



ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 543.51

ДЕСОРБЦИОННО-ПОЛЕВАЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ: ОСНОВЫ, ТЕХНИКА И ПРИМЕНЕНИЕ В БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ *

*Бекай Х. Д., Шультеп Х.-Р.**Институт физической химии,
Боннский университет, ФРГ*

Полевая десорбция делает возможным масс-спектрометрическое исследование больших органических молекул без их испарения. Описано современное состояние теоретического понимания ионизации таких молекул, адсорбированных на органических эмиттерах. Изложены специальные проблемы этого метода и очерчены перспективы разработки приборов для будущих аналитических задач. При описании современных достижений внимание сосредоточено на работах по анализу модельных биологически важных соединений и продуктов распада лекарств и пестицидов в природной среде. Метод особенно удобен для определения и идентификации субмикrogramмовых количеств незамещенных полярных веществ, присутствующих в сложных смесях и грубо очищенных экстрактах биологических материалов.

ВВЕДЕНИЕ

В середине 1969 г. появилась обзорная статья, касающаяся качественного и количественного анализа органических молекул посредством масс-спектрометров с полевой ионизацией (ПИ) [1]. В этом обзоре полевая десорбция (ПД) органических молекул [2] упоминалась как метод, который в то время был только что введен в масс-спектрометрию. С тех пор этот метод стал быстро развиваться. Этот новый вариант масс-спектрометрии применяют для анализа термически нестойких биологически важных соединений. Так как нет необходимости в испарении образцов в ходе анализа, почти во всех случаях можно точно определить массу молекулярного иона и таким путем установить элементный состав вещества. В последующих разделах обобщены данные, касающиеся физико-химических основ, применяемой техники и возможностей использования метода ПД в биоорганической химии.

I. ОСНОВЫ ДЕСОРБЦИОННО-ПОЛЕВОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Концепция полевой десорбции известна уже давно благодаря фундаментальным работам Мюллера [3] и Гомера [4]. В их исследованиях атомы или небольшие молекулы (например, H_2 , O_2 или N_2) подвергались десорбции с металлического острия в электронном микропроекторе под воздействием сильного электрического поля порядка 10^8 — $5 \cdot 10^8$ В/см.

* Настоящий обзор является новым исправленным и дополненным вариантом опубликованного ранее в «*Angew. Chem. internat. Edit.*» (1975), 14, 403, и в «*Angew. Chem.*» (1975) 87, 425. Перевод д-ра хим. наук О. С. Чижова.

Сегодня под «десорбционно-полевой масс-спектрометрией» (ДП-МС) масс-спектрометрист подразумевает экспериментальную методику, включающую в себя нанесение твердого органического вещества на «активированный» анод (эмиттер), последующую полевую десорбцию соединения в ионизированном состоянии и масс-спектрометрический анализ полученных ионов. Анод называют «активированным», когда он покрыт очень большим числом микроскопических углеродистых игл.

По этой методике образцы твердых органических веществ не испаряют в ионном источнике [5]. Их растворяют или суспендируют в подходящей среде [6], обычно при комнатной температуре, и затем погружают активированный анод (преимущественно 10-мкм вольфрамовую проволоку, плотно покрытую микроскопическими иглами) в возможно более концентрированный раствор образца («метод погружения анода»). Когда затем анод вынимают, некоторое количество раствора прилипает к иглам или остается в промежутках между ними. При средней длине игл 30 мкм это составляет около 10^{-2} мкл.

По другому методу [7] капли раствора наносят на анод посредством микрошприца, снабженного микроманипулятором. Преимущество этого метода состоит в том, что: 1) на анод можно нанести известный объем раствора (например, для определения чувствительности), 2) достаточно ничтожного количества раствора, 3) капли раствора образца можно поместить аккуратно на середину анода.

Анод с нанесенным образцом затем вводят через вакуумный шлюз в ионный источник масс-спектрометра. Растворитель испаряют, а подлежащее анализу вещество остается на иглах или между ними.

На рис. 1а приведена фотография чистой активированной вольфрамовой проволоки, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. На рис. 1б воспроизведена фотография игл, на которые и между которыми нанесена из 0,01 М раствора *D*-глюкоза. Хотя было нанесено всего 10^{-8} г *D*-глюкозы, удалось получить ДП-масс-спектр, пригодный для интерпретации. Предельная концентрация раствора аденозина для анализа методом погружения эмиттера составляет 10^{-5} М; это означает, что примерно 10^{-11} г является наименьшим количеством органического вещества, которое можно определить посредством ДП-МС, применяя модифицированный масс-спектрометр Varian MAT-CN4. Этот предел зависит, с одной стороны, от природы вещества, растворителя и его рН и, с другой — от морфологии игл, трансмиссии масс-спектрометра (определение этого термина дано в разделе V. 1) и чувствительности системы детектирования ионов. Если анализу подлежит вещество, присутствующее в концентрации, меньшей, чем 10^{-5} М, на анод нужно наносить больший объем раствора, например анод можно осторожно нагревать, чтобы испарить растворитель. Если теплота, выделяющаяся при пропускании тока, лишь компенсирует теплоту испарения растворителя, термическое разложение образца не будет иметь места [8]. Поскольку таким путем можно нанести объемы, приблизительно в 1000 раз большие, чем при методе погружения, можно исследовать растворы с концентрацией вплоть до 10^{-8} М.

Чувствительность метода ПД (выраженная в кулонах тока коллектора на 1 мкг десорбированного полем вещества) лишь немного меньше, чем при ионизации электронным ударом (ЭУ) для систем с прямым испарением твердых органических веществ. Относительно высокая чувствительность метода ПД определяется эффективностью процессов ионизации и доставки вещества. Большая часть молекул, адсорбированных на эмиттере, десорбируется в форме ионов, и можно ожидать, что большая часть этих ионов будет эмиттироваться в направлении катода. До сих пор не было вполне измерений углового распределения потока десорбированных полем ионов с активированных эмиттеров; было изучено только угловое распределение потока ионов, полученных полевой ионизацией, около одиночного металлического острия [9, 10].

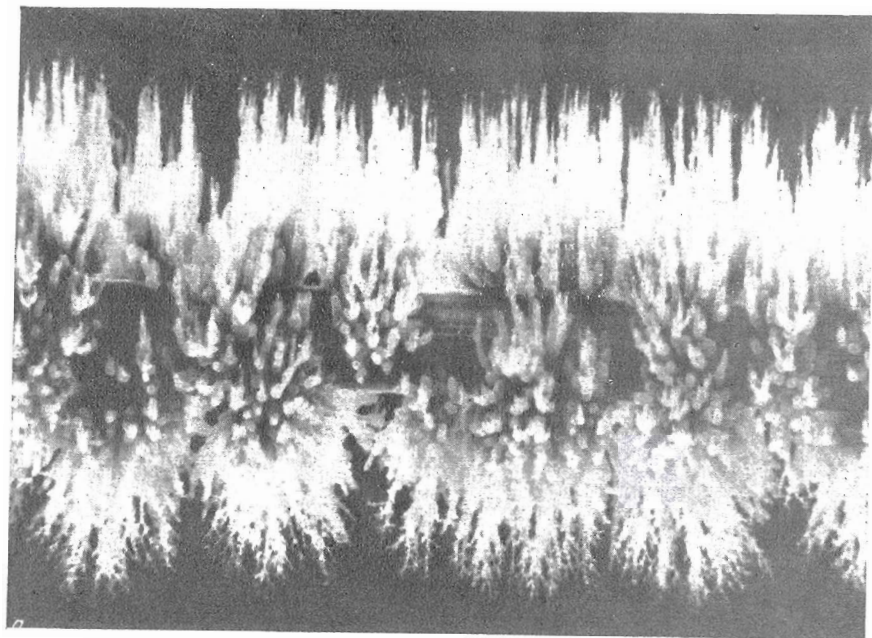


Рис. 1. *a* — фотография вольфрамовой проволоки диаметром 40 мкм, активированной парами бензонитрила при 1200°, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Длина микроигл ~ 20 мкм. *б* — фотография микроигл, полученная с помощью трансмиссионного электронного микроскопа. На иголочках и между ними виден тонкий слой *D*-глюкозы (более слабое потемнение), которая была нанесена из 0,01 М водного раствора. Концы тонких игл кое-где сгинуты друг к другу чем-то вроде глюкозных нитей (образовавшихся после испарения воды и поэтому несколько изогнутых)

Для получения ДП-масс-спектра сначала юстируют положение анода посредством микроманипулятора (масс-спектрометры типов Varian MAT-CN4/CN5, AEI MS9 и SEC21-110B, модифицированные авторами обзора) или вводят анод в ионный источник через вакуумный шлюз и устанавливают его в механически фиксируемом и воспроизводимом положении (продажные масс-спектрометры типов Varian MAT CN5, 711, 731). Затем фокусируют ионный луч, для чего подключают анод под напряжение при комнатной температуре, чтобы избежать десорбции полем твердого вещества, и вводят пары ацетона в ионный источник, который при этом используется для полевой ионизации. Напуск ацетона прекращают после ионизации ионного тока. Анод обычно находится под положительным потенциалом порядка 3—10 кВ по отношению к земле, а катод, расположенный в нескольких миллиметрах, — под отрицательным потенциалом в несколько киловольт, так что полная разность потенциалов между анодом и катодом составляет 10—12 кВ. Ток, обусловленный ионизацией растворителя (например, ацетона, эфира, бензола, воды), скоро прекращается при осторожном нагревании анода. Небольшой остаточный ток ионов растворителя не мешает при последующих измерениях. Характерные ДП-масс-спектры относительно летучих органических веществ можно получить, если анод имеет комнатную или чуть более высокую температуру. Однако в случае более полярных твердых органических веществ для получения достаточно интенсивного ДП-масс-спектра требуется более сильное нагревание анода (ток подогрева порядка 10—40 мА для активированной вольфрамовой проволоки диаметром 10 мкм).

Теперь следует объяснить качественно, почему образцы органических веществ подвергаются термическому возбуждению при ДП-ионизации в меньшей степени, чем при ионизации ЭУ, полем (ПИ) или химической ионизации (ХИ). При работе по трем последним способам твердые образцы должны быть переведены в парообразное состояние. Для этого нужно, чтобы образцу была передана энергия, равная полной энергии его возгонки. С другой стороны, в методе ПД ионизация адсорбированных молекул и десорбция образовавшихся ионов с анода требует только энергии десорбции полем ($Q_{\text{дес}}$), которая мала в сильных полях. Это показано схематически на рис. 2 для адсорбированного атома (для молекул ситуация гораздо сложнее). На рис. 2а даны потенциальные кривые для взаимодействия адсорбированного атома и моноатомного иона с чистой металлической поверхностью [4]. Здесь сделано допущение, что энергия ионизации (I) атома A значительно больше, чем работа выхода металла (Φ). Для превращения адсорбированного атома в ион A^+ требуется энергия $E_{\text{дес}} = Q_{\text{дес}} + I - \Phi$ (обычно порядка нескольких электронов-вольт). В сильном электрическом поле (~ 1 В/А) получается искаженная потенциальная кривая, изображенная на рис. 2б: для образования иона A^+ нужна значительно более низкая энергия $Q'_{\text{дес}}$. Таким образом, в очень высоких полях атом может быть десорбирован в ионизированном состоянии без дополнительной тепловой энергии. Теория десорбции атомов полем с чистых металлических поверхностей разработана Мюллером и Цоном [11].

До сих пор нет количественной теории для десорбции полем больших органических молекул с иглолок, состоящих из углеродистых органических полимеров со структурированными, графитизированными зонами [12]. Наблюдаемые сложные явления можно объяснить лишь качественно с помощью рис. 3а, б. Среди прочих нужно отметить следующие эффекты:

- 1) лишь некоторые органические молекулы хемосорбированы на поверхности анода. Другие молекулы, которые связаны с поверхностью силами Ван-дер-Ваальса или диполь-дипольным притяжением, десорбируются полем гораздо легче. Потенциальная яма для этих нейтральных молекул (рис. 3а), таким образом, не так глубока, как показанная на рис. 2а;

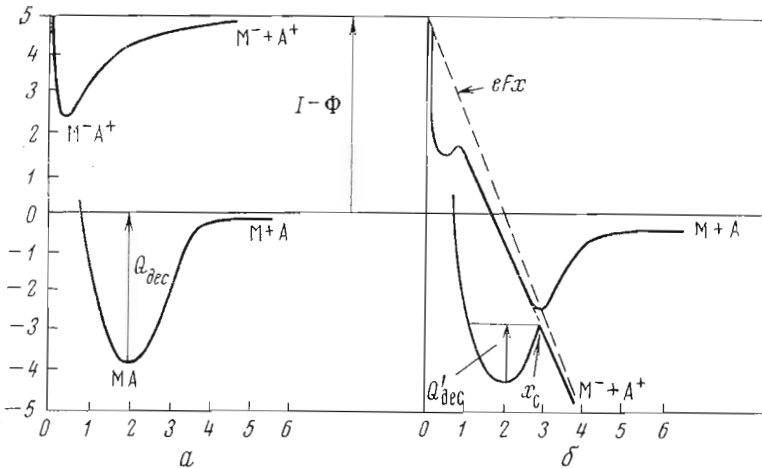


Рис. 2. Потенциальные кривые взаимодействия атома (A) или моновалентного иона (A^+) в отсутствие внешнего электрического поля (a) и при наличии сильного электрического поля (б); абсцисса x — расстояние атома от металлической поверхности в Å; eFx равно потенциалу внешнего поля F . Остальные обозначения — см. текст (меньшие поляризационные члены отброшены) и подпись к рис. 3

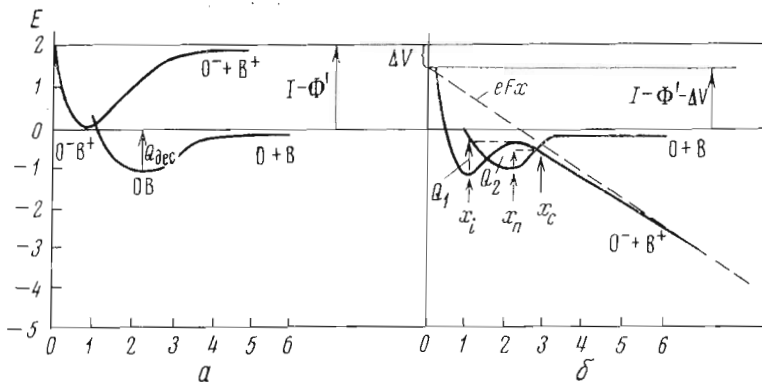


Рис. 3. Потенциальные кривые взаимодействия молекулы (B) или молекулярного иона (B^+) с поверхностью (O) твердого органического вещества в отсутствие внешнего электрического поля (a) и при наличии сильного электрического поля (б). Φ' — работа выхода органического эмиттера. Для ПД иона, адсорбированного при x_i , нужна энергия Q_1 , а для десорбции нейтральной молекулы, адсорбированной при x_n , — энергия Q_2 (x_c — точка пересечения потенциальных кривых для нейтрального и ионизированного состояний молекулы). «Отталкивание» потенциальных кривых в соответствии с «правилом непересечения» не следует принимать в расчет в случае рис. 3б [в противоположность рис. 2б]

2) в сильном электрическом поле потенциальная кривая для ионного адсорбированного состояния сдвинута на величину ΔV к меньшим потенциалам. Большая часть ΔV может быть отнесена за счет падения потенциала в иглах, остальная часть — за счет внедрения поля в иглы;

3) из-за низко расположенных локализованных энергетических уровней работа выхода электронов у органических эмиттеров может быть больше на несколько электронов-вольт, чем у металлических эмиттеров [13].

Благодаря этим трем эффектам потенциальные кривые для нейтрального и ионизированного состояний молекулы могут пересекаться один или более раз (рис. 3б).

II. 1. Аноды

Наилучшие результаты в ДП-МС были получены с иглами длиной 20—40 мкм (ср. [14]). С одной стороны, увеличение длины игл способствует нанесению подлежащего анализу образца, так как в этом случае для адсорбции доступна большая поверхность; с другой стороны, увеличение длины игл сопровождается уменьшением силы поля в центрах эмиссии и таким образом возникающего в результате ионного тока. Указанная выше длина игл оказалась наилучшим компромиссом.

Исследовательской группой Боннского университета было разработано несколько методов активации для приготовления игл [15].

Иглы, получаемые из бензонитрила при комнатной температуре, часто разрушаются агрессивными веществами, особенно при высоких температурах [16]. Аноды, активированные при более высоких температурах, химически более устойчивы [17]. Шультен и другие разработали методику высокотемпературной активации, дающую микроиглы, чрезвычайно устойчивые и химически, и термически [16, 18]*. Между прочим, с такими иглами возможна калибровка шкалы масс при помощи полигалогенированных соединений (перфторкеросин, перфтортрибутиламин), которые разрушают иглы, полученные при комнатной температуре.

Следует подчеркнуть, что успех в ДП-МС органических веществ целиком зависит от качества эмиттера ионов.

II. 2. Оптимальная температура анода для полевой десорбции

Нахождение оптимальной температуры анода T^* (часто также называемой в литературе наилучшей температурой анода) очень важно в ДП-МС. Из-за существования градиента температуры между проволокой анода и остриями игл T^* не совпадает с температурой несущей проволоки. В случае прямого электрического подогрева анода T^* обычно характеризуют, указывая величину нагревающего тока.

Для некоторых веществ можно достичь большей относительной и абсолютной величины потоков молекулярных ионов, нагревая микроиглы тепловым излучением [20]. Это не прямое нагревание анода имеет также то преимущество, что после калибровки посредством эталонных термосопротивлений средняя температура поверхности эмиттера может быть определена с точностью $\pm 2^\circ$ [21]. При оптимальной температуре анода T^* интенсивность тока молекулярных ионов максимальна. Для получения термополевой фрагментации работают при температурах выше T^* [22].

Сначала мы обсудим определение T^* для случаев, когда ДП-масс-спектр измеряют с электрической регистрацией и медленной разверткой по массовым числам без использования многошкальной техники (см. раздел V). Когда нужно определить молекулярный вес образца, T^* является результатом компромисса: если анод нагревают слишком сильно, образец испаряется значительно быстрее, чем требуется для измерения полного масс-спектра; если нагрев слишком слаб, ПД образца недостаточна для получения ионного тока, который давал бы сигналы, отличные от фонового шума детектора ионов.

T^* (выраженная величиной нагревающего тока в микроамперах) зависит от диаметра проволоки, эффективной силы поля, природы вещества, растворителя и его рН, толщины слоя нанесенного на анод вещества и особенно от длины и структуры микроигл. Если вещество нерастворимо,

* Воспроизводимая высокотемпературная активация проволочных анодов описана в работе [18]. При тщательном соблюдении всех приведенных в ней параметров окислительно-восстановительная обработка [19] перед активацией для вольфрамовых проволочных анодов становится излишней.

его можно перенести на эмиттер в виде суспензии в легколетучей жидкости [6].

T^* определяют, настраивая масс-спектрометр на диапазон масс группы молекулярного иона, который почти всегда доминирует при ПД. Затем производят несколько сканирований в этом диапазоне, одновременно медленно повышая температуру анода. Интенсивный и относительно хорошо воспроизводимый ДП-масс-спектр часто получается только в узком температурном интервале. Для некоторых веществ T^* равна комнатной температуре (например, для нафталина, фенантрена и эндрина, т. е. веществ, имеющих относительно высокое давление паров), для других T^* может составлять несколько сотен градусов, т. е. анод должен в таких случаях нагреваться током порядка 10—40 мА.

II. 3. Регистрация ионов с помощью фотопластин или быстрой электрической записи

Недостатки метода ПД (малые абсолютные интенсивности ионных токов, неизвестная оптимальная температура T^* для образцов неизвестного состава — см. также раздел IV) можно преодолеть посредством интегрального определения ионов с помощью фотографических пластинок или быстрой электрической записи с использованием многошкальной техники.

Если фотографические пластинки используются в масс-спектрометре с двойной фокусировкой, оптимальную температуру эмиттера можно определить, нагревая анод до тех пор, пока ток на катоде не достигнет значения $\sim 5 \cdot 10^{-8}$ А (для ускоряющего потенциала 8 кВ и d 2 мм) [23]. Коллабация и общее падение ионных токов вследствие расхода вещества благодаря одновременной регистрации всех видов ионов на фотопластинке не имеют значения. Этот факт для метода ПД еще важнее, чем для метода ЭУ. Более того, при помощи фотопластинок можно зарегистрировать ДП-масс-спектр при температуре несколько выше T^* . При этом появляется не только группа молекулярного иона, но и многочисленные фрагментные ионы [22], что позволяет сделать заключения о функциональных группах или местах разветвления в органической молекуле неизвестного строения. Важное значение применение ДП-МС с фотографической регистрацией ионов при температурах существенно выше T^* , когда регистрируются пиролизические процессы, имеет, например, в исследовании пиролиза полимеров (см. раздел V.2).

Быстрая электрическая запись ионов может быть применена вместо фотографического детектирования. При многошкальной технике сканирование масс-спектра происходит так быстро, что интенсивности различных ионов за время одного сканирования изменяются несущественно. Так как лишь небольшое количество ионов попадает на ионный детектор в каждую секунду, следует применять технику счета ионов, например, с помощью многоканального анализатора. Еще лучше использовать управляющую счетную машину, которая контролирует сканирование по массовым числам через изменение магнитного поля, накачивает сигналы различных типов ионов и программирует изменение температуры анода во времени.

III. ПРИМЕНЕНИЕ ДП-МС

Применение масс-спектрометрии в биохимии в течение последних четырех лет росло исключительно быстро. В этой области, а также в исследованиях окружающей среды и медицинских исследованиях к аналитическим методам должны предъявляться особенно жесткие требования:

1) предел чувствительности должен лежать в нанogramмовом диапазоне или еще ниже,

2) избирательность метода должна позволять однозначно обнаруживать вещества в грубо очищенных экстрактах биологических материалов в присутствии неизбежных примесей,

3) масс-спектры должны содержать не только характеристические фрагментные ионы, но и молекулярные ионы наибольшей возможной интенсивности, так как во многих случаях определение молекулярного веса и брутто-формулы неизвестного соединения является главной целью масс-спектрометрического исследования,

4) методика качественного и количественного анализа должна быть надежной даже для термически неустойчивых образцов.

III. 1. Анализ пестицидов

В последние годы была показана ценность масс-спектрометрии для качественного и количественного определения токсических веществ в окружающей среде. Особенно ценной она оказалась в комбинации с газожидкостной хроматографией и быстрой электронной регистрацией и обработкой данных компьютером (библиотеки спектров, обучающие машины).

III. 1.1. Хлорированные полициклические углеводороды

На рис. 4а показан масс-спектр ЭУ эндрина — широко применяемого инсектицида, акарицида и родентицида [24]. Относительная интенсивность молекулярного иона m/e 378 составляет $\sim 1\%$. В масс-спектрах ПИ,

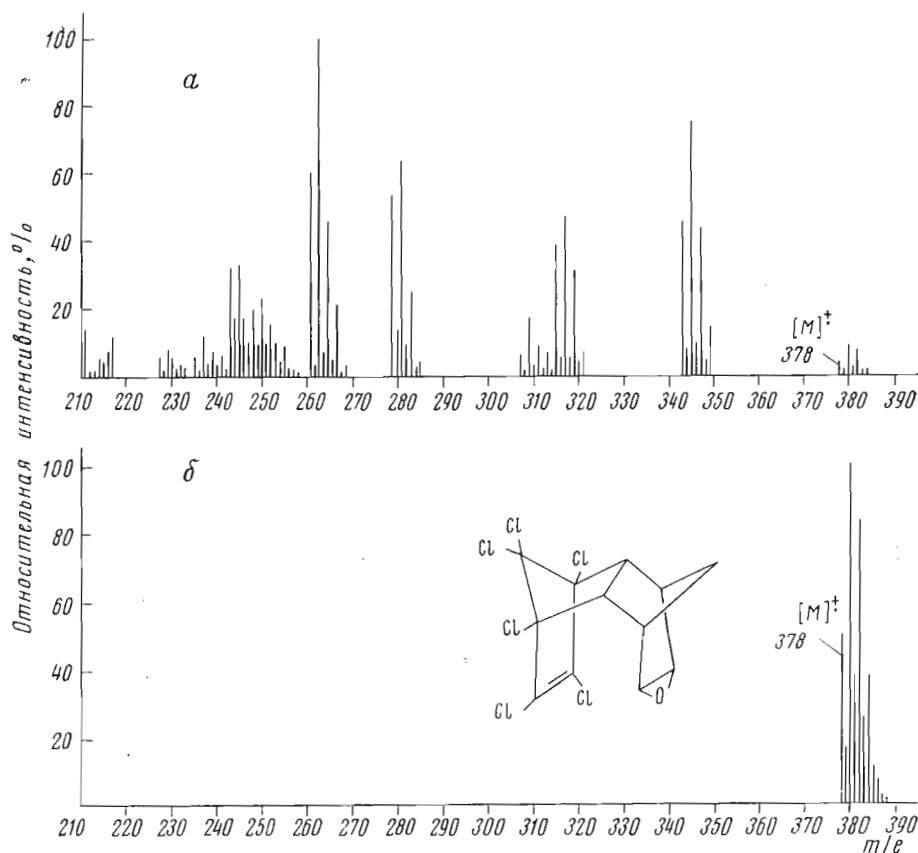


Рис. 4. Масс-спектры эндрина при ионизации ЭУ (температура образца 55° [24]) (а) и ПД (ток нагрева анода 0 мА, 30° [26]) (б). Оба спектра получены с электрической регистрацией

полученных Дамико и соавт. [25], для ряда хлорированных полициклических углеводородов их молекулярные ионы составляют главную часть полного ионного тока. Эндрин достаточно летуч, и его масс-спектр ПИ можно получить при 30°; в дополнение к интенсивной группе молекулярного иона (главный пик) наблюдался сигнал при m/e 342 (10% относительной интенсивности). Наличие соответствующих линий метастабильных ионов дает доказательства отщепления HCl из молекулы. На рис. 46 показан масс-спектр ПД, записанный при комнатной температуре с электрической регистрацией и при низком разрешении (модифицированный масс-спектрометр Varian MAT-CN4) [26]; он состоит исключительно из группы молекулярного иона, фрагменты не удается обнаружить. В указанных экспериментальных условиях масс-спектры ПД, содержащие только молекулярные ионы, были получены также для других пестицидов диметанофталинового типа (дильдрин, альдрин и изодрина) [27]. Из инсектицидов диметаноинденового типа масс-спектры ПД были опубликованы только для хлордена, гептахлора, эндосульфана, келевана и кепона [27, 28]. Сравнение спектров ЭУ и ПД хлордена показывает, что в одинаковых экспериментальных условиях для ПД типично отсутствие фрагментов, а для ЭУ — интенсивная фрагментация. Однако хлорден десорбируется лучше всего не при комнатной температуре, как эндрин, а при несколько более высокой температуре эмиттера (ток нагрева 8 мА, ~ 50°). Более низкая летучесть хлордена видна также и из спектра ЭУ, так как выше m/e 66 имеется лишь два пика при m/e 101 и 237 с относительной интенсивностью, превышающей 3% [24].

III. 1.2. Хлорированные дифенилметаны

Распространенные и широко применяемые инсектициды типа хлордифенилметана можно отметить как пример, который иллюстрирует поведение главных пестицидов в условиях ПД. При использовании фотографической регистрации и разрешении около 15 000 (на уровне 10% между пиками) родоначальное соединение *n,n'*-дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) дает спектр ПД, показанный на рис. 5 [29]. С целью получения фрагментации, вызванной полем и термическим возбуждением, этот спектр ПД был снят при повышенной температуре эмиттера (ток нагрева эмиттера 5 мА). В масс-спектре ПД ДДТ, полученном при комнатной температуре, наблюдается лишь группа пиков молекулярного иона как при фотографической, так и при электрической регистрации. В масс-спектре ЭУ эта группа имеет относительную интенсивность менее 5%, как и пики при m/e 317 ($M - Cl$) и m/e 282 ($M - Cl_2$) [30]. Потеря одного или двух атомов хлора из молекулы ДДТ более ясно видна при ПД, но еще заметнее прямой разрыв связи между C1 и C2 — m/e 235 (основной пик в спектре ЭУ) [30]. Поскольку наблюдается также относительно интенсивный пик при m/e 117 для CCl_3^+ , становится заметной отличительная особенность многих спектров ПД, а именно часто встречающийся разрыв изучаемой молекулы на две комплементарные заряженные частицы. Этот прямой разрыв связи значительно упрощает интерпретацию спектра.

Интересны двузарядные ионы (M^{+2} при m/e 176 и $(M - CCl_3)^{+2}$ при m/e 117,5), особенно с точки зрения теории их образования в высоком поле. Рёлльген и Бекай [31—33] показали, что в масс-спектрометрии с ПИ промежуточное связывание однозарядных ионов с поверхностью всегда характерно для образования двузарядных ионов. Соответствующий процесс в ПД осложнен слоем твердого адсорбата. Для двузарядных ионов, которые образуются путем разрыва связи и (или) элиминации нейтральной частицы из исходной молекулы, часто находят интенсивный пик, сдвинутый на единицу в сторону больших массовых чисел. Такое изменение масс на примере производных сульфамов [22] показало, что причиной появления второго заряда должно быть протонирование в адсор-

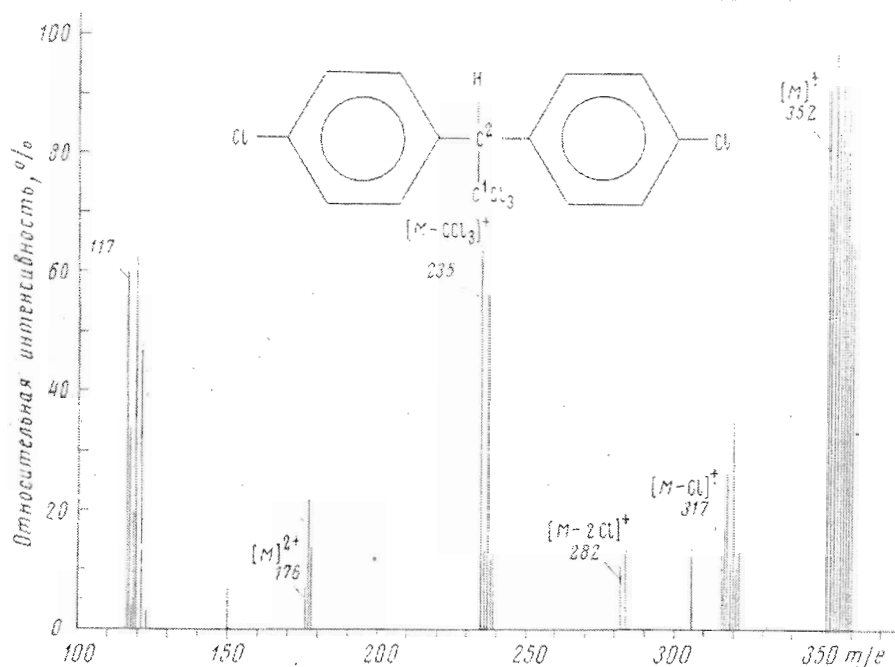


Рис. 5. ДП-масс-спектр ДДТ [29]

бироваанном слое. Самыми последними работами Гэймса и других по ПД щелочных солей желчных кислот (например, гликохолата натрия) [34, 35] показано образование двузарядных ионов состава $(M + 2Na)^{2+}$. Таким образом, в ПД органических молекул лучше говорить о переносе катиона, т. е. «катионизации», вместо протонирования [16, 36]. Этот процесс особенно важен с аналитической точки зрения, так как присоединение, например, катиона щелочного металла к большой органической молекуле, содержащей нуклеофильные группы, дает стабильные четноеэлектронные ионы и этим повышает возможность ионизации и детектирования интактной молекулы [37].

III. 1. 3. Фосфорорганические соединения

Возможности метода ПД становятся особенно наглядными при сравнении спектров ЭУ, ХИ, ПИ и ПД таких пестицидов, как дельнав, фосфамидон и темик. Фэйлсу и др. [38] удалось показать, что в действительности решающее преимущество ПД состоит в относительно мягкой термической обработке. Из спектров дельнава [38] (рис. 6) сразу же видно, что единственный сигнал в области высоких масс при всех методах ионизации принадлежит иону с m/e 270 (271 для ХИ), образующемуся в результате процесса $M - (EtO)PS_2H$; молекулярный ион наблюдается только в масс-спектре ПД, причем его пик является главным пиком спектра.

III. 2. Анализ продуктов разложения пестицидов

Почему ДП-МС особенно удобна для исследования метаболитов?

1. Опыт показывает, что исходные вещества, будь то пестициды или лекарства, превращаются в организме в более полярные соединения

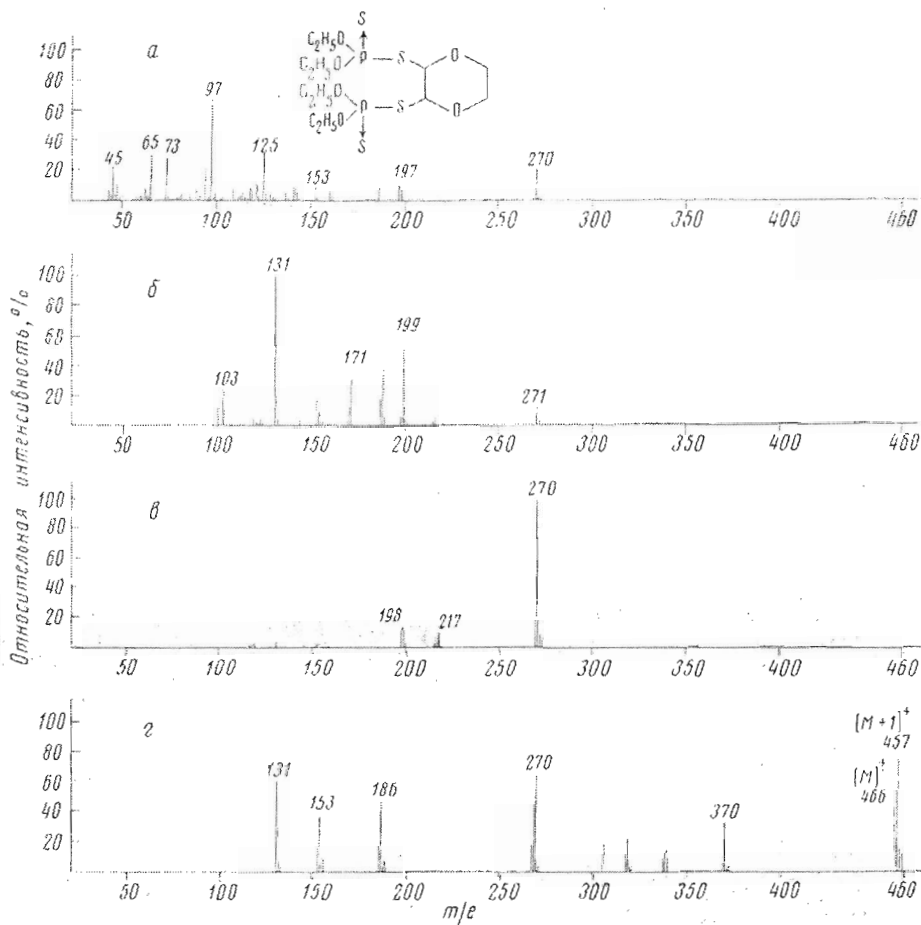


Рис. 6. Масс-спектры ЭУ (а), ХИ (б), ПИ (в) и ПД (г) дельтава (диоксатиона)

(например, в высших организмах они изменяются таким образом, чтобы увеличилась их растворимость в воде); их летучесть (т. е. способность интактной молекулы к испарению) тем самым понижается. По мере протекания метаболических процессов первоначальное вещество превращается во все более и более не подходящее для прямого исследования с помощью простой комбинации ГЖХ и масс-спектрометрии. Однако сочетание жидкостной хроматографии и ДП-МС оказалось идеальным для таких исследований.

Продукты деградации пестицидов, содержащие карбоксильные группы, например гексахлорнорбориен-5-дикарбоновая-2,3 кислота (из изодрина) [27], келевановая кислота (из келевана) [28], фотоальдриндикарбоновая кислота (из альдрина) [29] и 2,2-бис-(*n*-хлорфенил)уксусная кислота (из ДДТ) [29], были подвергнуты сравнительному изучению посредством масс-спектрометрии с ионизацией ЭУ и ПД. Аналогично анализировали метаболиты, содержащие гидроксильные группы, например 2,2-бис(*n*-хлорфенил)этанол [29], 1-оксихлорден [28], *цис*, *транс*-альдриндиол-4,5 [27] и *цис*-изодриндиол-4,5. Масс-спектр ПД последнего соединения (рис. 7) иллюстрирует особенно ясно незначительное воздействие нагревания при ПД; так, несмотря на относительно высокую интенсивность ионного тока, необходимую для высокого разрешения (28 500 на 10%-ном уровне), потери воды, которую можно было бы ожидать при протекании

ли термического разложения, не наблюдается. Важно отметить, кроме того, что ПД с фотографической регистрацией позволяет получить разрешение, сравнимое по порядку величины сполучаемым другими методами: масс-спектрометр СЕС 21-110 В со стандартным ионным источником дает для ЭУ разрешение порядка 32 000, а для ПИ со специальным ионным источником — порядка 30 000 [8].

2. Так как продукты деградации в живых организмах всегда образуются в очень малых количествах, чувствительность метода из определения приобретает решающее значение. Предел чувствительности ДП-МС лежит между 10^{-6} и 10^{-11} г. Однако нужно особенно подчеркнуть, что эти данные относятся к количеству вещества, адсорбированному на поверхности эмиттера. Справедливо, что указанных количеств достаточно также и для других масс-спектрометрических методов, но для ПД не нужно получать летучие производные (о чувствительности анализа см. раздел II).

3. При изучении метаболизма аналитические образцы почти без исключения являются смесями. Известно, что для анализа таких смесей особенно удобна ПИ [1, 39, 40]. Однако и ПД также можно применять для качественного анализа смесей. Используемые в практике пестициды часто состоят из нескольких активных компонент. Например, акарицид тетрадифон используется вместе с инсектицидом карбарилом. Относительно летучее соединение тетрадифон (рис. 8а) дает только группу пиков молекулярного иона и пик при m/e 177 для M^{+2} . Спектр ПД карбарила (рис. 8б) также содержит в качестве главного пик M^{+} -иона, но вместе с несколькими заметными фрагментными пиками при m/e 143, 101, 58 и 45 [41]. Можно отметить для сравнения, что пик M^{+} -иона в масс-спектре ЭУ имеет относительную интенсивность меньше 5%, а в спектре ПИ (температура источника 40°) — 50% [25]. Спектр ПД указанной выше смеси активных веществ при разрешении 10 000, приведенный на рис. 8в, представляет собой наложение спектров ПД индивидуальных компонент. Общепринято учитывать реакции индивидуальных компонент друг с другом и с поверхностью эмиттера, как было показано в недавних исследованиях смесей органических [41] и неорганических солей [42]. После калибровки спектра ПД по стандартным концентрациям карбарила и тетрадифона можно определить состав смеси (в данном случае 4:1) [41]. Качественное согласие спектров ПД с составом смесей было подтверждено Рейххартом и др. [43] для антибиотиков сложного состава, Адлеркройцем и др. [44] — для конъюгатов стероидов, Гэймсом и др. [35] — для желчных кислот и недавно Шульценом и Шуратом [45] — для аэрозолей сложного состава.

4. Пестициды и лекарства часто выделяются в виде конъюгатов с аминокислотами, пептидами, сахарами и их производными, органическими и неорганическими кислотами и т. д. Используя модельные соединения, удалось показать, что ДП-МС особенно удобна для анализа таких конъюгатов. Наиболее широкие исследования по ПД, выполненные до сих пор, касаются этого аспекта (см. ниже разделы III.3 — III.6) [46].

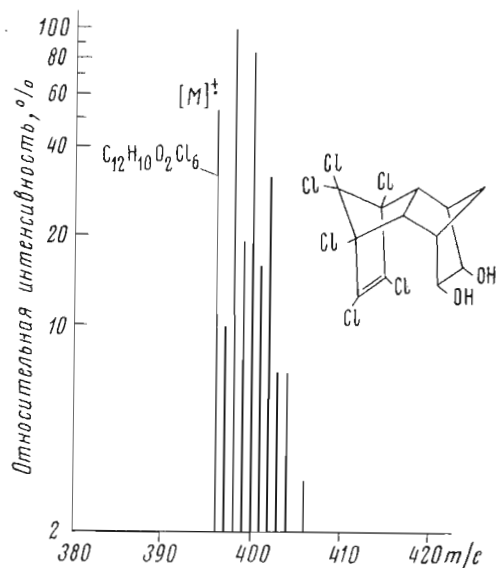


Рис. 7. Масс-спектр ПД 'цис-изодриндиола-4,5 [27]

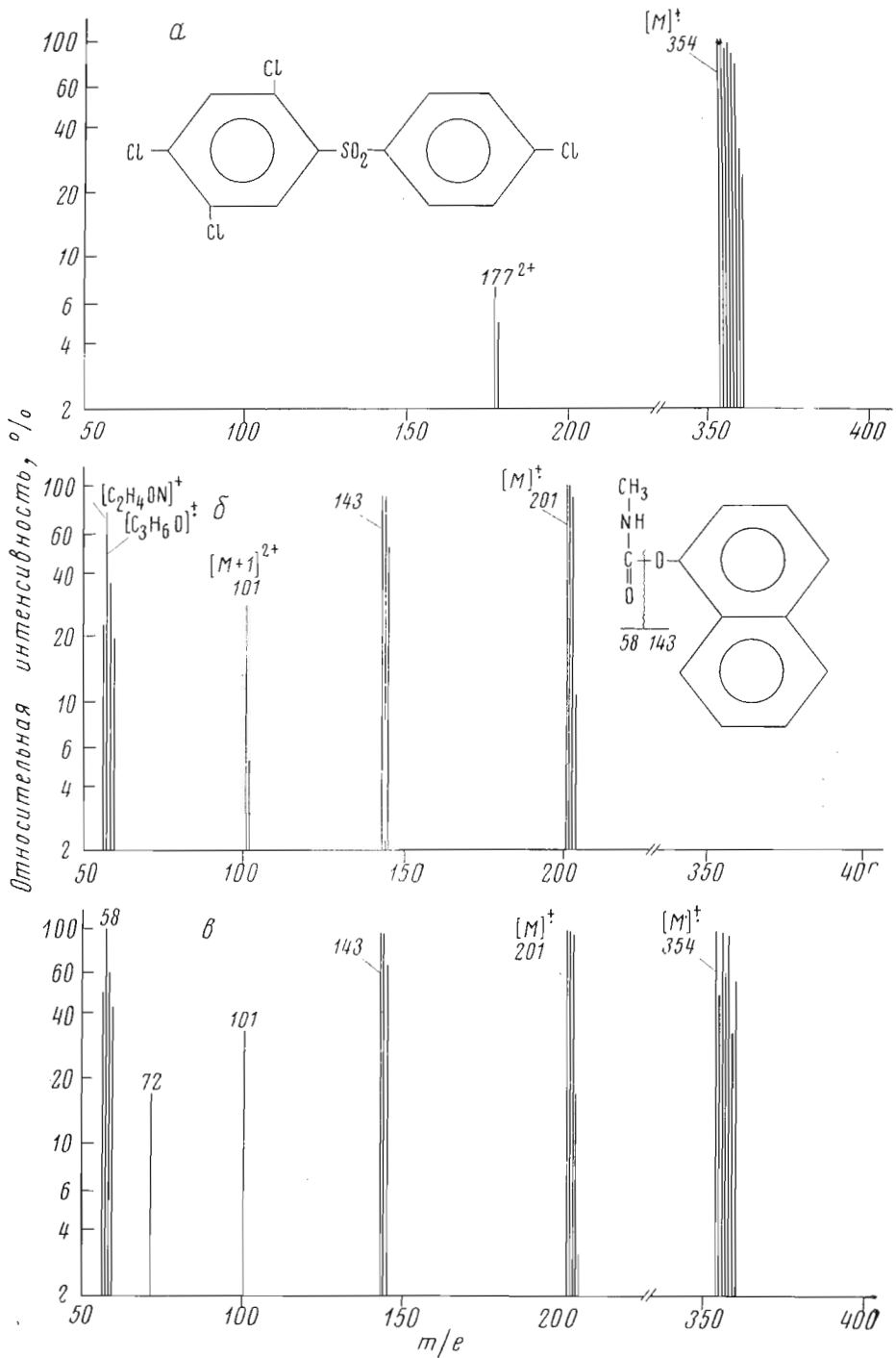


Рис. 8. ДП-масс-спектры тетраdifона (а), карбарила (б) и смеси, состоящей из 14% тетраdifона и 50% карбарила (в); растворитель — ацетон, фотографическая регистрация, время экспозиции 10 мин, оптимальный ток нагрева эмиттера 14 мА [41]

III. 3. Анализ сахаров и их производных

III. 3.1. Олигосахариды

Моносахарид — *D*-глюкоза [2] была первым веществом, для которого был получен масс-спектр ПД; Кроне и Бекай описали спектр ПД дисахарида — целлобиозы [47]. На рис. 9 показан спектр ПД тетраамино-трисахарида [8]. Хотя это соединение содержит семь свободных гидро-

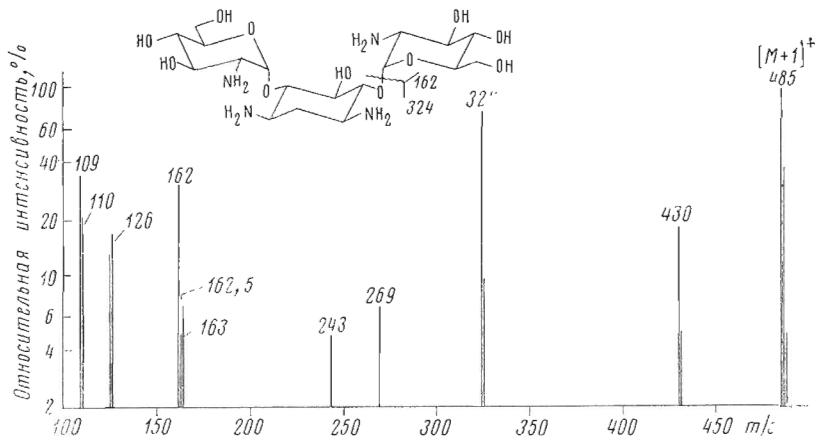


Рис. 9. ДП-масс-спектр тетрааминотрисахарида [8]

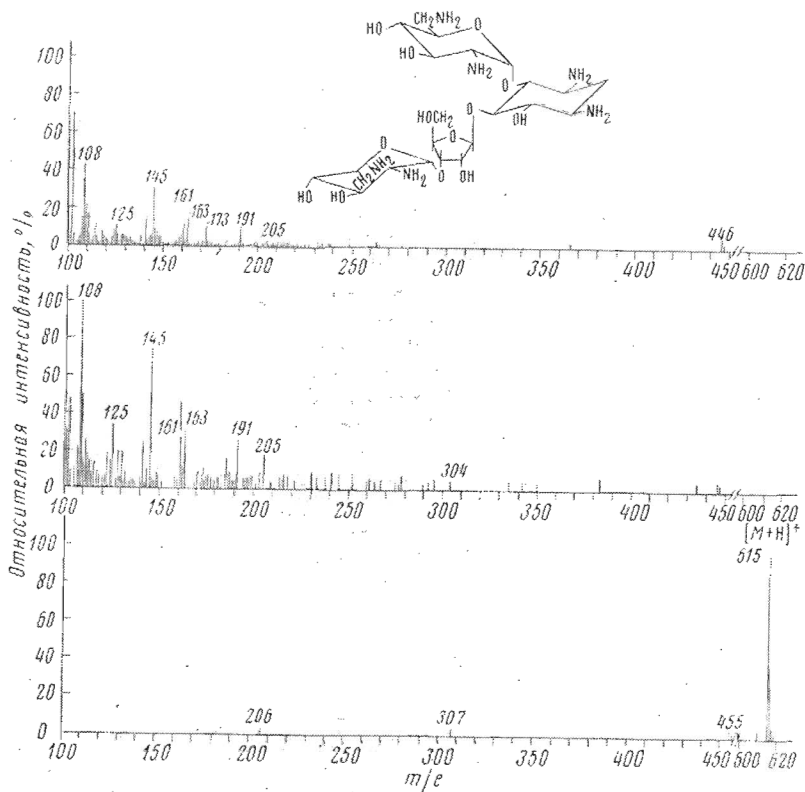


Рис. 10. Масс-спектры неомицина В при ионизации ЭУ (энергия электронов 70 (а) и 18 эВ (б) и ПД (в) [43]

кисильных групп и четыре свободные аминогруппы, катионизированной (протонированной) молекуле соответствует основной пик; второй по интенсивности пик при m/e 324 тоже может быть объяснен прямой разрывом связи. Похожие по структуре олигосахариды с антибиотической активностью, такие, как гентамицин и тобрамицин, также дают интенсивные пики молекулярного иона и претерпевают разрыв по связи гликозидного кислорода. Рейнхарт и др. [43] получили спектры ПД ряда антибиотиков. Неомидин, стрептолидигин и новобиоцин, которые не дают молекулярных ионов при ЭУ или ХИ, при T^* образуют спектры ПД, содержащие пик молекулярного иона в качестве главного пика. Более того, десорбция полем дает качественные сведения о составе таких сложных антибиотиков, как, например, стрептоварицин, филипин и дермостатин.

Масс-спектры свободного неомидина В, полученные по методу ЭУ при 70 (рис. 10а) и 18 эВ (рис. 10б), в области высоких масс оканчиваются пиком при m/e 446/447. Как ни удивительно, такого пика нет в спектре ПД (рис. 10в), а появляются только относительно слабые фрагменты при m/e 206, 307 и 455, тогда как на $(M + H)^+$ -ион (m/e 615) приходится 75% полного ионного тока. Чтобы получить масс-спектр этого вещества методом ЭУ с использованием системы прямого ввода, необходимо приготовить гекса-N-ацетил-гептакис(О-триметилсилил)производное [48]; это трудно, и, кроме того, защитные группы делают молекулу вещества тяжелее более чем вдвое, что лежит близко к пределу возможностей обычного масс-спектрометра.

III. 3.2. Гликозиды

Для всех спектроскопических методов имеет место приблизительно обратно пропорциональная зависимость между разрешением и интенсивностью сигнала. Из-за слабых ионных токов при полевой десорбции выполнение измерений масс с высоким разрешением предъявляет особенно жесткие требования к трансмиссии масс-спектрометра и к качеству эмиттера. Преимущества высокого разрешения состоят в точном определении молекулярного веса и, следовательно, брутто-формулы, а также в том, что оно дает важные указания для объяснения путей образования фрагментов. Данные высокого разрешения для некоторых арилгликозидов и гликозидов кумаринового и флавонового рядов приведены в работе [49]. Из спектра ПД высокого разрешения для гесперидина (рис. 11) видно, что катионизация стабилизирует молекулярный ион; M^+ -ион вполне различим (m/e 610), но, что совершенно необычно для ПД, его относительная интенсивность составляет меньше 20%. Напротив, присоединение Na^+ дает главный пик. Ионы натрия присутствуют за счет неизбежных примесей в экстрактах природных веществ (например, после хроматографии на колонках), а при высоких токах нагрева эмиттера — также за счет примесей в эмиттере. Пики $(M + Na)^+$ и $(M + K)^+$ могут быть полезны, когда нужно отличить M^+ от $(M + H)^+$ [50]. Так как высокое разрешение дает сведения об элементном составе фрагментов, m/e 302,079 можно представить как $(A + H)^+$, а m/e 147,066 — как ион, возникающий в результате прямого разрыва связи у гликозидного кислорода концевой сахарного остатка. Агликон проявляется также как двузарядный ион при m/e 151,040. В спектре ЭУ свободного гесперидина пик агликона (m/e 302) имеет относительную интенсивность 76%, а главным является пик при m/e 137; молекулярный пик при m/e 610 определить не удастся.

Явно различные спектры ПД были получены для α - и β -гликозидов с ароматическими агликонами, используемых как субстраты для глюкозидаз. Сравнение со спектрами ЭУ и ПИ показывает, что спектры ПД являются простейшими, а различия между стереоизомерами проявляются в них в наибольшей степени [51].

III. 3.3. Глюкурониды

Стероидные глюкурониды исключительно важны для вывода гормонов из организма. На рис. 12 показан спектр высокого разрешения глюкуронида тестостерона (натриевая соль). Исследования Адлеркройца и др. [44] вслед за работами с модельными веществами поставили полевыми десорбцию на службу клинической химии и медицины. Так, при помощи ДП-МС удалось определить в моче беременной женщины 16-глюкуронид эстриола, причем молекулярный ион имел высокую интенсивность. Это

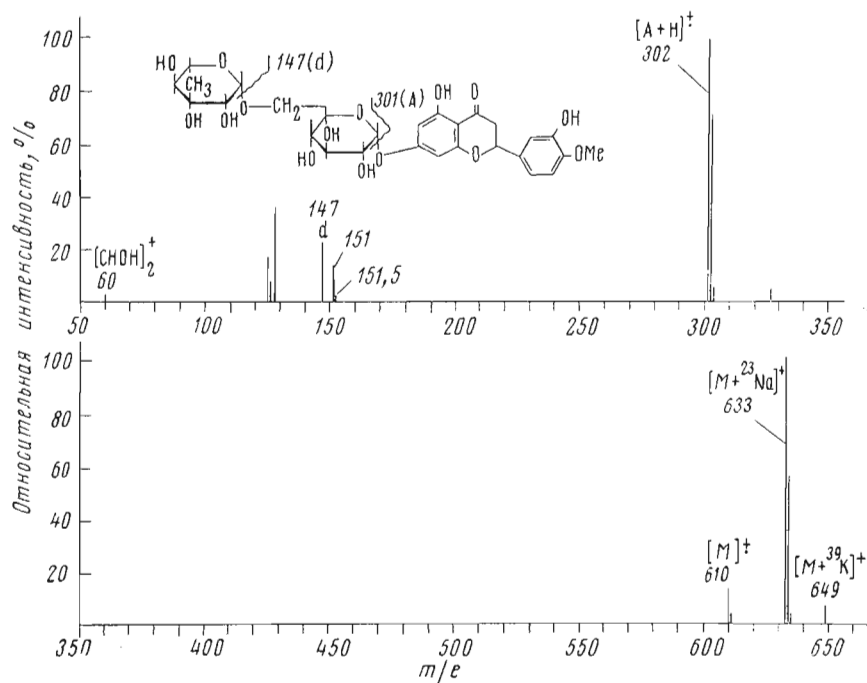


Рис. 11. Масс-спектр ПД гесперидина [49]

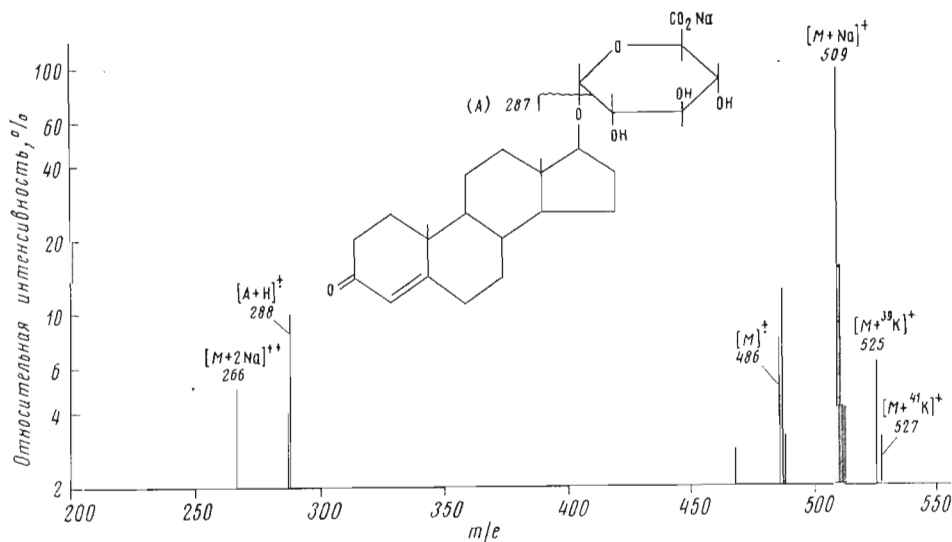


Рис. 12. Масс-спектр ПД глюкуронида тестостерона (натриевая соль) [49]

определение было осуществлено без превращения в производные при низком разрешении ($m/\Delta m$ 500—600) и было подтверждено масс-спектрами ПД синтетических соединений с заведомо известными структурами.

III. 3.4. Нуклеозиды и мононуклеотиды

Эти соединения, образующие конъюгаты и участвующие в метаболических процессах, интересны как объект для ДП-анализа. Так как синтезировано большое число биологически активных нуклеозидов [52], их спектры ПД могут упростить определение структуры. Спектры наиболее важных нуклеозидов, являющихся компонентами РНК и ДНК, были измерены как методом ПИ [53], так и ПД [23]. За исключением гуанозина, интенсивность молекулярного иона в спектрах ПИ достаточна, чтобы идентифицировать соединение в свободном виде. Ясно, что температура системы прямого ввода (250°), приведенная в работе [53], вызывает термическое разложение молекулы гуанозина прежде, чем она будет переведена в газовую фазу (т. пл. 240° с разл.). Спектр ПД гуанозина [23] был измерен выше T^* (18—20 мА) с намерением получить важные для определения структуры комплементарные фрагменты, соответствующие основанию (В) и сахарной части (S); молекулярный ион имеет в этом случае относительную интенсивность порядка 20%. В этой же статье обсуждалось также заметное влияние растворителя при ПД.

Для ДП-масс-спектра высокого разрешения аденозина (рис. 13) характерны пики (В + Н) при m/e 135,055, (S) при m/e 133,05, главный пик иона M^+ и $(M + H)^+$ (ток нагрева эмиттера 20 мА). Первым нуклеотидом, определенным посредством ДП-МС в виде интактного протонированного молекулярного иона $(M + H)^+$ (относительная интенсивность 73%) (рис. 14), был аденозин-5'-монофосфат. Разрыв связи между фосфорной кислотой и нуклеозидом (N) приводит к иону m/e 267,097 с относительной интенсивностью 29%. Остальные фрагменты соответствуют, как и в случае нуклеозида, $(S)^+$ и $(B + H)^+$ и дают интенсивные линии. Относительно слабые сигналы при m/e 60,021 $(\text{СНОН})_2^+$ и 61,029 $[(\text{СНОН})_2 + \text{Н}]^+$ доказывают, что соединение являлось рибозидом. При токе нагрева эмит-

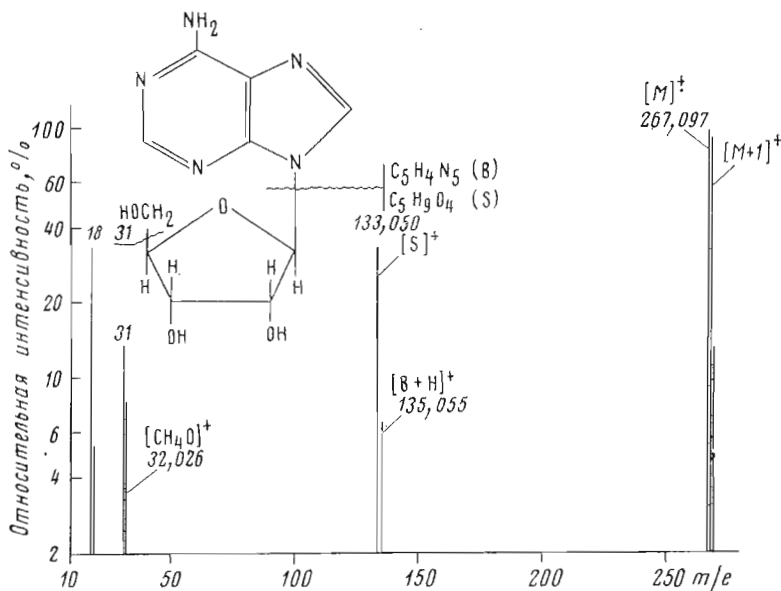


Рис. 13. Масс-спектр ПД аденозина [23]

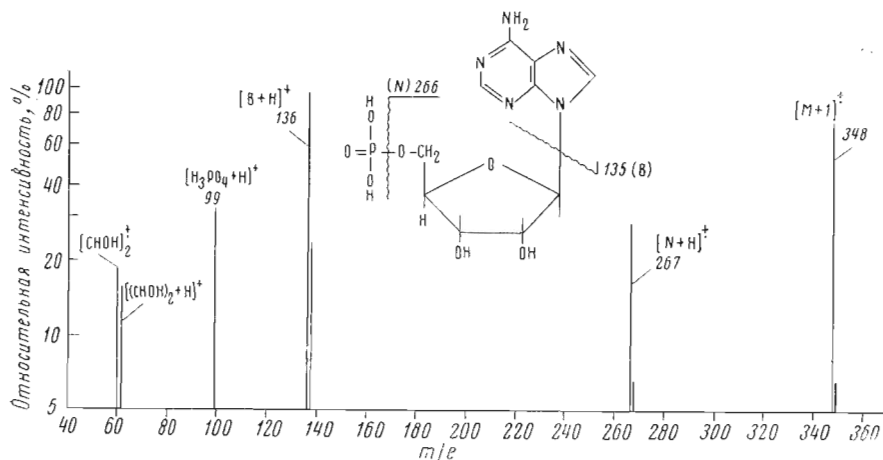


Рис. 14. Масс-спектр ПД аденозинмонофосфата [23]

тера, соответствующего температуре много выше T^* (~ 500 мА), была определена протонированная ортофосфорная кислота при m/e 98,985. Другие свободные нуклеотиды, например 5'-монофосфаты тимидина, дезоксицитидина и дезоксигуанозина, дают сходные масс-спектры ПД.

III. 3.5. Олигонуклеотиды

Важной задачей в аналитической химии является определение последовательности в биополимерах. Применение обычных масс-спектрометрических методов, несмотря на их высокую чувствительность и специфичность, ограничивается такими особыми случаями, как установление структуры редких нуклеозидов из тРНК, или аналитическими задачами, касающимися синтетических нуклеозидов и нуклеотидов. Главная причина этих ограничений — высокая полярность и низкая летучесть нуклеозидов и нуклеотидов, особенно последних. Поэтому масс-спектрометрический анализ нуклеотидов невозможен без превращения их в летучие производные. Ввиду многообразия функциональных групп избирательная защита фосфатной группы обычно невозможна.

На рис. 15 показан первый полный масс-спектр незащищенного динуклеозидмонофосфата [54]; это масс-спектр ПД GpU, рибонуклеотида, содержащего гуанозин — наименее летучий нуклеозид. В этом случае удается четко определить протонированный молекулярный ион. В противоположность масс-спектру ПД дезоксирибонуклеозидмонофосфата dTpT масс-спектр GpU обнаруживает уменьшение интенсивности молекулярного иона и значительное усиление фрагментации. Примечательно, что менее летучее основание, а именно гуанин, дает основной пик в спектре при m/e 151,057 ($B_1 + 2H$)⁺, тогда как урацил проявляется как ($B_2 + H$)⁺-ион при m/e 112,027, относительная интенсивность которого составляет лишь 67%. Ионы состава ($GuO + H$)⁺ и ($GMP + H$)⁺ не найдены, однако пики фрагментов, возникающих в результате термического отщепления воды (ионы с m/e 266,089 ($GuO - H_2O + H$)⁺, 329,052 ($GMP - 2H_2O + 2H$)⁺, 346,055 ($GMP - H_2O + H$)⁺ и 461,095 ($M - Ura - H_2O + H$)⁺), в спектре имеются и отражают низкую летучесть этого нуклеинового основания. Частицы, образующиеся после отщепления гуанина из молекулярного иона и содержащие урацил, например Urd, UMP и $M - Gua$, проявляются в виде пиков с высокой относительной интенсивностью. Из этих фрагментов только ион уридиновой кислоты (m/e 325,044) элиминирует молекулу воды, что ведет к возникнове-

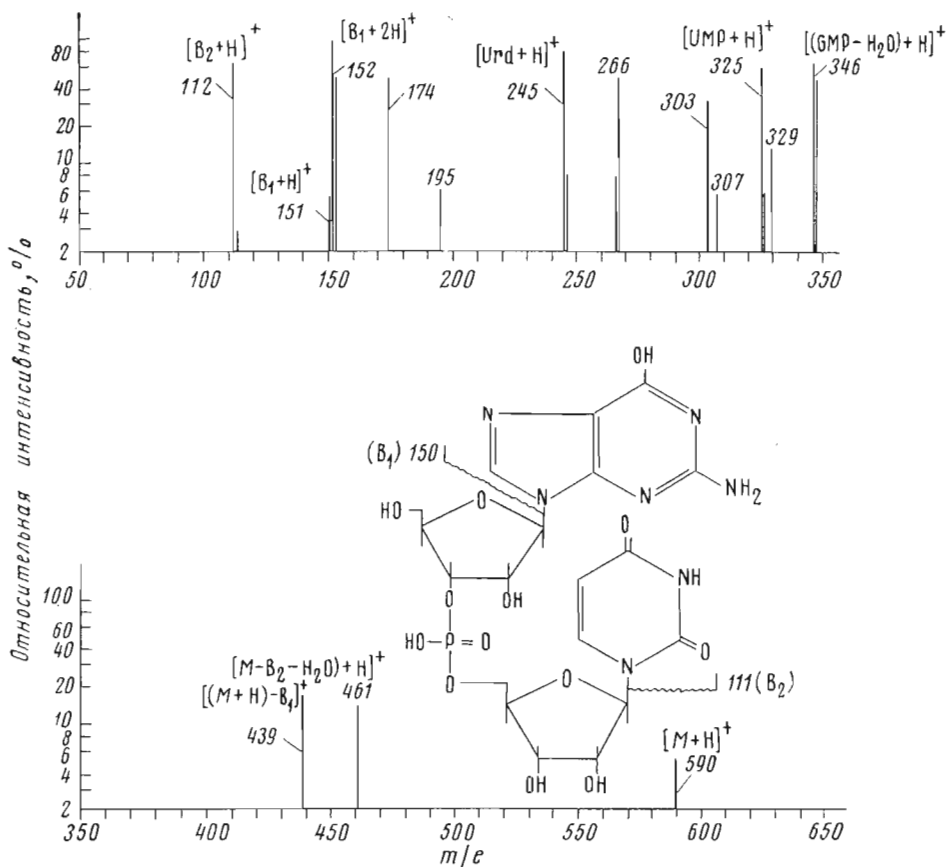


Рис. 15. ДП-масс-спектр GrU [54]

нию иона с m/e 307,033. Ион с m/e 303,107 был идентифицирован как $(2Gua + H)^+$.

Предварительные результаты, полученные с тринуклеотидами [8], показывают, что ДП-МС действительно может служить новым методом определения последовательности в нуклеотидах, по крайней мере как средство проверки других биохимических методов.

III. 3.6. Витамины

В связи с проблемой определения мутагенных соединений были измерены масс-спектры ЭУ при 70 и 12 эВ и ДП-масс-спектр высокого разрешения аскорбиновой кислоты (витамин С) [29]. В этой работе относительная интенсивность M^{++} -иона в масс-спектре ЭУ была $\sim 10\%$. Группа молекулярного иона $M^{++}/(M + H)^+$ образует главный пик спектра ПД, если измерения ведутся при T^* . Несколько витаминов группы В недавно были охарактеризованы посредством их масс-спектров ПД [55].

III. 3.7. Натриевые соли 6-фосфатов дезоксирибозы

В конце этого списка соединений в порядке возрастающей полярности стоят щелочные соли фосфатов сахаров. Спектры ПД высокого разрешения этих соединений [56] содержат $(M + H)^+$ в качестве главного пика, но обнаруживают присутствие и других частиц, которые образуются заменой H^+ на Na^+ при отщеплении воды и в результате пиролиза. Так как эти соли десорбируются в узких интервалах времени и тока нагрева, их

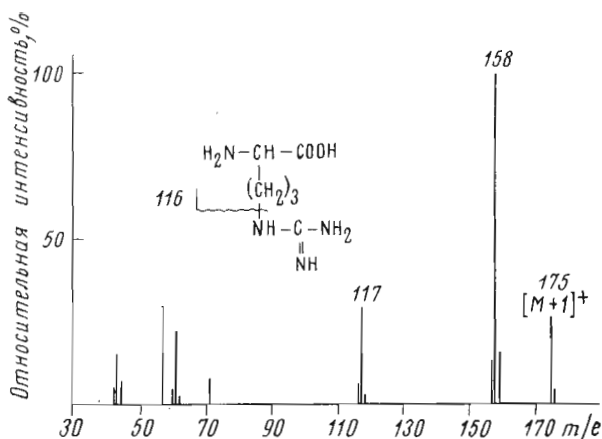


Рис. 16. Масс-спектр ПД аргинина [57]

спектры можно регистрировать только фотографически. Смолистый остаток, осаждающийся на эмиттере, сильно снижает его эмиссионные свойства.

III. 4. Анализ аминокислот

Ряд биологически важных аминокислот был изучен посредством ДП-МС Винклером и Бекаем [57]. Спектры ПД обычно содержат интенсивный пик молекулярного или квазимолекулярного ионов. Это справедливо также для аргинина и цистина, тогда как методами ЭУ, ХИ или ПИ не удается обнаружить молекулярные ионы этих соединений. Пик иона $(M + H)^+$ в спектре ПД аргинина (рис. 16) имеет относительную интенсивность 30%, а основной пик спектра при m/e 158 соответствует потере аммиака из протонированной молекулы $[(M + H) - NH_3]^+$. Кроме того, рвется связь между гуанидиновым остатком и C5, что ведет к ионам с m/e 116 и 117. Для других α -аминокислот (например, Glu, Val, Pro, Ser, Cys) обычно имеется пик $(M - 45)$, который можно объяснить как $[(M + H) - COOH_2]^+$.

III. 5. Анализ пептидов

На примере простейшего дипептида глицилглицина было впервые показано [58], что свободные пептиды дают полные масс-спектры ПД, в которых при токе нагрева эмиттера 18—24 мА молекулярному иону принадлежит главный пик. В последующих работах Винклер и Бекай [59] смогли получить масс-спектры ПД частично защищенных и свободных олигопептидов, содержащих от трех до девяти аминокислотных остатков (включая, например, аргинин и гистидин), не только имеющие высокоинтенсивные пики молекулярных ионов, но и дающие некоторую информацию об аминокислотной последовательности. На рис. 17 в качестве примера воспроизведен масс-спектр Ac-Gly-Arg-Gly-OMe. Хотя N-концевая группа тетрапептида проацетилована, а карбоксильная группа прометилована, высокая интенсивность $(M + H)^+$ -иона с m/e 501 является замечательной особенностью спектра, потому что пептид содержит, между прочим, два незащищенных остатка аргинина, которые сильно снижают летучесть. Прямой разрыв связи (с переносом водорода) в середине молекулы дает два фрагмента, характеризующих последовательность. Молекулярный ион и комплементарные пики при m/e 256 и 244 дают легко интерпретируемую информацию о структуре (ср. раздел III.1.2). Нужно, однако, добавить, что в этом случае только дополнительные дан-

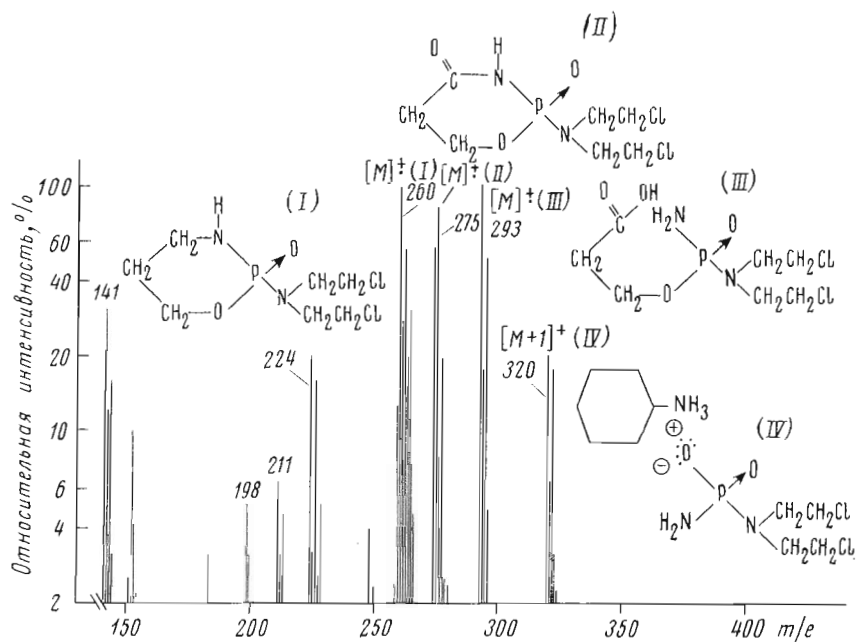


Рис. 18. Масс-спектр ПД циклофосфамида (I) и трех его метаболитов (II) — (IV) [63]

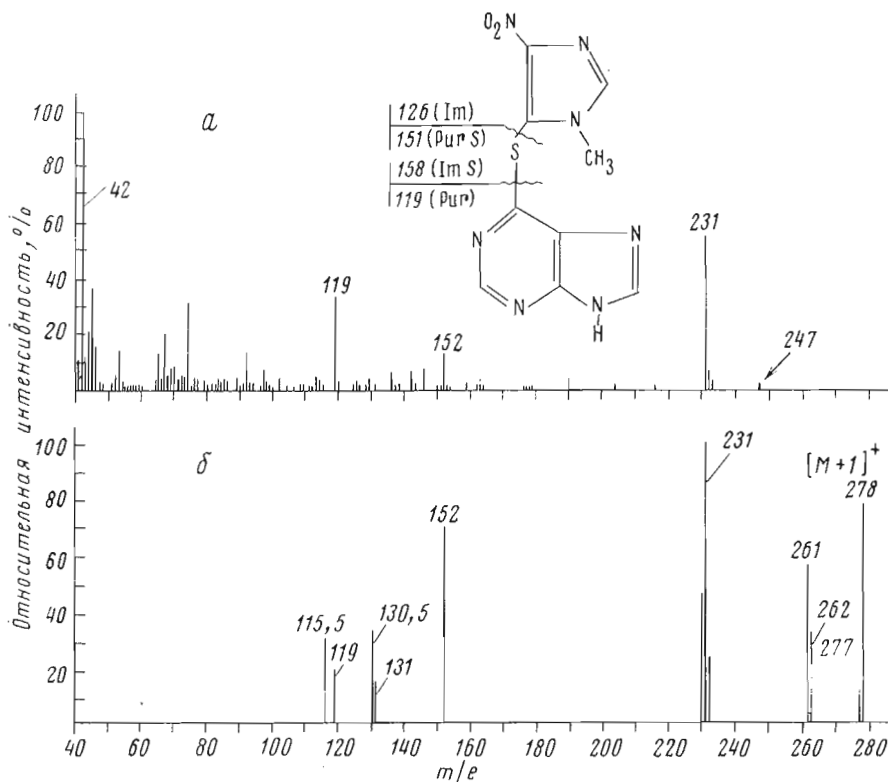


Рис. 19. Масс-спектры азатиоприна (имурана) при ионизации ЭУ, энергия электронов 70 эВ (а) и ПД, ток нагрева эмиттера 25 мА соответствует T^* (б) [64]

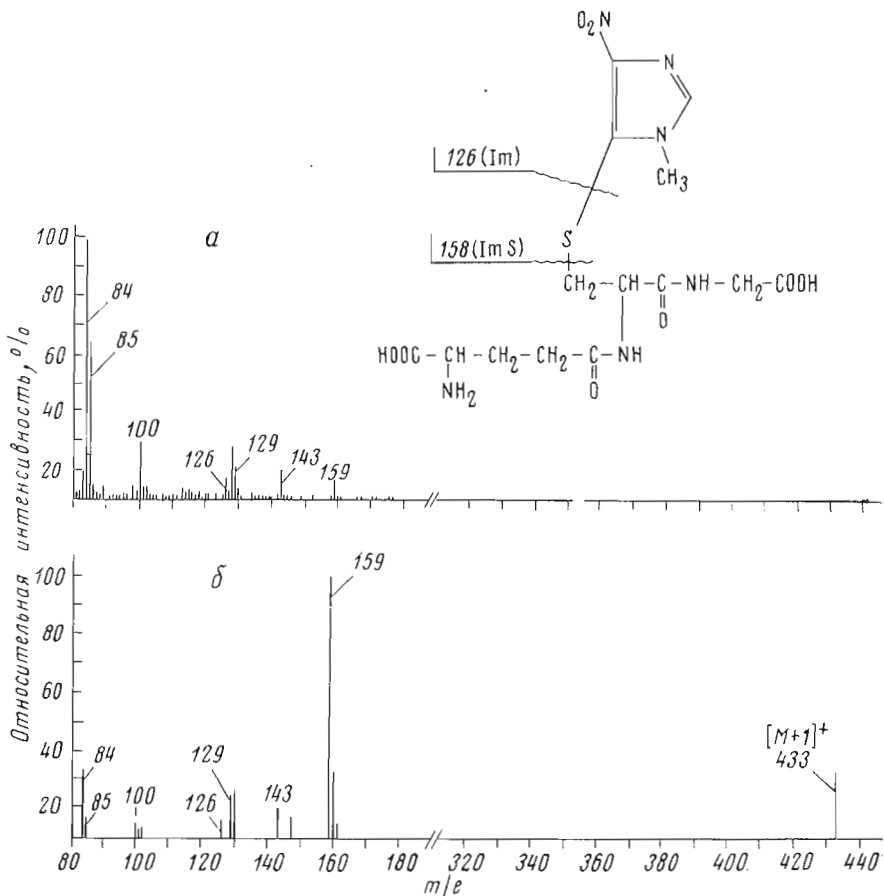


Рис. 20. Масс-спектры 1-метил-5-нитро-5-(S-глутатионил)имидазола при ионизации ЭУ, энергия электронов 70 эВ (а) и ПД, при токе нагрева эмиттера 27 мА ($> T^*$) (б) [64]

ний и напоминали масс-спектры ЭУ. Интерпретация этих спектров очень трудна без дополнительной информации о рассматриваемых соединениях.

Азатиоприн (имуран) является широко применяемым иммунодепрессантом. В его спектре ЭУ (рис. 19а) [64] относительная интенсивность молекулярного иона составляет меньше 1%. Спектр ПД при T^* содержит только ион $(M + H)^+$. Использование тока нагрева, обеспечивающего температуру эмиттера выше T^* , дает спектр ПД, показанный на рис. 19б. Ясно, что сигналы в области высоких масс в спектрах ЭУ и ПД (при 25 мА) принадлежит одним и тем же фрагментам (например, m/e 231, 152, 119). Очевидно, здесь термическая и вызванная полем фрагментация при ПД имитирует термический распад молекулы азатиоприна, преобладающий при ЭУ. Посредством спектров высокого разрешения ЭУ и ПД было найдено, что эти ионы имеют одинаковый элементный состав. В связи с этим более важен метаболит азатиоприна, а именно конъюгат глутатиона. Масс-спектр ЭУ на рис. 20а отражает главным образом пиролизический распад молекулы. При T^* масс-спектр ПД опять-таки содержит только ион $(M + H)^+$. Выше T^* в очень узком интервале токов нагрева эмиттера удается вызвать его фрагментацию (рис. 20б).

Чтобы выяснить возможности десорбции полем в определении метаболитов, из мочи крыс, которым азатиоприн вводили перорально, был выделен образец. После хроматографии на колонке и очистки посредством бумажной хроматографии в нем по масс-спектру ПД удалось идентифицировать цистеинильный конъюгат [64].

IV. ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДА ПД В СРАВНЕНИИ С ДРУГИМИ МЕТОДАМИ ИОНИЗАЦИИ

Сравним метод ПД с другими методами ионизации, которые также рассматриваются как «мягкие», а именно ХИ, ПИ и ЭУ при низких энергиях электронов. Метод ПД очень удобен для *качественного* анализа сложных смесей, но в настоящее время пока еще не очень пригоден для *количественного* анализа таких смесей. Как уже было объяснено в разделе II.2, для каждого компонента смеси имеется оптимальная температура анода T^* . При постоянной температуре анода сигналы в спектре ПД, естественно, не пропорциональны молярным долям компонентов смеси веществ в растворе. Однако маловероятно, что удастся получить такую пропорциональность, введя программированное изменение температуры. Интенсивности ионов каждого вещества зависят от структуры и химических свойств органических микроигл на поверхности эмиттера, от концентрации индивидуальных компонентов в смеси, от толщины слоя образца на микроиглах, от растворителя и других параметров, например времени пребывания образца на аноде в ходе десорбции полев.

Наибольшие возможности метода ПД лежат, несомненно, в области качественного анализа веществ, термически неустойчивых при испарении. Тем не менее следует подчеркнуть, что спектр ПД вещества при современном состоянии этого метода менее воспроизводим, чем спектр ХИ или ПИ. Эта сторона дела, однако, не имеет большого значения, так как метод ПД используют в тех случаях, когда вещества вследствие их низкой летучести не дают надежно идентифицируемых молекулярных ионов при применении методов ХИ, ПИ или ЭУ. При этих обстоятельствах оптимальна комбинация ПД с методами ЭУ и (или) ХИ. Большое преимущество метода ПД состоит в том, что вещества, часто доступные лишь в количестве нескольких пикограммов, не нужно подвергать химической обработке с целью увеличения их летучести. Таким образом, главное применение метода ПД — это анализ очень малых количеств сильно полярных веществ в свободном виде.

Преимущество метода электронного удара заключается в изобилии характеристических фрагментов, наблюдаемых в масс-спектре. В течение приблизительно 30 лет, прошедших с тех пор, как метод ЭУ приобрел значение аналитического инструмента, был приобретен большой опыт работы с разнообразными веществами, который привел к составлению обширных каталогов спектров и формулировке множества эмпирических правил, касающихся фрагментации.

Метод химической ионизации, введенный Мансоном и Филдом [65], используется в достаточно большом числе лабораторий уже около 10 лет; метод ПД изучается и систематически развивается всего около 4 лет главным образом группой исследователей в Бонне. Тем не менее уже сейчас ясно, что имеется много специфических задач, для решения которых метод ПД окажется неоценимым.

V. ПЕРСПЕКТИВЫ

V. 1. Квадрупольные масс-спектрометры и ПД

Хотя использование квадрупольных масс-спектрометров для ПД переживает пока период детства, этот метод мог бы стать важным в ряде специальных областей. В разделе II.3 уже отмечалось значение быстрого сканирования по массовым числам в том случае, когда используется электрическая регистрация.

Квадрупольный масс-спектрометр (КМС) можно использовать для работы по методу ПД при низком разрешении (~ 500) по ряду причин [66]:

- 1) скорость сканирования по массам достигает ~ 1000 а. е. м./с;

2) интенсивность ионного тока и разрешение почти не зависят от энергии ионов, попадающих в КМС (максимальная энергия для ЭУ $\sim 5-10$ эВ);

3) произведение трансмиссии (T) и разрешения (A) почти постоянно в области низких масс [67] (под «трансмиссией» понимают отношение тока, измеренного на первом диноде вторичного электронного умножителя детектора ионов, к полному ионному току, эмитируемому с анода). Отношение T/A в КМС устанавливается с помощью электроники; так, можно обеспечить большой диапазон масс при большой трансмиссии и низком разрешении, что дает возможность быстрого просмотра спектра ПД, или повысить разрешение так, чтобы более детально проанализировать группу молекулярного иона.

Высокая скорость регистрации КМС позволяет приспособить процесс получения масс-спектра ПД к особенностям поведения анализируемых веществ. Это важно и для изучения основных явлений полевой десорбции, и для применения ПД в анализе. В качестве примера можно упомянуть быстрое определение некоторых компонентов в смеси веществ, которая может получиться в химическом синтезе или при применении экстракционных методов в биохимии [68].

V.2. Пиролитическая масс-спектрометрия

Некоторые из наиболее важных биологически активных соединений (полисахариды, полинуклеотиды, полипептиды) имеют очень высокий молекулярный вес ($> 20\,000$). Для контролируемого термического расщепления и идентификации структурных единиц масс-спектрометрическим методом имеются два перспективных направления.

1. Быстрый, точный и воспроизводимый анализ продуктов пироллиза, а именно с помощью пироллизера в точке Кюри, КМС и системы обработки

Таблица 1

Неорганические кластерные ионы, идентифицированные в масс-спектре ПД продуктов пироллиза ДНК. Все частицы находятся в виде протонированных ионов ($M + H$)⁺

HPO_3	$NaH_2PO_4 \cdot HPO_3$	$(H_3PO_4)_2$	$NaH_2PO_4 \cdot (HPO_3)_2 \cdot H_3PO_4$
H_3PO_4	$NaH_2PO_4 \cdot (HPO_3)_2$	$NaH_2PO_4 \cdot H_3PO_4$	$HPO_3 \cdot (H_3PO_4)_2$
NaH_2PO_4	$HPO_3 \cdot H_3PO_4$	$NaH_2PO_4 \cdot HPO_3 \cdot H_3PO_4$	$(H_3PO_4)_2$

Таблица 2

Предполагаемые химические структуры ионов, не отвечающие фрагментам молекулы ДНК

Группа	Соединения	Элементный состав	Рассчитанные массы протонированных ионов
A	Цитозин + фосфорная кислота	$C_4H_8O_5N_3P$	210,028
	Метилцитозин + фосфорная кислота	$C_5H_{10}O_5N_3P$	224,044
	Аденин + фосфорная кислота	$C_5H_8O_4N_5P$	234,039
	Гуанин + фосфорная кислота	$C_5H_8O_5N_5P$	250,034
B	Цитозин + (метилфуран) ₂ - 4H	$C_{14}H_{13}O_3N_3$	272,104
	Аденин + (метилфуран) ₂ - 4H	$C_{15}H_{13}O_2N_5$	296,115
	Гуанин + (метилфуран) ₂ - 4H	$C_{15}H_{13}O_3N_5$	312,110
B'	Аденин + (метилфуран) ₃ - 6H	$C_{20}H_{17}O_3N_5$	376,141
	Гуанин + (метилфуран) ₃ - 6H	$C_{20}H_{17}O_4N_5$	392,136
B''	Тимин + (метилфуран) ₄ - 8H	$C_{25}H_{22}O_6N_2$	447,156
	Аденин + (метилфуран) ₄ - 8H	$C_{25}H_{21}O_4N_5$	456,167
	Гуанин + (метилфуран) ₄ - 8H	$C_{25}H_{21}O_5N_5$	472,162

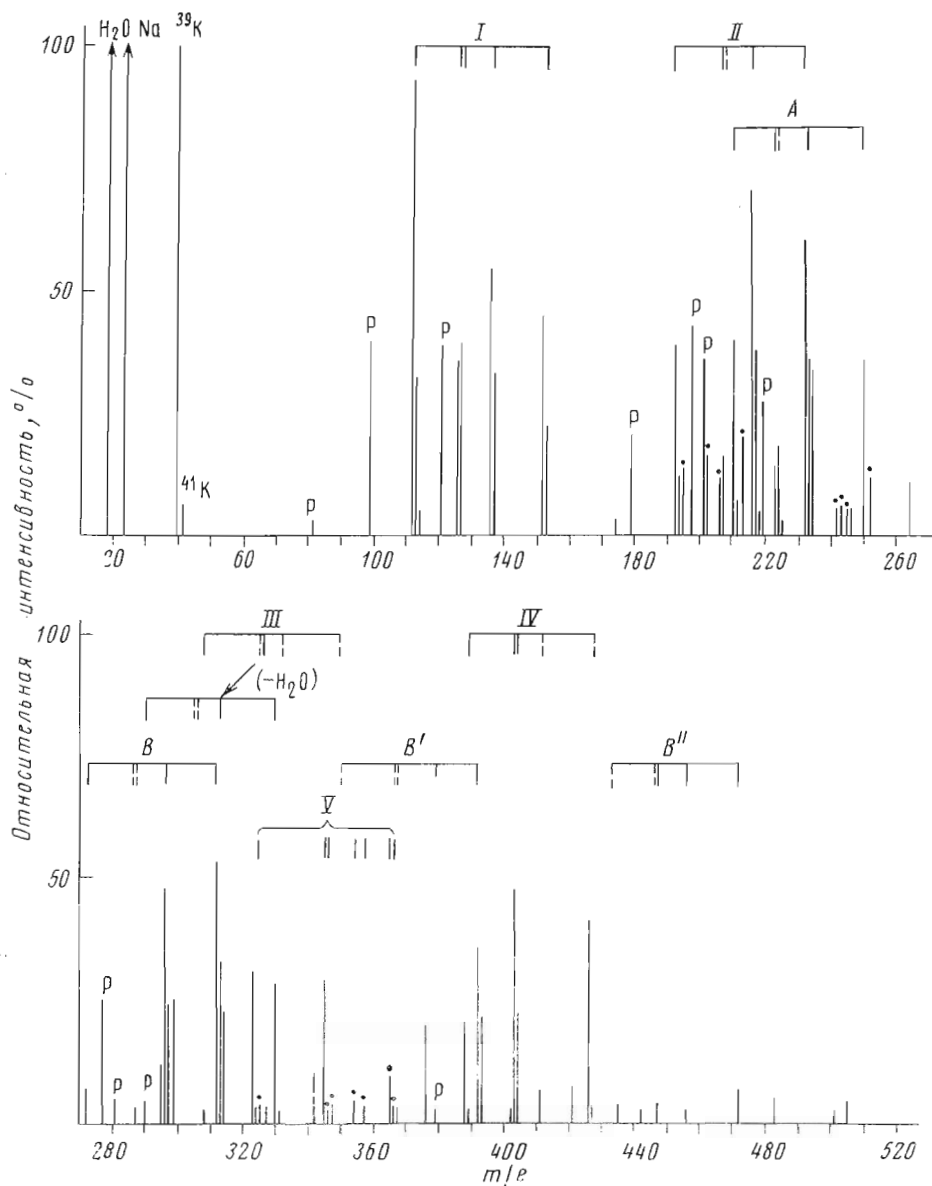


Рис. 21. Масс-спектр ПД продуктов пиролиза ДНК сельди. ● — двузарядные ионы; P — ионы фосфатов или фосфорной кислоты (кластеры), используемые для калибровки шкалы масс; I — основания + H⁺; II — нуклеотиды - 2H₂O + H⁺; III — нуклеотиды + H⁺ (монофосфаты); IV — нуклеотиды + H⁺ (дифосфаты); V — двузарядные динуклеотиды; A — (I + H₃PO₄) — кластеры; B — II + C₆H₄O; B' — II + 2(C₅H₄O); B'' — II + 3(C₅H₄O). Относительная интенсивность 160 соответствует максимальному почернению фотопластины AgBr [6]

данных, ведет к «фингерпринтным спектрам» [69]. Использование этой системы со сравнением спектров дает возможность однозначной идентификации известных полимеров.

2. Идентификация ионизированных первичных продуктов, которых должно быть как можно больше, в масс-спектре дает указания о составе и структуре известных и еще неизвестных полимеров. Пиролитическая ПД пригодна для исследования биополимеров [6, 70] и промышленных полимеров благодаря очень малым затратам анализируемого материала (порядка 10⁻⁸ г), мягкой ионизации, а также благодаря тому, что ионизация

Предполагаемые химические структуры ионов, отвечающих фрагментам ДНК

Группа	Соединения	Элементный состав	Рассчитанные массы протонированных ионов
I	Цитозин	$C_4H_5ON_3$	112,051
	5-Метилцитозин	$C_5H_7ON_3$	126,067
	Тимин	$C_5H_6O_2N_2$	127,051
	Аденин	$C_5H_5N_5$	136,062
	Гуанин	$C_5H_5ON_5$	152,057
II	(2'-Дезоксицитидин) - $2H_2O$	$C_9H_9O_2N_3$	192,077
	(5-Метил-2'-дезоксицитидин) - $2H_2O$	$C_{10}H_{11}O_2N_3$	206,093
	(2'-Дезоксиаденозин) - $2H_2O$	$C_{10}H_9ON_5$	216,089
	(2'-Дезоксигуанозин) - $2H_2O$	$C_{10}H_9O_2N_3$	232,083
III	(2'-Дезоксицитидиловая кислота) - $2H_2O$	$C_9H_{12}O_6N_3P$	290,054
	(2'-Дезоксиадениловая кислота) - H_2O	$C_{10}H_{12}O_5N_5P$	314,065
	(2'-Дезоксигуаниловая кислота) - H_2O	$C_{10}H_{12}O_6N_5P$	330,060
	2'-Дезоксицитидиловая кислота	$C_9H_{14}O_7N_3P$	308,065
	2'-Дезокситимидиловая кислота	$C_{10}H_{15}O_8N_2P$	323,064

следует за пиролизом очень близко в пространстве и очень быстро во времени.

Возможности этого метода для анализа биополимеров можно продемонстрировать с помощью рис. 21 и табл. 1—4, где приведены результаты пиролиза $5 \cdot 10^{-8}$ г ДНК сельди.

Нужно подчеркнуть, что эта перспективная и очень недавно разработанная техника соединения пиролиза и ПД может быть применена только при выполнении двух предварительных условий. Во-первых, к разрешающей способности применяемого масс-спектрометра предъявляются очень высокие требования. Однозначная интерпретация пиков сталкивается с возрастающими трудностями по мере увеличения массовых чисел, если разрешение прибора составляет менее 30 000. Во-вторых, разобраться в исключительно сложных спектрах многокомпонентных смесей можно только в том случае, если имеется автоматическая система сбора и обработки данных.

У. 3. Комбинация жидкостной хроматографии и полевой десорбции

Соединение газового хроматографа и масс-спектрометра рассматривается как наиболее удачная комбинация приборов. Однако для анализа с помощью этой системы пригодны только те вещества, которые сами достаточно летучи, или те, чья летучесть увеличена предварительной химической обработкой, например путем приготовления производных. Ввиду быстрого развития как жидкостной хроматографии высокого давления, так и техники ПД комбинация этих двух методов кажется перспективной для того, чтобы избежать испарения аналитических образцов. Первые эксперименты в этом направлении были сделаны с применением «off-line»-техники [71] *. Элюат с жидкостной колонки собирают, концентрируют на эмиттере и анализируют при помощи масс-спектрометрии ПД. В этой последовательности масс-спектрометр ПД служит специфическим вторичным молекулярным детектором [72]. Остается убедиться, приведут ли большие усилия, направленные на развитие «on-line» техники [73], к преодолению огромных технических трудностей, в особенности при ана-

* Т. е. с отдельным выполнением операций (прим. перев.).

Предполагаемые химические структуры двузарядных ионов, отвечающих структурным единицам ДНК. Все частицы представляют собой квазимолекулярные $(M+2)^{2+}$ ионы

Группа	Структура иона	Элементный состав	Рассчитанная масса
IV	(Дезоксицитидиндифосфат + 2H) ²⁺	C ₉ H ₁₇ O ₁₀ N ₃ P ₂	390,038
	(Дезокситимидиндифосфат + 2H) ²⁺	C ₁₀ H ₁₈ O ₁₁ N ₂ P ₂	404,038
	(Na-Дезоксицитидиндифосфат + 2H) ²⁺	C ₉ H ₁₆ O ₁₀ N ₃ P ₂ Na	411,020
	(Na-Дезокситимидиндифосфат + 2H) ²⁺	C ₁₀ H ₁₇ O ₁₁ N ₂ P ₂ Na	426,020
V	(Na-Дитимидиндифосфат + 2H) ²⁺	C ₂₀ H ₂₉ O ₁₅ N ₄ P ₂ Na	650,100
	(Цитидин-тимидинтрифосфат + 2H) ²⁺	C ₁₉ H ₃₀ O ₁₇ N ₅ P ₃	693,085
	(Дитимидинтрифосфат + 2H) ²⁺	C ₂₀ H ₃₁ O ₁₈ N ₄ P ₃	708,085
	(Na-Цитидин-тимидинтрифосфат + 2H) ²⁺	C ₁₉ H ₂₉ O ₁₇ N ₅ P ₃ Na	715,067
	(Na-Дитимидинтрифосфат + 2H) ²⁺	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₈ N ₄ P ₃ Na	730,067

лизе высокополярных веществ, и оправдывает ли ценность аналитической информации, полученной путем такого прямого сочетания, затраченные усилия и средства.

V. 4. Неорганическая химия и ПД

В конце этого раздела, который посвящен почти исключительно органическим веществам, мы хотели бы описать некоторые результаты, относящиеся «к другой половине химического мира», а именно к неорганической химии. Первые полные спектры ПД здесь были получены для щелочных галогенидов [74]. В общем случае наблюдались исключительно высокие относительные интенсивности для катионов. Ионы Li⁺, Na⁺ и K⁺ давали особенно интенсивные ионные токи, которые были на несколько порядков больше, чем для всех других типов ионов, когда-либо наблюдавшихся в ДП-МС. В случаях, когда эти ионы мешают гладкой десорбции термически неустойчивых органических молекул, Вуд и др. [75] предложили введение макроциклических лигандов для связывания их в комплексы.

В противоположность обычному положению в ДП-МС молекулярные ионы низкомолекулярных ионных соединений или отсутствуют, или имеют низкую интенсивность. Однако энергетически и кинетически выгодный процесс образования кластеров дает ионы, по которым можно легко вывести структуру таких молекул [76]. В табл. 5 приведено по три наиболее интенсивных иона (исключая катионы) в масс-спектрах ПД некоторых типичных неорганических солей с простыми и сложными анионами [77]. Соли с большими органическими катионами, как, например, соли четвертичного аммония [76, 78], фосфония [76, 79], арсония, сульфония, сульфоксония и оксония [80], обнаруживают высокую интенсивность катионов. Заметим, что $(nC + A)^+$ -ионы с $n > 1$ не были найдены ни в одном случае (здесь С — катион, а А — анион). Недавно были описаны спектры ПД пяти трикарбонильных л-углеводородных солей металлов и циклопентадиенильных (аренильных) солей металлов [81]. Та же группа (Геймс и др.) опубликовала также спектры ПД ряда фталоцианинов, молекулярные ионы которых дают обычно главный пик спектра [82].

С аналитической точки зрения знание характеристик процесса образования ионов при ПД солей существенно для интерпретации спектров ПД, поскольку при помощи этого метода анализировались даже смеси органических и неорганических солей, присутствующих в таких промышленных продуктах, как красители [83] и пестициды [41]. Далее посредством ПД были качественно идентифицированы неорганические соли [42], присутствующие в природных аэрозолях, которые были сконцентрированы недавно развитым методом [45]. Разработан метод для поверхностной ио-

Применение ПД в неорганической химии. Ионы и солевые кластеры в масс-спектрах ПД некоторых неорганических солей [77]

Соль	Три наиболее интенсивных иона в спектре ПД (за исключением катионов)	Соль	Три наиболее интенсивных иона в спектре ПД (за исключением катионов)
LiF	(LiF)Li ⁺ , (LiF) ₂ Li ⁺ , (LiF) ₃ Li ⁺	NaNO ₃	(NaNO ₃)Na ⁺ , (NaNO ₃) ₂ Na ⁺ , (NaNO ₃) ₃ Na ⁺
LiCl	(LiCl)Li ⁺ , (LiCl) ₂ Li ⁺ , LiCl ⁺	Na ₂ SO ₄	(Na ₂ SO ₄)Na ⁺
LiI	(LiI)Li ⁺ , I ⁺ , (LiI) ₂ Li ⁺	NaClO ₃	(NaClO ₃)Na ⁺ , (NaClO ₃) ₂ Na ⁺ , (NaCl)Na ⁺
KF	(KF)K ⁺ , (KF) ₂ K ⁺	Na(CH ₃ CO ₂)	[Na(CH ₃ CO ₂)]Na ⁺ , [Na(CH ₃ CO ₂) ₂]Na ⁺
KCl	(KCl)K ⁺ , (KCl) ₂ K ⁺ , KCl ⁺	NaN ₃	(NaN ₃)Na ⁺
KBr	(KBr)K ⁺ , Br ⁺	AgCl	AgCl ⁺ , (AgCl)Ag ⁺
KI	(KI)K ⁺ , (KI) ₂ K ⁺ , I ⁺	AgNO ₃	(AgNO ₃)Ag ⁺ , (AgNO ₃) ₂ Ag ⁺
NaCl	(NaCl)Na ⁺ , (NaCl) ₂ Na ⁺ , NaCl ⁺	CaCl ₂	CaCl ⁺ , Ca ⁺ , CaCl ₂ ⁺

низации органических веществ путем присоединения ионов щелочных металлов в умеренных электрических полях [84], который особенно удобен для получения спектров с высокой интенсивностью молекулярного иона и небольшой фрагментацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Недавно появился ряд публикаций, которые касаются усовершенствования техники ПД. Были предложены способы лучшего приготовления образцов [85], найдены соотношения между током нагрева эмиттера и действительной температурой эмиттера [86] и упрощено приготовление эмиттера [87, 88]. Кроме того, при помощи ПД были изучены многообразные модельные соединения, включая сахара [89], каротиноиды [90], триглицериды и фосфолипиды [91, 92], галогениды холина [93] и противоопухолевые препараты [94, 95].

Итак, метод ПД имеет широкий круг возможностей для применения в биохимии, медицине и исследовании окружающей среды. Главными пунктами здесь являются определение молекулярного веса и получение характеристических фрагментов, важных для определения структуры. Однако можно ожидать, что использование ПД в комбинации с пиролизом для анализа биополимеров и промышленных полимеров, применение ПД для анализа следовых количеств ионов металлов, определения и идентификации неорганических солей, определения молекулярных весов и изучения структуры сложных нелетучих неорганических веществ будет со временем играть большую роль.

Таким образом, ПД значительно увеличила область масс-спектральных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beckey H. D. (1969) *Angew. Chem.*, 81, 662; (1969) *Angew. Chem. internat. Edit.*, 8, 623.
2. Beckey H. D. (1969) *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Phys.*, 2, 500.
3. Müller E. W. (1956) *Phys. Rev.*, 102, 618.
4. Gomer R. (1959) *Chem. Phys.*, 31, 341.
5. Beckey H. D. (1971) *Field Ionization Mass Spectrometry*. Pergamon, Oxford.
6. Schulden H.-R., Beckey H. D., Boerboom A. J. H., Meuzelaar H. L. C. (1973) *Anal. Chem.*, 45, 2358.
7. Beckey H. D., Heindrichs A., Winkler H. U. (1970) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 3, App. 9, 11.
8. Schulden H.-R. Unpublished results.
9. Beckey H. D., Dahmen J., Knöppel H. (1966) *Z. Naturforsch.*, 21a, 142.
10. Goldenfeld I. V., Nazarenko V. A. (1970) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 5, 197.

11. Müller E. W., Tsong T. T. (1969) *Field Ion Microscopy*, Elsevier, New York.
12. Ajeian R., Beckey H. D., Maas A., Nischke U. (1975) *Appl. Phys.*, 6, 111.
13. Röllgen F. W. Bonn, personal communication.
14. Beckey H. D., Bloching S., Migahed M. D., Ochterbeck E., Schulten H.-R. (1972) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 8, 1969.
15. Beckey H. D., Heindrichs A., Hilt E., Migahed M. D., Schulten H.-R., Winkler H. U. (1971) *Messtechnik*, 78, 196.
16. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1972) *Org. Mass Spectrom.*, 6, 895; (1973) *Messtechnik*, 81, 121.
17. Migahed M. D. (1970) Dissertation, Universität Bonn; Migahed M. D., Beckey H. D. (1971) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 7, 1.
18. Beckey H. D., Hilt E., Schulten H.-R. (1973) *J. Sci. Instrum.*, 6, 1043.
19. Barofsky D. G., Barofsky E. (1974) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 14, 3.
20. Winkler H. U., Beckey H. D. (1973) *Org. Mass Spectrom.*, 7, 1007.
21. Winkler H. U., Linden B., Beckey H. D. (1976) *Org. Mass Spectrom.*, in press.
22. Schulten H.-R., Beckey H. D., Eckhardt G., Doss S. H. (1973) *Tetrahedron*, 29, 3861.
23. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1973) *Org. Mass Spectrom.*, 7, 861.
24. Damico J. N., Barron R. P., Ruth J. M. (1968) *Org. Mass Spectrom.*, 1, 331.
25. Damico J. N., Barron R. P., Sphon J. A. (1969) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 2, 161.
26. Schulten H.-R. (1972) Research Conference on Pesticide Metabolites Enzymology, Isolation and Characterization, Fargo, N. Dak. (USA).
27. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1973) *J. Agr. Food Chem.*, 21, 372.
28. Schulten H.-R., Prinz H., Beckey H. D., Tomberg W., Klein W., Korte E. (1973) *Chemosphere*, 2, 23.
29. Schulten H.-R. (1973) Research Conference on New Methodology in Ecological Chemistry, Susono City (Japan); see also Coulston F., Korte F., Goto M. (1973) *New Methods in Environmental Chemistry and Toxicology*. International Academic Printing Co., Tokyo, p. 31ff.
30. Sphon J. A., Damico J. N. (1970) *Org. Mass Spectrom.*, 3, 51.
31. Röllgen F. W., Beckey H. D. (1970) *Surface Sci.*, 23, 69.
32. Röllgen F. W., Beckey H. D. (1971) *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 75, 988.
33. Röllgen F. W., Beckey H. D. (1974) *Z. Naturforsch.*, 29a, 230.
34. Games D. E., Games M. P., Jackson A. H., Olavesen A. H., Rossiter M., Winterburn P. J. (1974) *Tetrahedron Lett.*, 2377.
35. Games D. E., Jackson A. H., Rossiter M. *Biomed. Mass Spectrom.*, in press.
36. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1974) *Advan. Mass Spectrom.*, 6, 499.
37. Röllgen F. M., Schulten H.-R. (1975) *Org. Mass Spectrom.*, 10, 660.
38. Fales H. M., Milne G. W. A., Winkler H. U., Beckey H. D., Damico J. N., Barron R. (1975) *Anal. Chem.*, 47, 207.
39. Forehand J. B., Kuhn W. F. (1970) *Anal. Chem.*, 42, 1839.
40. Schulten H.-R., Beckey H. D., Boerboom A. J. H., Meuzelaar H. L. C. (1973) *Anal. Chem.*, 45, 191.
41. Schulten H.-R. *J. Agr. Food Chem.*, in press.
42. Schulten H.-R., Schurath U. (1975) *Atmos. Environment*, 9, 1107.
43. Rinehart K. L., Jr., Cook J. C., Jr., Maurer K. H., Rapp U. (1974) *J. Antibiot.*, 27, 1.
44. Adlercreutz H., Soltmann B., Tikkanen M. J. (1974) *J. Steroid Biochem.*, 5, 163.
45. Schulten H.-R., Schurath U. (1975) *J. Phys. Chem.*, 79, 51.
46. Schulten H.-R. (1974) Proc. 2nd International Symposium on Mass Spectrometry in Biochemistry and Medicine. Milan, Italy, June 24—26, in press.
47. Krone H., Beckey H. D. (1969) *Org. Mass Spectrom.*, 2, 427.
48. Shier W. T., Rinehart K. L., Jr., Gottlieb D. (1969) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 63, 198.
49. Schulten H.-R., Games D. E. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, 1, 120.
50. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1974) *Org. Mass Spectrom.*, 9, 1154.
51. Lehmann W. D., Schulten H.-R., Beckey H. D. (1973) *Org. Mass Spectrom.*, 7, 1103.
52. Bloch A. (1973) in E. J. Ariens, *Medical Chemistry*, Academic Press, New York, vol. IV, 286.
53. Brown P., Pettit G. R., Robins R. K. (1969) *Org. Mass Spectrom.*, 2, 521.
54. Schulten H.-R., Schiebel H. M. (1976) *Z. Anal. Chem.*, in press.
55. Sammons M. C., Bursey M. M., Brent D. A. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, 1, 169.
56. Schulten H.-R., Beckey H. D., Bessel E. M., Foster A. B., Jarman M., Westwood J. H. (1973) *J. C. S. Chem. Commun.*, 13, 416.
57. Winkler H. U., Beckey H. D. (1972) *Org. Mass Spectrom.*, 6, 655.
58. Beckey H. D., Hoffmann G., Maurer K. H., Winkler H. U. (1971) *Advan. Mass Spectrom.*, 5, 626.
59. Winkler H. U., Beckey H. D. (1972) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 46, 391.

60. Asante-Poku S., Wood G. W., Schmidt D. E., Jr. (1975) *Biomed. Mass Spectrom.*, **2**, 121.
61. Beckey H. D., Schulten H.-R., Winkler H. U. (1971) *Proc. 18th Field Emission Symposium, Eindhoven, Aug.*, p. 81ff.
62. Rouse D. J., Brent D. A. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 256.
63. Schulten H.-R. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 223.
64. Brent D. A., de Miranda P., Schulten H.-R. (1974) *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1370.
65. Munson M. S. B., Field F. H. (1966) *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**, 2621.
66. Heinen H. J., Hötzel Ch., Beckey H. D. (1974) *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **13**, 55.
67. Paul W., Reinhard H. P., Zahn U. v. (1958) *Z. Phys.*, **152**, 143.
68. Gierlich H. H., Heinen H. J., Beckey H. D. (1975) *Biomed. Mass Spectrom.*, **2**, 31.
69. Meuzelaar H. L. C., Kistemaker P. G. (1973) *Anal. Chem.*, **45**, 587; Meuzelaar H. L. C., Posthumus M. A., Kistemaker P. G., Kistemaker J. (1973) *ibid.*, **45**, 1546.
70. Schulten H.-R. (1974) in Heden C. G., Illeni T., *New Approaches to the Identification of Microorganisms*, Wiley, New York, p. 117.
71. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1973) *T. Chromatogr.*, **83**, 315.
72. Beckey H. D., Schulten H.-R. (1975) *T. Anal. Chem.*, **273**, 345.
73. Arpino P., Baldwin M. A., McLafferty F. W. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 80 and literature cited therein.
74. Schulten H.-R., Beckey H. D. (1974) *Twenty-Second Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics.*, Philadelphia, Pennsylvania, May 19–24, *Conf. Proceedings*: 07.
75. Wood G. W., Lau P.-Y., Mak N. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 425.
76. Schulten H.-R., Röllgen F. W. (1975) *Org. Mass Spectrom.*, **10**, 649; (1975) *Angew. Chem.*, **87**, 544; (1975) *Angew. Chem. internat. Edit.*, **14**, 561.
77. Beckey H. D., Schulten H.-R. (1976) in *Practical Spectroscopy Series* (Pugh T. and Merritt C., eds.), Marcell Dekker Inc., New York, in press.
78. Brent D. A., Rouse D. J., Sammons M. C., Bursley M. M. (1973) *Tetrahedron Lett.*, **42**, 4127.
79. Wood G. W., McIntosh J. M., Lau Pui-Yan (1975) *J. Org. Chem.*, **40**, 636.
80. Sammons M. C., Bursley M. M., White C. K. (1976) *Anal. Chem.*, in press.
81. Games D. E., Jackson A. H., Kane-Maguire L. A. P., Taylor K. (1976) *J. Organometal. Chem.*, in press.
82. Games D. E., Jackson A. H., Taylor K. T. (1974) *Org. Mass Spectrom.*, **9**, 1245.
83. Schulten H.-R., Kümmler D. (1976) *Z. Anal. Chem.*, **278**, 13.
84. Röllgen F. W., Schulten H.-R. (1975) *Z. Naturforsch.*, **30a**, 1685.
85. Olson K. L., Cook J. C., Jr., Rinehart K. L., Jr. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 358.
86. Kümmler D., Schulten H.-R. (1975) *Org. Mass Spectrom.*, **10**, 813.
87. Sammons M. C., Bursley M. M., White C. K. (1976) *Anal. Chem.*, in press.
88. Anbar M., John G. A. St. (1976) *Anal. Chem.*, **48**, 199.
89. Moor J., Waight E. S. (1974) *Org. Mass Spectrom.*, **9**, 903.
90. Watts C. D., Maxwell J. R., Games D. E., Rossiter M. (1975) *Org. Mass Spectrom.*, **10**, 1102.
91. Wood G. M., Lau P.-Y. (1974) *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 154.
92. Evans N., Games D. E., Harwood J. L., Jackson A. H. (1974) *Biochem. Soc. Transactions*, **2**, 1091.
93. Wood G. M., Lau P.-V. (1975) *Org. Mass Spectrom.*, **10**, 1147.
94. Schulten H.-R., Nibberring N. M. M. (1976) *Biomed. Mass Spectrom.*, in press.
95. Schulten H.-R. (1976) *Cancer Chemother. Rep.*, in press.

FIELD DESORPTION MASS SPECTROMETRY: PRINCIPLES, TECHNIQUES, AND APPLICATION IN BIOORGANIC CHEMISTRY

BECKEY H. D., SCHULTEN H.-R.

Institute of Physical Chemistry, Bonn University, FRG

Field desorption (FD) enables mass-spectrometric investigation of large organic molecules without their vaporization. The present state of our theoretical understanding of the ionization of these molecules in the adsorbed state on organic emitters is described. The special problems of the technique and prospective developments in the apparatus for future analytical problems are outlined. The present progress report concentrates on analytical studies of biochemical model compounds and degradation products from environmental chemicals and drugs. The method is particularly suitable for the detection and identification of submicrogram quantities of underivatized polar substances present in complex mixtures or pre-purified extracts from biological materials.