, p. 3195—3243.
93. Ciuraru G.N., Rusu M.-D., Palibroda N. Rev. Roumanie Chim., 1983, v. 28, № 4, p. 333—337.
94. Blakley C.R., Carmody J.C., Vestal M.L. Clin. Chem., 1980, v. 26, № 10, p. 1467—1473.
95. Games D.E. Anal. Proc., 1980, v. 17, № 8, p. 322—326.
96. Henvel W.J.A.V. Drug Metabolism Rev., 1986, v. 17, p. 67—92.
97. Kengon C.N., Melera A. J. Chromatogr. Sci., 1980, v. 18, № 3, p. 103—105.
98. Dougherty R.C. Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 625A—636A.
99. Privett O.S., Erda H.L. Chem. and Phys. of Lipids, 1978, v. 21, № 4, с. 361—389.
100. Games D.E. Chem. and Phys. of Lipids, 1978, v. 21, № 4, с. 389—402.
101. Harrison A.C., Ichikawa H. Org. Mass. Spectrom., 1980, v. 15, № 5, p. 244—248.
102. Philp R.P. Mass spectrum. Rev., 1985, v. 4, p. 1—54.
103. Bruins A.P. Biomed. Mass Spectrom., 1980, v. 7, № 10, p. 454—456.
104. Keough T., De Stefano A.J. Org. Mass Spectrom., 1981, v. 16, № 12, p. 527—533.
105. Harada K.-I., Ito S., Takeda N., Suzuki M. Biomed. Mass Spectrom., 1983, v. 10, № 1, p. 5—12.
106. Wehovsky M., Hoffmann R., Hubert M., Spengler B. Eur. J. Mass Spectrom., 2001, v.7, № 1, p. 39—46.
107. Stemmler E.A., Buchanan M.V. Org. Mass Spectrom., 1986, v. 24, p. 705—717.
108. Kingston D.G.J., Fales H.M. Tetragedron, 1973, v. 29, p. 4083—4086.
109. Хмельницкий Р.А., Лукашенко И.М., Бродский Е.С. Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений. М.: Химия, 1980, 280 с.
110. Ключев Н.А. Диоксины – суперэтоксиканты XXI века. Проблемы. Инф. вып. 1. Госком. РФ по окруж. среде и ВИНТИ, 1997, с. 84—101.
111. Ключев Н.А. Ж. анализ. химии, 1996, т. 51, № 2, с. 163—172.
112. Brodsky E.S., Klyuev N.A., Jilnikov V.G. Accred. Qual. Assur., 1999, № 4, с. 196—198.