

УДК 543.51 : 547.9

ВОЗМОЖНОСТИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА НЕЛЕТУЧИХ И ТЕРМИЧЕСКИ НЕСТАБИЛЬНЫХ БИООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Галль Л. Н., Туркина М. Я.

Рассмотрены возможности масс-спектрометрии термически нестабильных, высокополярных органических и биоорганических соединений, основанной на непосредственном (без предварительного испарения) получении ионов исследуемого соединения.

Библиография — 260 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	741
II. Вторичная эмиссионная ионизация	742
III. Плазменная десорбция осколками деления ^{252}Cf	753
IV. Лазерная десорбция	755
V. О механизмах ионообразования	757

I. ВВЕДЕНИЕ

Развитие современной элементоорганической и биоорганической химии привело к необходимости определения состава и строения высокополярных, нелетучих и термически нестабильных соединений, исследование которых невозможно проводить традиционными масс-спектрометрическими методами.

В 60-х гг. началось, а в 70-х получило широкое развитие методическое оформление «мягких» методов ионизации органических соединений — химической ионизации (Филд и Мансон, 1968 г. [1]), полевой ионизации и полевой десорбции (Беккай, 1969 г. [2]). Полученные с помощью этих методов масс-спектры содержат интенсивные пики молекулярных или квазимолекулярных ионов, однако только в методе полевой десорбции не требовалось перевода исследуемых молекул в газовую фазу путем термического воздействия. Поэтому метод полевой десорбции с успехом используется для анализа нелетучих соединений. Достижения этого метода обобщены в нескольких обзорах [2—5].

В последнее десятилетие появились сообщения о новых способах получения масс-спектров нелетучих и термически нестабильных соединений (ТНС), исключающих испарение веществ перед ионизацией. Эти методы ионизации можно разделить на две группы: способы генерации ионов из твердого состояния, без подогрева образца, и методы отбора ионов из раствора, содержащего исследуемое соединение при комнатной температуре.

Первую группу составляют методы вторичной ионной эмиссии (ВИЭ), вызванной бомбардировкой исследуемого образца пучком первичных ионов (вторичная ионно-ионная эмиссия) или пучком нейтральных атомов (атомно-ионная эмиссия), метод плазменной десорбции осколками деления ^{252}Cf , и ионизация лазерным излучением (ЛД).

Ко второй группе методов, начавших развиваться несколько позже, относятся: метод электрогидродинамической ионизации [6—8], полевое испарение ионов из растворов [9, 10], в том числе из растворов в нелетучих растворителях, нанесенных на поверхность эмиттеров полевой десорбции [11], «электроразбрызгивание» [12—16], «туманообразование» [17—19] и метод экстракции ионов из растворов при атмосферном давлении [20]. Все эти методы исключают термическое воздействие на ис-

следуемые вещества и позволяют получать масс-спектры ТНС высокополярных и нелетучих соединений без их предварительной химической модификации; при этом высокое содержание квазимолекулярных и, в большинстве случаев, интенсивных фрагментарных ионов обеспечивает возможность определения молекулярной массы и установления структуры исследуемых молекул.

Летучесть, а во многих случаях и стабильность соединения, уменьшаются с возрастанием его молекулярной массы, и возможности метода можно охарактеризовать верхним пределом масс ионов, полученных с его помощью. К середине 1982 г. наибольших успехов добились исследователи, применявшие методы атомно-ионной эмиссии в жидких матрицах (см. ниже) и плазменной десорбции осколками деления ^{252}Cf . Первым из них были получены квазимолекулярные ионы незащищенного пептида глюкагона (гормона поджелудочной железы), молекулярная масса одной из изотопных серий которого равна 3481,6 [21], и биологического продукта (инсулина быка) с молекулярной массой (ММ) 5729,6 [22]. Рекорд принадлежал методу плазменной десорбции осколками деления ^{252}Cf , с помощью которого получен масс-спектр олигонуклеотида с ММ 6278 [23]. Отсутствие необходимости в ферментативной и химической обработке позволило уменьшить величину пробы, требуемой для анализа новыми методами, и одновременно создало возможности идентификации соединений, входящих в состав неочищенных биологических препаратов. Так, сейчас для определения молекулярной массы пептида методом атомно-ионной эмиссии необходимо иметь 0,1 нмоля вещества, а для определения аминокислотной последовательности в нем 2—50 нмолей [24].

Цель данного обзора — оценить возможности тех из перечисленных выше методов, которые имеют в настоящее время широкое практическое применение для масс-спектрометрического анализа тремически нестабильных соединений. К ним относятся: вторичная эмиссионная ионизация, плазменная десорбция осколками деления ^{252}Cf и лазерная десорбция. В обзоре не рассматриваются работы, в которых для получения масс-спектров ТНС использованы традиционные методы ионизации — электронный удар или химическая ионизация, но с модернизированными видами нагрева или ввода образца в область ионообразования, что в некоторой степени уменьшает термическое разложение продукта [25—28]. Для анализа биомолекул это направление бесперспективно, так как с ростом молекулярного веса и полярности исследуемых молекул требуется все более интенсивный нагрев, и доля квазимолекулярных ионов в масс-спектре резко уменьшается или исчезает совсем [26].

II. ВТОРИЧНАЯ ЭМИССИОННАЯ ИОНИЗАЦИЯ

1. Вторичная ионно-ионная эмиссия

При ударе первичного ионного лучка о поверхность среди покидающих поверхность вторичных частиц всегда присутствуют положительные и отрицательные ионы из адсорбированных слоев и материала подложки. Выход этих ионов зависит от многих факторов [29—33]. Наиболее важными характеристиками, количественно определяющими процесс ионообразования, являются два параметра: коэффициент вторичной ионной эмиссии S^{\pm} (в работах [34, 35] параметр S^{\pm} назван абсолютным выходом вторичных ионов), т. е. число ионов A^{\pm} , покидающих поверхность при ударе одной первичной частицы, и эффективность ионизации, т. е. отношение числа выбитых ионов к числу покинувших поверхность нейтральных частиц.

Удары первичных ионов изменяют состояние поверхностного слоя. Расчет показывает, что при токе $1 \cdot 10^{-8}$ А/см² на поверхность попадает $6 \cdot 10^{-6}$ ионов/с · Å². Предполагая, что энергия одного иона передается зоне радиусом 10 Å, получаем, что такой элемент поверхности испытывает удар каждые 8 минут. Это время на несколько порядков больше, чем

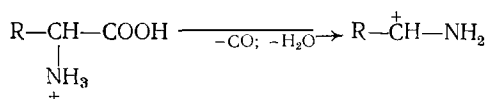
требуется для рассеивания энергии ядра. При больших плотностях тока первичного пучка быстро наступает истощение слоев, адсорбированных на подложке, что проявляется в изменении интенсивности и состава ионов во вторичном пучке.

Автор работы [34] ввел понятия «динамического» и «статического» режимов ионообразования в условиях вторичной ионно-ионной эмиссии (ВИИЭ). Бомбардировка поверхности первичным пучком с плотностью тока, не превышающей $1 \cdot 10^{-8}$ А/см², получила название статической модели; в этом случае разрушения поверхностного слоя незначительны. Метод, использующий статический режим для получения ионов нанесенного на подложку органического вещества, получил название «органической» [36] или молекулярной [37] ВИИЭ. Экспериментально показано, что при облучении тонкого слоя органического продукта, нанесенного на металлическую подложку, пучком ионов Ag^+ с плотностью тока $4 \cdot 10^{-9}$ А/см² можно получить устойчивую эмиссию квазимолекулярных ионов $(\text{M}=\text{H})^-$ в течение нескольких минут [38]. Режимы ионизации, осуществляемые при плотностях тока первичного пучка, превышающих 10^{-8} А/см², получили название динамических и используются большей частью для послойного анализа металлов и полупроводников. Первые вторично-эмиссионные масс-спектры органических веществ были получены в 1971 г. Танцыревым и Николаевым [39].

В 1976 г. Бенингховен и сотр. опубликовали вторично-эмиссионные масс-спектры четырех аминокислот (аланин, фенилаланин, цистин и аргинин) [38], а спустя год спектры еще 19 аминокислот и других биологически активных соединений (короткие пептиды, витамины, сульфамидные препараты и др.) [40—42]. Спектры пиримидиновых и пуриновых оснований, нуклеотидов и нуклеозидов [43], фолиевой кислоты [44] опубликованы этими авторами в последующие годы. Бомбардировка образца в виде тонкой пленки на подложке из серебра осуществлялась в статическом режиме первичным пучком ионов Ag^+ с энергией 2,25—3,00 кэВ при плотности тока $4 \cdot 10^{-9}$ А/см² и более. Спектры содержали достаточно интенсивные пики ионов $(\text{M}+\text{H})^+$, $(\text{M}-\text{H})^-$, наряду с характерными осколочными ионами. Устойчивая эмиссия сохранялась в течение нескольких минут, но быстро прекращалась, если режим переставал быть статическим. Впоследствии методом электронной спектроскопии для химического анализа (ЭСХА) были получены прямые доказательства того, что облучение более мощным первичным пучком ведет к разрушению поверхностного слоя органического продукта [45].

Кроме протонированных молекулярных и осколочных ионов исследуемого вещества, во вторично-эмиссионных масс-спектрах могут проявляться: 1) катионированные молекулярные ионы $(\text{M}+\text{Kt})^+$, где Kt^+ — катион щелочного металла или металла подложки; 2) собственно катионы Kt^+ (или анионы X^- в спектрах отрицательных ионов); 3) кластерные ионы типа $(\text{M}_n+\text{Kt})^+$; $(\text{M}_n+\text{H})^+$, $\text{Kt} \cdot (\text{Kt}_n\text{X})^+$ и 4) ионы типа C_mH_n^+ , создающие фоновый спектр в области легких масс, названный впоследствии «химическим шумом» [46]. В спектрах некоторых соединений присутствуют также кластеры $(\text{M}-\text{H}+2\text{Kt})^+$ и молекулярные ион-радикалы $\text{M}^{\cdot+}$ и $\text{M}^{\cdot-}$. Кластеры проявляются в спектрах соединений, имеющих «кислый» атом водорода [43, 47], источник ион-радикалов не установлен. Можно предполагать, что они возникают на границе раздела фаз при взаимодействии нейтральных молекул исследуемого соединения с вторичными электронами, выбитыми из поверхности. Ион-радикалы и продукты их фрагментации наблюдались в спектрах атропина и никотинамида [41, 42].

Фрагментация ионов $(\text{M}+\text{H})^+$ хорошо изучена и происходит по правилам распада четноэлектронных ионов [48, 49]. Для аминокислот, например, характерным осколком является $(\text{M}-45)^+$ [38, 40—42, 50], образующийся по реакции



Спектры пуриновых и пиримидиновых оснований, наряду с интенсивными пиками ионов $(M+H)^+$, $(M-H)^+$ или $(M+Kt)^+$ содержат пики осколков $(M+H-NH_3)^+$ и $(M+H-43)^+$. У простейших нуклеотидов и нуклеозидов наиболее интенсивны пики ионов оснований (В), образующиеся в результате распада ионов $(M+H)^+$ [43] (рис. 1).

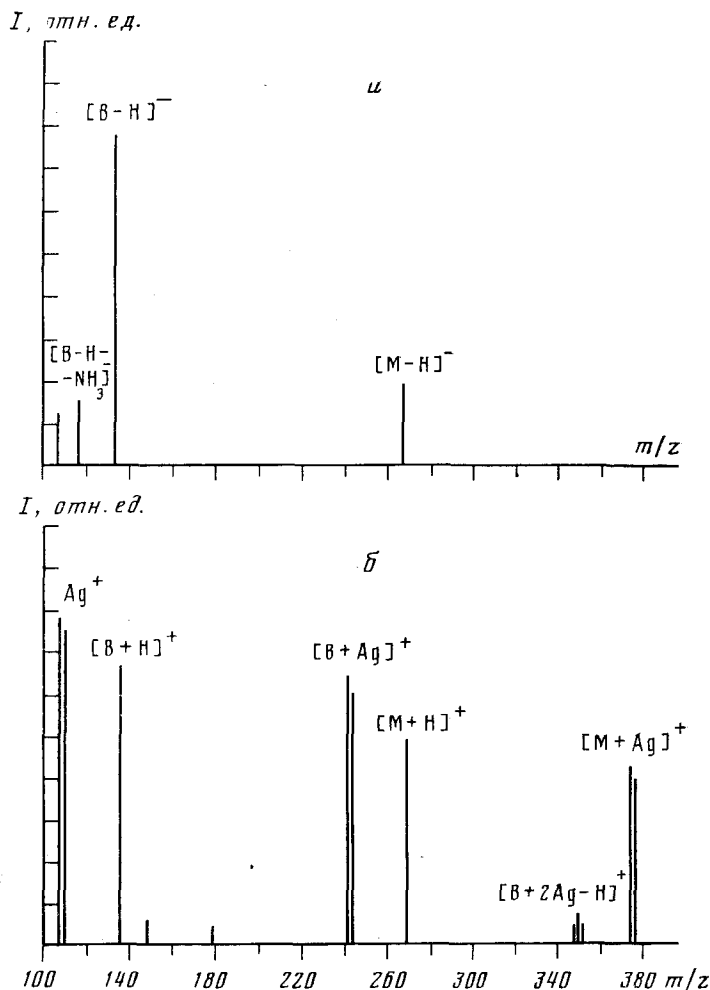
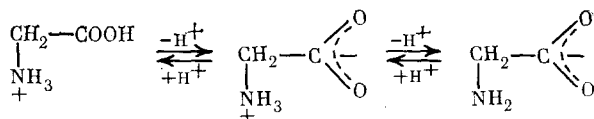


Рис. 1. Вторично-эмиссионные спектры отрицательных (а) и положительных (б) ионов аденозина [43]

По данным [40—42], средний выход протонированных ионов из пленки органического соединения составляет 0,1; однако даже для родственных соединений значения S^\pm сильно различаются. В спектрах аминокислот выходы ионов $(M+H)^+$ у глицина и лейцина отличаются в 150 раз, а соотношение интенсивностей пиков осколочных ионов $(M-COOH)^+$ и $(M+H)^+$ изменяется от 10 в спектре аланина до 0,1 в спектре лейцина [42]. Подробное исследование зависимости выхода ионов $(M+H)^+$ и $(M-H)^-$ в спектре глицина от экспериментальных условий показало, что отношение $(M+H)^+/(M-H)^-$ можно менять в 100 раз, если изменять pH исходного водного раствора [42]; выход ионов $(M+H)^+$ возрастает при повышении кислотности раствора, в то время как добавление щелочи способствует увеличению выхода $(M-H)^-$. Это первое упоминание о том, что выход ионов в условиях ВИИЭ можно изменять, и для ионных соединений он всегда выше, чем для нейтральных молекул. Авторы работы [42], используя цвиттер-ионный характер

аминокислот, переводили глицин добавлением кислоты или щелочи в одну из ионных форм:



Такой прием перевода анализируемого соединения в ионную форму в дальнейшем широко использовался в разных вариантах в работах других исследователей.

Возможность изменения величины S^\pm делает необходимым при определении чувствительности метода ВИИЭ указывать условия получения вторичных ионов. Беннингховен [51, 52] оценил пределы обнаружения для веществ разных классов, полагая, что не менее 10% от числа молекул исследуемого вещества, находящихся на мишени, покидает поверхность в виде квазимолекулярных ионов. В таком случае, если на подложку нанесено 10^{-10} моля продукта, т. е. $6 \cdot 10^{13}$ молекул, то к детектору придет $6 \cdot 10^5$ — $3 \cdot 10^{12}$ ионов, в зависимости от типа используемых масс-спектрометрических анализаторов (светосила изменяется от 10^{-7} для статических магнитных приборов с двойной фокусировкой до 0,5 для время-пролетных приборов). В режиме счета ионов можно уверенно зарегистрировать сигнал от 1000 ионов; следовательно, предел обнаружения органических веществ с помощью ВИИЭ лежит в интервале 10^{-12} — 10^{-19} моля. Однако в реальных условиях такая высокая чувствительность не может быть достигнута из-за существования «химического шума» и пиков, обусловленных примесями.

Беннингховен [53] продемонстрировал высокую чувствительность метода ВИИЭ при решении практической клинической задачи — идентификации лекарственных препаратов в моче. Снотворные (морфин, кодеин, меперидин, метадон) искусственно вводились в мочу в количестве 1 мг на 100 мл. Разбавленный (1 : 20) растров мочи объемом 1 мкл ($\sim 0,5$ нг каждого лекарства) наносился на подложку, которую помещали в фокус первичного ионного пучка. В масс-спектрах наблюдались ионы $(M+H)^+$ каждого из препаратов (см. рис. 2) и некоторые осколки. Введенный в организм в количестве 200 мг циклогексилсульфат натрия не был обнаружен в моче пациента через 12 ч, но спустя 18 ч было зафиксировано его наличие в количестве 6,2 мг/мл [53]. О возможности идентификации 10^{-10} г фенилаланина на коммерческом приборе с двойной фокусировкой (Varian 311 A) сообщается в [54]. Особенно перспективным представляется сочетание метода ВИИЭ с время-пролетным анализатором. Это направление получило развитие в работах [55—57].

Кукс и сотр. [58, 59] первыми начали развивать другое направление метода ВИИЭ, основанное на способности большинства органических молекул, особенно высокополярных, образовывать при бомбардировке первичным пучком комплексы с катионами щелочных металлов. Авторы

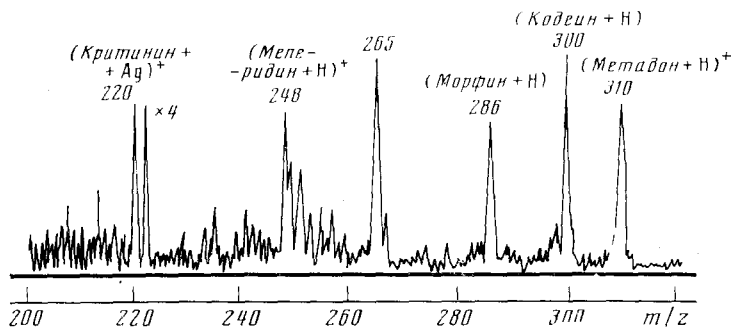


Рис. 2. Фрагмент вторично-эмиссионного спектра смеси снотворных веществ [53]

опубликовали свое сообщение через год после появления в печати первой работы Беннингховена и сотр. [42], где в масс-спектрах интенсивности пиков ионов $(M+Kt)^+$ были на порядок меньше, чем $(M+H)^+$, а их появление связывалось с неполным покрытием слоем образца поверхности металла подложки. Это предположение получило в дальнейшем экспериментальное подтверждение; исследование состава потока вторичных ионов с поверхности, покрытой аминокислотой (глицин, α - и β -аланин, серин) осуществлялось при одновременном наблюдении за поверхностными слоями с помощью рентгено- [60, 61] и оже-спектрометров [61]. Основываясь на том, что катионированные комплексы $(M+Kt)^+$ более устойчивы, чем протонированные ионы $(M+H)^+$ [56, 57, 62, 63] (протонированные ионы аденозин-5-монофосфата имеют время жизни ≤ 10 мкс, а $(M+Na)^+$, по крайней мере, на порядок больше [63]), Кукс и сотр. разработали несколько приемов, позволяющих увеличить содержание катионированных ионов в спектрах исследуемых веществ: нанесение образца на подложку в смеси с порошком металла, серы, углерода, кремния [64], солями щелочных металлов [58, 64—67] и бомбардировка ионами других элементов (кобальта, меди, серебра) [59, 61, 64]. Таким путем удалось получить комплексы с 22 элементами периодической системы [37].

Эти методы получения ионов ТНС на основе ВИИЭ быстро нашли применение в работах других исследователей. В [47, 68] подробно изучена зависимость выхода ионов $(M+H)^+$, $(M+\text{катион добавленной соли})^+$ и $(M+\text{катион металла подложки})^+$ для разных аминокислот M , нанесенных на подложку в смеси с $LiCl$. Японские авторы, добавляя хлористый Na или Li , получили вторично-эмиссионные масс-спектры моно-, ди-, три- и тетра-сахаридов [69—72], аденозина и 13 аминокликозидных антибиотиков [70, 72]. Добавление соли, как отмечают эти авторы, увеличивает интенсивность пиков квазимолекулярных ионов и уменьшает их фрагментацию. Однако избыток соли приводит к падению интенсивности пика $(M+Kt)^+$ и, кроме того, способствует повышению доли ионов $(M+2 Kt-H)^+$, что усложняет расшифровку масс-спектров. Аналогичные результаты были получены в [47, 68]. Кукс и сотр., обнаружившие ионы $(M+2 Kt-H)^+$ в спектре аминокислоты [58], предложили простой способ избежать осложнений — использовать в качестве добавки хлористый аммоний [66, 73, 74]. В этом случае в спектрах наряду с интенсивными ионами NH_4^+ проявились ионы $(M+H)^+$.

Устойчивость комплексов $(M+Kt)^+$ для разных катионов различна. Наибольшее стабилизирующее действие проявляют катионы щелочных металлов. При выборе условий для решения конкретной задачи нужно руководствоваться закономерностями; установленными в [59]: а) кластер $(M+Kt)^+$ тем устойчивее, чем полярнее молекула (например, отношение интенсивностей пиков $(M+Ag)^+/M^+$ в спектре стильбена в 500 раз, а в спектре *пара*-аминобензойной кислоты в 1000 раз выше, чем в спектре антрацена), б) степень фрагментации можно регулировать, создавая комплексы с катионами разного сорта, аналогично тому, как это удается делать в спектрах, полученных в условиях электронного удара, изменяя энергию ионизирующих электронов (например, при ионизации *пара*-аминобензойной кислоты на подложке из сплава $Ag+Pd$ (60:40) интенсивности пиков ионов $(M+Ag)^+$ и $[(M-COOH)+Ag]^+$ были одинаковы, а отношение $[Pd+(M-COOH)]^+/(Pd+M)^+$ было равно 7. Для молекул с высоким сродством к электрону была сделана попытка получить анионированные комплексы; однако среди отрицательных ионов в масс-спектрах *о*-, *м*-, *п*-аминогидрооксибензойных и меркаптанбензойных кислот, 1,5-ди-гидронафталина, пентахлорфенола, никотинамида, 1-гидроксиантрахинона не обнаружено комплексов с анионами Cl^- и CN^- . Спектры содержали интенсивные пики ионов $(M-H)^-$, $M^{\dot{-}}$, $(M-H-CO_2)^-$. Отношение $(M-H)^-/M^{\dot{-}}$ растет с повышением кислотности продукта. Отмечено, что спектры отрицательных ионов содержат мало линий и легко расшифровываются. Особенно удоб-

но для расшифровки сравнивать спектры положительных и отрицательных ионов одного и того же продукта [75].

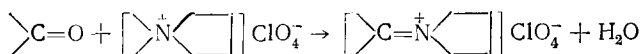
Таким образом, используя способность органических молекул давать комплексы с катионами, по-видимому, можно будет получать масс-спектры соединений с большим молекулярным весом и высокой полярностью. Эти исследования только начаты. Пока удалось получить квазимолекулярные ионы метилированных нуклеозидов [67] и полинуклеотидов [76], появилась возможность масс-спектрометрического анализа состава некоторых ДНК и РНК после их полного энзиматического гидролиза. Опубликованы масс-спектры сахаридов [69—73, 77], включая пентасахариды [71, 77] и октасахариды [72], аденозина, некоторых антибиотиков [72, 78] и олигопептидов [79, 80]. По данным таких спектров можно определить аминокислотную последовательность в пептидах, привлекая метод активационных столкновений [80].

При оценке чувствительности метода, использующего катионированные молекулярные ионы, необходимо учитывать различия в способности веществ к комплексообразованию. Предел обнаружения сахарозы в смеси с LiCl составлял 10 нг при пятикратном превышении сигнала $(M+Kt)^+$ над шумом, для аденозина $(M+Ag)^+$ предел равен 2 нг [81]. Для глюкозы в смеси с NaCl чувствительность оказалась выше, чем 10^{-11} Кг/мкг [69].

В условиях ВИИЭ подробно исследованы масс-спектры органических солей аммония и их аналогов [81—87]. В составе вторичных ионов наблюдаются не комплексы молекул с протоном или катионом, в органические неразрушенные катионы, часть которых, распадаясь, дает осколки, позволяющие судить о составе катиона соли. Дичетвертичные соли в подавляющем большинстве не дают дикатионов [86]; иногда происходит разделение зарядов, т. е. возникновение двух однозарядных фрагментов дикатиона, или возникновение однозарядного катиона, с потерей протона [87].

Сравнение эффективности ионообразования для ионных органических солей и соединений, образующих комплексы с Кт, показало, что выход ионов из четвертичной аммониевой соли $(C_2H_5)_4N^+J^-$ в 100 раз выше, чем из смеси дицианбензола с солью двухвалентной меди при одинаковых условиях [82]. Абсолютная граница обнаружения соли по пику катиона составляла 10 нг/см^2 (сигнал превышал шум в течение 1 мин) [81]. Высокая чувствительность показана при идентификации холина и холиновых эфиров [84], а также при определении мускарина и холина в пятнах тонкослойной хроматографии [85].

Итак, чувствительность метода наибольшая для соединений, имеющих ионную природу. Предложено несколько приемов перевода некоторых органических веществ в формально ионное состояние; эти преобразования были названы новым типом «дерииватизации» [87—89]. Например, амфотерные соединения можно перевести в ионную форму добавлением минеральных кислот или щелочей. Прибавление солей к продуктам основного характера, как было показано выше, тоже увеличивает выход квазимолекулярных ионов, так как ионы металлов являются кислотами Льюиса. Смешивая амины с подходящими алкилиодидами, можно получить соли четвертичного азота. Альдегиды и кетоны при взаимодействии с перхлоратом пирролидина переходят в иммониевые соли:



Предложенные приемы расширяют круг веществ, дающих в условиях ВИИЭ интенсивные квазимолекулярные ионы и характерные осколки. В настоящее время методом ВИИЭ удается идентифицировать соединения, не поддающиеся анализу в условиях полевой десорбции. Например, в работе [78] после безуспешных попыток обнаружить методом полевой десорбции ионы цимостатина и ряда других термически нестой-

ких антибиотиков, масс-спектры этих молекул были получены бомбардировкой образца (в смеси с NH_4Cl) ионами Xe^+ .

Получение количественных данных о смеси органических продуктов по зарегистрированным вторично-эмиссионным масс-спектрам не всегда возможно. В нескольких работах [67, 76, 90] оценка концентрации одного из компонентов была сделана по данным вторично-эмиссионных масс-спектров, с использованием в качестве внутреннего стандарта изотоп-изомера анализируемого соединения. Однако в ряде случаев [81, 91] обнаружено, что при бомбардировке первичным пучком смеси веществ образование ионов некоторых компонентов подавлено. Например, в спектре смеси из пяти снотворных веществ, помещенных на подложку, были представлены ионы $(\text{M}+\text{H})^+$ только трех соединений [91].

Обобщая данные по исследованию термически нестабильных соединений методом ВИИЭ, можно сделать следующие выводы:

1. В спектрах есть интенсивные пики ионов $(\text{M}+\text{H})^+$, $(\text{M}-\text{H})^-$ и $(\text{M}+\text{Kt})^+$, позволяющие установить молекулярную массу исследуемого соединения.

2. Ионизация происходит из твердого состояния при комнатной температуре или при небольшом подогреве; при этом термической деструкции не обнаружено.

3. Степень фрагментации органической молекулы можно регулировать, изменяя тип катиона металла в комплексе $(\text{M}+\text{Kt})^+$.

4. Метод имеет высокую чувствительность, особенно для органических солей и полярных соединений. Чувствительность метода по одному из трех типов ионов падает в ряду: органические катионы > катионированные молекулы > протонированные молекулы. В реальных условиях для получения масс-спектра в режиме сканирования подложки площадью $0,1 \text{ см}^2$ необходимо навести 10^{-10} — 10^{-7} г исследуемого вещества, если в качестве анализатора используется коммерческий масс-спектрометр с двойной фокусировкой [53, 70].

5. Метод может быть использован для идентификации продуктов, разделенных тонкослойной хроматографией; для регистрации масс-спектра в пятне, подвергнутом бомбардировке, должно содержаться не менее 10 мкг продукта. Получены первые положительные результаты по применению ВИИЭ в системе жидкостный хроматограф — масс-спектрометр [46, 92, 93].

6. Методика подготовки образца к анализу очень проста, а его проведение не требует высокого экспериментального мастерства и длительных приготовлений, как, например, при анализе методом ПД.

2. Вторичная атомно-ионная эмиссия

Замена первичного пучка ионов на пучок ускоренных нейтральных частиц открыла новые возможности для исследования нелетучих высокополярных и термически неустойчивых соединений масс-спектрометрическим способом. К концу 1981 г. были обобщены данные, показывающие, что облучение образца ускоренными атомами даст возможность ионизовать без разложения более тяжелые молекулы, чем в условиях ВИИЭ [94]. Удалось, например, зарегистрировать квазимолекулярные ионы глюкагона (гормона поджелудочной железы, ММ 3841) и В-цепи инсулина, отделенной от остальной молекулы окислением дисульфидных мостиков (ММ 3494) [95]. Масс-спектры других биологически важных продуктов, полученные при бомбардировке пучком ускоренных атомов, были представлены в обзорах [23, 96—98]. Соединения с ММ > 4000 к тому времени удавалось анализировать только методом плазменной десорбции, с помощью которого были зарегистрированы квазимолекулярные ионы олигонуклеотида с ММ 6278. Однако уже в 1982 г. путем выбора оптимального соотношения между чувствительностью и разрешающей способностью на магнитном масс-спектрометре с высокими характеристиками методом атомно-ионной эмиссии (АИЭ) были получены спектры протонированных молекулярных ионов гормона адренокортико-

тропина (ММ 4538) и неразрушенной молекулы инсулина быка (ММ 5730) [22].

Метод АИЭ был разработан и впервые применен для получения масс-спектров нелетучих органических молекул Танцыревым и Клейменовым в 1973 г. [99]. Преметом исследования были тонкие пленки полимерных веществ, нанесенные на металлическую подложку. Бомбардировка поверхности образца производилась пучком атомов Ag с энергией 300—3000 эВ и плотностью потока 10^9 — 10^{10} ат/с·см². Метод АИЭ оказался удобным для анализа полимеров, каждый из которых имеет свой характерный спектр, пригодный для его однозначной идентификации; спектры сополимеров представляют собой суперпозицию спектров каждого полимера [99—101].

По данным масс-спектров можно установить взаимную ориентацию мономерных звеньев в макромолекулах [102—105], определять относительное содержание водорода и дейтерия, если полимеризация происходила с участием дейтеросодержащего мономера [106]. Кроме макромолекул, Танцырев и сотр. исследовали вторично-эмиссионные масс-спектры нескольких ТНС (аминокислот, четвертичных аммониевых солей и оснований) [107], а в 1981 г. начали систематическое изучение масс-спектров биологических веществ [108—111].

В зарубежной литературе основоположниками метода АИЭ, как нового способа ионизации ТНС, считают Барбера с сотр. или Сурмана и Викермана (Великобритания), которые в 1981 г. одновременно опубликовали вторично-электронные масс-спектры нескольких органических соединений [112, 113]. Темп развития этого нового способа, позволяющего ионизовать без разрушения нестабильные органические молекулы, необычайно высок. Так, только Барбер и сотр. со времени своей первой публикации [112], т. е. за один год, представили не менее 17 статей, посвященных изучению масс-спектров биоорганических соединений разных классов [22, 114—129]. В настоящее время метод АИЭ широко применяется многими научными коллективами [98, 130—139].

Быстрое распространение нового способа ионизации ТНС определяется не только высокой информативностью АИЭ спектров, но и тем, что для их получения не требуется больших переделок коммерческих масс-спектрометров [140, 141]. На основе давно отработанных конструкций ионных пушек фирма Kratos начала выпуск АИЭ источников к прибору AEI MS902 [117], а фирма Varian Mat разработала конструкцию источника с ионизацией атомным пучком для масс-спектрометра MAT 731 [142].

Описана установка, в которой разделение вторичных ионов, полученных атомной бомбардировкой, производится статическим анализатором с ординарной фокусировкой [143, 144]; наиболее частое сочетание — с квадрупольными анализаторами [145]. Для получения ускоренного пучка атомов (чаще всего атомов Ag или Xe) предварительно созданный ионный пучок пропускают через камеру столкновений. На рис. 3 представлена схема АИЭ источника. В камере столкновений (4), заполненной тем же газом, происходит перезарядка ионов на собственных атомах. Сечение перезарядки в этом случае достаточно велико (10^{-16} — 10^{-15} см²) [146], и в камере длиной 100 мм при давлении 10^{-4} мм рт. ст. около 50% ионов без существенного рассевания пучка претерпевает перезарядку [104, 146]. Повышение давления в камере столкновения на порядок приводит к уменьшению степени конверсии ионов в атомы до 10—30% [143]. Частицы, сохранившие заряд, удаляются из пучка с помощью специального электрода (8). Энергия атомного пучка (порядка единиц кэВ) несколько отличается от номинального значения прикладываемой разности потенциалов, ускоряющей ионы [142]. Пучок атомов, бомбардирующий мишень (6), создает неабсолютное число вторичных ионов при небольших углах падения относительно плоскости мишени. Бомбардировка под углом, близким к 90°, приводит к возрастанию фрагментации исследуемых молекул. Чем тяжелее частицы первичного пучка, тем выше выход вторичных, особенно квазимолекулярных ионов

[94]. Так, например, бомбардировка атомами ртути, по сравнению с Ag, увеличивает выход квазимолекулярных ионов сахарозы, рафинозы и некоторых аминокислот в 10 раз [147].

Основная отличительная особенность получения вторичных ионов в условиях АИЭ — применение жидких мишеней из малолетучих веществ. Бомбардировке ускоренными атомами подвергается раствор или суспензия органического соединения в жидкости с малой упругостью пара. По-видимому, именно этот методический прием привел к успешному получению неразрушенных квазимолекулярных ионов крайне нестабильных

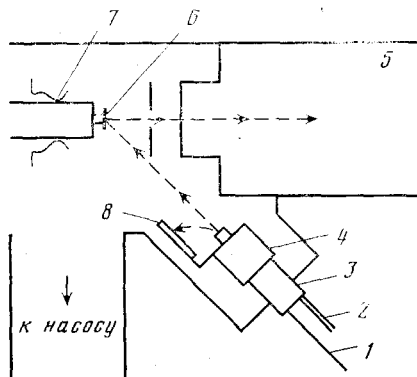


Рис. 3. Схема источника для получения ионов при бомбардировке образцов пучком атомов [96]: 1 — высокоевольтовое питание, 2 — напуск инертного газа, 3 — область образования первичных ионов, 4 — камера перезарядки, 5 — масс-анализатор, 6 — мишень с образцом, 7 — вакуумный шлюз, 8 — отклоняющий электрод

и тяжелых биомолекул. Впервые жидкие мишени для получения ВЭ спектров применил Танцырев, который показал, что удобной жидкой мишенью является полипропиленгликоль [146]. Сейчас в качестве малолетучей жидкости чаще всего используют глицерин, к которому для обеспечения проводимости добавляют небольшое количество электролита, например, щавелевой кислоты. Упругость пара глицерина при комнатной температуре не превышает $1 \cdot 10^{-4}$ мм рт. ст. [148]. Кроме глицерина, в качестве растворителей испробованы окись пропилена [139], органические и силиконовые масла [95, 128, 149], α -монотиоглицерин и его смесь с тетраэтиленгликолем [95], полигликоль [131], триглицерин, полиэтиленгликоль [150], диэтаноламин, тетраглим и др. [151].

Применение в АИЭ жидких мишеней избавило экспериментаторов от ряда недостатков, свойственных методу ВИИЭ. Во-первых, при бомбардировке ионами на поверхности твердого образца со временем возникает положительный заряд, который необходимо компенсировать специально создаваемым током тепловых электронов. В противном случае среди регистрируемых пиков вторичных ионов появляются широкие пики, сдвинутые относительно пиков целочисленных масс в сторону больших массовых чисел [152]. На поверхности жидкой проводящей мишени не происходит накопления зарядов даже при наличии небольшой доли заряженных частиц в первичном пучке атомов [142]. Во-вторых, бомбардировка пучком атомов позволяет применять в ионном источнике для управления вторичными ионами меньшие потенциалы; и, наконец, в режиме АИЭ отношение сигнал/шум на порядок выше, чем при облучении ионным пучком [80].

Роль жидкой фазы в механизме передачи энергии первичного пучка органическим молекулам, находящимся на подложке, исследовалась в [153—155], но пока полностью не ясна. В жидкости, по-видимому, уменьшается разрушение молекул образца под воздействием первичных частиц высоких энергий. В то же время поверхность мишени постоянно обновляется неповрежденными порциями образца за счет диффузии из внутренних слоев. Кроме того, по данным работы [95], на поверхности жидкости существует избыточная, по сравнению с объемной, концентрация некоторых исследуемых соединений, связанная с присутствием в них гидрофобных групп. Если эти предположения верны, то облучение жидких мишеней можно вести первичным пучком большей плотности, не соблюдая условий статического режима бомбардировки (для атомных

пучков не более 10^{10} ат/с·см²), лишь не допуская разогрева мишени. Повышение плотности первичного пучка приводит к возрастанию выхода вторичных ионов, т. е. в конечном счете к уменьшению предельных концентраций продуктов, обнаруживаемых методом АИЭ.

Пока не опубликовано серьезных экспериментальных проверок высказанных предположений, однако преимущество жидких мишеней было быстро оценено, и они стали применяться не только в АИЭ, но и в последних исследованиях, выполненных методом ВИИЭ. Этот новый методический прием позволил получать в условиях ВИИЭ квазимолекулярные ионы более тяжелых и более нестабильных соединений [77, 80, 156—158]. Высказывается мнение, что между ВИИЭ и АИЭ нет коренных различий [89, 115, 139], а своими достижениями в анализе ТНС метод АИЭ обязан главным образом применению жидких мишеней. Подтверждением этого является работа [77], в которой применение жидкой мишени (диэтаноламин) позволило получить квазимолекулярные ионы восьмичленного циклического олигосахарида γ -циклодекстрина (ММ 1679) при бомбардировке ионами Xe^+ . В отсутствие жидкой матрицы удавалось зарегистрировать только ионы тетрасахарида стахиозы (ММ 666) [71]. Хотя методом АИЭ получены квазимолекулярные ионы более тяжелых и сложных соединений, применение жидких мишеней в методе ВИИЭ сокращает разрыв. По-видимому, в дальнейшем жидкая матрица станет необходимым условием работы, независимо от того, осуществляется ионизация образца пучком атомов или ионов. Для успешной ионизации разных биоорганических веществ необходимо в каждом случае подбирать свою жидкую матрицу мишени [77, 154]. Выяснение роли жидкой фазы в механизме ионообразования стало актуальной задачей теоретических и экспериментальных исследований.

Масс-спектры органических соединений, исследованные в условиях облучения пучком атомов, не имеют существенных отличий от масс-спектров, зарегистрированных при бомбардировке ионным пучком [94, 147, 157]. Отличительной особенностью спектров, полученных на жидкой мишени, является присутствие ионов матрицы. Молекулы жидкости проявляются в спектре в виде ионов-кластеров и осколков. Например, для глицерина (G) это положительные ионы $(G_n + H)^+$, $(G_n + Na)^+$ и в меньшей степени $(G_{n-1} + G - H + Na)Na^+$, где n достигает 15 [111]. Иногда появляются кластеры, объединяющие молекулы растворителя и исследуемого вещества. В спектрах отрицательных ионов содержание кластеров существенно меньше [95]. Присутствие кластерных ионов используют для точного определения молекулярной массы исследуемого соединения [156]. Предложен способ калибровки шкалы масс в условиях АИЭ, по реперным пикам кластеров толуол сульфоната кальция с глицерином [159].

Суммируя возможности метода АИЭ, отметим, что метод повышает точность определения молекулярной массы тяжелых молекул, так как в спектрах всегда присутствуют ионы $(M + H)^+$ и/или $(M + K)^+$. Выделению квазимолекулярных ионов среди пиков в области тяжелых масс способствует сравнение масс-спектров положительных и отрицательных ионов, в последних нет сложных кластерных ионов и наиболее тяжелые пики принадлежат ионам $(M - H)^-$. Спектры осколочных ионов позволяют получать информацию о структуре исследуемых соединений. Стабильность АИЭ спектров во времени дает возможность регистрировать пики метастабильных ионов, которые используются для установления схемы фрагментации исследуемой молекулы.

Метод АИЭ не требует химической модификации исследуемых соединений, повышает достоверность результатов и в сотни раз уменьшает необходимое для проведения анализа количество вещества (например, для анализа антибиотиков достаточно 1 мкг вместо 1 мг) [120]. Эти свойства метода коренным образом изменили созданную ранее масс-спектрометрическую процедуру определения аминокислотного состава пептидов, в которую химическая модификация соединений входила, как необходимый этап [3]. Теперь расшифровка АИЭ масс-спектра дает

сведения об аминокислотной последовательности и о составе концевых N- и C-кислот [114, 115, 118, 119, 121, 130, 132, 161—163]. Для определения молекулярной массы пептида требуется 0,1 нмоля образца, для установления аминокислотной последовательности 2—50 нмолей [24]. Следует отметить, однако, что иногда не каждая аминокислота представлена в спектре индивидуальным пиком [132].

Высокая чувствительность метода АИЭ проявляется при анализе биопродуктов разных классов; получены данные о молекулярных массах и структуре сахаридов [22, 123, 98, 163—165], нуклеотидов и нуклеозидов [24, 117, 137, 166, 168], липидов [151, 167, 169], аминогликозидных и пептидных антибиотиков [116, 120, 170, 171], стероидов [23, 134], сульфурированных азокрасителей [124—126], и ряда других соединений [24, 117, 133, 135, 151, 172]. Совпадение спектров АИЭ синтезированного и природного продуктов принято считать подтверждением структуры природного соединения [138].

В масс-спектрах положительных и отрицательных ионов получены одинаковые пределы обнаружения [24]. Для повышения интенсивности квазимолекулярных ионов в методе АИЭ применяются те же приемы перевода исследуемых молекул в ионное состояние, что и в методе ВИИЭ [124, 88, 95, 117, 132, 173].

Количественные аспекты метода АИЭ еще не разработаны. Однако попытки провести оценку содержания компонентов в смеси на основании интенсивности пиков квазимолекулярных ионов уже предпринимались. Так, в [23] сообщается об определении примеси монометил-четвертичного амина в смеси диметил-четвертичных аминов $(\text{CH}_3)_2\text{N}^+\text{R}'\text{R}''\text{Cl}^-$, входящих в состав говяжьего жира. Полученное значение концентрации примеси (10%) хорошо согласуется с результатом хроматографического анализа (7,7%). В то же время методом АИЭ не удалось определить количественный состав азотсодержащих циклических соединений, входящих в горючие сланцы [131], хотя качественная идентификация отдельных компонент была выполнена успешно. Неудачной оказалась также попытка определения содержания блеомицинов A_2 и B_2 , отличающихся только составом N-концевых аминокислот. В условиях АИЭ интенсивность ионообразования этих родственных соединений заметно различалась [116]. В [174] исследованы причины этого явления, в целях получения количественных данных о константах диссоциации слабых кислот в растворе.

Простота процедуры подготовки образца и проведения анализа делают технику получения АИЭ спектров все более распространенной, она вытесняет метод ПД, долгое время являвшийся основным способом анализа ТНС. Большой фактический материал по определению состава и строения биомолекул методом АИЭ спектров содержится в обзорах [89, 98, 145, 151, 175].

Методом АИЭ преодолена главная трудность — получение ионов термически нестабильных, высокополярных тяжелых молекул. Если несколько лет назад низкая летучесть и стабильность исследуемых продуктов являлись главным препятствием для проведения масс-спектрометрического анализа, то в настоящее время ограничивающим фактором становятся предельные возможности масс-анализаторов по диапазону масс и по разрешающей способности для регистрации тяжелых квазимолекулярных ионов, создаваемых в условиях АИЭ [22].

3. Бомбардировка ионами высокой энергии

Недавно предложен новый метод, называемый десорбцией ионами высоких энергий (ДИВЭ) [176], который позволяет регистрировать масс-спектры ТНС путем облучения их одноименными многозарядными ионами, разогнанными в ускорителях до энергий от единиц до нескольких десятков МэВ. Общий вид получаемых масс-спектров характерен для вторичной ионной эмиссии и мало отличается от спектров ВИИЭ и АИЭ. Отличительной особенностью нового метода является возмож-

ность изменять в широких пределах выход вторичных ионов в зависимости от массы, заряда и энергии ионов первичного пучка (в противоположность бомбардировке образца осколками деления ^{252}Cf , состав которых неоднороден, а заряд и энергия меняются независимо от условий эксперимента).

В работах [176—180] исследованы масс-спектры валина, полученные при бомбардировке твердой пленки образца, нанесенной на никелевую подложку, ионами ^{16}O , ^{18}O , ^{32}S в разных зарядовых состояниях с энергией от 0,1 до 50 МэВ. Плотность первичного пучка составляла 10^3 — 10^4 ионов/с·см², а угол падения равен 30° (к плоскости мишени). В масс-спектрах обнаружены пики ионов $(\text{M}+\text{H})^+$, $(\text{M}+2\text{Na}-\text{H})^+$ и высокоинтенсивный пик осколка $(\text{M}-\text{COOH})^+$. Кривая эффективности выхода ионов $(\text{M}+\text{H})^+$ и $(\text{M}-\text{COOH})^+$ в зависимости от энергии частиц первичного пучка содержит два максимума, соответствующие энергиям бомбардирующих ионов ^{16}O и ^{32}S при 10 кэВ и 8 МэВ [178].

Для объяснения наблюдаемого явления предложены два механизма взаимодействия первичного пучка с веществом мишени. При ударе относительно медленных первичных частиц (до 0,1 МэВ) их энергия рассеивается в упругих столкновениях атомных ядер, в то время как энергия быстрых частиц (десятки МэВ) переходит в основном в электронное возбуждение молекул [94]. Облучение поверхностной пленки валина ионами ^{18}O с энергией 20 и 25 МэВ в разном зарядовом состоянии показало, что с увеличением положительного заряда на бомбардирующих ионах выход вторичных ионов возрастает [179]. По данным [91], относительный выход ионов $(\text{M}+\text{H})^+$ из Гли — Гли увеличился в 20 раз при замене первичного пучка ионов Cs^+ с энергией 3 кэВ ионами Gu^{4+} с энергией 54 МэВ. Влияние повышения зарядового состояния проявляется сильнее, если бомбардировке подвергаются соединения с молекулярной массой более 1000. Выход вторичных ионов резко возрастает при уменьшении угла падения первичного пучка относительно плоскости мишени [181].

Методом ДИВЭ получен масс-спектр пептида с молекулярной массой 6000 [91]; при бомбардировке тонкой пленки инсулина быка ионами ^{127}I с 20-кратным зарядом и энергией 90 МэВ зарегистрированы масс-спектры положительных и отрицательных ионов, содержащие пики в области молекулярных масс, А и В-цепей инсулина [182].

Достигнутые успехи показывают, что несмотря на сложность аппаратуры метод ДИВЭ может быть успешно применен для получения масс-спектров ТНС, хотя в этом направлении сделаны пока только первые шаги.

III. ПЛАЗМЕННАЯ ДЕСОРБЦИЯ ОСКОЛКАМИ ДЕЛЕНИЯ ^{252}Cf

В 1974 г. был разработан новый метод анализа нелетучих и труднолетучих ТНС, названный методом плазменной десорбции осколками деления ^{252}Cf (ПлД ^{252}Cf) [183—187]. Образование ионов исследуемого вещества в предложенном методе происходит следующим образом: изучаемый образец наносится на тонкую фольгу, за которой помещается источник ^{252}Cf . Квазимолекулярные и другие ионы возникают в результате проникновения в образец продуктов деления ^{252}Cf . Выделяющаяся при этом энергия (~ 1000 эВ/А) вызывает образование теплового импульса в образце до 20 000 К за время 10^{-12} с. Цилиндрический микрообъем подложки-образца радиусом 25 Å превращается в горячий газ, в котором происходит реакция между молекулами образца и подложки. Ионные продукты этих реакций «вытягиваются» внешним электрическим полем и анализируются в масс-спектрометре.

При спонтанном делении ядра ^{252}Cf образуются два осколка с неравными массами. Возможно образование до 40 пар различных частиц, однако наиболее вероятным является образование $^{142}\text{Ba}^{18+}$ и $^{106}\text{Tc}^{22+}$ с кинетическими энергиями 79 и 104 МэВ, соответственно. Пара осколков

деления возникает одновременно (в пределах 10^{-9} с), что открывает исключительные возможности для использования время-пролетной техники регистрации масс-спектров [184, 185].

Основные трудности использования этого метода состоят в высокой радиоактивности источника, составляющей обычно 10—100 микроюри, и в высокой токсичности ^{252}Cf . Поэтому приготовление источника является достаточно сложной методической задачей [184, 187]. Источник получают выпариванием капли раствора ^{252}Cf , нанесенного на фольгу Ni или Al толщиной 1—5 мкм; затем источник покрывают полихлоридно-ацетатной пленкой, предотвращающей миграцию ^{252}Cf по поверхности фольги. Для ослабления интенсивности источника он может также покрываться дополнительными слоями, например, золота [186, 187].

Образец в виде однородной тонкой пленки толщиной ~ 100 мг/см² обычно получают электрораспылением [188—190]. При образовании пленки другими способами — нанесением капель из раствора, катафорезом и т. д. получаются плохо воспроизводимые результаты [188—191]. Предел чувствительности зависит от вида изучаемых молекул; для аминокислот он имеет порядок 10^{-9} г/см². Запись спектра при самом низком выходе ионов занимает приблизительно 12 ч [185, 189, 191].

Практически во всех случаях для получения масс-спектра использовались различные модификации времяпролетного масс-спектрометра [191—194]. Достоинством его является теоретически неограниченный диапазон масс и удобство сочетания способа регистрации ионов с импульсным методом ионизации. Модификации масс-анализатора проводились главным образом в направлении увеличения чувствительности и разрешающей способности. В области тяжелых масс точность определения массового числа как правило, не превышает сотых процента [193—195]. Недостаточно высокая разрешающая способность время-пролетных масс-спектрометров является существенным препятствием при проведении некоторых исследований, например, при установлении последовательности аминокислот в пептидах [196—198].

Механизм образования ионов при ПлД ^{252}Cf до конца не изучен, однако большинство исследователей качественно описывают его следующим образом. В местах попадания осколков деления ^{252}Cf в образце возникают локальные плазменные зоны, в которых десорбированные молекулы ионизируются по одному из двух путей: 1) путем образования ионных пар: $2\text{MH} \rightarrow \text{MH}_2^+ + (\text{M}-\text{H})^-$. Этот путь, наиболее типичный для аминокислот, пептидов, нуклеотидов и т. д., связан с переходом протона с кислотного конца одной молекулы на основной конец другой; 2) путем ионно-молекулярных реакций с ионами H^+ , Na^+ , K^+ или H^- . В результате в спектре проявляются квазимолекулярные ионы, содержащие атом соответствующего щелочного металла, а в спектре отрицательных ионов — протонированные квазимолекулярные ионы [199, 200].

Методом ПлД ^{252}Cf исследовались аминокислоты [183, 201], пептиды [184, 195, 201], нуклеотиды [194, 196—198, 202, 203], сахараиды [164, 188, 201], хлорофилл-а [204, 205], антибиотики [192, 206], политоксины [207, 208], витамины [188, 191, 193], стероиды [188, 209]. Результаты исследований хорошо воспроизводятся от опыта к опыту и для различных групп исследователей [204, 205].

В настоящее время метод ПлД ^{252}Cf позволяет получать наиболее тяжелые ионы при анализе олигонуклеотидов были зарегистрированы ионы $(2\text{M} + \text{Na})^+$ с массой 12637 [210] из полностью защищенных олигонуклеотидов (додекануклеотид, ММ 6278).

Спектры исследуемых веществ во всех случаях наряду с квазимолекулярными пиками содержат пики осколочных ионов. Количество фрагментов, возникающих при ПлД ^{252}Cf , велико даже для относительно простых молекул. Многие процессы фрагментации хорошо объясняются в принятых концепциях химии газозавязных ионов. Это дало основание Филду [201] считать, в отличие от Макфарлейна [194], что ПлД ^{252}Cf не следует относить к мягким методам ионизации. Скорее метод обладает двоякими свойствами: он позволяет получать интенсивные пики

квазимолекулярных ионов, как и классические мягкие методы, и, в то же время, получается значительный осколочный спектр, как при жестких методах, например, при электронном ударе. Такая двойственность не наблюдается в случае других высокоэнергетических процессов ионизации.

Исследователи отмечают перспективность метода плазменной десорбции и его большие возможности для изучения различных классов высокомолекулярных органических веществ. К достоинствам метода относятся: во-первых, возможность одновременного изучения спектров положительных и отрицательных ионов, что позволяет надежно определять молекулярную массу, структуру и сопутствующие примеси в таких веществах, как полностью защищенные рибоолигонуклеотиды до гептамеров включительно [174—176]. Во-вторых, появилась возможность установления последовательности групп в сложных органических соединениях без проведения предварительной химической модификации на промежуточных фазах синтеза (см., например, [187]). В-третьих, с помощью этого метода можно изучать нестабильные продукты диссоциации ионизованных молекул и их осколков, распадающихся в трубе время-пролетного масс-спектрометра [173, 184]. Их наличие приводит к уширению пакета ионов и к ухудшению разрешающей способности спектрометра, так же, как и изменение реального диаметра ионизационного пятна на мишени, связанного с параметрами источника ионов [172]. И, наконец, этот метод отличается простотой ввода образца и отсутствие необходимости подготовки пробы, что позволяет, в частности, создать на основе этого метода систему ХЖ-МС (хроматограф жидкостный — масс-спектрометр). В описании прибора ХЖ-МС сообщается, что разделенные в жидкостном хроматографе фракции через капилляр осаждались электрораспылением на подложки, расположенные в секциях дискретно вращающегося диска (12 позиций при давлении 10^{-3} мм рт. ст.); через вакуумный шлюз секции с пробой поочередно перемещались в камеру время-пролетного масс-спектрометра и экспонировались над источником ^{252}Cf . Комбинация ХЖ-МС использовалась для количественного анализа биохимических соединений, в частности, антиопухолевых препаратов — этопозида, тенипозида и алколоидов виндезина, винбластина и винкристина [189].

IV. ЛАЗЕРНАЯ ДЕСОРБЦИЯ

Первые сведения о получении положительных ионов под действием лазерного излучения относятся к началу 60-х гг. [212], а в начале 70-х гг. лазерная десорбция была применена для анализа органических веществ [213, 214] в том числе термонестабильных соединений с получением молекулярного иона [215]. Однако до 1978 г. [216, 217] лазерная десорбция и ионизация еще не рассматривались в качестве методов исследования органических веществ; в литературе до 1978 г. в основном сообщалось о применении лазеров в масс-спектрометрии твердых тел, изучались и классифицировались эффекты взаимодействия лазерных импульсов различной мощности с веществом [218, 219].

При лазерном облучении нелетучих веществ (соль — нуклеотид — Na_2 , сахара, пептиды) в масс-спектре с большой распространенностью представлены катионированные молекулярные ионы и некоторые осколки, дающие ценную структурную информацию [220]. Отсюда следует, что при определенных интенсивностях лазерное излучение способно вызвать десорбцию ионизованных молекул и что лазерная десорбция: а) является мягким методом ионизации; б) имеет перспективные возможности для анализа термонестабильных и нелетучих соединений масс-спектрометрическими методами. Были проведены также эксперименты по исследованию механизма образования ионов $(\text{M} + \text{Kt})^+$, изучены процессы быстрого нагрева и роль многофотонных процессов с образованием осколочного спектра [220—222]. К настоящему времени методом лазерной десорбции изучен широкий ряд ТНС и труднелетучих

Параметры лазеров, использованных при исследовании органических образцов методом лазерной десорбции

Рабочее вещество	λ , нм	τ , с	W , Вт/см ²	E , Дж/см ²	Ссылки
Рубин	694	10^{-3}	$5 \cdot 10^4$	50	[237]
Неодим	1 064	10^{-4}	$2,5 \cdot 10^5$	25	[237]
Неодим	1 064	10^{-8}	$2,5 \cdot 10^9$	25	[237]
Неодим	265	$1,5 \cdot 10^{-8}$	10^7	0,15	[241]
Рубин	347	$3 \cdot 10^{-8}$	10^8	3	[238]
Рубин	347	$3 \cdot 10^{-8}$	10^8	3	[230]
Неодим	265	$8 \cdot 10^{-9}$	10^8	0,8	[230]
Неодим	1 064	10^{-8}	10^8	1	[242]
Неодим	1 064	$8 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^3$	0,2	[226]
СО ₂	10 600	$4 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^6$	0,12	[243]
Рубин	694	$3 \cdot 10^{-4}$	10^6	300	[213]
Рубин	694	$3 \cdot 10^{-4}$	10^6	300	[214]
СО ₂ *	10 600	5	20	100	[244]
Неодим	1 064	10^{-4}	$5 \cdot 10^6$	500	[224]
СО ₂ *	10 600	10^{-1}	10^3	100	[244]
СО ₂	10 600	$1,5 \cdot 10^{-7}$	$8,7 \cdot 10^6$	1,3	[222]

Обозначения: λ — длина волны; τ — длительность импульса; W — плотность мощности; E — плотность энергии.

* В режиме непрерывного излучения; в остальных случаях — импульсные лазеры.

соединений: олигосахариды [216, 223—228], нуклеотиды и нуклеозиды [224, 227, 229, 230], глюкозиды [224, 225, 230], аминокислоты и олигопептиды [224, 226—228, 230, 231], витамины и антибиотики [232] и другие биоорганические соединения [232, 233]. Данные по масс-спектрометрии с лазерной десорбцией обобщены в обзорах [234, 235].

Для реализации лазерной десорбции предложено несколько методик, сходных по технике эксперимента. Образец, как правило, наносится на медную сетку осаждением из раствора в этаноле или воде и облучается импульсом сфокусированного излучения лазера. Продукты лазерной десорбции анализируются во время-пролетном [213—215, 217, 228, 229, 238], квадрупольном [227, 236], статическом [220—222, 224, 226] или других масс-спектрометрах [231]. Для облучения применяются самые разнообразные лазеры, как импульсные, так и непрерывного действия, в диапазоне от ИК- до УФ-области спектра (таблица) [234].

При лазерной десорбции обычно образуются кластерные ионы типа $(M+Kt)^+$, причем в качестве Kt^+ могут выступать H, Li, Na, K, Cs, Cu, Ag, Pt. В некоторых случаях образуются отрицательные ионы $(M-H)^-$ [224, 231, 234]. Механизм образования кластерных и квазимолекулярных ионов при лазерной десорбции недостаточно ясен и требует дальнейшего теоретического и экспериментального исследования. В [94, 199] кластерообразование рассматривается как проявление различных механизмов мягкой ионизации. Многочисленные исследования, посвященные изучению труднолетучих органических соединений методом лазерной десорбции, свидетельствуют о возможной реализации следующих процессов: парообразование при испарении молекул с поверхности подложки в условиях очень быстрого повышения температуры поверхности [237, 238]; поверхностная термоионизация [239]; разложение молекул и ионно-молекулярные реакции [37]; процессы многофотонной ионизации [223, 224].

В таблице приведены условия образования разных групп ионов под действием лазеров с различными параметрами [224]. Видно, что длина волны лазерного излучения не оказывает существенного влияния на характер ионизации. Квазимолекулярные ионы образуются при изменении мощности излучения в диапазоне от 10 до 10^8 Вт/см², что ставит под сомнение утверждение об обязательности для образования ионов полифотонных процессов [223, 224]. Для приведенных в таблице случаев длительность импульсов излучения меняется от 10^{-8} до 1 с, но во всех

случаях происходит образование ионов. Видно, что при использовании импульсных лазеров малой мощности квазимолекулярные ионы образуются после сравнительно длительного облучения [216, 223]. В то же время при работе с интенсивными лазерами разрешающая способность со временем ухудшалась, и квазимолекулярных ионов обнаружить не удавалось [240]. Из анализа данных таблицы видно также, что зависимость между интенсивностью пиков квазимолекулярных ионов и энергий облучения определяется материалом подложки [222]. Если материал подложки характеризуется легкой десорбцией (например, кварц), то квазимолекулярные ионы образуются даже при низкой плотности энергии облучения; в случае металлических подложек необходимо использовать более высокие плотности энергии.

Можно сделать вывод, что для образования квазимолекулярных ионов необходима определенная минимальная температура, характерная для данной системы образец — подложка и обеспечивающая энергетический баланс этой системы. В балансе учитываются как свойства лазеров (плотность энергии, длительность импульсов, длина волны излучения), так и свойства системы образец — подложка (коэффициент поглощения энергии, теплопроводность, теплота испарения вещества и т. д.). При изучении образования квазимолекулярных ионов как функции от температуры использовали лазеры с малой плотностью мощности [94, 200, 220, 245, 246]. Исследования показали, что можно выделить два температурных диапазона: более низкие температуры, при которых происходит десорбция нейтральных молекул, и более высокие, при которых наиболее характерным является поверхностная ионизация и десорбция комплексов со щелочными металлами [222]. Во всех случаях в формировании конечного масс-спектра значительную роль играют ионно-молекулярные реакции в газовой фазе, в которую под действием облучения переводятся без разложения труднолетучие органические молекулы.

V. О МЕХАНИЗМАХ ИОНООБРАЗОВАНИЯ

Выше неоднократно отмечалось, что масс-спектры органических и биорганических молекул, полученные с использованием разных методов ионизации из твердой фазы, очень похожи друг на друга. Сходство масс-спектров отмечено многими авторами [51, 54, 66, 67, 94, 139]. Так, аланин и аргинин, соли четвертичного азота, сахароза, витамин В₁₂, адеинозин-5-монофосфат дают совпадающие масс-спектры в условиях бомбардировки образцов как ионами калия и цезия с энергией от 3,5 до 10 кэВ, так и осколками деления ²⁵²Cf [55]. В условиях лазерной десорбции образование ионов может происходить с участием термических процессов; тем не менее схожие масс-спектры (C₄H₉)₄N⁺I⁻ [239], нуклеотидных оснований [239, 240] и сахарозы [239] получены при облучении твердых продуктов как лазерным лучом малой мощности, так и осколками деления ²⁵²Cf. Почти полностью совпадают спектры сахарозы, зарегистрированные методами ВИИЭ и ЛД [242].

Сходство масс-спектров определяется следующими характеристиками:

1. Основные ионы в спектрах — четноэлектронные частицы. К ним относятся квазимолекулярные ионы (M+H)⁺ и/или (M+Kt)⁺, кластерные ионы (M+H)⁺, (M+Kt)⁺, (M—H+2Kt)⁺; кроме того, в спектрах проявляются нечетноэлектронные осколки (нечетные значения массовых чисел) для соединений состава C_xH_yO_z. Танцывев и Сараев [248] провели сравнение спектров бензола, полученных ионизацией паров и замороженной на подложке твердой пленки под действием пучка атомов. Спектры имели разную интенсивность пиков ионов нечетных масс, которая в условиях ионизации из твердого состояния оказалась существенно выше.

2. Покидающие поверхность ионы органических веществ энергетически стабильны. Внутренняя энергия вторичных частиц мала. Ионизация сопровождается ионно-молекулярными взаимодействиями. В результате

в спектрах, полученных любым из рассмотренных выше методов, проявляются кластерные ионы и продукты их фрагментации.

3. Многоступенчатые распады не характерны для регистрируемых спектров. Только при ионизации методом атомно-ионной эмиссии (с применением «жидкой матрицы») удастся иногда зарегистрировать пики метастабильных ионов [249]. В условиях ионизации из твердого состояния регистрируемые ионы образуются в течение очень короткого промежутка времени — нескольких наносекунд, что делает удобным сочетание этих методов ионизации с время-пролетными анализаторами.

Из рассмотренного сходства масс-спектров можно сделать вывод, что основные процессы образования регистрируемых ионов в рассмотренных методах мало отличаются друг от друга. Тем не менее первоначально предполагалось, что каждый из методов ионизации основан на характерном только для него принципе передачи энергии. Так, например, предполагалось, что пучок тяжелых многозарядных ионов с энергией в десятки МэВ передает импульс материалу подложки главным образом за счет электронного торможения [247], в то время как первичный пучок с энергией в несколько кэВ испытывает торможение за счет взаимодействия с ядрами.

Рассмотрим вопрос о том, почему энергия первичного пучка, масса и зарядовое состояние первичных частиц не оказывают существенного влияния на состав и соотношение вторичных ионов в спектре данного продукта. Общим во всех методах вторичной ионной эмиссии из твердого состояния является сверхбыстрая передача импульса. При бомбардировке образца быстрыми ионами или атомами интервал передачи энергии составляет 10^{-12} с, а при облучении лазерным пучком — 10^{-8} с [37, 51]. Малое время взаимодействия первичного пучка частиц или квантов со слоем исследуемых молекул является той физической основой, на которой можно объединить в одну группу все обсуждаемые методы ионизации. Следствием сверхбыстрой передачи импульса является то, что органические молекулы, находящиеся на поверхности в месте удара, получают, по мнению большинства авторов, небольшую энергию возбуждения. Грубая оценка ее величины в условиях ионизации осколками деления $^{252}\text{Cf}^+$ составляет в среднем 1 эВ [199]. Эта величина подтверждена измерениями, проведенными в работе [250]. Становится понятным, как под действием пучка ионов с энергией, в тысячи и сотни тысяч раз превышающей энергию связи в органических молекулах, удастся получать в неповрежденном виде квазимолекулярные ионы. Теоретические расчеты динамики выбивания ионов органических многоатомных молекул показали, что вероятность вылета неповрежденного молекулярного иона достаточно велика [251—255].

Для объяснения процессов возникновения вторичных ионов при бомбардировке твердой пленки исследуемого соединения пучком быстрых атомов Танцырев и соавторы первыми предложили идею «горячего пятна» [105, 107, 146, 256, 257], которая сводится к следующему: большая часть энергии первичного пучка рассеивается в локализованной области «горячего пятна». В результате каскада столкновений совокупность молекул в активном объеме может быть представлена, как сильно нагретый плотный газ. Размер и глубина «горячего пятна» зависят от характера первичного облучения, но в целом такой механизм объясняет процесс ионообразования в любом из рассматриваемых способов, например [123, 221]. Передача импульса от бомбардирующих частиц атомам или молекулам мишени происходит изотропно, однако в макромолекулах упорядоченного строения (полимерах) этот процесс имеет свои особенности [105, 146], которые здесь обсуждаться не будут.

В активном объеме некоторая доля молекул оказывается в электронно-колебательном возбужденном состоянии, часть из них ионизуется. Образовавшиеся положительные и отрицательные ионы могут без изменения покинуть поверхность. Именно таково, по мнению Беннингховена [51], происхождение ионов, регистрируемых в ВЭИ спектрах. Кукс и соавторы [37, 75, 74, 83] полагают, что такой механизм справед-

лив только для соединений ионной структуры (например, органических солей). При облучении таких соединений «готовые» ионы «разбрызгиваются» в вакуум, при этом не происходит колебательного возбуждения ионов, так как процесс их возникновения похож на адиабатическое расширение в вакуум, сопровождающееся охлаждением. Другая часть ионов, образовавшихся в объеме горячего пятна, имеет возможность за время жизни на поверхности вступить во взаимодействие с окружающими молекулами. Так, по мнению Танцерева, возникают кластерные ионы $(M_n + H)^+$ и $(M_n + Kt)^+$. Эта точка зрения не единственная. Кукс и соавт. [39, 73] предполагают, что кластерные ионы появляются как результат ионно-молекулярных взаимодействий не на поверхности, а в плотном газовом облаке над пятном. Так или иначе, ионно-молекулярные реакции вносят существенный вклад в образование вторичных ионов.

И, наконец, некоторая доля появившихся вторичных ионов способна к мономолекулярным распадам в газовой фазе. Возникающие осколочные ионы делают ВЭИ спектры структурно информативными. Перечисленные три типа ионов, по-видимому, и определяют ионный состав масс-спектров.

* *
*

Развитие новых методов ионизации термически нестабильных соединений за короткий период расширило возможности масс-спектрометрических исследований состава и строения биоорганических соединений. Это в свою очередь, потребовало дальнейшего совершенствования аналитической части приборов, методики получения и обработки масс-спектрометрических данных, а также решения ряда теоретических проблем. Возникла необходимость увеличения диапазона массовых чисел, при одновременном сохранении высокой разрешающей способности и точности определения масс. Сложным оказалось установление брутто-формулы исследуемых соединений (при ММ более 3000) с учетом распределения интенсивностей изотопных пиков квазимолекулярных ионов [258]. Большое значение для правильной интерпретации результатов исследований имеет установление механизмов ионообразования, а также выяснение роли жидкой матрицы в образовании неразрушенных ионов крупных ТНС.

Начаты исследования закономерностей мономолекулярных распадов тяжелых органических ионов при активационных соударениях в условиях тандем-масс-спектрометрии [259]. Рассматриваются возможности сочетания новых методов ионизации со спектроскопией ионно-циклотронного резонанса [260]. Дальнейшее развитие этих направлений безусловно расширит применение масс-спектрометрии в исследованиях биоорганических соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Field F. H. Acc. Chem. Res., 1968, v. 1, p. 42.
2. Beckey H. D. Principles of Field Ionization and Field Desorption Mass Spectrometry. Oxford: Pergamon Press, 1977, p. 335.
3. Розынов Б. В. Масс-спектрометрия в биоорганической химии (применение в анализе аминокислот, пептидов, белков). М.: Изд. ВИНТИ, 1978, с. 177.
4. Schulten H. R. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1979, v. 32, p. 97.
5. Reynolds W. D. Anal. Chem., 1979, v. 51, p. 283A.
6. Stimpson B., Evans C. (Jr.). Biomedical Mass Spectr., 1978, v. 5, p. 52.
7. Добычин С. Л., Мильман Б. Л., Туркина М. Я. Теор. эксперим. химия, 1979, т. 15, с. 429.
8. Murawski S. L., Cook K. D. Anal. Chem., 1984, v. 56, p. 1015.
9. Золотой Н. Б., Карнов Г. В., Тальрозе В. Л., Скупат В. Е., Васюта Ю. В., Рамендик Г. И. Ж. аналит. химии, 1980, т. 35, с. 1781.
10. Золотой Н. Б., Карнов Г. В., Скупат В. Е. Хим. физика, 1982, с. 575, 893.
11. Giessmann U., Röllgen F. W. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1981, v. 38, p. 267.
12. Dole M., Mack L. L., Hines R. L., Mobley R. C., Ferguson L. D., Alice M. B. J. Chem. Phys., 1968, v. 49, p. 2240.
13. Mack L. L., Kralik P., Pheude A., Dole M. Ibid., 1970, v. 52, p. 4977.
14. Clegg G. A., Dole M. Biopolymers, 1971, v. 10, p. 821.

15. Thomson B. A., Iribarne J. V., Dziedzic P. J. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 2219.
16. Iribarne J. V., Dziedzic P. J., Thomson B. A. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 1983, v. 50, p. 331.
17. Kambara H. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 143.
18. Tsuchiya M., Taira T. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1980, v. 34, p. 351.
19. Tsuchiya M. *Anal. Chem.*, 1984, v. 56, p. 14.
20. Александров М. Л., Галль Л. Н., Краснов Н. В., Николаев В. И., Павленко В. А., Шкуров В. А. Докл. АН СССР, 1984, т. 277, с. 379.
21. Fenselau C. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 105A.
22. Fenselau C., Cotter R. J., Hansen G. E., Chen T., Heller D. N. *J. Chromatogr.*, 1981, v. 218, p. 21.
23. Barber M., Bordoli R. S., Elliott G. J., Sedgwick R. D., Tyler A. N., Green B. N. *Chem. Commun.*, 1982, p. 936.
24. Williams D. H., Bradley C., Bojesen G., Santikarn S., Taylor L. C. E. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 5700.
25. Daves G. D. *Acc. Chem. Res.*, 1979, v. 12, p. 359.
26. Hunsen G., Munson B. *Anal. Chem.*, 1980, v. 52, p. 245.
27. Cotter R. J. *Ibid.*, 1980, v. 52, p. 1589A.
28. Rapp U., Dielmann G., Games D. E. *Proc. VIII Int. Conf. of Mass Spectrometry (Oslo)*. *Adv. Mass Spectrom.*, 1979, v. 8B, p. 1660.
29. Фогель Я. М. *Успехи физ. наук*, 1967, т. 91, с. 75.
30. Черепнин В. Т., Васильев М. А. Вторичная ионно-ионная эмиссия металлов и сплавов. Киев: Наукова думка, 1975, с. 240.
31. Петров Н. Н., Аброян Н. А. Диагностика поверхности с помощью ионных пучков. Л.: Изд. ЛГУ, 1977, с. 160.
32. Мак-Хью И. А. В сб.: *Методы анализа поверхностей*. М.: Мир, 1979, с. 276.
33. Вернер Г. В. кн.: *Электронная и ионная спектроскопия твердых тел*. М.: Мир, 1981, с. 345.
34. Benninghoven A. *Surface Sci.*, 1973, v. 35, p. 427.
35. Benninghoven A. *Ibid.*, 1975, v. 53, p. 596.
36. Benninghoven A. *U. S. Dep. Commer. Nat. Bur. Stand. Spec. Publ.*, 1979, № 519, p. 627.
37. Day R. J., Unger S. E., Cooks R. G. *Anal. Chem.*, 1980, v. 52, p. 557A.
38. Benninghoven A., Jaspers D., Sichtermann W. K. *Appl. Phys.*, 1976, v. 11, p. 35.
39. Танцырев Г. Д., Николаев Е. Н. Письма в ЖЭТФ, 1971, т. 13, с. 473.
40. Benninghoven A., Jaspers D., Sichtermann W. K. *Adv. Mass Spectr.*, 1980, v. 7B, p. 1433.
41. Benninghoven A., Sichtermann W. K. *Org. Mass. Spectr.*, 1977, v. 12, p. 595.
42. Benninghoven A., Sichtermann W. K. *Anal. Chem.*, 1978, v. 50, p. 1180.
43. Eicke A., Sichtermann W., Benninghoven A. *Org. Mass Spectr.*, 1980, v. 15, p. 289.
44. Eicke A., Anders V., Junack M., Sichtermann W., Benninghoven A. *Anal. Chem.*, 1983, v. 55, p. 178.
45. Gardella J. A., Hercules D. M. *Ibid.*, 1980, v. 52, p. 226.
46. Smith R. D., Burger J. E., Johnson A. L. *Ibid.*, 1981, v. 53, p. 1603.
47. Sichtermann W., Benninghoven A. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 40, p. 177.
48. Sigsby M. K., Day R. J., Cooks R. G. *Org. Mass Spectr.*, 1979, v. 14, p. 273.
49. Sigsby M. K., Day R. J., Cooks R. G. *Ibid.*, 1979, v. 14, p. 556.
50. Colton R. J., Ganjei J. D., Murday J. S., De Corpo J. J. In: *Secondary Ion Spectroscopy (SIMS II)*/Ed. by A. Benninghoven. Berlin—New York: Springer Verlag, 1979, p. 130.
51. Benninghoven A. *Trends in Anal. Chem.*, 1982, v. 1, p. 311.
52. Benninghoven A. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1983, v. 53, p. 85.
53. Sichtermann W., Junck M., Eicke A., Benninghoven A. *Z. anal. Chem.*, 1980, B. 301, S. 115.
54. Klöppel K. D., Von Bünaу G. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 39, p. 85.
55. Ens W., Standing K. G., Chait B. T., Field F. H. *Anal. Chem.*, 1981, v. 53, p. 1241.
56. Ens W., Standing K. G., Westmore J. B., Nemer O. *Ibid.*, 1982, v. 54, p. 960.
57. Beavis R., Ens W., Standing K. G., Westmore J. B. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1983, v. 46, p. 471.
58. Grade H., Winograd N., Cooks R. G. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1977, v. 99, p. 7725.
59. Grade H., Cooks R. G. *Ibid.*, 1978, v. 100, p. 5615.
60. Colton R. J., Murday J. S., Wyatt J. R., De Corpo J. J. *Surface Sci.*, 1979, v. 84, p. 235.
61. De Corpo J. J., Colton R. J., Murday J., Saalfeld F. E. *Adv. Mass Spectr.*, 1980, v. 8A, p. 522.
62. Posthumus M. A., Kistemaker P. G., Meuzelaar L. C. *Anal. Chem.*, 1978, v. 50, p. 985.
63. Chait B. T., Standing K. G. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 40, p. 185.
64. Day R. J., Unger S. E., Cooks R. G. *Anal. Chem.*, 1980, v. 52, p. 353.
65. Day R. J., Unger S. E., Cooks R. G. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1979, v. 101, p. 499.
66. Pierce J. L., Busch K. L., Cooks R. G. *Inorg. Chem.*, 1982, v. 21, p. 2597.
67. Unger S. E., Schoen A. E., Cooks R. G., Ashworth D. J., Gomes J. D., Chang-jer-Ching. *J. Org. Chem.*, 1981, v. 46, p. 4765.
68. Sichtermann W., Benninghoven A. In: *Secondary Ion Mass Spectroscopy (SIMS II)*/Ed. by A. Benninghoven. Berlin—New York: Springer Verlag, 1979, p. 142.
69. Kambara H., Hishida S. *Org. Mass. Spectr.*, 1981, v. 16, N 4, p. 167.
70. Kambara H., Hishida S. *Anal. Chem.*, 1981, v. 53, p. 2340.

71. Kambara H. *Org. Mass Spectr.*, 1982, v. 17, p. 29.
72. Harada K., Suzuki M., Kambara H. *Ibid.*, 1982, v. 17, p. 386.
73. Liu L. K., Busch K. L., Cooks R. G. *Anal. Chem.*, 1981, v. 53, p. 109.
74. Unger S. E., Day R. J., Cooks R. G. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 39, p. 231.
75. Unger S. E., Liu L. K., Cooks R. G. *Tetrahedron*, 1981, v. 37, p. 1067.
76. Ashworth D. J., Ching-jer-Chang, Unger S. E., Cooks R. G. *J. Org. Chem.*, 1981, v. 46, p. 4770.
77. Harada K., Occhiai F., Suzuki M., Kambara H. *Org. Mass Spectr.*, 1983, v. 12, p. 447.
78. Kambara H., Hishida S., Naganawa H. *J. Antibiot.*, 1982, v. 35, № 1, p. 67.
79. Kambara H., Hishida S., Naganawa H. *Org. Mass Spectr.*, 1982, v. 17, p. 67.
80. Hunt D. F., Bone W. M., Shabanowitz J., Rhodes J., Ballard J. M. *Anal. Chem.*, 1981, v. 53, p. 1704.
81. Unger S. E., Ryan T. M., Cooks R. G. *Anal. Chim. Acta*, 1980, v. 118, p. 169.
82. Ullman K. *Mikrochim. Acta* (Wien), 1979, v. 1, № 3—4, p. 221.
83. Day R. J., Unger S. E., Cooks R. G. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1979, v. 101, p. 501.
84. Unger S. E., Ryan T. M., Cooks R. G. *Surf. Interface Anal.*, 1981, v. 3, p. 12.
85. Unger S. E., Vincze A., Cooks R. G., Chrisman R., Rothman L. D. *Anal. Chem.*, 1981, v. 53, p. 976.
86. Ryan T. M., Day R. J., Cooks R. G. *Ibid.*, 1980, v. 52, p. 2054.
87. Vincze A., Busch K. L., Cooks R. G. *Anal. Chim. Acta*, 1982, v. 136, p. 143.
88. Busch K. L., Unger S. E., Vincze A., Cooks R. G., Keough T. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1982, v. 104, p. 1507.
89. Busch K. L., Cooks R. G. *Scienc.*, 1982, v. 218, p. 247.
90. Tamaki S., Benninghoven A., Sichtermann W. In: *Secondary Ion Mass Spectroscopy (SIMS II)*/Ed. by A. Benninghoven. Berlin—New York: Springer Verlag, 1979, v. 9, № 4, p. 127.
91. Benninghoven A., Sichtermann W. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 38, p. 351.
92. Benninghoven A., Eicke A., Junack M., Sichtermann W., Krizek J., Peters H. *Org. Mass Spectr.*, 1980, v. 15, p. 459.
93. Benninghoven A. In: *Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS III) Proc. III Int. Conf.* (Budapest, 1981). Berlin: Springer, 1982, p. 444.
94. McNeal C. J. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 43A.
95. Barber M., Bordoli R. S., Elliott G. J., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 645A.
96. Burlingame A. L. In: *Ion Formation in Organic Solids*/Ed. by A. Benninghoven. Berlin: Springer-Verlag, 1983, p. 167.
97. Grotjahn L., Frank R., Blocker H. *Nucleic Acids Res.*, 1982, v. 10, p. 467.
98. Morris H. R., Dell A., Etinne A. T., Judkin M., McDowell R. A., Panico M., Taylor G. W. *Pure Appl. Chem.*, 1982, v. 54, p. 267.
99. Танцырев Г. Д., Клейменов Н. А. Докл. АН СССР, 1973, т. 213, с. 649.
100. Танцырев Г. Д., Николаев Е. Н. Тез. докл. II Всесоюз. конф. по масс-спектро-
скопии. Л., 1974, с. 211.
101. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И. *Химия высоких энергий*, 1975, т. 9, с. 380.
102. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Клейменов Н. А., Бравая Н. М. *Высокомолек.
соед.*, 1976, т. 18А, с. 2218.
103. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Клейменов Н. А. Там же, 1977, т. 19А, с. 2057.
104. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И. Взаимодействие атомных частиц с твердым
телом, ч. 1. Киев: Наукова думка, 1974, с. 219.
105. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И. Взаимодействие атомных частиц с твердым
телом, ч. 3. Харьков: Наукова думка, 1976, с. 18.
106. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Скурят В. Е. *Ж. аналит. химии*, 1979, с. 964.
107. Танцырев Г. Д., Николаев Е. Н. Вторичная ионная и фото-фотонная эмиссия.
Харьков, 1980, с. 39.
108. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Сараев В. А. *Хим. физика*, 1983, т. 2, с. 804.
109. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Сараев В. А. *Хим. физика*, 1984, т. 3, с. 366.
110. Танцырев Г. Д., Поволоцкая М. И., Сараев В. А. *Биоорганич. химия*, 1984, т. 10,
с. 848.
111. Tantsyrev G. D. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1983, v. 49, p. 223.
112. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Chem. Commun.*, 1981, p. 325.
113. Surman D. J., Vickerman J. C. *Ibid.*, 1981, p. 324.
114. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Teller L. W. *Ibid.*, 1981, v. 16, p. 256.
115. Morris H. R., Panico M., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1981, v. 101, p. 623.
116. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N., Bychcroft G. W. *Ibid.*, 1981,
v. 101, p. 632.
117. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N., Garner G. V. *Nature*, 1981,
v. 293, p. 270.
118. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Biomed. Mass Spectr.*, 1982,
v. 9, № 6, p. 265.
119. Barber M., Bordoli R. S., Garner G. V., Gordon D. B., Sedgwick R. D., Tetler L. W.,
Tyler A. N. *Biochem. J.*, 1981, v. 197, p. 401.
120. Rinehart K. L. Jr., Gandioso L. O., Moore M. L., Barber M., Pandey R. C., Cock J. C.,
Sedgwick R. D., Bordoli R. S., Tyler A. N. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 6517.
121. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Biomed. Mass Spectr.*, 1982,
v. 9, № 5, p. 208.
122. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. *Ibid.*, 1981, v. 8, p. 492.

123. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Vickerman J. C. J. Chem. Soc., Faraday Trans. I, 1982, v. 78, p. 1291.
124. Monaghan J. J., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. Org. Mass Spectr., 1983, v. 18, p. 75.
125. Monaghan J. J., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. Ibid., 1982, v. 17, p. 529.
126. Monaghan J. J., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N. Ibid., 1982, v. 17, p. 569.
127. Dell A., Hider R. C., Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N., Neilands J. B. Biomed. Mass Spectr., 1982, v. 9, № 4, p. 158.
128. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D., Tyler A. N., Whalley E. T. Biomed. Mass Spectr., 1981, v. 8, p. 337.
129. Barber M., Bordoli R. S., Elliott G. J., Fujimoto D., Scott J. E. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1981, v. 101, p. 623.
130. Williams D. H., Bojesen G., Auffret A. D., Taylor L. C. E. FEBS Letters, 1981, № 128, p. 37.
131. Grigsby R. D., Scheppele S. E., Grindstaff O. G., Sturm G. P., Tudge H., Taylor L. C. E., Wakfield C., Evans S. Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 1108.
132. Williams D. H., Bradley C. V., Santikarn S., Bojesen G. Biochem. J., 1982, v. 201, p. 105.
133. Schwarz H., Eckart K., Taylor L. C. E. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 458.
134. Isaac R. E., Rose M. E., Rees H. H., Goodwin T. W. Chem. Commun., 1982, p. 249.
135. Fenwick G. R., Eagles J., Self R. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 544.
136. Feng P. C. C., Fenselau C. C., Jacobson R. R. Drag. Metab. Dispos., 1981, v. 9, p. 521.
137. Vu V. T., Fenselau C. C., Colvin O. M. J. Amer. Chem. Soc., 1981, v. 103, p. 7362.
138. Murphy R. C., Mathews W. R., Rokach J., Fenselau C. Prostaglandins, 1982, v. 23, № 2, p. 201.
139. Greef J., Ten M. C., Braun N., Zwinselman J. J., Niblering N. M. M. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 274.
140. Aubagnac J. L., Devienne F. M. Ibid., 1983, v. 18, p. 173.
141. Baldwin M. A., Carter D. M., Welham K. J. Ibid., 1983, v. 18, p. 176.
142. Ligon W. V. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1982, v. 41, p. 205.
143. Devienne F. M., Roustan J. C. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 173.
144. Aubagnac J. L., Devienne F. M., Combarien R. Ibid., 1982, v. 17, p. 621.
145. Colton R. J. J. Вакuum Sci. Technol., 1981, v. 18, p. 737.
146. Танцырев Г. Д. В сб.: Диагностика поверхности ионными пучками. Ужгород, 1977, с. 76.
147. Stoll R., Schade U., Röhlgen F. W., Giessmann U., Barofsky D. F. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1982, v. 43, p. 227.
148. Ross G. R., Heideger W. V. J. Chem. Eng. Data, 1962, v. 7, p. 505.
149. Surmann D. J., Vickerman J. C. J. Chem. Res. (S), 1981, p. 170.
150. Goad L. G., Prescott M. C., Rose M. E. Org. Mass Spectr., 1984, v. 19, p. 101.
151. Rinehart K. L. Science, 1982, v. 218, p. 254.
152. Танцырев Г. Д., Николаев Е. Н. Докл. АН СССР, 1972, т. 206, с. 151.
153. Field F. H. J. Phys. Chem., 1982, v. 86, p. 5115.
154. Barber M., Bordoli R. S., Elliott G. J., Sedgwick R. D., Tyler A. J. Chem. Soc., Faraday Trans. I, 1983, v. 79, p. 1249.
155. Barofsky D. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1983, v. 53, p. 319.
156. Haroda K., Suzuki M., Tokeda N., Tatematsu A., Kambara H. J. Antibiotics, 1982, v. 35, p. 102.
157. Aberth W., Straub K., Burlingame A. L. Anal. Chem., 1982, v. 54, p. 2029.
158. Cooks R. G. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1983, v. 53, p. 111.
159. Morgan R. P., Reed M. L. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 537.
160. Koenig W. A., Aydin M., Schulze U., Rapp U., Hoehn M., Pesch R., Kalikhvitch V. N. Int. J. Mass Spectr. Ion Phys., 1983, v. 46, p. 403.
161. Caprioli R. M., Smith L. A., Beckner C. F. Ibid., 1983, v. 46, p. 419.
162. Heerma W., Kamerling J. P., Slotboom A. J., Van Scharrenburg G. J. M., Green B. N., Lewis I. A. S. Biomed. Mass Spectr., 1983, v. 10, p. 13.
163. Dell A., Morris H. R., Ecce H., Nicolai H., Strecker G. Carbohydr. Res., 1983, v. 115, p. 41.
164. Forsberg L. S., Dell A., Walton D. J., Ballon C. E. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, p. 3555.
165. Reinhold V. N., Carr S. A. In: Abstr. 30th Annu. Conf. Mass Spectrometry (Allied Topics). Honolulu, 1982, p. 730.
166. Murphy R. C., Clay K. L. Ibid., p. 390.
167. Cars S. A., Reinhold V. W. Ibid., p. 728.
168. Fenselau C., Yu V. T., Colter R. J., Hansen G., Heller D., Chen T., Colvin O. M. Spectr. Int. J., 1982, v. 1, p. 132.
169. May H. E., Desidario D. M. Chem. Commun., 1983, p. 72.
170. Fenwick G. R., Eagles J., Self R. Org. Mass Spectr., 1982, v. 17, p. 544.
171. Dell A., Morris H. R., Levin M. D., Hecht S. M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1981, v. 102, p. 730.
172. Garner G. V., Gordon D. B., Tetler L. W. Org. Mass Spectr., 1983, v. 18, p. 486.
173. De Pauw E. Anal. Chem., 1983, v. 55, p. 2195.
174. Caprioli R. Ibid., 1983, v. 55, p. 2387.

175. Fenselau C., Vergey J., Heller D. *Int. J. Mass Spectr.*, 1983, v. 53, p. 5.
176. Düeck P., Treu W., Galster W., Fröehlich H., Voit H. *Nucl. Instrum. Methods*, 1980, v. 168, p. 601.
177. Düeck P., Treu W., Fröehlich H., Glaster W. *Surface Sci.*, 1980, v. 95, p. 603.
178. Albers A., Wien K., Düeck P., Treu W., Voit H. *Nucl. Instrum. Methods*, 1982, v. 198, p. 69.
179. Düeck P., Fröehlich H., Bischof N., Voit H. *Ibid.*, 1982, v. 198, p. 39.
180. Düeck P., Fröehlich H., Treu W., Voit H. *Ibid.*, 1981, v. 191, p. 245.
181. Hakansson P., Kamensky J., Sundqvist B. *Surface Sci.*, 1982, v. 116, p. 302.
182. Hakansson P., Kamensky J., Sundqvist B., Fohlman J., Peterson P., McNeal C. J., Macfarlane R. D. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, v. 104, p. 2948.
183. Torgerson D. F., Skowronski R. P., Macfarlane R. D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, v. 60, p. 616.
184. Macfarlane R. D., Torgerson D. F. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1976, v. 21, p. 81.
185. Macfarlane R. D., Torgerson D. F. *Science*, 1976, v. 191, p. 920.
186. Becker O., Fürstenau N., Krueger F. R., Weiss G., Wein K. *Nucl. Instrum. Methods*, 1976, v. 139, p. 195.
187. Иосихара Кэндзи. Караку то коре, 1979, т. 32, с. 625.
188. Becker O., Fürstenau N., Kneppelberg V. N. *Org. Mass Spectr.*, 1977, v. 12, p. 461.
189. Krueger F. R. *Chromatographia*, 1977, v. 10, № 3, p. 151.
190. McNeal C. J., Macfarlane R. D., Thurston E. L. *Anal. Chem.*, 1979, v. 51, p. 2036.
191. Krueger F., Wien K. *Adv. Mass Spectr.*, 1978, v. 7B, p. 1429.
192. Macfarlane R. D. In: *Biochemical Applied Mass Spectrometry*, v. 1, Ed. by G. R. Waller, O. C. Dermer. New York, 1980, p. 1209.
193. Fürstenau N. Z. *Naturforsch.*, 1978, B. 33a, S. 563.
194. Danigel H., Macfarlane R. D. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 39, p. 157.
195. Chait B. T., Field F. H. *Ibid.*, 1981, v. 41, p. 17.
196. McNeal C. J., Ogivie K. K., Theriault N. Y., Nemer M. J. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, v. 104, p. 972.
197. McNeal C. J., Ogivie K. K., Theriault N. Y., Nemer M. J. *Ibid.*, 1982, v. 104, p. 976.
198. McNeal C. J., Ogivie K. K., Theriault N. Y., Nemer M. J. *Ibid.*, 1982, v. 104, p. 981.
199. Krueger F. Z. *Naturforsch.*, 1977, B. 32a, S. 1084.
200. Krueger F. *Surface Sci.*, 1979, v. 86, p. 246.
201. Chait B. T., Agosta W. C., Field F. H. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1981, v. 39, p. 339.
202. McNeal C. J., Narang S. A., Macfarlane R. D., Hsiung H. M., Brousean R. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, v. 77, p. 735.
203. Le Beyec Y., Nagra S. D., Deprun C., Vigry P., Ginot Y. M. *Rev. Phys. Appl.*, 1980, v. 15, p. 1631.
204. Hunt J. J., Macfarlane R. D., Katz J. J., Dugherty R. C. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 6775.
205. Chait B. T., Field F. H. *Ibid.*, 1982, v. 104, p. 5519.
206. Chait B. T., Gisin B. F., Field F. H. *Ibid.*, 1982, v. 104, p. 5157.
207. Macfarlane R. D., Uemura D., Ueda K., Hirata Y. *Ibid.*, 1980, v. 102, p. 875.
208. Uemura D., Ueda K., Hirata Y., Naoki H., Iwashita T. *Tetrahedron Letters*, 1981, v. 22, p. 8781.
209. Nakanishi K., Occolowitz J. L. *Phil. Trans. Roy. Soc. (London)*, A, 1979, v. 293, p. 3.
210. McNeal C. J., Macfarlane R. D. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 1609.
211. Junglas H., Danigel H., Schmidt L., Dellbrugge J. *Org. Mass. Spectr.*, 1982, v. 17, p. 499.
212. Honig R. E., Woolston J. R. W. *Appl. Phys. Letters*, 1969, v. 2, p. 138.
213. Vastola F. J., Mumma R. O., Pirone A. J. *Org. Mass Spectr.*, 1970, v. 3, p. 101.
214. Mumma R. O., Vastola F. J. *Ibid.*, 1972, v. 6, p. 1373.
215. Ready J. R. In: *Effects of High-Power Laser Radiation*, New York: Acad. Press, 1971, p. 12.
216. Danigel H., Junglas H., Schmidt L. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1983, v. 52, p. 223.
217. Usnöld E., Hillenkamp F., Renner G., Nitsche R. *Adv. Mass Spectr.*, 1978, v. 7B, p. 1425.
218. Быковский Ю. А. Тр. VI Всесоюзн. совещ. по ускорителям заряженных частиц, т. 2. Дубна, 1979, с. 93.
219. Conzemius R. J., Capellen J. M. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1980, v. 34, p. 197.
220. Kistemaker P. G., Van der Peyl G. J. Q., Isa K., Haverkamp J. *Ion Formation from Organic Solids. In series: Chemical Physics*, New York: Springer Verlag, 1981.
221. Van der Peyl G. J. Q., Isa K., Haverkamp J., Kistemaker P. G. *Org. Mass Spectr.*, 1981, v. 16, p. 416.
222. Van der Peyl G. J. Q., Isa K., Haverkamp J., Kistemaker P. G. *Int. J. Mass Spectr. Ion Phys.*, 1982, v. 42, p. 125.
223. Röllgen F. W., Giessman U., Shulten H. R. *Adv. Mass Spectr.*, 1978, v. 7B, p. 1419.
224. Kistemaker P. G., Lens M. M. J., Van der Peyl G. J. Q., Boerboom A. J. H. *Adv. Mass Spectr.*, 1980, v. 8A, p. 928.
225. Boerboom A. J., Kistemaker P. G., Posthumus M. A., Meuzelaas M. L. *Dynam. Mass Spectr.*, 1980, v. 5, p. 114.
226. Heresch F., Schmid E. R., Huber J. F. K. *Anal. Chem.*, 1980, v. 52, p. 1803.
227. Hardin E. D., Vestal M. L. *Ibid.*, 1981, v. 53, p. 1492.
228. Krueger F. R., Schueler B. *Adv. Mass. Spectr.*, 1980, v. 8A, p. 918.

229. Schueler B., Krueger F. R. *Org. Mass Spectr.*, 1980, v. 15, p. 295.
230. Schueler B., Fiegel P., Krueger F., Hillenkamp F. *Org. Mass Spectr.*, 1981, v. 16, p. 502.
231. McCrery D. A., Ledford E. B., Gross J. M. L. *Anal. Chem.*, 1982, v. 54, p. 1435.
232. Schulten H. R., Monkhous P. B., Müller R. *Ibid.*, 1982, v. 54, p. 654.
233. Schueler B., Krueger F. R. *Org. Mass Spectr.*, 1979, v. 14, p. 439.
234. Isa K., Van der Peyl G. J. Q., Kistemaker P. G., Haverkamp J. *Mass Spectroscopy (Japan)*, 1982, v. 30, № 3, p. 205.
235. Cotter R. J. *Anal. Chem.*, 1984, v. 56, p. 485 A.
236. Zandle L., Bernstein R. B. *J. Chem. Phys.*, 1979, v. 70, p. 2574.
237. Daves G. D., Lee T. D., Anderson W. R., Barofsky D. F., Massey G. A., Johnson J. C., Pincus P. A. *Adv. Mass Spectr.*, 1980, v. 8A, p. 1012.
239. Kupka K. D., Hillenkamp F., Schiller C. *Ibid.*, 1980, v. 8A, p. 942.
239. Isa K., Kusunoki L., Kodera K. *J. Appl. Phys., Suppl.*, 1974, v. 2, part 2, p. 583.
240. Krueger F. R. *J. Appl. Surface Sci.*, 1982, v. 11—12, p. 819.
241. Heinen H. J., Meier S., Vogt H., Wechsung R. *Adv. Mass Spectr.*, 1980, v. 8A, p. 342.
242. Zakett D., Schoen A. E., Cooks R. G., Hemberger P. H. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 1295.
243. Cotter R. J. *Anal. Chem.*, 1980, v. 52, p. 1767.
244. Stoll R., Rollgen F. W. *Org. Mass Spectr.*, 1979, v. 14, p. 642.
245. Антонов В. С., Летохов В. С., Матвеев Ю. А., Шибанов А. Н. *Поверхность*, 1982, № 12, с. 54.
246. Antonov V. S., Letokov V. S., Matveyetz Yu. A., Shibano A. N. *Laser Chem.*, 1982, v. 1, p. 37.
247. Kloeppel K. D. In: *Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS III)*. Proc. III Int. Conf. Berlin: Springer, 1982, p. 159.
248. Танцырев Г. Д., Сараев В. А. В сб.: *Вторичная ионная и ионно-фотонная эмиссия*. Харьков, 1980, с. 73.
249. Малахов К. В., Туркина М. Я., Добычин С. Л. *Ж. орг. химии*, 1985, в печати.
250. Furstenu N., Knippelberg N., Krueger F. R., Weiss G., Wien K. *Z. Naturforsch.*, 1977, B. 32a, S. 711.
251. Murray T. P., Rabalais J. W. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, v. 103, p. 1007.
252. Garrison B. J. *Ibid.*, 1982, v. 104, p. 6211.
253. Garrison B. J. *Ibid.*, 1983, v. 105, p. 373.
254. Heyes D. M., Barber M., Clarke J. H. *Surface Sci.*, 1981, v. 105, p. 225.
255. Garrison B. J. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1980, v. 102, p. 6553.
256. Николаев Е. Н., Танцырев Г. Д., Сараев В. А. *Ж. технич. физики*, 1976, т. 46, с. 2184.
257. Танцырев Г. Д. VII Междунар. конф. по атомным столкновениям в твердом теле, ч. 2. М., 1977, с. 376.
258. Yergey J., Heller D., Hansen G., Cotter R., Fenselau C. *Anal. Chem.*, 1983, v. 55, p. 353.
259. Amster I. J., Badwin M. A., Cheng M. T., Proctor C. J., McLafferty F. W. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1983, v. 105, p. 1654.
260. Castro M. E., Russell D. H. *Anal. Chem.*, 1984, v. 56, p. 578.

Институт аналитического приборостроения, Ленинград