

ОБОБЩЕННЫЕ КРИТЕРИИ ВЫБОРА УСЛОВИЙ АНАЛИЗА В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ DART

Г.А. Калабин, Е.С. Чернецова

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов»,
Управление по науке и инновациям;
Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
kalabinga@mail.ru, chern_es@mail.ru*

Поступила в редакцию 14 апреля 2014 г.,
после исправлений – 24 июня 2014 г.

Проведено сопоставление результатов исследования состава и интенсивностей сигналов в масс-спектрах DART органических соединений при использовании нескольких типов масс-анализаторов и конфигураций вакуумного интерфейса между источником ионов и входом в масс-анализатор. На примере различных соединений установлена зависимость состава масс-спектров DART, полученных с использованием разных масс-анализаторов, от условий эксперимента. Обсуждается роль состава и скорости потока газа-носителя, давления в вакуумном интерфейсе, температуры и состава атмосферы в области ионизации, присутствия добавки неона в гелии, параметров керамической трубки вакуумного интерфейса, напряжения на входе в масс-анализатор. Впервые сформулированы обобщенные рекомендации и критерии выбора условий регистрации масс-спектров DART в зависимости от аналитов, условий эксперимента, используемой технической базы.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, прямой анализ в режиме реального времени, DART, оптимизация, критерии, условия эксперимента

Геннадий Александрович Калабин – доктор химических наук, профессор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов».

Область научных интересов: ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, хроматография, эколого-аналитический контроль, анализ продуктов питания.

Опубликовано более 450 печатных работ.

Елена Сергеевна Чернецова – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов».

Область научных интересов: масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, различные виды хроматографии (ГХ, ВЭЖХ, ТСХ), атомно-эмиссионная спектроскопия, быстрый скрининг, обнаружение и идентификация следовых содержаний веществ в сложных матрицах, анализ сложных смесей соединений.

Опубликовано более 90 печатных работ.

Введение

Около 10 лет назад в практику масс-спектрометрии был введен ряд методов десорбции/ионизации для масс-спектрометрии, которые объединены собирательным термином «масс-спектрометрия в нормальных условиях» («Ambient mass spectrometry») [1]. Особенность этих методов – прямая регистрация сигналов аналитов в их исходных матрицах или на подложках, то есть анализ без пробоподготовки или при ее минимизации. Масс-спектрометрия с прямым анализом в режиме реального времени (DART, Direct Analysis in Real Time), а также масс-

спектрометрия с десорбционной электрораспылительной ионизацией (DESI, desorption electrospray ionization) – первые методы масс-спектрометрии в нормальных условиях, с которых началось ее развитие [1-3]. Если DESI – модификация ионизации электрораспылением, использующая для ионизации спрей из капель жидкого растворителя, DART – модификация химической ионизации с поверхности образца при атмосферном давлении в потоке газа. В большинстве случаев метод масс-спектрометрии DART позволяет исследовать органические молекулы с молекулярной массой менее 1000 а.е.м. [3,4]. Расширение диапазона в масс-спектрометрии DART

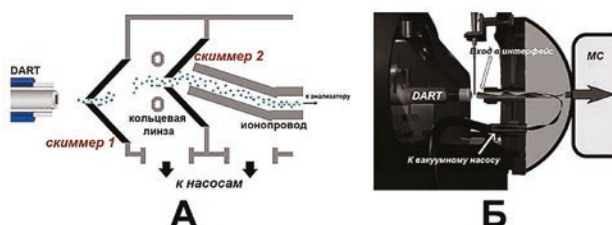


Рис. 1. Схема встроенного вакуумного интерфейса МС модели «AccuTOF» (JEOL, Япония) (А) [8] и отдельного вакуумного интерфейса-сепаратора «Vapur» (IonSense) для различных моделей МС (Б), воспроизведено с разрешения из [9] © 2009 American Chemical Society

возможно путем использования для калибровки полидиметилсилоксанов или ионных жидкостей [5-7].

Отсутствие обобщенных рекомендаций и критериев выбора условий анализа при использовании масс-спектрометрии DART ограничивают ее широкое применение в качестве аналитического метода. До 2009 г. источники ионизации DART, производимые серийно, использовали только при сочетании с масс-спектрометром модели «AccuTOF» (JEOL, Япония). Поэтому до настоящего исследования большинство работ по изучению масс-спектров DART и факторов, влияющих на их состав, выполнено при использовании такого сочетания. Только с масс-спектрометром «AccuTOF» было возможно сочетание источников DART напрямую, так как в этом случае перед входом в масс-анализатор имеется система скиммеров для обеспечения необходимого уровня вакуума (рис. 1, А [8]). Выпускаемая до 2009 года модель ионного источника «DART 100» выгодно отличалась от более позднего источника «DART SVP» наличием в нем двух дополнительных электродов и возможностью варьирования скорости потока газа-носителя. Это обеспечивало возможность изучения вариаций напряжений на этих электродах и скорости потока гелия на состав масс-спектров, отсутствующую для более поздних моделей ионного источника.

С 2009 года начали производить вакуумные интерфейсы-сепараторы «Vapur» (IonSense, США) для сочетания источников DART с другими типами масс-спектрометров, отличных от «AccuTOF». Они представляют собой металлические конструкции с системой креплений, адаптированной под различные модели масс-спектрометров, сочетание DART с которыми было ранее невозможно из-за нарушения баланса давлений. В вакуумном интерфейсе «Vapur» для переноса ионов в масс-анализатор используется не металлический конический скиммер с отверстием малого диаметра, как в приборе «AccuTOF», а обогреваемая керамическая трубка. Схема такого интерфейса приведена на рис. 1, Б [9]. Сведения о критериях оптимизации условий анализа с использованием таких систем до наших работ отсутствовали.

Целью настоящей публикации является обобщение критериев выбора условий анализа в масс-спектрометрии DART, особенно при использовании вакуумного интерфейса-сепаратора «Vapur».

Экспериментальная часть

Объекты анализа и вспомогательные вещества

Нами исследовано более 50 модельных соединений различных классов: алифатические и ароматические углеводороды, карбонилсодержащие соединения, сахара, гетероциклические соединения, фенольные соединения, карбоновые кислоты, аминокислоты. Для приготовления растворов с содержанием модельных веществ в диапазоне $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл использовали различные органические растворители и деионизованную воду, обеспечивали полное растворение в них модельных веществ, при необходимости подвергая обработке в ультразвуковой бане Laboson 200 (Bender & Hobein, Швейцария). Все используемые модельные вещества и органические растворители имели чистоту > 97 % (Roth, Германия; Sigma-Aldrich, США; Phyto-Lab, Vestenbergsgreuth, Германия). Деионизованную воду (18 МОм·см) получали на установке «Synergy System» (Millipore, Германия). Для обеспечения функционирования источника ионизации DART использовали гелий и азот чистоты 99.999 %, а также гелий, содержащий 10 % неона (Westfalen, Германия).

Условия регистрации и обработки масс-спектров DART

Для регистрации масс-спектров DART использовали следующие модели масс-спектрометров:

- времяпролетный масс-спектрометр «AccuTOF» (JEOL, Япония) оснащенный ионным источником «DART-100» (IonSense, США);
- квадрупольный масс-спектрометр модели G1956B (Agilent, Германия) в сочетании с ионным источником «DART-SVPA» (IonSense); и вакуумным интерфейсом «Vapur» (IonSense);
- масс-спектрометр типа «орбитальная ионная ловушка» модели «Exactive» (Thermo Fisher Scientific, Германия) с вакуумным интерфейсом «Vapur» (IonSense) и ионным источником «DART-SVPA» (IonSense).
- масс-спектрометр типа «орбитальная ионная ловушка» «Q-Exactive» (Thermo Fisher Scientific, Германия), с вакуумным интерфейсом модели «Vapur» и ионным источником DART «ID-CUBE» (IonSense).

Для вакуумирования интерфейса «Vapur» во всех случаях использовали мембранный вакуумный насос модели «MZ 2» (Vacuubrand, Германия). Для ионных источников «DART-100» и «DART-SVPA» температуру нагрева газа в источнике варьировали в диапазоне от 50 до 550 °С. В режиме регистрации ионов через источник пропускали гелий, а в режиме ожидания использовали азот. Для управления ионным источником использовали программное обеспечение для ионных источников семейства «DART-SVP». Скорость потока гелия через ионный источник, регистрируемую с помощью внешнего из-

мерителя потока (Analyt-MTC GmbH, Германия), варьировали в диапазоне от 3 до 10 л/мин.

В источнике «ID-CUBE» термодесорбция происходит за счет приложения напряжения к металлической сетке при использовании трех возможных положений тумблера на источнике DART, соответствующих «низкому», «среднему» и «высокому» значению пропускаемого тока (значения производителем не приведены). Подача газа-носителя (гелий) осуществляется только в режиме анализа.

В начале каждой серии анализов проводили холостой опыт, внося в область ионизации подложку без анализов, что позволяет осуществлять вычитание фонового сигнала, регистрируемого при анализе этой подложки.

В зависимости от производителя масс-спектрометра, для сбора и обработки данных использовали программное обеспечение «MassCenterMain» (JEOL), «LC/MSD Chemstation» серии B.02.01-SR1(260) (Agilent) или XCalibur (Thermo Fisher Scientific).

Результаты и их обсуждение

Нами показано [10], что состав масс-спектров DART даже для одного из наиболее изученных образцов – раствора полиэтиленгликоля, используемого для градуировки шкалы масс, сильно зависит от условий анализа и изменяется даже в течение анализа образца. Это объясняется тем, что термодесорбция компонентов образца в зависимости от их летучести и молекулярной массы происходит в разное время. Хотя образование кластерных ионов может затруднять интерпретацию масс-спектров сложных смесей неизвестных соединений, их регистрацию можно успешно использовать для повышения достоверности идентификации заданных соединений за счет одновременной идентификации по нескольким характеристичным ионам в масс-спектре. Поэтому в зависимости от поставленной аналитической задачи и типа анализов целесообразна адаптация условий эксперимента.

Из совокупности результатов, полученных для времяпролетного масс-спектрометра «AccuTOF», следует, что составом масс-спектров DART можно частично управлять путем варьирования условий эксперимента [3]. Для расширения и обобщения такой информации представляло интерес изучение их влияния на состав масс-спектров DART для различных типов масс-анализаторов и всех известных на момент исследования типов ионных источников DART при использовании вакуумного интерфейса «Vapur». На рис. 2 показаны способы ввода пробы при использовании соответствующих моделей ионных источников.

При использовании вакуумного интерфейса «Vapur» вместо прохождения системы скиммеров, используемой в масс-спектрометре «AccuTOF» (рис. 2, А [11]), перенос ионов, образовавшихся в области ионизации DART, в масс-анализатор происходит через

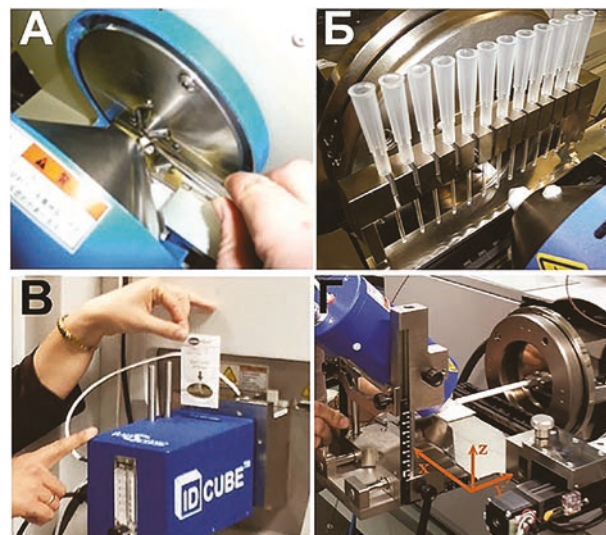


Рис. 2. Источники ионизации DART и возможные способы ввода проб: внесение таблетки в область ионизации с ионным источником «DART-100» при сочетании с масс-спектрометром «AccuTOF» (JEOL) без вакуумного интерфейса «Vapur» (А), воспроизведено с разрешения из [11] © 2010 John Wiley and Sons Ltd.; внесение растворов на кончиках стеклянных капилляров в область ионизации источника «DART-SVPA» при сочетании с масс-спектрометром «G1956B» (Agilent) посредством вакуумного интерфейса «Vapur» (Б), воспроизведено с разрешения из [12] © 2012 Elsevier; внесение образца в картридже с сеткой в область ионизации ионного источника «ID-CUBE» при сочетании с масс-спектрометром «Q-Exactive» посредством вакуумного интерфейса «Vapur» (В), воспроизведено с разрешения из [13] © 2012 John Wiley and Sons Ltd.; и сканирование пластины для тонкослойной хроматографии при сочетании источника «DART-SVPA» с масс-спектрометром «G1956B» (Agilent) посредством вакуумного интерфейса «Vapur» (Г), воспроизведено с разрешения из [12] © 2012 Elsevier.

керамическую трубку интерфейса и через область вакуумного откачивания (рис. 2, Б и 2, Г) [12]. Соответственно, интерес представляло изучение влияния давления в вакуумном интерфейсе и конфигурации керамической трубки на состав масс-спектров DART. Интерес также представляло изучение влияния добавления неона в гелий как газ-носитель для DART, в связи с упоминанием в работе [4] о возможности использования неона в качестве газа-носителя для DART. Также необходимо было выяснить возможности оптимизации условий ввода проб при использовании источника ионизации «ID-CUBE», предназначенного исключительно для анализа проб, нанесенных на металлическую решетку специального картриджа для таких источников (рис. 2, В) [13].

Факторы, влияющие на состав масс-спектров DART

Нами впервые проведено систематическое исследование масс-спектров DART органических соединений различных классов (алифатические и ароматические углеводороды, карбонилсодержащие соединения, сахара, гетероциклические со-

единения, фенольные соединения, карбоновые кислоты, аминокислоты) при сочетании DART с масс-анализатором посредством керамической трубки и вакуумного интерфейса. Исследовалась зависимость состава масс-спектров DART от следующих параметров объектов анализа и эксперимента [12-21]: тип и концентрация аналита, состав матрицы образца, состав окружающей атмосферы, температура, состав и скорость потока газа-носителя, длина и диаметр керамической трубки, давление в вакуумном интерфейсе масс-спектрометра, напряжение на входе в масс-анализатор. При использовании источника ионизации модели «ID-CUBE», в котором керамическая трубка отсутствовала, изучали влияние на аналитический сигнал как растворителя, содержащегося на подложке, так и величины потенциала, прилагаемого к металлической сетке картриджа потенциала.

Как показали проведенные нами исследования и отдельные представленные ниже примеры, для масс-спектрометрии DART нет единых условий, которые обеспечивали бы одинаковый состав масс-спектров для разных аналитов с точки зрения природы соответствующих ионов.

Влияние скорости потока гелия на масс-спектры DART

В моделях источников «DART SVP» и «DART SVPA» значение скорости потока газа-носителя установлено равным 3 л·мин⁻¹, но выбор этого значения не обоснован в литературе. Проведенное исследование влияния скорости потока газа-носителя на состав масс-спектров DART при использовании первой модели ионного источника DART позволило предположить, что такой выбор значения скорости потока гелия обусловлен соображениями экономии гелия, а также тем, что в большом числе случаев такое значение скорости потока может быть принято за оптимальное. Так, на рис. 3 приведены масс-спектры 5-оксиметилфурфуrolа (ОМФ; $M = 126$ а.е.м.), зарегистрированные при различных скоростях потоков гелия [12] с использованием одноквадрольного масс-анализатора,

в которых наблюдались как кластерные ионы-димеры состава $[2M + H]^+$, так и кластерные ионы, образованные за счет присоединения фрагмента с $m/z = 18$, которые в некоторых публикациях по масс-спектрометрии DART ошибочно принимают за продукты присоединения молекул воды к молекуле аналита. Как было уточнено методами масс-спектрометрии DART высокого разрешения с времяпролетным масс-анализатором и с анализатором на основе орбитальной ионной ловушки, фрагменту с $m/z = 18$ соответствовал не состав H_2O , а состав NH_4^+ , то есть образование кластерных ионов $[M + 18]^+$ и $[2M + 18]^+$ происходило не путем гидратации молекулярного иона, а путем ионно-молекулярных взаимодействий, в которые были вовлечены молекулы аналита и аммиака, по-видимому, содержавшегося в следовых количествах в атмосфере вокруг прибора, благодаря чему для этого и других аналитов образовывались кластерные ионы состава $[xM + NH_4]^+$. Несмотря на то, что обычно фоновая концентрация аммиака в воздухе на несколько порядков ниже концентрации паров воды, образование ионов-аддуктов состава $[xM + NH_4]^+$ в масс-спектрометрии DART происходит довольно часто. В ряде публикаций как причины образования подобных аддуктов названы предполагаемое присутствие в образце примесей, содержащих аммиак [22], присутствие аммиака в атмосфере вокруг прибора [23] и выделение аммиака человеческим телом [24-27]. Сообщалось [28], что образование ионов-аддуктов с аммиаком особенно часто происходит с карбонилсодержащими соединениями (кислоты, сложные эфиры, кетоны, пероксиды).

С увеличением скорости потока гелия относительная интенсивность всех кластерных ионов снижалась, что, как предполагалось, связано с кинетикой ион-молекулярных взаимодействий в области ионизации: при более высоких скоростях газа-носителя перенос ионов в масс-анализатор происходит быстрее, поэтому доля кластерных ионов ниже, чем при более низких скоростях газа-носителя. При скоростях потока гелия ниже 3 л/мин резко снижалась интенсивность сигналов аналитов в масс-спектрах DART. Из представленных на рис.

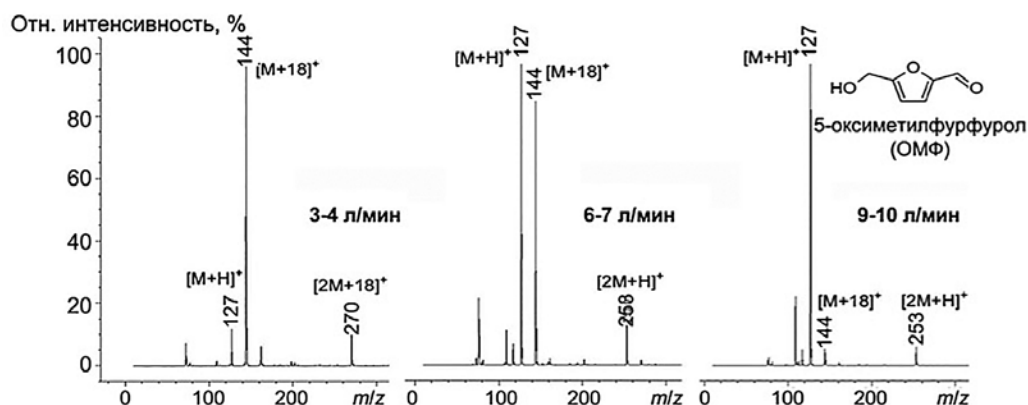


Рис. 3. Зависимость состава масс-спектров водного раствора оксиметилфурфуrolа от скоростей потоков гелия (сохранение ОМФ в растворах 0.5 мг/мл, температура DART 50 °C), воспроизведено с разрешения из [12] © 2012 Elsevier

3 масс-спектров видно, что при скоростях прокачки 9-10 л/мин относительные интенсивности протонированных молекул аналита значительно превышали относительные интенсивности протонированных димеров и кластерных ионов – аддуктов аммиака, в то же время при скоростях 3-4 л/мин относительные интенсивности протонированных молекул были сопоставимы с относительными интенсивностями кластерных ионов $[2M + NH_4]^+$, а наиболее высокие относительные интенсивности наблюдались для ионов-аддуктов $[M + NH_4]^+$. Тем не менее, на примере ряда аналитов, включая ОМФ, было установлено, что при увеличении скорости потока с 3 до 10 л/мин суммарная интенсивность полного ионного тока снижалась приблизительно в 3 раза. Кроме того, наличие сигналов кластерных ионов, дополнительных к сигналам протонированных молекул, можно использовать для дополнительного подтверждения идентичности предполагаемого аналита при идентификации. На основании исследований, проведенных с использованием различных модельных соединений, подтвердилось предположение о том, что значение скорости потока газа-носителя, равное 3 л/мин, можно принять за оптимальное для большинства аналитов в масс-спектрометрии DART, поскольку оно обеспечивает высокие интенсивности информативных ионов, используемых для идентификации аналитов, и наиболее экономное расходование гелия в масс-спектрометрии DART.

Влияние давления в вакуумном интерфейсе

В литературе не было каких-либо данных о влиянии давления в вакуумном интерфейсе на состав масс-спектров DART. Этот вопрос нами изучен

для вакуумного интерфейса «Varip» опосредованно, контролируя скорость вакуумного откачивания интерфейса внешним измерителем потоков. Диапазон возможных скоростей потоков составлял от 12 до 18 л/мин. Используемый вакуумный насос не мог обеспечить скоростей откачивания выше 18 л/мин, а использование скоростей откачивания ниже 12 л/мин приводило к автоматическому отключению масс-анализатора из-за недостаточного уровня вакуума в системе. Изучали масс-спектры модельных растворов аналитов, нанесенных на стеклянные капилляры «DIP-it», во всем диапазоне скоростей вакуумного откачивания.

На рис. 4 в качестве примера приведены масс-спектры DART галангина в режиме регистрации положительных ионов (ПИ) и *l*-кумаровой кислоты в режиме регистрации отрицательных ионов (ОИ) при граничных скоростях откачивания – 12 и 18 л/мин. Видно, что состав масс-спектров в обоих режимах сильно зависит от скорости откачивания вакуумного интерфейса [17]. Во всем диапазоне скоростей откачивания с увеличением давления в вакуумном интерфейсе наблюдалось уменьшение доли кластерных ионов в масс-спектрах, механизм образования которых требует дальнейшего уточнения. При регистрации положительных ионов во всем диапазоне скоростей вакуумного откачивания в масс-спектрах преобладали одни и те же сигналы, а при регистрации отрицательных ионов в зависимости от скорости откачивания максимальной была интенсивность ионов с разными значениями *m/z*. При регистрации отрицательных ионов в большинстве случаев наиболее интенсивными сигналами обладали депротонированные молекулярные димеры $[2M - H]^-$. Присутствие сигналов димерных ионов $[2M - H]^-$ или других ионов с *m/z* со

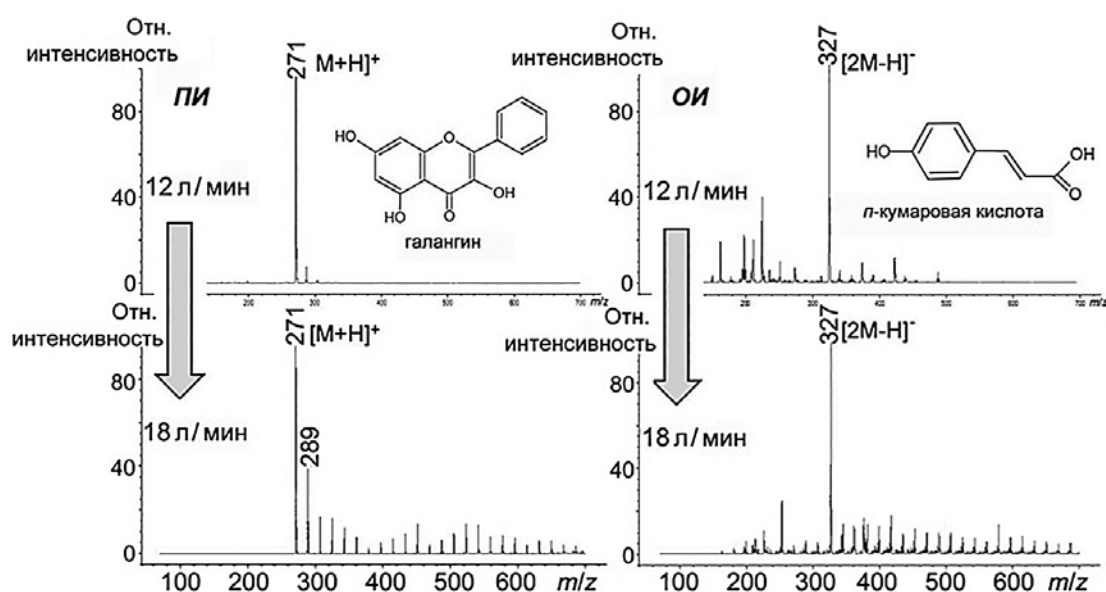


Рис. 4. Масс-спектры DART галангина в режиме регистрации положительных ионов (ПИ, слева) и *l*-кумаровой кислоты в режиме регистрации отрицательных ионов (ОИ, справа) при минимальной и максимальной скоростях откачивания вакуумного интерфейса (12 и 18 л/мин) [17]. Содержание аналитов: 100 мкг/мл в этилацетате

значением выше удвоенной молекулярной массы объяснялось сравнительно высокой концентрацией аналитов в модельном растворе [29]. Было установлено также, что для разных соединений при увеличении скорости вакуумного откачивания от 12 до 18 л/мин интенсивность полного ионного тока снижалась в 5-10 раз, в зависимости от аналита и используемого режима (регистрация положительных или отрицательных ионов).

При увеличении скорости вакуумного откачивания формирование кластерных ионов происходило более интенсивно, вследствие этого относительные интенсивности сигналов депротонированных молекул снижались. Для соединений, обладавших кислотными свойствами, средние значения относительного стандартного отклонения (s_p , %) для отношений сигнал/шум при различных скоростях вакуумного откачивания в большинстве случаев были значительно лучше при регистрации отрицательных ионов для обоих аналитов по сравнению с регистрацией положительных ионов. Более высокую воспроизводимость масс-спектров DART отрицательных ионов можно объяснить селективной ионизацией DART соединений, обладающих кислотными свойствами [18, 30], и снижением влияния сигналов компонентов из окружающей атмосферы в этом режиме.

При планировании экспериментов необходимо иметь в виду, что использование сигналов димеров в аналитических целях затруднено из-за квадратичной зависимости аналитического сигнала от концентрации аналита, а также то, что, как следовало из проведенных исследований, при анализе образцов с высокими содержаниями аналитов возможно появление не только димерных кластерных ионов, но и кластеров более высокого порядка. Их наличие может служить дополнительным критерием идентичности при идентификации искомого аналита в образцах неизвестного состава, но для фундаментальных аналитических исследований и при развитии метода масс-спектрометрии DART следует стремиться к наиболее простому составу масс-спектров.

Таким образом, совокупность данных проведенных исследований, полученных результатов позволяет предложить скорость вакуумного отка-

чивания 12 л/мин в качестве оптимальной для большинства аналитов и экспериментальных условий, так как способствует снижению доли кластерных ионов в масс-спектрах DART и вместе с тем обеспечивает наиболее высокую интенсивность полного ионного тока.

Влияние добавления неона в гелий

В большинстве публикаций в качестве газ-носителя для ионизации DART используют гелий, эффективность которого связывают с тем, что внутренней энергии 19.83 эВ долгоживущих метастабильных частиц гелия $He^*(2^3S)$ достаточно для ионизации большинства органических соединений [4]. Энергия метастабильных частиц неона составляет 16.61 эВ, а потенциал ионизации молекулы воды равен 12.62 эВ, поэтому в качестве газа для DART возможно использование и неона тоже [4]. Принципиальная возможность использования неона в качестве газа-носителя для DART ранее упоминалась [4]. Мы предполагали, что при добавлении неона в гелий можно добиться эффекта свечения плазмы, полезного для визуализации или фокусирования при сканировании поверхностей методом масс-спектрометрии DART, в связи с чем изучили влияние добавления в гелий неона на состав масс-спектров.

Установили, что при использовании добавки неона в гелий сложность состава масс-спектров DART возрастает по сравнению с масс-спектрами, зарегистрированными с использованием чистого гелия, особенно в масс-спектрах отрицательных ионов [17], что проиллюстрировано рис. 5, где представлены масс-спектры DART галангина в режиме отрицательных ионов при использовании чистого гелия и смеси гелия с неонам (9 : 1) в качестве газ-носителя. В большинстве экспериментов это приводило к снижению чувствительности – отношения сигнал/шум уменьшались на 10-80 %. Помимо снижения отношений сигнал/шум для молекулярных или квазимолекулярных ионов увеличивается сложность спектров за счет более интенсивного образования кластерных ионов [17]. Проведенные исследования позволили установить, что для наблюдения за зоной аналитического отбора в масс-

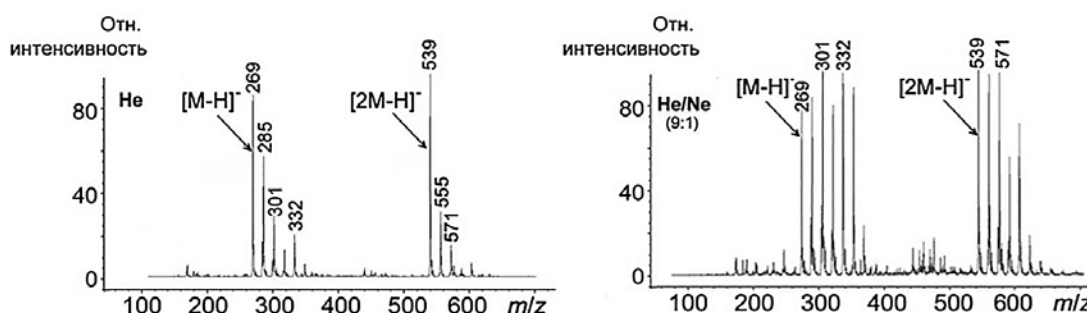


Рис. 5. Масс-спектры DART галангина в режиме регистрации отрицательных ионов при использовании чистого гелия (слева) и смеси гелия с неонам 9:1 (справа) [17]. Содержание аналитов – 100 мкг/мл в этилацетате, скорость откачивания вакуумного интерфейса – 12 л/мин

спектрометрии DART возможно использовать не только смесь гелия с неонам, обеспечивающую в условиях затемнения образование ярко-красного светового пятна в области фокусирования газа-носителя на поверхности образца, но также возможно использовать и чистый гелий. Вместе с тем, свечение плазмы чистого гелия лиловым светом было значительно более тусклым и требовало обеспечения практически полной темноты, что затрудняло документирование сигналов путем видеорегистрации. Поэтому использование добавок неона в гелий целесообразно только в специальных случаях, когда критерием выбора состава газа-носителя является не простота состава и максимальная интенсивность масс-спектров DART, а другие причины, например, наиболее отчетливая визуализация зоны ионизации.

Влияние температуры и состава атмосферы в области ионизации

Из опубликованных данных о влиянии температуры на состав масс-спектров DART при использовании масс-анализатора «AccuTOF» следует, что оптимальным рабочим диапазоном температур ионизации являются температуры от 200 до 350 °C [3,29]. Выбор температуры анализа в этом диапазоне рекомендовано осуществлять индивидуально, в зависимости от задачи, типа образца и аналитов. Наши предварительные исследования с использованием других масс-анализаторов (квадруполь, ор-

битальная ионная ловушка), подтвердили эти данные. Для расширения знаний в этой области нами была поставлена задача рассмотрения также особенностей ионизации DART термолabile соединений, для которых в литературе данные практически отсутствовали.

Сахара и родственные соединения являются важным компонентом биологических образцов, в том числе растительного лекарственного сырья, используются в качестве основы ряда лекарственных препаратов. Известным продуктом их термического разложения является ОМФ, поэтому наряду с анализом сахаров изучали в идентичных условиях и масс-спектры DART ОМФ [12]. Для всех анализов при 100 °C и более высоких температурах характерны интенсивные сигналы состава $[M + 18]^+$, а также с ростом температуры наблюдались более ярко выраженные сигналы $[M \pm x \cdot 18]^+$ [12, 31], соответствующие продуктам присоединения аммиака (что установлено с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения) или отщепления молекул воды от мономерных или кластерных ионов сахаров в результате нагревания. Например, на рис. 6 приведены масс-спектры DART ОМФ и сахарозы при 100, 150 и 250 °C в отсутствие подачи аммиака в область ионизации [12]. Так, в представленных масс-спектрах сахарозы наиболее интенсивные сигналы при 250 °C с $m/z = 180$ и 198 образованы в результате термического разложения сахарозы до фруктозы и глюкозы ($C_6H_{12}O_6$, молярная масса 180 г/моль) и образованию из них ионов

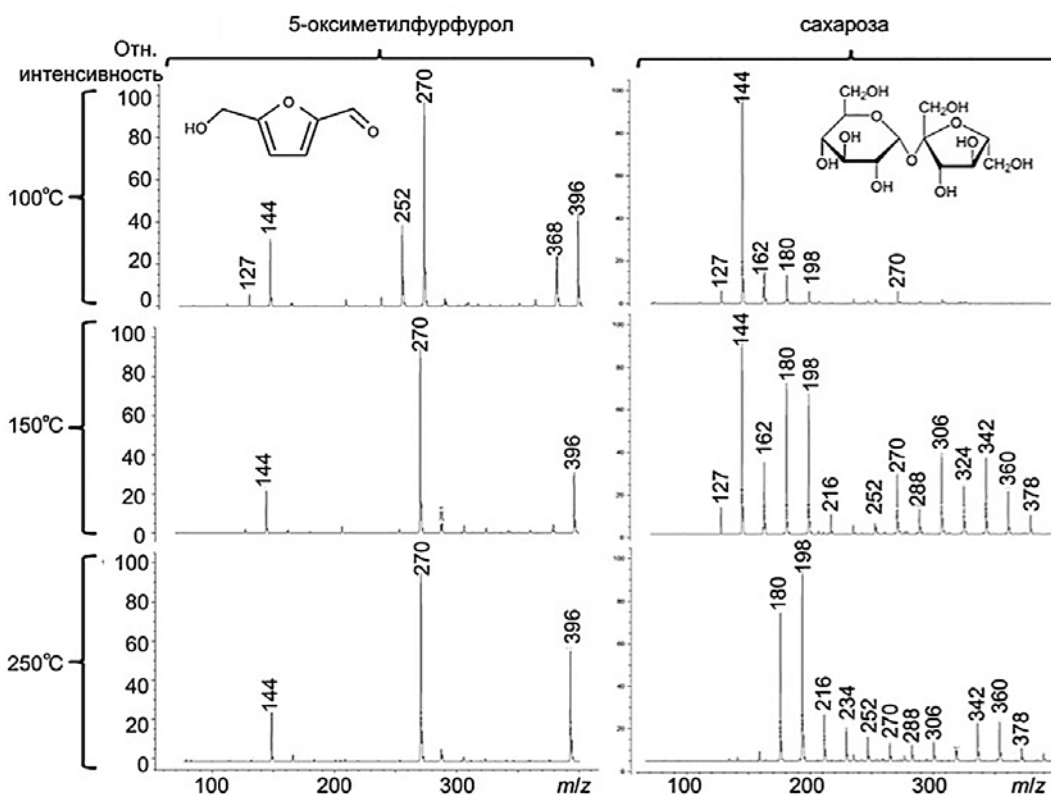


Рис. 6. Масс-спектры DART водных растворов (5 мг/мл) 5-оксиметилфурфуrolа ($M = 126$ а.е.м.) и сахарозы ($M = 342$ а.е.м.) при различных температурах в источнике DART, воспроизведено с разрешения из [12] © 2012 Elsevier

состава $[C_6H_{12}O_6 + NH_4 - H_2O]^+$ и $[C_6H_{12}O_6 + NH_4]^+$, а при более низких температурах в масс-спектрах сахарозы наблюдаются также интенсивные ионы с $m/z = 144$ а.е.м., состав которых соответствовал $[OMF + NH_4]^+$. На основании анализа массива данных по составу масс-спектров DART различных сахаров в разных условиях установили, что наблюдаемый качественный состав масс-спектров DART изомерных сахаров с одинаковой элементной формулой (например, глюкозы и фруктозы или мальтозы и сахарозы) одинаков во всем диапазоне изученных температур, в том числе при добавлении аммиака в область ионизации для образования ионов-реагентов, а от температуры и состава атмосферы зависели относительные интенсивности сигналов в масс-спектрах. Установленные закономерности важны для развития способов анализа объектов, содержащих сахара, включая ЛС, а также другие биологические объекты. Проведенные на примере анализа сахаров исследования влияния температуры, состава атмосферы и концентрации аналитов в растворе показали, что варьированием условий можно в некоторых пределах изменять соотношения интенсивностей кластерных ионов, т.е. управлять количественным составом масс-спектров. Однако изменить качественный состав масс-спектров DART (например, добиться, чтобы они состояли только из протонированных молекул аналитов), по-видимому, не представляется возможным, особенно если в процессе ионизации DART происходит термическое разложение аналитов в области ионизации.

Влияние параметров керамической трубки вакуумного интерфейса

Сочетание источников DART с любыми масс-спектрометрами, кроме времяпролетного «АссiTOF», осуществляют посредством вакуумных интерфейсов «Vapig». Входом в вакуумный интерфейс со стороны источника ионов при таком сочетании является керамическая трубка, внешний диаметр которой составляет 5 мм для всех интерфейсов, а внутренний – 3.18 или 4.75 мм. Какие-либо практические рекомендации о предпочтительном диаметре трубки в литературе до наших работ отсутствовали. Несмотря на то, что из общих соображений можно было предположить, что при уменьшении диаметра и увеличении длины транспортной трубки увеличатся потери ионов на ее стенках, оставалось неясным, насколько заметным будет влияние этого эффекта на результаты эксперимента в масс-спектрометрии DART, и требовалось установить влияние размеров керамической трубки на интенсивности сигналов ионов в масс-спектрах DART экспериментальным путем.

Провести оценку влияния диаметра и длины транспортной трубки на эффективность пропускания ионов являлось весьма важным для исследования возможности сканирования в разных

плоскостях поверхностей образцов методом масс-спектрометрии DART. В 2011 году по нашему запросу [12] фирмой-производителем источников DART (IonSense) в качестве инструментального решения для сканирования пластин ТСХ и других поверхностей был выпущен специальный планшет размерами 150x85x2.5 мм (рис. 2, Г), оснащенный двумя моторизованными линейками для передвижения образца (и его сканирования методом DART) по осям X и Y с регулируемой скоростью в пределах 0.2-10 мм/мин и регулировочным винтом для фиксации его позиции в пределах 2 см по оси Z. Возможность сканирования образца методом масс-спектрометрии DART по оси X не вызвала сомнений, однако для сканирования образца по оси Y, как видно из рис. 2, Г, требовалось использование удлиненной керамической трубки, чтобы обеспечить необходимое пространство для смещения образца по оси сканирования Y.

В случае сочетания источника DART с масс-анализатором посредством вакуумного интерфейса «Vapig» область ионизации, по нашему мнению, является не только пространство между выходом из источника и входом в вакуумный интерфейс, в роли которого выступает входное отверстие керамической трубки, но и весь объем керамической трубки интерфейса, который не обогревается [12]. Мы считаем, что во всем объеме керамической трубки и пространстве вакуумного интерфейса до входного отверстия масс-анализатора возможно протекание ион-молекулярных и ион-ионных реакций в газовой фазе, а также взаимодействие ионов со стенками трубки. Согласно проведенной нами оценке, для полного заполнения трубки с внутренним диаметром 4.75 мм и минимально воспроизводимой длиной 79 мм при скорости потока газа-носителя (гелий) 3 л/мин требуется около 100 миллисекунд.

Зависимость состава масс-спектров от параметров керамической трубки, используемой в вакуумном интерфейсе, изучена нами путем рассмотрения масс-спектров DART аналитов различных классов с использованием керамических трубок различной длины с внутренними диаметрами 4.75 мм и 3.18 мм производства компании «IonSense» [12]. Для трубок с внутренним диаметром 3.18 мм наблюдалось снижение относительных интенсивностей характеристичных ионов аналитов по сравнению с трубками диаметра 4.75 мм в 5 раз и более. Кроме того, использование трубок с малым внутренним диаметром неэффективно для сканирования поверхностей ввиду потерь ионов, связанных с затруднением их попадания в узкую трубку после отражения от поверхности. Поэтому целесообразно использовать керамические трубки с внутренним диаметром 4.75 мм.

Для сочетания DART с квадрупольным масс-спектрометром «Agilent» минимальной является длина керамической трубки 79 мм. Как указано выше, увеличение длины керамических трубок представ-

ляло интерес для развития способов сканирования поверхностей методом масс-спектрометрии DART. Путем сопоставления состава масс-спектров аналитов, зарегистрированных для керамических трубок длиной 79, 83 и 176 мм, установили, что с увеличением длины керамической трубки чувствительность системы снижается. Например, в идентичных условиях детектирования одного и того же аналита (ОМФ) при использовании керамической трубки длиной 176 мм для обеспечения регистрации сигналов с соотношением сигнал/шум, равном 20, требовалось наносить на модельную поверхность (ТСХ-пластина) в 10 раз большее количество аналита (1 мкг), чем при проведении аналогичного анализа при использовании трубки длиной 83 мм (100 нг) [12].

Таким образом, повышению относительных интенсивностей сигналов аналитов способствует уменьшение длины и увеличение внутреннего диаметра керамической трубки. При развитии способов сканирования поверхностей методом масс-спектрометрии DART во избежание снижения интенсивности сигнала и обеспечения максимальной чувствительности следует выбирать минимальную длину керамической трубки и осуществлять сканирование путем перемещения исследуемой поверхности в области ионизации с зафиксированными пространственными координатами. Как было установлено в результате проведенной оценки влияния длины керамической трубки на эффективность пропускания ионов, при необходимости сканирования ТСХ-пластин или других плоских объектов в двух плоскостях для обеспечения максимальной чувствительности анализа имеет смысл размещение области аналитического отбора на минимальном расстоянии от входа в масс-анализатор, используя керамическую трубку минимальной возможной длины. В случае ТСХ-пластин для этого целесообразно последовательное разрезание пластины вблизи анализируемой зоны, поскольку для анализа целой пластины (рис. 2, Г) необходимо использовать более длинную керамическую трубку, что приводит к резкому (на порядок и более) снижению аналитического сигнала в связи с потерями ионов при прохождении трубки.

Влияние напряжений на входном капилляре масс-спектрометра

При сочетании DART с масс-спектрометром «АссуТОФ» важным параметром, влияющим на состав масс-спектров, является фрагментирующее напряжение на входном скиммере масс-анализатора. В других масс-спектрометрах часто используется металлический колпачок на входе в стеклянный капилляр, обеспечивающий функцию системы ввода масс-анализатора, напряжение которого можно изменять и тем самым управлять составом масс-спектров за счет влияния на кластерные ионы, а также путем фрагментации. Закономерности влия-

ния напряжения на колпачке входного капилляра на состав регистрируемых масс-спектров DART исследовали при использовании различных аналитов и их способов подачи в масс-анализатор.

Так, при изучении влияния этого фактора на состав масс-спектров ОМФ использовали рабочее значение температуры в источнике DART, равное 250 °С, которое часто используют для термически устойчивых в исследуемом диапазоне соединений, поскольку при более низких температурах в диапазоне напряжений от 30 до 250 В трудно избавиться от влияния фонового сигнала на масс-спектры DART. Для характеристичных сигналов ионов ОМФ состава $[M - 17]^+$, $[M + H]^+$ и $[3M + H]^+$ проводили нормализацию их относительных интенсивностей по отношению к относительным интенсивностям ионов $[2M + 18]^+$, которые в большинстве случаев представляли наиболее интенсивные сигналы в масс-спектрах (рис. 7). Чем выше было фрагментирующее напряжение на колпачке стеклянного капилляра, тем меньше была доля кластерных и выше доля фрагментных ионов, а также ионов состава $[M - 17]^+$ и $[M + H]^+$.

Схожие закономерности наблюдались в масс-спектрах DART термолabile соединений (сахаров). При высоких напряжениях происходила фрагментация сахаров, что приводило к увеличению доли сигналов ОМФ.

На основании обобщения накопленных данных анализа разных аналитов в различных матрицах и при различных условиях ввода, в качестве оптимального среднего значения для систем ввода в масс-анализатор, включающих стеклянных капилляр, было выбрано значение фрагментирующего напряжения, равное 70 В, которое обеспечивало умеренное содержание кластерных или, наоборот, фрагментных ионов в масс-спектрах большинства аналитов. Это значение можно использовать в качестве исходного при оптимизации значения напряжения в зависимости от аналита и задачи исследования. Для снижения доли



Рис. 7. Зависимость соотношений интенсивностей сигналов различных ионов в масс-спектрах DART водных растворов ОМФ от напряжения на входном капилляре квадрупольного масс-спектрометра (содержание 1 мг/мл, $T_{DART} = 250$ °С; $n = 3$), воспроизведено с разрешения из [12] © 2012 Elsevier

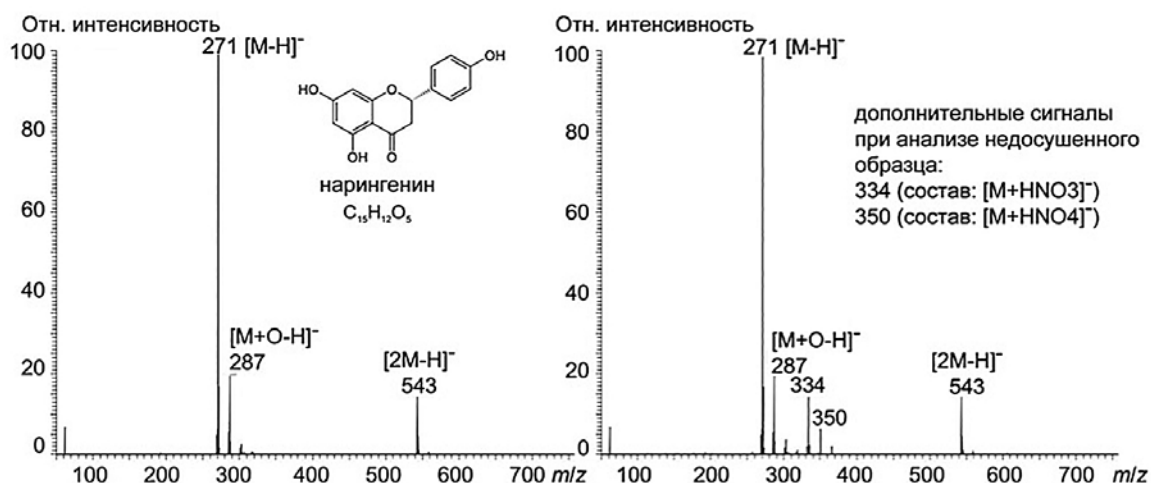


Рис. 8. Масс-спектр DART 500 нг нарингенина после высушивания капли раствора на сетке (слева) и до высушивания (справа). Растворитель: метанол. Модель источника ионов – «ID-CUBE», значение напряжения – «среднее». При анализе невысушенного образца в масс-спектре (справа) наблюдаются дополнительные сигналы

кластерных ионов в масс-спектрах DART целесообразно увеличивать напряжение, что увеличивает долю процессов фрагментации молекул аналита, которые невозможно полностью отделить от процессов разрушения кластерных ионов на современном этапе развития метода.

Особенности выбора условий анализа при использовании источника ионов DART «ID-CUBE»

Как отмечалось выше, особенность источников ионов DART «ID-CUBE» состоит в том, что термодесорбция происходит за счет приложения напряжения к металлической сетке. Вместо адаптации под пробу и аналиты параметра «температура газа-носителя» для таких источников возможны три установки переключателя, соответствующие «низкому», «среднему» и «высокому» значению прила-

гаемого напряжения, которые выбираются индивидуально в зависимости от задачи исследования. Особенностью этих источников является предопределенность агрегатного состояния анализируемых проб и используемого носителя: можно анализировать только жидкости, нанесенные на специальные картриджи с металлической решеткой (рис. 2, В). Нами впервые установлено, что при использовании источников ионов DART «ID-CUBE», как и для других источников DART, необходимо после нанесения жидкости на носитель обеспечивать удаление растворителя из пробы путем высушивания, поскольку при анализе невысушенных проб состав масс-спектров DART усложняется (рис. 8), предположительно, за счет участия в ион-молекулярных реакциях молекул растворителя [13].

На основании анализа данных проведенных исследований установили, что наиболее высокую чувствительность детектирования аналитов обеспечивает именно режим пропускания газа-носителя через решетку с предварительно нанесенным аналитом. Это объяснили тем, что при сканировании плоских поверхностей с использованием наклона источника ионизации DART, происходит неполное улавливание ионов в систему масс-анализатора в связи с их отражением от поверхности и рассеиванием в пространстве (рис. 9) [17]. В качестве иллюстрации данного эффекта на рис. 10 приведены масс-хронограммы арбутина, зарегистрированные при сканировании поверхности плоского носителя при размещении источника DART под углом к его поверхности (рис. 10, А – сканирование 4 зон, содержащих по 60000 нг арбутина, нанесенных на пластину ТСХ; рис. 10, Б – сканирование 4 зон, содержащих по 600 нг арбутина, нанесенных на поверхность стекла) и при сканировании 4 зон по 600 нг арбутина при горизонтальной подаче газа по отношению к носителю (рис. 10, В). При осуществлении анализа под углом к поверхности, в связи с отражением ионов аналитов от поверхности и рассеива-

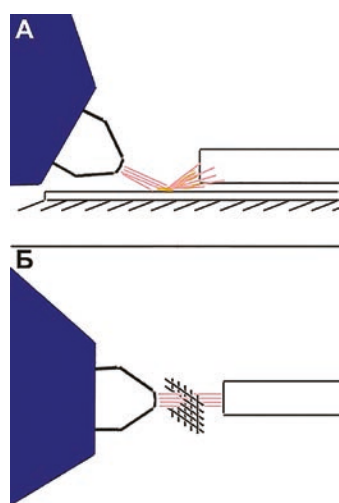


Рис. 9. Объяснение оптимальности DART-анализа через сетку: при анализе под углом к поверхности происходит рассеивание ионов при их отражении от поверхности (А) [17], тогда как при анализе через сетку весь поток ионов попадает в систему ввода масс-анализатора (Б)

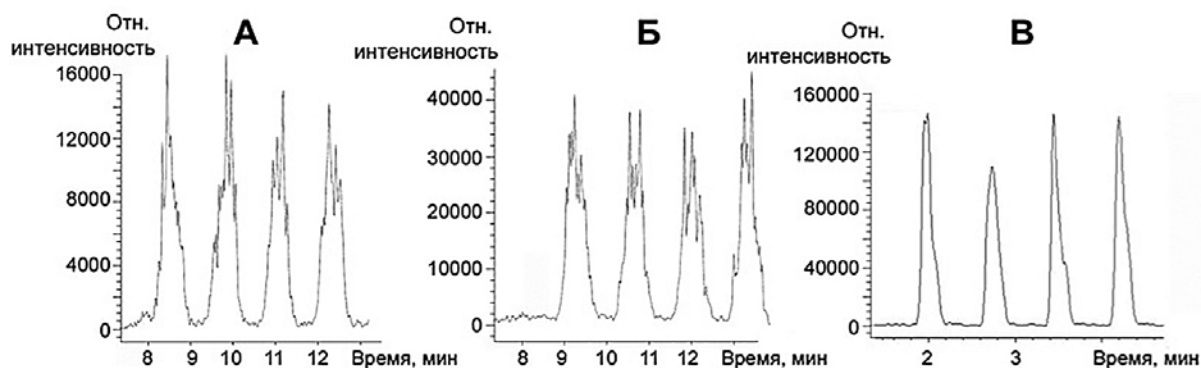


Рис.10. Масс-хронограммы DART арбутина: сканирование «под углом» 4 зон, содержащих по 60000 нг арбутина, нанесенных на пластину ТСХ (А); сканирование «под углом» 4 зон, содержащих по 600 нг арбутина, нанесенных на поверхность стекла (Б); сканирование 4 зон по 600 нг арбутина при горизонтальной подаче газа по отношению к носителю (В) [17]

нием в пространстве, интенсивность регистрируемого аналитического сигнала значительно ниже, чем при горизонтальной подаче газа по отношению к образцу. Пространственные условия сканирования пластин ТСХ и стеклянных пластин были полностью идентичны. Еще более низкие сигналы в случае проведения сканирующего анализа с поверхности пластины ТСХ (рис. 10, А) объясняются тем, что, по-видимому, при DART-сканировании пластин ТСХ термодесорбция аналитов происходит лишь из малой части слоя силикагеля, а значительная доля аналита остается в толще сорбента, поэтому при анализе следовых количеств, по-видимому, следует отдавать предпочтение способу сочетания ТСХ с масс-спектрометрией DART *offline* с проведением предварительной экстракции аналитов из сорбента и последующем нанесении экстрактов на сетку [17].

Обобщенные закономерности образования масс-спектров и критерии выбора условий анализа с использованием ионизации DART

В результате проведенного исследования установлены следующие обобщенные закономерности образования масс-спектров при сочетании ионизации DART с различными масс-анализаторами, которые следует принимать во внимание в качестве критериев выбора условий анализа в зависимости от поставленной задачи и типа обнаруживаемых аналитов.

Масс-спектры DART положительных ионов для большинства классов соединений, в зависимости от состава аналитов и условий эксперимента, содержат такие ионы, как $[M + H]^+$, $[nM + H]^+$, $[M + NH_4]^+$, $[nM + NH_4]^+$, $[M + H - H_2O]^+$, $[M + H - nH_2O]^+$, аддукты с молекулами растворителя.

Рост концентрации аналитов в образце увеличивает долю кластерных ионов в масс-спектрах DART положительных (например, $[2M + H]^+$, $[3M + H]^+$ и др.) и отрицательных (типа $[nM - H]^-$) ионов.

Алифатические и ароматические углеводороды образуют сложные серии ионов, в которых присутствуют M^+ , $[M + H]^+$, $[M - H]^+$, $[M + nO - mH]^+$, алкильные фрагменты и др., а масс-спектры DART многих спиртов характеризуются особо сложным составом (множество ионов-аддуктов и фрагментных ионов).

В режиме регистрации отрицательных ионов соединения с кислотными свойствами (фенольные соединения, карбоновые кислоты, аминокислоты) часто образуют интенсивные ионы $[M - H]^-$, а галогенированные – $[M - Hal]^-$, а также ионы состава $[xM + nO - H]^-$. В большинстве возможных условий анализа для таких соединений воспроизводимость масс-спектров DART отрицательных ионов выше воспроизводимости масс-спектров положительных ионов, возможно, ввиду снижения влияния матрицы за счет избирательной ионизации.

В качестве обобщенных оптимальных стартовых условий эксперимента любого исследования методом масс-спектрометрии DART с различными масс-анализаторами выбраны следующие параметры источника ионизации и вакуумного интерфейса:

- газ-носитель – чистый гелий со скоростью потока около 3 л/мин, если иное не требуется по условиям эксперимента;
- температура в источнике ионов – в диапазоне от 100 до 300°C исходя из термостабильности аналитов и матрицы;
- длина керамической трубки – минимально возможная для используемой конфигурации масс-спектрометра, а ее диаметр – максимальный из доступных;
- скорость откачивания вакуумного интерфейса масс-спектрометра – 12 л/мин;
- значение фрагментирующего напряжения, равное 70 В (для системы ввода как у масс-спектрометров Agilent, включающей стеклянный капилляр);
- для соединений-кислот – режим регистрации отрицательных ионов.

Поскольку ионизация DART при анализе модельных монокомпонентных растворов происходит с образованием масс-спектров сложного состава,

в общем случае для интерпретации масс-спектров неизвестных смесей желательны предварительные знания о закономерностях ионизации DART предполагаемых компонентов, которые не всегда доступны. Поэтому масс-спектрометрию с ионизацией DART целесообразно использовать для выявления заданных соединений, а для идентификации неизвестных компонентов её применение возможно только при совместном использовании с другими аналитическими методами [32–35].

Заключение

Результаты проведенных исследований показали, что составом масс-спектров DART можно частично управлять путем варьирования условий эксперимента. Изучено влияние различных факторов на состав масс-спектров DART для разных масс-анализаторов при использовании вакуумного интерфейса модели «Varip» (IonSense), разработанного для сочетания источников DART с масс-спектрометрами, иными чем «AccuTOF». Исследование масс-спектров DART органических соединений различных классов при сочетании источника ионов DART с масс-анализатором посредством вакуумного интерфейса выявило их зависимость от следующих параметров объектов анализа и эксперимента: состав матрицы образца, состав окружающей атмосферы, температура, состав и скорость потока газа-носителя, размеры керамической трубки, давление в вакуумном интерфейсе, напряжение на входе в масс-анализатор. Эти зависимости могут быть использованы в качестве критериев выбора параметров эксперимента DART для анализа разных образцов. Обобщение накопленных данных позволило установить способы влияния на долю кластерных или фрагментных ионов в масс-спектрах различных аналитов и выбрать условия эксперимента, которые можно использовать в качестве исходных для оптимизации в зависимости от аналита и задачи исследования.

Из проведенных нами исследований следует, что масс-спектрометрия DART – метод, наиболее подходящий для быстрого скрининга заданных аналитов в различных объектах, в том числе смесях сложного состава (при использовании масс-анализатора высокого разрешения). Более детальный анализ состава сложных смесей и проверки результатов первичной идентификации компонентов, проведенной этим методом, рекомендует проводить при сочетании масс-спектрометрии DART с другими аналитическими методами, обеспечивающими увеличение селективности и дополнительную информацию для идентификации компонентов образцов – например, с тонкослойной хроматографией.

Авторы работы выражают признательность профессору Гертруд Морлок (Институт пищевой химии, Университет Хоэнхайм; Штутгарт, Герма-

ния) за предоставление экспериментальной базы и благоприятные условия для проведения части исследований. Работа выполнена при финансовой поддержке аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2011)» и программ международного российско-германского обмена DAAD “Михаил Ломоносов” и Erasmus Mundus Action 2 “IAMONET-RU”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алберичи Р.М., Симас Р.С., Эберлин М.Н. Масс-спектрометрия в нормальных условиях (ambient mass spectrometry) – анализ объектов окружающей среды без пробоподготовки // Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды: под ред. А.Т. Лебедева. Москва, Техносфера. 2013. С. 198-222.
2. Chernetsova E.S., Morlock G.E. Ambient desorption ionization mass spectrometry (DART, DESI) and its bioanalytical applications // *Bioanal. Rev.* 2011. V. 3, № 1. P. 1-9.
3. Чернецова Е.С., Морлок Г.Е., Ревельский И.А. Масс-спектрометрия DART и ее применение в химическом анализе // *Успехи химии.* 2011. Т. 80, № 3. С. 249-271.
4. Cody R.B., Laramée J.A., Durst H.D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions // *Anal. Chem.* 2005, V. 77, N. 8. P. 2297-2302.
5. Gross J. Polydimethylsiloxane-based wide-range mass calibration for direct analysis in real-time mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2013. V. 405, № 26. P. 8663-8668.
6. Direct analysis in real time mass spectrometry (DART-MS) of ionic liquids / M.G. Mazzotta [et al.] // *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* 2013. V. 24. P. 1616-1619.
7. Gross J. High-mass cluster ions of ionic liquids in positive-ion and negative-ion DART-MS and their application for wide range mass calibrations // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. V. 406, № 12. P. 2853-2862.
8. The AccuTOFseries. [Электронный ресурс]: http://www.delrus.tomsk.ru/media/uploads/catalog/спектрометры_jeol/времяпролетные_масс-спектрометры_accutof_series.pdf (дата обращения 17.02.2014).
9. Bioanalysis without sample cleanup or chromatography: the evaluation and initial implementation of direct analysis in real time ionization mass spectrometry for the quantitation of drugs in biological matrixes / S. Yu [et al.] // *Anal. Chem.* 2009. V. 81. P. 193-202.
10. Уточнение состава ионов [M+18]⁺ в масс-спектрах DART полиэтиленгликоля при использовании масс-спектрометрии высокого разрешения / Е.С. Чернецова [и др.] // *Масс-спектрометрия.* 2010. Т. 7. С. 299-302.
11. DART mass spectrometry: a fast screening of solid pharmaceuticals for the presence of an active ingredient, as an alternative for IR spectroscopy / E.S. Chernetsova [et al.] // *Drug Testing and Analysis.* 2010. V. 2. P. 292-294.
12. Chernetsova E.S., Morlock G. Assessing the capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry for 5-hydroxymethylfurfural quantitation in honey // *Intern. J. Mass Spectrom.* 2012. V. 314. № 4. P. 22-32.
13. ID-CUBE direct analysis in real time high resolution mass spectrometry and its capabilities in the identification of phenolic components from the green leaves of *Bergenia crassifolia* L. / E.S. Chernetsova [et al.] // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2012. V. 26. P. 1329-1337.
14. Возможности и ограничения масс-спектрометрии DART в химическом анализе / Е.С. Чернецова [и др.] // Тез. докл. IV Всерос. конф. «Масс-спектрометрия и ее

- прикладные проблемы», Москва, 2011. Москва: Всероссийское масс-спектрометрическое общество, 2011. С. 23.
15. Масс-спектрометрия DART: новый подход к установлению состава органических соединений / Е.С. Чернецова [и др.] // Вестн. КазНУ. Сер. хим. 2010. Т. 60. С. 286-291.
 16. Экспрессное обнаружение некоторых экотоксикантов методом DART / Р.С. Борисов [и др.] // Тез. докл. IV Всерос. конф.-школы «Фундаментальные вопросы масс-спектрометрии и ее аналитические применения», Звенигород, 2010. Москва: ИНЭПХФ РАН, 2010. С. 56.
 17. Chernetsova E.S., Morlock G.E. Surface analysis by direct analysis in real time mass spectrometry employing plasma glow visualization // Тез. докл. 13-й Европ. конф. по химии объектов окружающей среды (ЕМЕС13), Москва, 2012. Москва: Всероссийское масс-спектрометрическое общество, 2012. С. 27.
 18. DART-benchtop Orbitrap MS: a novel mass spectrometric approach for the identification of phenolic compounds in propolis / E.S. Chernetsova [et al.] // Anal. Bioanal. Chem. 2012. V. 403. P. 2859-2867.
 19. Capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry in the mint oil test / E.S. Chernetsova [et al.] // Mend. Commun. 2010. V. 20. P. 299-300.
 20. Масс-спектрометрия DART: определение следов органических соединений в органических растворах / И.А. Ревельский [и др.] // Масс-спектрометрия. 2011. Т. 8. С. 235-255.
 21. Chernetsova E.S., Revelsky A.I., Morlock G.E. Some new features of direct analysis in real time mass spectrometry with *desorption at an angle* option // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2011. V. 25. № 16. P. 2275-2282.
 22. Detection of chemical warfare agents on surfaces relevant to homeland security by direct analysis in real-time spectrometry / J.A. Laramée. [et al.] // Amer. Labor. 2008. V. 40. P. 16-20.
 23. Steiner R.R. A rapid technique for the confirmation of iodine and red phosphorus using direct analysis in real time and accurate mass spectrometry // Microgr. J. 2010. V. 7, № 1. P. 3-6.
 24. Grange A.H., Sovocool G.W. Automated determination of precursor ion, product ion, and neutral loss compositions and deconvolution of composite mass spectra using ion correlation based on exact masses and relative isotopic abundances // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2008. V. 22, № 15. P. 2375-2390.
 25. Characterization of solid counterfeit drug samples by desorption electrospray ionization and direct-analysis-in-real-time coupled to time-of-flight mass spectrometry / F.M. Fernandez [et al.] // ChemMedChem. 2006. V. 1. P. 702-705.
 26. Alcohols can now be analysed by direct analysis in real-time method: application for chemical warfare agent synthesis / J.A. Laramée [et al.] // Amer. Labor. 2009. V. 41. P. 24-27.
 27. Detection of peroxide and tetrazine explosives on surfaces by direct analysis in real time mass spectrometry / J.A. Laramée [et al.] // Amer. Labor. Online Ed. 2009. V. 2. P. 1-5.
 28. Cody R.B. Observation of molecular ions and analysis of nonpolar compounds with the direct analysis in real time ion source // Anal. Chem. 2009. V. 81, № 3. P. 1101-1107.
 29. Cody R.B., Dane A.J. Direct analysis in real-time ion source // Encycl. Anal. Chem. Wiley Online Library, 2010. [Электронный ресурс]: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a9012/abstract> (дата обращения: 09.06.2014).
 30. Analysis of isoflavones in soybeans employing direct analysis in real-time ionization-high resolution mass spectrometry / J. Lojza [et al.] // J. Sep. Sci. 2012. V. 35. P. 476-481.
 31. Farré M., Picó Y., Barceló D. Direct peel monitoring of xenobiotics in fruit by direct analysis in real time coupled to a linear quadrupole ion trap-orbitrap mass spectrometer // Anal. Chem. 2013. V. 85, № 5. P. 2638-2644.
 32. Чернецова Е.С., Ревельский И.А., Калабин Г.А. Методология масс-спектрометрии DART для быстрого анализа лекарственных средств. Тез. докл. V Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы», Москва, 2013. Москва: Всероссийское масс-спектрометрическое общество, 2013. С. 22.
 33. Чернецова Е.С., Калабин Г.А., Ревельский И.А. Методология скрининга лекарственных средств методом масс-спектрометрии DART в сочетании с ТСХ и элементным анализом. Тез. докл. II Съезда Аналитиков России, Москва, 2013. 1 электрон. диск (USB). С. 26.
 34. Combination of qNMR and DART-MS for the fast analysis of suppositories without a preliminary extraction of hydrophilic substances / S. Goryainov [et al.] // Тез. докл. междунар. конф. «SMASH-2013», Сантьяго-де-Компостелла, Испания, 2013. 1 электрон. диск (USB). С. 124.
 35. Combination of MALDI-MS, DART-MS and 1H-NMR spectroscopy in the study of edible oils composition / S. Goryainov [et al.] // Тез. докл. VI междунар. симпоз. по достижениям в анализе продуктов питания «RAFA-2013», Прага, Чехия, 2013. 1 электрон. диск (USB). С. 317.

GENERAL CRITERIA FOR SELECTING THE CONDITIONS OF THE ANALYSIS BY DART MASS SPECTROMETRY

G.A. Kalabin, E.S. Chernetsova

*Peoples' Friendship University of Russia,
Research and innovation department;
ul. Miklucho-Maklaia, 6, 117198 Moscow, Russian Federation*

The results of studies of DART mass spectra for different organic compounds using different mass analyzers and configurations of the vacuum interface, located between the DART source and the entrance to the mass analyzer, are summarized. The dependence of the DART mass spectra on various experimental factors was studied using different mass analyzers and experimental conditions for organic compounds, belonging to different classes. The influence of composition and flow rate of the carrier gas, including the presence or absence of neon in helium, pressure in vacuum interface, temperature and composition of the atmosphere in the ionization region and in the surrounding area,

parameters of the ceramic tube of the vacuum interface, and input voltage on the mass analyzer entrance is studied. For the first time, the general recommendations and criteria are outlined for selecting the conditions of registration of DART mass spectra depending on analytes, experimental parameters, and instrumental environment.

Keywords: mass spectrometry, direct analysis in real time, DART, optimization, criteria, experimental conditions

REFERENCES

- Alberici R.M., Simas R.S., Eberlin M.N. *Ambient mass spectrometry: environmental analysis without sample preparation*. *Comprehensive environmental mass spectrometry*: Ed. A.T. Levedev. ILM Publications, Dorsey, UK, 2012. Pp. 147-166.
- Chernetsova E.S., Morlock G.E. Ambient desorption ionization mass spectrometry (DART, DESI) and its bioanalytical applications. *Bioanalytical Reviews*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 1-9. doi: 10.1007/s12566-010-0019-5.
- Chernetsova E.S., Morlock G.E., Revelsky I.A. DART mass spectrometry and its applications in chemical analysis. *Russian Chemical Reviews*, 2011, vol. 80, no. 3, pp. 235-255. doi: 10.1070/RC2011v080n03ABEH004194.
- Cody R.B., Laramée J.A., Durst H.D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Analytical Chemistry*, 2005, vol. 77, no. 8, pp. 2297-2302. doi: 10.1021/ac050162j.
- Gross J. Polydimethylsiloxane-based wide-range mass calibration for direct analysis in real-time mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, vol. 405, no. 26, pp. 8663-8668. doi: 10.1007/s00216-013-7287-1.
- Mazzotta M.G., Pace R.B., Wallgren B.N., Morton S.A., Miller K.M., Smith D.L. Direct analysis in real time mass spectrometry (DART-MS) of ionic liquids. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2013, vol. 24, no. 10, pp. 1616-1619. doi: 10.1007/s13361-013-0696-8.
- Gross J. High-Mass Cluster ions of ionic liquids in positive-ion and negative-ion DART-MS and their application for wide range mass calibrations. *Analytical Chemistry*, 2014, vol. 406, no. 12, pp. 2853-2862. doi: 10.1007/s00216-014-7720-0.
- The AccuTOFseries. Available at: http://www.delrus.tomsk.ru/media/uploads/catalog/спектрометры_jeol/времяпролетные_масс-спектрометры_accutof_series.pdf (accessed 17 February 2014).
- Yu S., Crawford E., Tice J., Musselman B., Wu J.T. Bioanalysis without sample cleanup or chromatography: the evaluation and initial implementation of direct analysis in real time ionization mass spectrometry for the quantitation of drugs in biological matrixes. *Analytical Chemistry*, 2009, vol. 81, no. 1, pp. 193-202. doi: 10.1021/ac801734t.
- Chernetsova E.S., Ovcharov M.V., Zatonskii G.V., Abramovich R.A., Revelskii I.A. Clarification of the composition of [M+18]⁺ ions in DART mass spectra of polyethylene glycol using high-resolution mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 2011, vol. 66, no. 13, pp. 1348-1351. doi: 10.1134/S1061934811130016.
- Chernetsova E.S., Bochkov P.O., Ovcharov M.V., Zhokhov S.S., Abramovich R.A. DART mass spectrometry: a fast screening of solid pharmaceuticals for the presence of an active ingredient, as an alternative for IR spectroscopy. *Drug Testing and Analysis*, 2010, vol. 2, no. 6, pp. 292-294. doi: 10.1002/dta.136.
- Chernetsova E.S., Morlock G. Assessing the capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry for 5-hydroxymethylfurfural quantitation in honey. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2012, vol. 314, no. 4, pp. 22-32. doi: 10.1016/j.ijms.2012.01.012.
- Chernetsova E.S., Crawford E.A., Shikov A.N., Podzharitskaya O.N., Makarov V.G., Morlock G.E. ID-CUBE direct analysis in real time high resolution mass spectrometry and its capabilities in the identification of phenolic components from the green leaves of *Bergenia crassifolia* L. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, vol. 26, no. 11, pp. 1329-1337. doi: 10.1002/rcm.6226.
- Chernetsova E.S., Revelsky I.A., Revelsky A.I., Morlock G.E. [Possibilities and limitations of DART mass spectrometry in chemical analysis]. *Tezisy dokladov IV Vserossiiskoi Konferentsii "Mass-spektrometriia i Ee Prikladnye Problemy"* [Abstracts IV All-Russian Conference on mass spectrometry and its applied problems]. Moscow, Russia, 2011, p. 23 (in Russian).
- Chernetsova E.S., Ovcharov M.V., Bochkov P.O., Khomyakov Yu.Yu., Varlamov A.V., Abramovich R.A. [DART mass spectrometry: a new approach for elucidation of the composition of organic substances]. *Vestnik KazNU. Seriya khimicheskaya* [News of Kazakh National University, Chemical series], 2010, vol. 60, no. 4, pp. 286-291 (in Russian).
- Borisov R.S., Ovcharov M.V., Goryainov S.V., Chernetsova E.S., Abramovich R.A. [Express-identification of some ecotoxicants using DART]. *Tezisy Dokladov IV Vserossiiskoi Konferentsii-Shkoly "Fundamental'nye Voprosy Mass-spektrometrii i Ee Prikladnye problemy"* [Abstracts IV All-Russian conference-school "Fundamental issues of mass spectrometry and its applied problems"]. Zvenigorod, Russia, 2010, p. 56 (in Russian).
- Chernetsova E.S., Morlock G.E. Surface analysis by direct analysis in real time mass spectrometry employing plasma glow visualization. *Abstracts 13th European conference on environmental chemistry (EMEC13)*. Moscow, Russia, 2012, p. 27.
- Chernetsova E.S., Bromirski M., Scheibner O., Morlock G.E. DART-Orbitrap MS: a novel mass spectrometric approach for the identification of phenolic compounds in propolis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, vol. 403, no. 10, pp. 2859-2867. doi: 10.1007/s00216-012-5800-6.
- Chernetsova E.S., Khomyakov Yu.Yu., Goryainov S.V., Ovcharov M.V., Bochkov P.O., Zatonsky G.V., Zhokhov S.S., Abramovich R.A. Capabilities of direct analysis in real time mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry in the mint oil test. *Mendeleev Communications*, 2010, vol. 20, no. 5, pp. 299-300. doi: 10.1016/j.mencom.2010.09.021.
- Revelsky I.A., Chernetsova E.S., Revelsky A.I., Morlock G.E. [DART mass spectrometry: trace analysis of organic solutions]. *Mass-spektrometriia* [Mass spectrometry], 2011, vol. 8, no. 3, pp. 235-255 (in Russian).
- Chernetsova E.S., Revelsky A.I., Morlock G.E. Some new features of direct analysis in real time mass spectrometry with desorption at an angle option. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2011, vol. 25, no. 16, pp. 2275-2282. doi: 10.1002/rcm.5112.
- Laramée J.A., Durst H.D., Cornell T.N., Nilles J.M. Detection of chemical warfare agents on surfaces relevant to homeland security by direct analysis in real-time spectrometry. *American Laboratory*, 2008, vol. 40, pp. 16-20.

23. Steiner R.R. A rapid technique for the confirmation of iodine and red phosphorus using direct analysis in real time and accurate mass spectrometry // *Microgram Journal*, 2010, vol. 7, no. 1, pp. 3-6.
24. Grange A.H., Sovocool G.W. Automated determination of precursor ion, product ion, and neutral loss compositions and deconvolution of composite mass spectra using ion correlation based on exact masses and relative isotopic abundances. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, vol. 22, no. 15, pp. 2375-2390. doi: 10.1002/rcm.3619.
25. Fernandez F.M., Cody R.B., Green M.D., Hampton C.Y., McGready R., Sengaloundeth S., White N.J., Newton P.N. Characterization of solid counterfeit drug samples by desorption electrospray ionization and direct-analysis-in-real-time coupled to time-of-flight mass spectrometry. *ChemMedChem*, 2006, vol. 1, pp. 702-705.
26. Laramée J.A., Durst H.D., Nilles J.M., Connell T.N. Alcohols can now be analysed by direct analysis in real-time method: application for chemical warfare agent synthesis. *American Laboratory*, 2009, vol. 41, pp. 24-27.
27. Nilles J.M., Connell T., Durst H.D., Laramée J.A. Detection of peroxide and tetrazine explosives on surfaces by direct analysis in real time mass spectrometry. *American Laboratory, Online Edition*, 2009, vol. 2, pp. 1-5.
28. Cody R.B. Observation of molecular ions and analysis of nonpolar compounds with the direct analysis in real time ion source. *Analytical Chemistry*, 2009, vol. 81, no. 3, pp. 1101-1107. doi: 10.1021/ac8022108.
29. Cody R.B., Dane A.J. Direct analysis in real-time ion source. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley Online Library, 2010. doi: 10.1002/9780470027318.a9012. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a9012/abstract> (accessed 12 April 2014).
30. Lojza J., Cajka T., Schulzova V., Riddellova K., Hajslova J. Analysis of isoflavones in soybeans employing direct analysis in real-time ionization-high resolution mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 2012, vol. 35, no. 3, pp. 476-481. doi: 10.1002/jssc.201100882.
31. Farré M., Picó Y., Barceló D. Direct peel monitoring of xenobiotics in fruit by direct analysis in real time coupled to a linear quadrupole ion trap-orbitrap mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 2013, vol. 85, no. 5, pp. 2638-2644. doi: 10.1021/ac3026702.
32. Chernetsova E.S., Revelsky I.A., Kalabin G.A. [Methodology of DART mass spectrometry for fast analysis of medicinal products]. *Tezisy докладov V Vserossiiskoi Konferentsii s Mezhdunarodnym Uchastiem "Mass-spektrometriia I Ee Prikladnye Problemy"* [Abstracts V All-Russian conference with international participation "Mass spectrometry and its applied problems"]. Moscow, 2013, p. 22 (in Russian).
33. Chernetsova E.S., Kalabin G.A., Revelsky I.A. [Methodology of screening the pharmaceuticals using DART mass spectrometry coupled with thin-layer chromatography and elemental analysis]. *Tezisy докладov Vtorogo S"ezda Analitikov Rossii* [Abstracts 2nd Meeting of the analytical chemists of Russia]. Moscow, 2013, p. 26 (in Russian).
34. Goryainov S., Ivlev V., Abramovich R., Chernetsova E., Kalabin G. Combination of qNMR and DART-MS for the fast analysis of suppositories without a preliminary extraction of hydrophilic substances. *Abstracts of the Small Molecule NMR Conference "SMASH 2013"*, Santiago-de-Compostela, Spain, 2013, p. 124.
35. Goryainov S., Goryainova A., Eller K., Chernetsova E., Borisov R., Kalabin G. Combination of MALDI-MS, DART-MS and ¹H-NMR spectroscopy in the study of edible oils composition. *Abstracts of VI International Symposium on the Recent Advances in Food Analysis "RAFA-2013"*, Prague, Czech Republic, 2013, p. 317.