



А. Т. Лебедев

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ
ДЛЯ АНАЛИЗА ОБЪЕКТОВ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ



ТЕХНОСФЕРА



М И Р Х И М И И

А.Т. Лебедев

**Масс-спектрометрия
для анализа объектов
окружающей среды**

Перевод с английского
под общей редакцией А.Т. Лебедева

ТЕХНОСФЕРА
Москва
2013

УДК 543.51

ББК 24.4

ЛЗЗ

ЛЗЗ Лебедев А.Т.

Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды

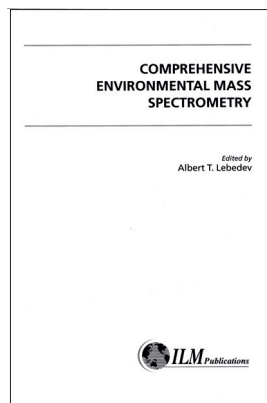
Москва: Техносфера, 2013. – 632с., ISBN 978-5-94836-363-9

Современная масс-спектрометрия является наиболее чувствительным, информативным и надежным методом идентификации и количественного определения экотоксикантов любого типа в образцах объектов окружающей среды любой сложности. Хотя диапазон возможностей современной масс-спектрометрии необычайно широк, многие из них остаются неизвестными непрофессионалам. Основная цель книги – продемонстрировать, что самые разные научные задачи, стоящие перед учеными разных специальностей, могут быть решены масс-спектрометрически.

Книга предназначена, в первую очередь, для людей, работающих в смежных дисциплинах (экология, геология, биология, гидрология, медицина и т.д.), а также будет полезна студентам и аспирантам химических, физико-химических, биологических и медицинских специальностей.

УДК 543.51

ББК 24.4



Переводчики:

К.А. Артеменко, Е.С. Бродский, С.А. Ильченко, А.И. Константинов, А.Т. Лебедев, А.Ю. Лейкин, В.В. Лободин, П.В. Метальников, Е.В. Московец, А.С. Самохин, Е.А. Чернецова

Обложка: автор идеи Маркос Эберлин (Университет Кампинос, Бразилия)

© 2013, Лебедев А.Т.

© 2013, ЗАО «РИЦ «Техносфера», оригинал-макет, оформление

ISBN 978-5-94836-363-9

ISBN 978-1-906799-12-0 (англ.)

Содержание

Список авторов.....	18
Список переводчиков.....	21
Предисловие к русскому изданию.....	22
Введение.....	23
Литература.....	28
Глава 1. Основные принципы масс-спектрометрии.....	29
1.1. Базовые аспекты.....	29
1.2. Ввод образца.....	32
1.3. Ионизация.....	33
1.3.1. Электронная ионизация.....	34
1.3.2. Химическая ионизация.....	35
1.3.3. Полевая ионизация.....	36
1.3.4. Ионизация электрораспылением.....	38
1.3.5. Химическая ионизация и фотоионизация при атмосферном давлении.....	39
1.3.6. Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация.....	40
1.4. Масс-анализаторы.....	40
1.4.1. Секторные приборы.....	40
1.4.2. Квадрупольные приборы.....	44
1.4.3. Ионные ловушки.....	46
1.4.4. Времяпролетные масс-спектрометры.....	46
1.4.5. Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье.....	47
1.4.6. Орбитальные ловушки.....	48
1.5. Детектирование ионов.....	49
Литература.....	49
Глава 2. Газовая хроматография/масс-спектрометрия — «рабочая лошадка» для анализа объектов окружающей среды.....	52
2.1. Общие вопросы.....	52
2.2. Типы хроматограмм с регистрацией ионного тока.....	53
2.3. Скорость сбора данных.....	63
2.4. Какие соединения можно анализировать методом ГХ/МС.....	65
2.5. Количественный анализ.....	69
2.6. Выводы.....	73
Литература.....	73
Глава 3. Жидкостная хроматография/масс-спектрометрия — оптимальный метод качественного и количественного анализа загрязнений окружающей среды.....	74
3.1. Введение.....	74
3.2. Методы и оборудование для мониторинга окружающей среды.....	75
3.2.1. Почему для мониторинга окружающей среды используется жидкостная хроматография?.....	75

3.2.2. Почему ЖХ/МС (жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектором) используется для мониторинга окружающей среды ?.....	76
3.3. Соединение ЖХ с масс-спектрометром: проблемы и их решение.....	77
3.4. Ионизация при атмосферном давлении.....	79
3.5. Типы масс-спектрометров и их возможности для анализа образцов из объектов окружающей среды.....	82
3.5.1. Приборы с низким разрешением.....	82
3.5.2. Приборы с высоким разрешением.....	85
3.6. Анализ образцов.....	86
3.7. Наиболее распространенные приложения.....	87
3.8. Подтверждающий анализ.....	87
3.9. Целевые подходы с использованием тандемной квадрупольной масс-спектрометрии.....	89
3.10. Скрининговые и исследовательские методы с использованием масс-спектрометров типа QTOF.....	95
3.11. Почему приборы типа QTOF используются для экологического контроля?.....	95
3.12. Исследовательская работа по изучению продуктов трансформации.....	99
3.13. Ближайшие и долгосрочные перспективы.....	100
Литература.....	101

Глава 4. Применение тандемной масс-спектрометрии для анализа загрязнений

окружающей среды.....	103
4.1. Введение.....	103
4.2. Тандемные масс-спектрометры.....	104
4.2.1. Масс-спектрометрия высокого разрешения.....	104
4.2.2. Тройные квадрупольные.....	105
4.2.3. Ионные ловушки.....	106
4.2.4. Времяпролетная масс-спектрометрия (ВПМС).....	108
4.2.5. Линейные ионные ловушки.....	108
4.2.6. Орбитрэп.....	110
4.3. Приложения МС/МС к экологическому мониторингу.....	110
4.3.1. Новые загрязняющие вещества.....	113
4.3.2. Лекарственные препараты.....	115
4.3.3. Пестициды и гербициды.....	115
4.3.4. Аддукты ДНК и маркеры оксидативного стресса.....	118
4.3.5. Поверхностно-активные вещества и красители.....	120
4.3.6. Озон.....	120
4.4. Заключение.....	121
4.5. Замечание.....	122
Литература.....	122

Глава 5. Использование специализированного программного обеспечения

и библиотек масс-спектров в анализе объектов окружающей среды.....	128
5.1. Введение.....	128
5.2. Базы данных масс-спектров и программы библиотечного поиска.....	132
5.3. Развитие баз данных масс-спектров.....	133
5.4. Базы данных масс-спектров.....	135

5.5. Другие базы данных масс-спектров.....	137
5.6. Выбор диапазона сканирования в случае проведения поиска по базам данных масс-спектров.....	139
5.7. Программное обеспечение, используемое для проведения поиска по базам данных масс-спектров.....	140
5.8. Пример проведения правильной идентификации с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation.....	142
5.9. Пример проведения правильной идентификации с помощью программного обеспечения NIST MS Search.....	148
5.10. Какой алгоритм библиотечного поиска является наилучшим?.....	152
5.11. Интерпретатор масс-спектров NIST.....	152
5.12. Использование базы данных масс-спектров ИЭ NIST при проведении анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / масс-спектрометрии.....	153
5.13. База данных индексов удерживания NIST.....	156
5.14. Программа для автоматического поиска компонентов и выделения чистых масс-спектров AMDIS.....	158
5.15. Определение точных значений m/z	162
5.16. Дополнительное программное обеспечение, представляющее интерес для масс-спектрометристов, работающих в области анализа объектов окружающей среды.....	164
5.17. Заключение.....	168
Литература.....	168
Глава 6. Передовые методы на основе ГХ/МС.....	170
6.1. Режим быстрой ГХ/МС.....	170
6.1.1. Оптимизация газохроматографической составляющей в условиях быстрой ГХ/МС.....	171
6.1.2. Вклад масс-спектрометрической составляющей при использовании техники быстрой ГХ/МС.....	176
6.2. ГХ/МС с интерфейсом ультразвуковых молекулярных пучков.....	179
6.3. Двумерная газовая хроматография — масс-спектрометрия ГХ×ГХ/МС.....	188
6.3.1. Принцип метода.....	188
6.3.2. Преимущества метода ГХ×ГХ/МС.....	191
6.4. Заключение.....	196
Литература.....	196
Глава 7. Масс-спектрометрия в нормальных условиях (Ambient Mass Spectrometry) — анализ объектов окружающей среды без пробоподготовки.....	198
7.1. Введение.....	198
7.2. Наиболее часто используемые методы масс-спектрометрии в нормальных условиях.....	200
7.2.1. Десорбционная электрораспылительная ионизация (ДЭРИ, DESI) и ионизация спреем с бумаги (paper spray ionization, PSI).....	200
7.2.2. Прямой анализ в режиме реального времени (ПАРВ, DART).....	202
7.2.3. Атмосферный зонд для анализа твердых образцов (ASAP).....	203
7.2.4. Экстракционная электрораспылительная ионизация (ЭЭРИ, EESI).....	204

7.2.5. Низкотемпературная плазма (LTP).....	205
7.2.6. Ионизация акустическим распылением в нормальных условиях — easy ambient sonic-spray ionization (EASI) и ионизация акустическим распылением в нормальных условиях с использованием эффекта Вентури (Venturi easy ambient sonic-spray ionization, V-EASI).....	206
7.3. Применения в анализе объектов окружающей среды.....	208
7.4. Заключение.....	215
Литература.....	216
Глава 8. Масс-спектрометрия десорбционной электрораспылительной ионизации.....	223
8.1. Введение.....	223
8.2. Экспериментальные установки и условия.....	224
8.3. Реакционная десорбция.....	227
8.4. Масс-спектрометрическое изображение поверхности с помощью ДЭРИ.....	229
8.5. Количественные измерения.....	230
8.6. Анализ воды.....	232
8.7. Анализ аэрозолей.....	234
8.8. Прямой анализ.....	238
Литература.....	239
Глава 9. Миниатюрные масс-спектрометры для анализа объектов окружающей среды.....	242
9.1. Введение.....	242
9.2. Основы конструкции приборов.....	244
9.2.1. Методы ввода проб.....	244
9.2.2. Методы ионизации.....	249
9.2.3. Масс-анализаторы.....	254
9.2.4. Вакуумные системы.....	260
9.2.5. Детекторы.....	261
9.3. Экологические приложения для миниатюрных масс-спектрометров.....	262
9.3.1. Подводная масс-спектрометрия для регистрации летучих органических соединений (ЛОС) и растворенных в воде газов.....	263
9.3.2. Мониторинг вулканических выбросов для контроля вулканической активности.....	267
9.3.3. Детектирование перфторированных соединений.....	270
9.3.4. Анализ углеводородов.....	271
9.3.5. Детектирование пестицидов.....	273
9.3.6. Анализ полициклических ароматических углеводородов.....	275
9.3.7. Детектирование примесей в продуктах питания.....	277
9.4. Заключение.....	278
Литература.....	279
Глава 10. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой в экологическом анализе.....	288
10.1. Введение.....	288
10.2. Основы метода.....	289
10.3. Преимущества и недостатки.....	290
10.3.1. Спектральные интерференции.....	291

10.3.2. Неспектральные интерференции (матричные эффекты).....	292
10.4. Практическое применение.....	293
10.4.1. Анализ воздуха.....	293
10.4.2. Анализ воды.....	293
10.4.3. Анализ твердых образцов.....	295
10.4.4. Установление формы нахождения элементов.....	296
10.4.5. Определение изотопного состава.....	297
10.4.6. Лазерный пробоотбор в ИСП-МС.....	299
10.4.7. Стандартные образцы.....	299
Литература.....	300
Глава 11. Роль масс-спектрометрии в исследовании летучих органических соединений.....	306
11.1. Летучие органические загрязняющие вещества.....	306
11.1.1. Происхождение летучих органических веществ и их влияние на окружающую среду.....	306
11.1.2. Воздействие ЛОС на здоровье человека.....	307
11.1.3. Экономический эффект биогенного загрязнения.....	308
11.2. Масс-спектрометрия летучих загрязняющих веществ.....	309
11.2.1. Протоколы пробоподготовки.....	310
11.2.2. Реакция переноса протона.....	312
11.2.3. Прямой анализ в режиме реального времени.....	314
11.3. Мониторинг летучих загрязняющих веществ в обычных условиях и при пожарах.....	315
11.3.1. Определение антропогенных загрязняющих веществ.....	315
11.3.2. Определение биогенных загрязняющих веществ в окружающей среде.....	317
11.3.3. Влияние температуры на определение биогенных соединений.....	320
11.3.4. Анализ загрязняющих веществ, выделяемых при пиролизе различных частей растений.....	323
11.4. Заключение и будущее направление работы.....	327
Благодарность.....	328
Литература.....	328
Глава 12. Идентификация и количественное определение токсикологически значимых побочных продуктов дезинфекции воды методами масс-спектрометрии.....	333
12.1. Введение.....	333
12.2. Аналитические методы идентификации и количественного определения ППД.....	339
12.2.1. Методы экстракции/концентрирования.....	339
12.2.2. Масс-спектрометрические методы детектирования.....	343
12.2.3. Методы дериватизации.....	349
12.3. Что нас ждет в будущем?.....	352
Благодарность.....	353
Литература.....	353
Глава 13. Новые типы приоритетных загрязняющих веществ в окружающей среде.....	360
13.1. Введение.....	360
13.2. Масс-спектрометрия и НПЗВ.....	363

13.2.1. Газовая хроматография/масс-спектрометрия.....	364
13.2.2. Жидкостная хроматография/масс-спектрометрия.....	364
13.3. Выводы.....	376
Литература.....	378
Глава 14. Анализ пестицидов в образцах объектов окружающей среды современными методами хроматомасс-спектрометрии.....	386
14.1. Введение.....	386
14.2. Анализ остаточных количеств пестицидов.....	388
14.3. ГХ/МС.....	391
14.4. ЖХ/МС.....	395
14.5. Тенденции.....	400
Благодарность.....	405
Литература.....	405
Глава 15. Определение стойких галогенсодержащих соединений: хлорированные дибензо-п-диоксины и дибензофураны.....	409
15.1. Введение.....	409
15.1.1. Хлорированные диоксины в окружающей среде.....	409
15.1.2. Стадии ультраследового анализа объектов окружающей среды.....	411
15.1.2. Почему нужна масс-спектрометрия?.....	412
15.2. Подготовка проб для определения ХДД/ХДФ на следовом уровне.....	413
15.2.1. Методы экстракции.....	413
15.2.2. Очистка экстрактов.....	414
15.2.3. Замечания по контролю качества.....	414
15.3. Количественный анализ и метод изотопного разбавления.....	417
15.3.1. Внутренняя и внешняя градуировка.....	417
15.3.2. Особенности масс-спектрометрии с изотопным разбавлением.....	418
15.3.3. Стандартные образцы и другие средства оценки эффективности.....	419
15.3.4. Воспроизводимость, точность и неопределенность.....	420
15.4. Газохроматографические методы.....	420
15.4.1. Основные положения газовой хроматографии.....	420
15.4.2. Колонки, используемые для определения ХДД/ХДФ.....	421
15.5. Масс-спектрометрические методы.....	422
15.5.1. Масс-спектрометрия и интегрированные ГХ/МС-системы.....	422
15.5.2. Магнитные секторные приборы.....	424
15.5.3. Тандемный масс-спектрометр.....	426
15.5.4. Масс-спектрометр сверхвысокого разрешения.....	427
15.5.5. Методы ионизации для определения ХДД/ХДФ.....	427
15.5.6. Мониторинг заданных ионов (МЗИ) и мониторинг заданных реакций (МЗР).....	428
15.6. Полный набор аналитических методов для определения ХДД/ХДФ и других стойких галогенированных соединений.....	428
15.7. Будущее многокомпонентных методов.....	430
15.7.1. Времяпролетный масс-спектрометр высокого разрешения.....	430
15.7.2. Автоматизация методов.....	431
15.7.3. Ограничения анализа.....	433



Литература.....	434
Глава 16. Масс-спектрометрия атмосферных аэрозолей.....	438
16.1. Введение.....	438
16.2. Свойства аэрозолей и их воздействие на окружающую среду.....	438
16.3. Приборы и их применение.....	443
16.3.1. Анализ атмосферных газов.....	444
16.3.2. Основные режимы работы приборов при анализе атмосферных частиц.....	447
16.3.3. Времяпролетные приборы для анализа частиц, работающие в режиме онлайн.....	449
16.3.4. Применение масс-спектрометров для анализа одиночных частиц в исследованиях аэрозолей.....	452
16.3.5. Многоцелевые времяпролетные приборы для анализа частиц.....	460
16.3.6. Использование ионных ловушек для анализа одиночных частиц.....	463
16.3.7. Масс-спектрометры для анализа ансамблей частиц.....	466
16.4. Итоги и перспективы.....	470
Литература.....	471
Глава 17. Использование масс-спектрометрии для изучения взаимодействия ДНК с экотоксикантами.....	478
17.1. Введение.....	478
17.2. Источники ДНК для анализа ДНК-аддуктов.....	480
17.3. Подготовка образцов.....	481
17.4. Приборы для ВЭЖХ-ЭРИ/МС/МС-анализа ДНК-аддуктов.....	482
17.4.1. Валидация масс-спектрометрического метода.....	490
17.5. Примеры использования ВЭЖХ/МС/МС для анализа ДНК-аддуктов.....	491
17.5.1. Аддукты, образующиеся при воздействии ароматических аминов.....	491
17.5.2. Аддукты с нитрозаминами.....	492
17.5.3. Экзоциклические аддукты ДНК.....	494
17.5.4. Этанол/ацетальдегидные аддукты.....	494
17.5.5. Аддукты с полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ).....	495
17.5.6. ДНК-аддукты с эпоксидами.....	497
17.6. Новые подходы к повышению чувствительности аналитических методов при анализе ДНК-аддуктов.....	498
17.6.1. Капиллярная ВЭЖХ/наноэлектроспрейная МС.....	499
17.6.2. МС-анализ с использованием ВЭЖХ-наноколонок и ионизацией наноэлектроспреем.....	500
17.6.3. Очистка образцов в режиме онлайн.....	501
17.6.4. ЖХ/МС на микрочипах.....	504
17.7. Выводы.....	506
Благодарность.....	506
Литература.....	506
Глава 18. ИЦРФП-анализ сложных органических смесей. Петролеомика.....	515
18.1. Введение.....	515
18.2. МС-ИЦРФП.....	517

18.3. Разрешение по массе, разрешающая способность и точное измерение массы.....	521
18.4. Точная масса и дефект массы.....	524
18.5. Степень ненасыщенности (DBE) и Z-число.....	527
18.6. Масса в шкале Кендрика и дефект масс Кендрика.....	528
18.7. Визуализация данных: график масс Кендрика, диаграммы ван Кревелена, распределение гетероатомных классов соединений, график зависимости DBE от числа атомов углерода.....	530
18.7.1. График масс Кендрика.....	530
18.7.2. Диаграммы ван Кревелена.....	532
18.7.3. График распределения гетероатомных классов.....	533
18.7.4. График зависимости DBE от числа атомов углерода.....	534
18.8. Методы ионизации для МС-ИЦРФП-анализа сложных смесей.....	536
18.9. Применение МС-ИЦРФП для решения экологических задач.....	537
Литература.....	541
Глава 19. Применение масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения с масс-анализатором ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье для анализа природного органического вещества в объектах окружающей среды.....	547
19.1. Введение.....	547
19.1.1. Значение природного органического вещества и способы его анализа.....	547
19.1.2. Характеристики масс-спектров ПОВ и композиционное пространство.....	549
19.1.3. Визуализация данных сложных масс-спектров.....	551
19.1.4. Примеры анализа масс ПОВ.....	552
19.2. Материалы и методы.....	553
19.2.1. Масс-спектрометры ИЦР ПФ.....	553
19.2.2. Расчет масс для молекул, содержащих С, Н, N, О, S.....	553
19.3. Результаты и обсуждение.....	553
19.4. Заключение.....	563
Литература.....	563
Глава 20. Метод масс-спектрометрической визуализации (имиджинг).....	568
20.1. Введение.....	568
20.2. Микронзондирование и молекулярная визуализация.....	568
20.3. Визуализация пространственного распределения молекулярного состава.....	570
20.4. Влияние матрицы.....	573
20.5. Применение масс-спектрометрии вторичных ионов (МСВИ) в биоанализе.....	575
20.6. Качество изображения и аналитический предел обнаружения.....	576
20.7. МС-визуализация как метод качественного анализа.....	577
20.8. МС-визуализация как точный аналитический метод.....	578
20.9. Идентификация и характеристика.....	580
20.10. МС-имиджинг в исследованиях объектов окружающей среды.....	581
20.11. Перспективы.....	584
Литература.....	585
Глава 21. Масс-спектрометрия изотопных отношений.....	587
21.1. Введение.....	587

21.2. Величина δ	588
21.3. Причины вариаций распределения стабильных изотопов в природе.....	588
21.4. Масс-спектрометрия изотопных отношений в газах.....	590
21.4.1. Ионизация.....	591
21.4.2. Разделение по массам.....	592
21.4.3. Регистрация нескольких ионов.....	592
21.4.4. ^{17}O - и HD-коррекция.....	593
21.5. Оборудование для подготовки проб и интерфейсы.....	593
21.5.1. Изотопный масс-спектрометр непрерывного потока.....	593
21.5.2. Элементный анализатор (сжигание и высокотемпературная конверсия) — изотопный масс-спектрометр.....	595
21.5.3. ГХ/МСИО.....	595
21.5.4. ЖХ/МСИО.....	596
21.5.5. МСИО с многократными инъекциями через петлю.....	597
21.6. Некоторые приложения.....	597
21.6.1. Науки о Земле.....	597
21.6.2. Биология и экология.....	599
21.6.3. Археология и миграция людей.....	599
21.6.4. Контроль лекарств и наркотиков.....	601
21.6.5. Контроль допинга.....	601
21.6.6. Аутентичность продуктов питания и напитков.....	602
Литература.....	603
Дополнение 1. Основы и достижения масс-спектрометрии на основе орбитальной ловушки ионов. Краткий обзор.....	605
Как устроена Орбитальная ловушка ионов.....	605
Семейство серийных масс-спектрометров Orbitrap.....	608
Современные тенденции практического использования Orbitrap.....	609
Пищевая безопасность и объекты окружающей среды.....	610
Заключение.....	611
Дополнение 2. Высокопроизводительные хроматомасс-спектрометры Shimadzu UFMS: применение для анализа объектов окружающей среды, питьевой воды, пищевой и сельскохозяйственной продукции.....	613
Список литературы.....	630

Предисловие к русскому изданию

Современная масс-спектрометрия является наиболее чувствительным, информативным и надежным методом идентификации и количественного определения экотоксикантов любого типа в образцах объектов окружающей среды любой сложности. Возможности работать с самыми разными аналитами (от химических элементов до сложнейших биомолекул) в сложнейших матрицах без предварительного разделения, действительно, ставят масс-спектрометрию в приоритетное положение по сравнению с любыми другими методами анализа. Еще одним преимуществом масс-спектрометрии является возможность получения информации о сотнях и тысячах аналитов в процессе единичного анализа одной пробы. При этом результаты масс-спектрометрических исследований позволяют делать выводы, которые подготавливают административные решения, влияющие на здоровье населения и экосистем в целом.

Бурное развитие метода в начале XXI века привело к созданию новых приборов, новых методов ионизации образцов. Появилась возможность работать с минимальной пробоподготовкой или вовсе без пробоподготовки. Популярным направлением стала масс-спектрометрия в нормальных условиях, активные работы ведутся по миниатюризации масс-спектрометров. Появление простых и чувствительных портативных масс-спектрометров, работающих при нормальных условиях, станет прорывом в аналитической химии. При снижении стоимости таких масс-спектрометров они могут стать бытовыми приборами.

Данная книга предназначена, в первую очередь, для людей, работающих в смежных дисциплинах (экология, геология, биология, гидрология, медицина и т.д.). Она состоит из 21 главы, написанной ведущими масс-спектрометристами из 12 стран мира, которые постарались в простой форме рассказать о достижениях и потенциальных возможностях метода для решения самых разнообразных экологических проблем. Хотя диапазон возможностей современной масс-спектрометрии необычайно широк, многие из них остаются неизвестными непрофессионалам. Поэтому основная цель — продемонстрировать, что самые разные научные задачи, стоящие перед учеными разных специальностей, могут быть решены масс-спектрометрически.

Оригинальное издание вышло на английском языке. Русскоязычное издание, на мой взгляд, еще более актуально, поскольку в России и в странах бывшего СССР пропаганда возможностей масс-спектрометрии крайне необходима. Хотя Всероссийское масс-спектрометрическое общество (www.vmsso.ru) проводит регулярные конференции, школы, издает журнал, выпустило несколько книг, дополнительная литература, особенно учебно-научная, очень нужна русскоязычному научному сообществу.

Я надеюсь, читатели (студенты, аспиранты, научные сотрудники) найдут в этом издании много интересной и полезной информации, а масс-спектрометрия станет для них неотъемлемым методом исследований.

А. Т. Лебедев

*Если проблему нельзя решить с помощью масс-спектрометрии,
возможно, ее и не надо решать.*

Фред МакЛафферти

Красота спасет мир.

Федор Достоевский

Введение

Делая в последнее время доклады по разным аспектам масс-спектрометрии на конференциях химиков, биологов, токсикологов, экологов, медиков в самых разных странах, я обнаружил, что большинство исследователей не представляют уникальных возможностей этого метода даже в плане решения своих научных задач. Читая лекции аспирантам МГУ имени М. В. Ломоносова, я также обратил внимание, что молодые ученые относятся к масс-спектрометрии как к весьма сложному аналитическому методу, предпочитая использовать для решения задач альтернативные подходы: ЯМР, ИК-, УФ-спектроскопию. Так родилась идея написания этой книги, поскольку эффективность, надежность, простота и широта применимости современной масс-спектрометрии поистине впечатляющи. Помимо классических наук (физика, химия, биология) масс-спектрометрия чрезвычайно успешно используется в медицине, космических исследованиях, археологии, антропологии, антитеррористической деятельности, экспертизе предметов искусства, экологии, допинг-контроле, метрологии, ядерной физике и т.д. Благодаря масс-спектрометрии недавно родились новые дисциплины: петролеомика, гуминомика, метабономика, протеомика. Фактически трудно назвать раздел науки, в которой нельзя было бы эффективно применить масс-спектрометрию.

Современная масс-спектрометрия — наиболее чувствительный, быстрый и информативный аналитический метод. Ей доступны любые аналиты: от химических элементов до сложнейших биологических молекул (белки, сахара, нуклеиновые кислоты). Качественный и количественный анализ индивидуальных компонентов сверхсложных смесей, состоящих из многих тысяч ингредиентов, может осуществляться быстро и без какого-либо предварительного разделения. Вы можете отобрать пробу воды из реки, лужи, бутылки и в течение пары часов проверить наличие в ней сотен индивидуальных веществ. Любое значимое с точки зрения экологии соединение может быть надежно определено масс-спектрометрически. Если вы не нашли соответствующей готовой методики в литературе, это означает лишь то, что это соединение до этих пор не интересовало масс-спектрометристов.

Масс-спектрометрия обладает непревзойденной чувствительностью. Метод оперирует фемто-, зепто- (10^{-15} — 10^{-21}) молярными уровнями аналитов в образце. Если принять во внимание число Авогадро ($6,022 \cdot 10^{23}$), становится понятно, что масс-спектрометрия приближается к абсолютному теоретическому пределу анализа. Классические, не разгадываемые без волшебства задачи уровня нахождения ржаного зернышка в мешке пшеницы или иголки в стоге сена могут быть легко решены с помощью

масс-спектрометрии. На самом деле, когда речь идет о возможности детектирования соединения на уровне 10^{-18} , это значительно «круче», чем обнаружение одной-единственной иголки в миллионе стогов сена.

Разнообразие типов масс-спектрометров очень велико. Различные задачи реализуются с помощью разных детекторов, источников ионов и методов ионизации. В частности, различие в размерах может быть прекрасно проиллюстрировано рис. 1а,б. Масс-спектрометр Mini 11.5 — хороший представитель переносных приборов (рис. 1б), а KATRIN (рис. 1а) — самый большой на сегодняшний день прибор, созданный для проведения сверхтонких измерений масс, например измерения массы нейтрино (Kluge, 2010).



Рис. 1. а — Транспортирование масс-спектрометра через деревню Леопольдсхафен в исследовательский центр Карлсруэ (с разрешения EJMS); б — Грэм Кукс выполняет измерения с помощью портативного масс-спектрометра Mini 11.5. (Фото Jon Dagleish)



Теория метода достаточно проста, также как и его основные применения. Фактически уже выпускник школы может регистрировать спектры и работать с ними, особенно когда речь идет о серийных образцах или поиске целевых аналитов.

Основная идея данной книги — рассказать о возможностях масс-спектрометрии в решении экологических и родственных задач с демонстрацией того, как элегантно могут быть разрешены весьма сложные вопросы. Книга дает ключ к возможному решению проблем, стоящих перед биологом, геологом, врачом, экологом, химиком, нефтехимиком, криминалистом и т.д. Студенты, как, впрочем, и профессиональные масс-спектрометристы, также найдут в ней достаточно много весьма полезных сведений, которые расширят их горизонты в этой области, поскольку целый ряд современных методов (петролеомика, имиджинг, изотопная и атмосферная масс-спектрометрия) описаны простыми словами в форме лекции для начинающих. Широкий круг реальных примеров решенных задач красиво подкрепляет теорию различных методов исследования.

Зачастую результат эксперимента может быть удивительным и неочевидным для непосвященных. Например, измерив соотношение природных изотопов углерода, кислорода и азота в образце, можно установить район производства наркотиков, виновника разлива нефти, подлинность напитка или даже различить по остаткам костей древних европейцев и американцев.

Помимо указанных превосходных технических характеристик масс-спектрометрия — это очень красивый метод. Я надеюсь, читатели смогут разделить со мной это чувство, ознакомившись с богатым иллюстративным материалом книги, демонстрирующим результаты реальных исследований. Именно поэтому я использовал цитату из «Идиота» Ф. М. Достоевского в качестве одного из эпиграфов к книге. Вторым эпиграфом — высказывание «отца-основателя» органической масс-спектрометрии Фреда МакЛафферти. Безусловно, будучи шутливым, оно, тем не менее, прекрасно отражает возможности метода и диапазон его применимости.

Каждая из 21 главы повествует об отдельном направлении масс-спектрометрии объектов окружающей среды. Главы 1—5 посвящены основам масс-спектрометрии. Они раскрывают наиболее распространенные общие приемы. Материал этих глав позволит легче схватывать идеи последующих разделов книги.

Основные принципы масс-спектрометрии коротко изложены в главе 1. Это форма представления масс-спектров, системы ввода, анализаторы масс и методы ионизации, играющие основную роль в экологической масс-спектрометрии.

Газовая хроматография/масс-спектрометрия (ГХ/МС) остается на сегодняшний день наиболее эффективным методом качественного и количественного определения наиболее распространенных загрязняющих веществ: фенолов, полициклических ароматических углеводородов, полихлорированных бифенилов, дибензодиоксинов и дибензофуранов и т.д. Важнейшие аспекты этого комбинированного метода представлены в главе 2.

С момента успешной стыковки масс-спектрометра с жидкостным хроматографом метод ЖХ/МС становится все более и более востребованным, поскольку огромное число полярных и термолabileльных соединений вошли в рабочий диапазон масс-спектрометрии. Глава 3 повествует об основных деталях, особенностях и преимуществах метода ЖХ/МС.

Курс на повышение чувствительности и надежности анализов привел ко все более частому приложению тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) к проблемам окружающей среды. Ранее этот метод использовался в основном в фундаментальных исследованиях. Экологические приложения тандемной масс-спектрометрии рассмотрены в главе 4. Этот метод надежнее, чем обычная масс-спектрометрия. Кроме того, он позволяет создавать различные автоматизированные программы для эффективного качественного и количественного определения сотен экотоксикантов и(или) биомаркеров за один ввод пробы. Метод МС/МС незаменим, когда речь идет об установлении структуры соединений в нецелевых анализах.

Поскольку за регистрацией всегда следует какая-либо процедура обработки масс-спектра, эта часть эксперимента имеет особое значение. Сейчас в большинстве случаев работы с экотоксикантами нет необходимости проводить установление структуры аналита вручную. Представительные базы данных и постоянно совершенствующееся программное обеспечение — неотъемлемая часть современных масс-спектрометров. Именно таким базам данных и компьютерным программам посвящена глава 5.

Следующий блок (главы 6—9) представляет инновации XXI века. Усовершенствованные ГХ/МС-методы: ГХ/ГХ/МС и быстрая ГХ/МС (глава 6) расширили возможности метода. Первый из них делает возможным получение информации о тысячах индивидуальных компонентов сложнейших смесей за однократный ввод пробы, второй позволяет сократить время анализа в 5—10 раз. Недавно внедренный интерфейс сверхзвуковых молекулярных пучков продемонстрировал новые впечатляющие возможности классического метода электронной ионизации и позволил расширить круг соединений, которые можно эффективно анализировать ГХ/МС.

Долгие годы основным недостатком масс-спектрометрии считалась необходимость пробоподготовки, зачастую весьма трудоемкой. Начало XXI века ознаменовалось революционными подвижками в преодолении этой трудности. Сегодня предложены более 40 масс-спектрометрических методов с ионизацией в нормальных (природных) условиях с применением плазмы или распыления. Глава 7 посвящена наиболее эффективным среди них: ДЭРИ, ПАРВ, EASY, ЭЭРИ и т. д. Во многих случаях процедура пробоподготовки может быть полностью устранена.

Исторически первый метод ионизации в нормальных условиях был назван десорбционной электрораспылительной ионизацией (ДЭРИ, DESI). Он уникален по скорости, кругу анализируемых молекул и области применения, включая, например, онлайн-детектирование биомаркеров во время хирургических операций. Глава 8 посвящена возможностям этой замечательной техники.

Другим недостатком масс-спектрометрии прошлых лет был размер приборов. Сейчас производится много мощных и надежных настольных масс-спектрометров. Тем не менее борьба за сокращение размеров не прекращается. Например, размер играет едва ли не ключевую роль в создании приборов для размещения на космических кораблях. В последние годы созданы портативные приборы (до нескольких килограммов), способные решать весьма сложные задачи. Один из авторов главы 9, посвященной миниатюризации, Грэм Кукс отметил в своей лекции на недавней международной масс-спектрометрической конференции в Бремене (*Cooks et al., 2010*), что будет правильно, если в недалеком будущем обычный человек сможет использовать масс-спектрометр



для замеров на «кухне», например для проверки качества пищевых продуктов, простых экологических тестов или контроля здоровья.

С главы 10 начинается блок, посвященный наиболее значимым типам загрязнений окружающей среды. Метод индуктивно связанной плазмы с масс-спектрометрическим детектированием (ИСП МС) является наиболее быстрым и информативным для качественного и количественного определения химических элементов в пробах. Менее минуты достаточно для того, чтобы получить надежную информацию о наличии и уровнях большинства химических элементов таблицы Д. И. Менделеева. Поскольку диапазон линейности метода достигает 12 порядков, за один ввод пробы можно получить информацию и о макроэлементах, и об элементах, присутствующих в ультраследовых количествах. Этому замечательному методу посвящена глава 10.

Достаточно большая группа химических соединений в объектах окружающей среды объединяется термином «летучие». Это связано исключительно с низкой величиной давления их паров. В эту группу входят самые разнообразные органические вещества. Опасность соединений этой группы для человека и экосистемы в целом лежит в широком диапазоне, а их присутствие должно контролироваться в атмосфере, воде, других образцах и продуктах. Масс-спектрометрическому анализу таких соединений, которые можно разделить на антропогенные и биогенные, посвящена глава 11.

Побочные продукты дезинфекции, возникающие при подготовке питьевой воды, а также при эксплуатации плавательных бассейнов и утилизации отходов, представляют собой серьезную экологическую проблему, нанося существенный вред здоровью человека. Не существует лучшего метода качественного и количественного определения этих соединений, чем масс-спектрометрия. Об этом повествуется в главе 12.

Глава 13 посвящена опасным современным экотоксикантам: фармацевтическим препаратам, наночастицам, металлоорганическим соединениям. Набор этих ксенобактерицидов неуклонно возрастает год от года с появлением новых продуктов, часто не самых экологичных. И вновь следует сказать, что для их детектирования не существует более эффективного метода, чем масс-спектрометрия.

Пестициды всегда считались приоритетными загрязняющими веществами. Различные варианты ГХ/МС или ЖХ/МС показали свою эффективность в определении этих экотоксикантов в объектах окружающей среды. Тем не менее в связи с широчайшим разнообразием структур и наличием очень жестких требований по чувствительности и надежности определение пестицидов продвинутыми хроматомасс-спектрометрическими методами представлено в главе 14.

Масс-спектрометрия является единственным аналитическим методом, способным надежно определять суперэкотоксиканты: полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны. Благодаря своей высочайшей токсичности и стабильности эти ксенобактерициды должны контролироваться на постоянной основе. Более 30 лет им уделяется особое внимание. Ежегодный представительный научный форум посвящен исключительно этим соединениям. Детали масс-спектрометрического определения этих веществ представлены в главе 15.

Загрязнение атмосферы является важным аспектом химии окружающей среды. Глава 16 названа «Масс-спектрометрия атмосферных аэрозолей». Уникальные результаты, включая анализ единичных частиц, наглядно демонстрируют преимущество масс-спектрометрии перед другими аналитическими методами в подобных анализах.

Что происходит, когда загрязняющее вещество попадает в организм человека? Возможность масс-спектрометрического изучения взаимодействия экотоксикантов с ДНК является предметом главы 17. Чрезвычайная сложность задачи требует высочайшей чувствительности метода и возможности работать как с целевыми, так и нецелевыми аддуктами ксенобиотиков с биомолекулами.

В четырех последних главах рассматриваются масс-спектрометрические подходы, которые привели к созданию новых направлений научных исследований. В частности, появилась возможность прямого анализа состава самых сложных смесей природных соединений. Сверхвысокая разрешающая способность масс-спектрометрии с преобразованием Фурье позволяет идентифицировать и оценить уровни тысяч индивидуальных родственных природных соединений без какого-либо предварительного разделения. Главы 18 и 19 знакомят читателя с новейшими дисциплинами: петролеомикой и гуминомикой.

Масс-спектрометрия изображений (имиджинг) — еще одно уникальное научное направление, возникшее в самом конце XX века. Этот удивительный метод позволяет детектировать и картировать распределение тысяч самых разнообразных соединений в органах и тканях животных и растений, в минералах, овощах и фруктах, произведениях искусства. Стало возможным устанавливать распределение экотоксиканта, лекарственного препарата или его метаболитов в целом организме лабораторного животного или определять, какие белки и где конкретно генерируются организмом в качестве отклика на проникновение чужеродного вещества в организм. Эти аспекты рассматриваются в главе 20.

Глава 21 посвящена изотопной масс-спектрометрии — красивому методу, базирующемуся на существовании природных изотопов химических элементов. Соотношение этих изотопов зависит от происхождения образца. Измерив отношения D/H или $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, можно делать выводы о подлинности произведений искусства, определять, на каком заводе синтезировано данное вещество, устанавливать, природным или синтетическим является полезный ингредиент (аскорбиновая или лимонная кислота) в соках и напитках. Этот мощный метод полезен в криминалистике (анализ наркотиков) и в допинг-контроле (различие между эндогенными и синтетическими стероидами).

Таким образом, я надеюсь, что читатель не только обнаружит в этой книге много полезной для своей будущей работы информации, но и просто получит удовольствие, знакомясь с фантастическими возможностями современной экологической масс-спектрометрии.

Литература

- [1]. Cooks R. G., Ifa D. R., Sharma G., Tadjimukhamedov F. Kh., Ouyang Zh. (2010). «Perspectives and retrospectives in mass spectrometry: one view». *European Journal of Mass Spectrometry*, 16, 3: 283—300.
- [2]. Kluge H.-Jurgen (2010). «High accuracy mass spectrometry for fundamental studies». *European Journal of Mass Spectrometry*, 16, 3: 269—282

ГЛАВА I

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Альберт Лебедев

I.1. Базовые аспекты

Для того чтобы получить масс-спектр, необходимо ввести образец в ионный источник масс-спектрометра, ионизировать молекулы (получить положительные или отрицательные ионы), разделить эти ионы по величинам m/z (отношение их массы к заряду) и установить число ионов с каждым m/z . Компьютер управляет всеми процессами и проводит обработку данных. Принципиальная схема масс-спектрометра представлена на рис. 1.1. Дополнительные узлы могут добавляться для решения более сложных задач.

Таким образом, масс-спектрометрия является аналитическим методом, оперирующим заряженными атомами и молекулами химических соединений. Принципиальным моментом является ионизация молекул образца или перевод ионов, уже имеющих в растворе или в твердой матрице, в газовую фазу. Отношение массы к заряду (m/z) ионов может быть точно измерено, что позволяет установить молекулярные массы ингредиентов образца. Можно также инициировать фрагментацию исходных молекулярных ионов с получением набора фрагментных ионов. Эти ионы представляют собой наиболее стабильные фрагменты исходной молекулы и позволяют делать выводы о ее структуре. Интенсивности и величины m/z молекулярного и фрагментных ионов на графике по осям y и x соответственно называются масс-спектром. Обычно график нормализуется на 100% по наиболее интенсивному пику в спектре. Масс-спектр — уникальная характеристика химического вещества. Для работы с масс-спектром необходимы только атомные массы химических элементов, точнее природных изотопов этих элементов. Поскольку атомные и молекулярные массы — простые и широко используемые характеристики, масс-спектры значительно проще для интерпретации, чем ЯМР, ИК, УФ, ЭПР и другие типы спектров.

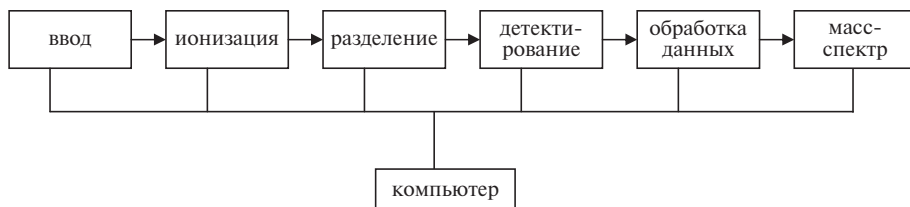


Рис. 1.1. Принципиальная схема масс-спектрометра

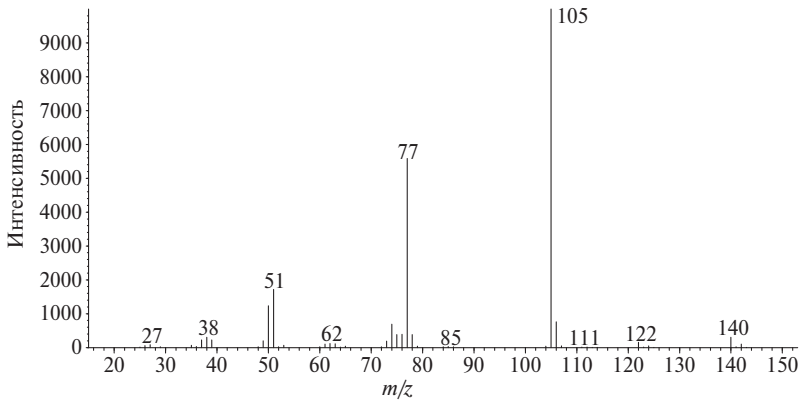


Рис. 1.2. Спектр электронной ионизации бензоилхлорида (NIST 27422)

Существуют определенные правила, определяющие направления фрагментации химических соединений в масс-спектрометре. Поэтому на основе масс-спектра можно установить молекулярную массу, элементный состав, присутствие определенных функциональных групп, а зачастую и полную структуру аналита. Во многих случаях уже новичок может успешно решать задачи даже без использования спектральных баз данных и специального программного обеспечения.

Спектр электронной ионизации бензоилхлорида в классической графической форме представлен на рис. 1.2. Абсцисса соответствует массам ионов (точнее величинам m/z), а ордината — относительным интенсивностям пиков этих ионов. Для новичка проще принимать во внимание только наиболее интенсивные пики в спектре. Менее интенсивные пики, следующие сразу за интенсивными, обусловлены наличием в составе молекул образца природных стабильных изотопов. Они играют важную роль при установлении структуры и далее будут обсуждаться подробнее.

Пик иона с самой большой массой соответствует молекулярному иону аналита. В спектре на рис. 1.2 — это 140. Следует также обратить внимание на ион с m/z 142, интенсивность пика которого составляет 1/3 от интенсивности пика иона с m/z 140. Эти два пика обусловлены существованием двух природных изотопов хлора: ^{35}Cl и ^{37}Cl . Их природное соотношение $\sim 3:1$. Первичный фрагментный ион с m/z 105 образуется при потере 35 единиц массы из молекулярного иона с m/z 140 или 37 единиц мас-

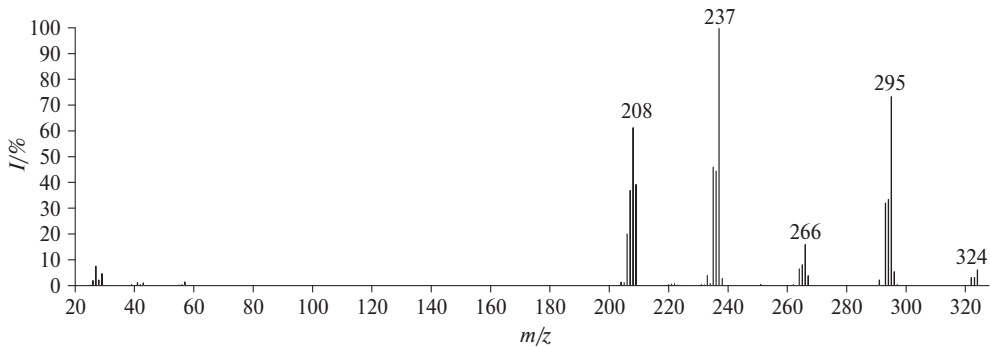


Рис. 1.3. Спектр электронной ионизации тетраэтилсвинца (NIST 45993)

сы из изотопного иона с m/z 142. Оба выброса обусловлены атомами хлора (^{35}Cl и ^{37}Cl). Первичный ион с m/z 105 теряет молекулу CO с образованием вторичного фрагментного иона (m/z 77), который, однако, может образоваться и напрямую из молекулярного иона при разрыве связи $\text{C}-\text{C}$. Даже человек с минимальным опытом работы по расшифровке масс-спектров знает, что ион с m/z 77 может считаться визитной карточкой фенильной группы (C_6H_5^+). Это стабильный в газовой фазе ион, который указывает на ароматическую природу аналита. Продукт следующей стадии фрагментации, ион с m/z 51, образуется при отщеплении из фенил-катиона молекулы ацетилена (C_2H_2). Измерение точной массы (см. ниже) может надежно подтвердить сделанные выводы, поскольку дает возможность установить элементный состав всех упомянутых выше ионов.

Существование природных изотопов химических элементов облегчает установление структуры и позволяет определить элементный состав анализируемого соединения по его масс-спектру. На рис. 1.3 представлен хороший пример простоты и информативности масс-спектра, демонстрирующий важность учета изотопных пиков. Три основных природных изотопа свинца имеют атомные массы 206, 207 и 208 единиц с распространенностью 25,15 %, 21,11 % и 52,38 % (грубо 1:1:2) соответственно. Тетраэтилсвинец — топливная добавка. Будучи хорошо известным экотоксикантом, он запрещен в на-

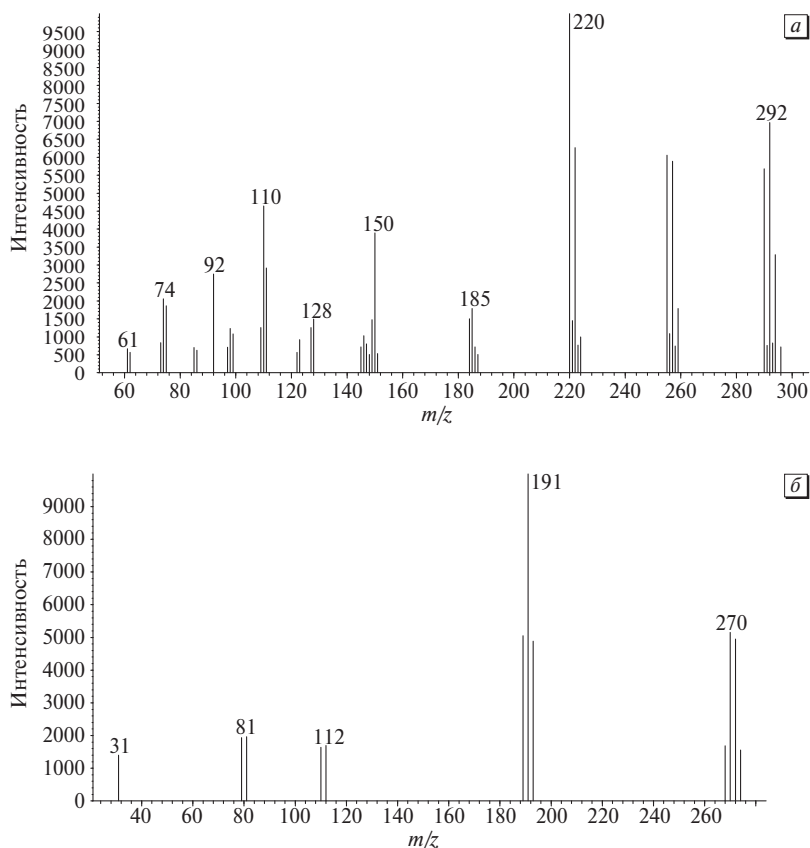


Рис. 1.4. Масс-спектры электронной ионизации тетраэтилсвинца NIST 169679 (верх) и триэтилфосфина NIST 150824 (низ)

стоящее время в подавляющем большинстве стран. В области высоких масс, начиная с m/z 324, в спектре отчетливо видны 5 триплетов (иногда искаженные) с соотношением интенсивностей 1 : 1 : 2 и отстоящих друг от друга на 29 единиц массы. Эти группы ионов обусловлены последовательными выбросами четырех этильных групп из молекулярного иона $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$. Детали работы с изотопными пиками представлены в (Lebedev, 2009; Лебедев, 2003).

Хлор и бром часто присутствуют в молекулах приоритетных загрязняющих веществ (пестициды, фармацевтические препараты, побочные продукты дезинфекции, антипирены). Благодаря уникальному соотношению природных изотопов ($^{35}\text{Cl}:^{37}\text{Cl} \sim 3:1$; $^{79}\text{Br}:^{81}\text{Br} \sim 1:1$) присутствие этих элементов в анализируемых образцах может быть моментально установлено по масс-спектру. Для этого надо обращать внимание на мультиплеты, пики в которых отстоят друг от друга на две единицы массы. Число атомов этих элементов в молекуле также однозначно определяется по изотопной картинке. Так, два атома хлора в молекуле дадут изотопный кластер (триплет) с относительными интенсивностями $(3:1)^2 = 9:6:1$; три атома — $(3:1)^3 = 27:27:9:1$ и т.д. Вид мультиплетов ионов в зависимости от числа атомов хлора и брома в молекуле представлен на рис. 12.9 в главе 12. Примеры масс-спектров экологически важных тетрахлорбифенила и трибромфосфина представлены на рис. 1.4. Последовательные выбросы атомов хлора и брома с образованием характеристических изотопных кластеров ионов позволяют легко идентифицировать эти токсиканты. Спектр трибромфосфина особенно прост, поскольку последовательное элиминирование трех атомов брома приводит к иону атомарного фосфора с m/z 31. При этом дублет с m/z 79 и 81 определяется двумя стабильными изотопами брома.

1.2. Ввод образца

Любой масс-спектрометрический эксперимент начинается с ввода образца в прибор. На этой стадии наиболее серьезная проблема связана с тем, что большинство приборов функционирует в условиях глубокого вакуума (10^{-5} — 10^{-6} торр). Существует несколько подходов: прямой ввод, ввод через полупроницаемую мембрану, интерфейсы с многочисленными хроматографами (ГХ, ВЭЖХ, СКФХ, КЭ) и даже самостоятельное натекание молекул или ионов из атмосферы в прибор, работающий в условиях пониженного давления. Последний вариант будет детально рассматриваться в последующих главах, посвященных миниатюризации и современным методам анализа без пробоподготовки (главы 7—9).

В случае прямого ввода жидкий или твердый образец направляется в ионный источник через вакуумный шлюз. Поскольку обычное давление в источнике 10^{-5} — 10^{-6} мм рт. ст., а образец может быть нагрет до 400°C и более, значительное число органических соединений может быть переведено в газовую фазу и проанализировано. Однако, если образец представляет собой смесь соединений с близкими летучестями, зарегистрированный масс-спектр будет представлять собой суперпозицию спектров компонентов. Этот факт может существенно усложнить процесс идентификации, причем как компьютеризованный, так и производимый вручную.

Полупроницаемые мембраны могут с успехом применяться в экологическом мониторинге. Например, пусть вода протекает по трубке из полимерного материала.

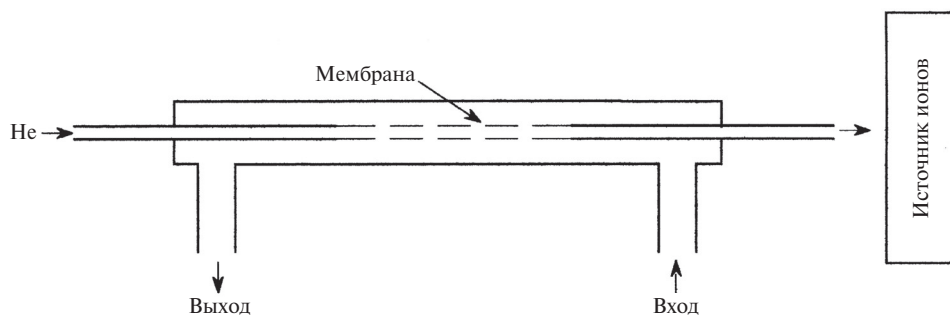


Рис. 1.5. Вариант мембранного ввода с положением мембраны вне источника ионов

При этом липофильные соединения могут адсорбироваться на поверхности такого материала, просачиваясь через тонкие стенки. С наружной стороны они попадают в поток инертного газа, доставляющего их непосредственно в ионный источник, где и происходит их детектирование. Подобные устройства успешно используются в онлайн-режиме для определения конкретных соединений в реках, промышленных сбросах и т. д. (глава 9). Аналогичные системы используются для детектирования целевых соединений в биологических жидкостях. К сожалению, метод не универсален и должен несколько модифицироваться для каждого нового анализата. Вариант мембранного ввода представлен на рис. 1.5.

Наиболее популярными являются системы ввода в виде различных интерфейсов между блоком разделения (хроматографы) и масс-спектрометром. Несколько глав (2, 3, 6) посвящены подробному изложению вариантов такого комбинированного метода — хроматомасс-спектрометрии.

1.3. Ионизация

Масс-спектрометрия регистрирует исключительно заряженные частицы. Ни молекулы, ни радикалы не могут быть исследованы в своей исходной нейтральной форме. Следовательно, молекулы образца должны быть ионизированы. Альтернативно ионы целевого вещества, уже существующие в конденсированной фазе, могут быть каким-либо образом переведены в газовую фазу. За столетнюю историю масс-спектрометрии описано несколько десятков методов ионизации, причем следует отметить, что значительное число новых атмосферных методов были предложены совсем недавно, уже в XXI веке. Частота использования того или иного метода с годами изменяется. Одни из них продолжают играть важную роль в современных исследованиях, другие уже прошли свой «золотой период» и заменены более эффективными.

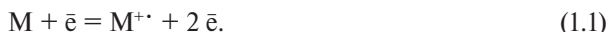
Все существующие методы могут быть грубо разделены на две группы: «мягкие» и «жесткие». Это разделение основано на величине избытка внутренней энергии в образующемся молекулярном ионе. Если эта величина мала, фрагментация незначительна и ион регистрируется как молекулярный. Такой процесс называется «мягкой ионизацией». Определенный избыток внутренней энергии запускает процесс разрыва конкретных химических связей в исходном молекулярном ионе, приводя к появлению различных фрагментных ионов. Иногда молекулярный ион вообще не удастся зарегистри-

стрировать. Подобный процесс называется «жесткой» ионизацией. Оба варианта полезны. Первый дает информацию о молекулярной массе соединения и его элементном составе (масс-спектрометрия высокого разрешения), второй позволяет получить структурную информацию благодаря массам фрагментных ионов.

В этой главе будут рассмотрены только наиболее значимые для экологической масс-спектрометрии методы ионизации. Несколько новых методов описаны в главах 7 и 8. Для дополнительной информации может быть рекомендована книга (*Westman-Brinkmalm and Brinkmalm, 2009*) и литература, процитированная в ней.

1.3.1. Электронная ионизация

Электронная ионизация (традиционно называвшаяся «электронным ударом»), предложенная Демпстером еще в 1921 году (*Dempster, 1921*), исторически была первым и до сих пор остается одним из наиболее востребованных методов ионизации. Она особенно важна для масс-спектрометрии образцов объектов окружающей среды. В процессе электронной ионизации (ИЭ) газообразные молекулы образца должны оказаться в ионном источнике, функционирующем в условиях высокого вакуума (10^{-5} – 10^{-6} мм рт. ст.). Испускаемые катодом электроны, пролетая через ионный источник к противоэлектроду, взаимодействуют с этими молекулами. В результате собственные электроны молекул переходят на более высокие орбитали или совсем покидают молекулу с образованием ионов. Процесс может быть представлен следующим уравнением:



Теряя электрон, молекула превращается в катион-радикал. Более 95% образующихся ионов однозарядные, хотя образуются двух- и даже многозарядные ионы. Их количество зависит от природы молекул образца. Стандартная энергия ионизирующих электронов — 70 эВ, что близко к максимуму сечения ионизации для большинства органических молекул. Внутренняя энергия образующихся молекулярных ионов лежит в диапазоне от 0 до 20 эВ, приводя к интенсивной фрагментации. В условиях высокого вакуума отсутствуют ионно-молекулярные взаимодействия, т.е. перераспределение энергии между частицами за счет их столкновений отсутствует. В результате образовавшиеся молекулярные ионы ведут себя далее исключительно в зависимости от приобретенной в процессе ионизации внутренней энергии. Определенный избыток этой энергии запускает соответствующий процесс фрагментации. Поскольку статистически в результате ионизации образуются миллиарды и триллионы молекулярных ионов с очень широким диапазоном внутренней энергии, активируются все возможные пути фрагментации. Поэтому спектры электронной ионизации предоставляют богатую структурную информацию и характеризуются высокой воспроизводимостью независимо от типа масс-спектрометра. Последняя особенность позволила создать и эффективно использовать библиотеки масс-спектров (глава 5).

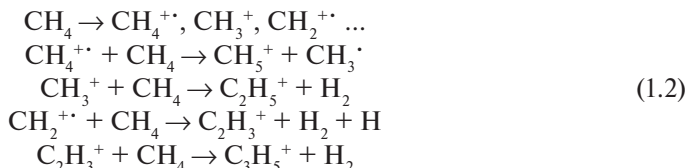
Электронная ионизация — это универсальный метод, позволяющий исследовать разные классы химических соединений. Однако у него есть существенный недостаток, связанный с необходимостью перевода молекул образца в газовую фазу. Именно поэтому метод непригоден для полярных, термолабильных и тяжелых молекул. Тем не менее электронная ионизация прекрасно справляется с анализом подавляющего большинства экологически значимых соединений в самых разных матрицах.

Хотя в процессе ионизации электронами образуются и отрицательные ионы, их выходы существенно ниже, что лимитирует использование этого режима на практике.

1.3.2. Химическая ионизация

В 1966 г. Мансон и Филд описали «мягкий» метод ионизации (*Munson and Field, 1966*), названный химической ионизацией (ХИ, chemical ionization, CI). Поскольку внутренняя энергия образующихся в результате ХИ ионов обычно ниже 5 эВ, фрагментация практически отсутствует. Иногда в спектре наблюдается исключительно пик молекулярного иона. Наиболее полное описание процессов ХИ можно найти в книге А. Гаррисона (*Harrison, 1992*).

Основное различие между ИЭ и ХИ связано со значительно более высоким давлением в источнике (~1 мм рт. ст.) во втором случае. Это давление достигается введением так называемого газа-реагента, в качестве которого можно использовать практически любое вещество (воду, аммиак, метан, бензол, гелий, этилендиамин и т. д.). Взаимодействие молекул газа-реагента с электронами высокой энергии (200—500 эВ) приводит к ионизации. Благодаря высокому давлению образующиеся молекулярные ионы взаимодействуют с нейтральными молекулами. В результате самых разнообразных ионно-молекулярных реакций создается газовая плазма, существующая в динамическом равновесии. Наиболее распространенные и реакционноспособные ионы в этой плазме называются ионами-реагентами. Это могут быть молекулярные, фрагментные ионы или ионы — продукты реакций исходных молекул газа-реагента. Уравнения (1.2) дают представление о некоторых основных процессах в случае химической ионизации метаном. Два иона (CH_5^+ — 44% и C_2H_5^+ — 30%) являются доминирующими ионами-реагентами в образующейся плазме.



Когда молекула образца вводится в ионный источник, она взаимодействует с ионами-реагентами. Возможны несколько типов реакций. Наиболее значимым является протонирование (перенос протона). Если сродство к протону у аналита М выше, чем у газа-реагента В (например метана в случае CH_5^+), протекает следующая реакция:



Необходимо подчеркнуть два момента. Во-первых, протонирование приводит к возникновению четноэлектронных катионов (протонированных молекул), которые значительно стабильнее катион-радикалов, образующихся в условиях ионизации электронами. Во-вторых, избыток внутренней энергии MH^+ может быть легко вычислен по уравнению

$$E = \text{СП}(\text{M}) - \text{СП}(\text{B}), \quad (1.4),$$

где СП — сродство к протону М и В соответственно.