

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**имени М.В. ЛОМОНОСОВА**  
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

*На правах рукописи*



Мазур Дмитрий Михайлович

**УСТАНОВЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В  
ИНДИВИДУАЛЬНОМ ВИДЕ И СМЕСЯХ СОВРЕМЕННЫМИ МЕТОДАМИ  
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

02.00.03 – органическая химия

02.00.02 – аналитическая химия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель  
профессор, д.х.н. Лебедев Альберт Тарасович

Москва – 2017

## Оглавление

1. Введение.....	4
2. Обзор литературы.....	11
2.1. Масс-спектрометрия и целевой анализ экотоксикантов в пробах осадков.....	13
2.2. Масс-спектрометрический нецелевой анализ проб природных объектов.....	18
2.3. Методы масс-спектрометрии, использованные в исследовании.....	39
2.3.1. Современные возможности метода газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС).....	38
2.3.1.1. Масс-спектрометрия высокого разрешения для ГХ/МС.....	40
2.3.1.2. Альтернативные методы ионизации для ГХ/МС. Ионизация в тлеющем разряде.....	41
2.3.1.3. Метод двумерной газовой хроматографии в сочетании с масс- спектрометрией (ГХ×ГХ/МС).....	42
2.3.2. Возможности метода масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС-ИЦР ПФ) .....	44
3. Экспериментальная часть.....	48
3.1. Анализ индивидуальных синтетических органических соединений.....	48
3.1.1. Анализ региоизомерных <i>транс</i> -3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов методом ГХ/МС.....	48
3.1.2. Анализ изомерных N-арилциклопропанкарбоксамидов и N- арилпирролидинонов-2 методом ГХ/МС.....	48
3.1.3. Анализ изомерных 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3- триазолов методом МСВР с ИЭР.....	49
3.2. Улучшение проподготовки при анализе органических соединений методом ГХ/МС. Метод ускоренной пробоподготовки при анализе проб воды окружающей среды.....	50
3.3. Анализ проб снега и конденсата воды из облаков методами масс-спектрометрии.....	52
3.3.1. Анализ методом ГХ/МС.....	53
3.3.2. Анализ методом МС-ИЦР ПФ.....	55
4. Обсуждение результатов.....	57
4.1. Установление структур изомеров методами масс-спектрометрии.....	57

4.1.1. Изомерные 4-аминопиперидин-3-олы и 3-аминопиперидин-4-олы.....	57
4.1.2. Установление направления изомеризации производных фенилциклопропанов в условиях ЭИ.....	63
4.1.3. Установление структур и взаимных переходов изомерных гетероциклических соединений в условиях ионизации электрораспылением.....	71
4.1.3.1. (+)ИЭР-МС/МС изучение 4,5-функционализированных 1,2,3- тиадиазолов и 1,2,3-триазолов. Моделирование реакции изомеризации в присутствии кислоты.....	73
4.1.3.2. (-)ИЭР-МС/МС изучение 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов. Моделирование реакции изомеризации в присутствии основания.....	77
4.2. Классический ГХ/МС анализ объектов окружающей среды.....	79
4.2.1. Целевой поиск приоритетных экотоксикантов.....	79
4.2.1.1. Углеводороды.....	80
4.2.1.2. Полихлорированные бифенилы (ПХБ).....	83
4.2.1.3. Диалкиловые эфиры фталевой кислоты (фталаты) .....	84
4.2.1.4. Фенолы.....	86
4.2.2. Нецелевой поиск.....	86
4.3. Метод ускоренной проподготовки при при анализе проб воды окружающей среды методом ГХ/МС.....	90
4.4. Использование масс-спектрометрии высокого разрешения при анализе природных проб (ГХ/МСВР).....	96
4.4.1. Целевой поиск методом ГХ/МСВР.....	96
4.4.2. Нецелевой поиск методом ГХ/МСВР.....	100
4.4.2.1. Коррекция результатов идентификации библиотечного поиска.....	100
4.4.2.2. Ручная расшифровка масс-спектров ЭИ.....	104
4.5. Применение ГХ×ГХ/МС при анализе природных образцов.....	112
4.6. Использование альтернативного метода ионизации для ГХ/МС.....	118
4.7. Применение метода МС-ИЦР ПФ при анализе образцов снега из Москвы.....	122
4.7.1. Общее описание состава проб снега из Москвы.....	122
4.7.2. Обработка массива данных МС-ИЦР ПФ. Разделение на группы.....	124
4.7.2.1. Группа А1.....	127

4.7.2.2. Группа А2.....	131
4.7.2.3. Группа А3.....	132
5. Выводы.....	135
6. Список литературы.....	136

## 1. Введение

Две основные составные части органической химии – синтез и анализ. Безусловно, основное направление связано с поисками новых синтетических подходов для создания, удешевления производства новых веществ с заданными свойствами. Однако органической химии не удалось бы добиться столь впечатляющих успехов без параллельного развития методов установления структуры вновь синтезированных или природных соединений. За последние несколько десятилетий были разработаны, усовершенствованы и успешно применены на практике различные методы изучения состава и строения вещества на разных уровнях организации: от атомной и молекулярной до высокомолекулярной и кристаллической структур. Современные исследования в области органической химии уже не обходятся без таких, ставших классическими в обиходе химика органика, методов, как ядерный магнитный резонанс (ЯМР), инфракрасная (ИК) и ультрафиолетовая (УФ) спектроскопия, элементный анализ, различные варианты микроскопии (например, просвечивающая электронная микроскопия – ПЭМ) и, конечно, же совокупность методов хроматографии и масс-спектрометрии. Последний из методов представляет наибольший интерес, поскольку применим едва ли не во всех отраслях современной науки в целом.

Современная масс-спектрометрия – это наиболее надежный, информативный, чувствительный и быстрый аналитический метод. Активное проникновение масс-спектрометрии в органическую химию началось в 1960 годах, когда метод электронной ионизации и газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ/МС) стал успешно использоваться химиками для подтверждения структуры вновь синтезированных соединений. Сейчас список определяемых веществ варьируется от химических элементов до сложных биологических молекул (белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды). Масс-спектрометрия обладает непревзойденной чувствительностью, позволяя работать на уровне фемто-zepto ( $10^{-15}$ – $10^{-21}$ ) молярных количеств анализируемых соединений в образце. Учитывая, что 1 моль – это  $6,022 \cdot 10^{23}$  частиц, то можно сказать, что масс-спектрометрия приближается к абсолютному теоретическому пределу анализа в принципе. Основная информация, которой оперирует масс-спектрометрия – это масса. Однако стоит отметить, что масса – это далеко не единственное, что можно узнать о молекуле с помощью данного метода. Используя масс-спектрометрию высокого

разрешения (МСВР), когда точность измерения массы достигает 4-6 знаков после запятой, становится возможным установить также элементный состав молекулы и всех фрагментных ионов. Тандемная масс-спектрометрия (МС/МС) позволяет получить важные данные о структурных фрагментах молекулы, что в итоге дает возможность установить строение всего соединения. Так, например, методы масс-спектрометрии в ряде случаев позволяют быстро и надежно решить вопрос идентификации изомеров как в индивидуальном виде, так и в смесях. Особенно полезным и ценным это оказывается когда соотнесение сигналов в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , оказывается проблематичным, или когда речь идет о недостаточном для ЯМР эксперимента количестве образца. Другой аспект применения масс-спектрометрии – это моделирование реакций трансформации органических соединений в условиях ионизации в источнике масс-спектрометра [1,2]. Этот подход позволяет прогнозировать направление реакции и выход продуктов в растворе. Установлению структуры молекулы способствует нарастающее количество баз данных, содержащих масс-спектры по классам соединений, методам ионизации или типу фрагментации. Одни из самых распространенных, часто используемых и объемных среди них – это библиотеки электронной ионизации NIST и WILEY.

Важной особенностью масс-спектрометрии является возможность работы со сложнейшими смесями из тысяч соединений без их предварительного разделения. Это может быть и сложная природная матрица (объекты живой природы) и технологическая смесь. Достигается это стыковкой масс-спектрометра с одним из хроматографических методов: газовая (ГХ), высокоэффективная жидкостная (ВЭЖХ), ионная (ИХ), тонкослойная (ТСХ) хроматография, капиллярный электрофорез (КЭ). С простыми смесями успешно справляется и тандемная масс-спектрометрия. В связи с тем, что разница во временах удерживания между компонентами иногда составляет доли секунд, масс-спектрометр получается единственным детектором, способным работать так быстро, при этом, не теряя в информативности. Именно поэтому приборы, совмещающие в себе эти два метода (ГХ/МС, ВЭЖХ/МС), на сегодняшний день являются основными инструментами при анализе многокомпонентных смесей. Одним из современных достижений в развитии метода, совмещающего газовую хроматографию и масс-спектрометрию, стало появление прибора с двумерной газовой хроматографией (ГХ×ГХ/МС). В данном случае речь идет о разделении смеси на двух

колонках различных по природе неподвижной фазы и дальнейшем детектирование компонентов масс-спектрометром.

Одно из **актуальных научных направлений** последнего времени возникло на стыке экологии, органической и аналитической химии. Речь идет о детектировании и установлении структур природных и антропогенных соединений, а также продуктов их трансформации в окружающей среде. При этом масс-спектрометрия является единственным методом, позволяющим устанавливать структуры индивидуальных соединений в многокомпонентных смесях, где количество веществ достигает нескольких сотен, а диапазон их концентраций составляет несколько порядков. Именно в этой области проявились все достоинства масс-спектрометрии, включая скорость, информативность, чувствительность и возможность напрямую работать со сложными смесями самых разнообразных соединений. Новые методы в масс-спектрометрии появляются настолько быстро, что зачастую исследователи, индустрия и вообще пользователи в целом не успевают за таким развитием. В этой работе представлены лишь некоторые последние достижения метода и его возможностей при решении задач установления структур органических соединений в индивидуальном виде и в качестве компонентов сложных смесей.

Одним из основных факторов, способных влиять на здоровье каждого человека, следует рассматривать состояние окружающей среды (качество воздуха, воды, почвы). Качество воздуха среди них является важнейшим и критическим параметром, оказывающим влияние на здоровье населения. Так как воздух в большей степени подвержен загрязнению, важной задачей является мониторинг состояния атмосферы особенно в густонаселенных районах. При этом, если работа всех стандартных лабораторий мониторинга связана с определением очень узкого круга приоритетных, заранее выбранных, экотоксикантов, современная масс-спектрометрия позволяет установить структуры и оценить количество сотен и даже тысяч самых разных органических соединений в пробах. Безусловно, это значительно более весомый вклад в выявлении опасности окружающей среды для здоровья человека и экосистемы в целом. Кроме того, появляется возможность оперативно устанавливать источники новых ксенобиотиков и принимать соответствующие административные решения.

Эффективным подходом (особенно для северных регионов) для сбора данных о загрязнении атмосферы является анализ проб снега весной до наступления активного

периода таяния. Снег является отличной депонирующей матрицей и позволяет сохранять подавляющее большинство даже не очень стойких органических соединений. В результате в руки исследователя попадает проба, содержащая все химические соединения, осевшие из атмосферы на поверхность земли (снега) в зимний период. При проведении обзорного анализа зачастую о пробах окружающей среды мало что известно или неизвестно вообще ничего, то есть образец представляет собой смесь веществ неизвестной природы и происхождения, иными словами «черный ящик». Разобраться в составе такой пробы и постараться идентифицировать максимальное количество веществ под силу только методам масс-спектрометрии с использованием совокупности последних достижений данного метода. **Решение такой задачи, безусловно, актуально и обладает высокой практической значимостью**, поскольку дает представление о составе загрязняющих компонентов воздуха и позволяет оценить возможные риски для экосистемы и здоровья людей.

#### **Цели работы:**

- Разработка масс-спектрометрического метода дифференцирования региоизомерных прекурсоров псевдодистаминов – транс-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов.
- Изучение трансформации N-арилциклопропанкарбоксамидов в соответствующие N-арилпирролидиноны-2 в условиях электронной ионизации – как способ предсказания реакции в растворе.
- Идентификация изомерных 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в условиях электрораспыления и изучение их взаимных превращений для моделирования реакции в растворе.
- Установление структур специфических для Московского региона экотоксикантов методами масс-спектрометрии.
- Разработка наиболее надежной процедуры установления структур индивидуальных органических соединений в многокомпонентных смесях образцов окружающей среды с использованием комплекса масс-спектрометрических методов, включая ГХ/МСВР, мягкие методы ионизации, ГХ×ГХ/МС.
- Установление структур ранее неописанных соединений с использованием закономерностей фрагментации органических веществ в условиях электронной ионизации.



- Установление структур полярных органических веществ в образцах снега Москвы методом МС-ИЦР ПФ и картирование загрязнения атмосферы Москвы.
- Разработка ускоренного метода пробоподготовки для одновременного анализа летучих и полулетучих органических соединений методом ГХ/МС

### **Научная новизна.**

- Впервые разработан масс-спектрометрический метод идентификации и дифференцирования изомерных транс-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов
- Изучен механизм трансформации N-арилциклопропанкарбоксамидов в соответствующие N-арилпирролидиноны-2 в условиях электронной ионизации и в растворе
- Впервые разработан метод тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением для дифференциации изомерных 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов и изучения их взаимной трансформации
- Впервые наиболее полным образом изучен состав органических соединений в снеге в качестве маркера загрязнения атмосферы Москвы в зимний период
- Впервые установлены структуры специфических для Московского региона органических экотоксикантов
- Доказана необходимость использования МСВР при идентификации неизвестных органических веществ в многокомпонентных смесях
- Выработан подход на основе использования совокупности современных методов масс-спектрометрии для установления структур органических соединений в многокомпонентных смесях
- Установлена структура ряда новых ксенобиотиков в образцах окружающей среды
- Разработан новый метод ускоренной пробоподготовки воды для одновременного анализа летучих и полулетучих органических веществ

### **Практическое значение полученных результатов.**

Результаты масс-спектрометрического исследования изомерных органических веществ, приведенные в данной работе, существенно упрощают их обнаружение как в индивидуальном виде, так и в смеси. В частности, масс-спектрометрия показала себя чрезвычайно эффективным методом дифференцирования изомерных транс-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов. Изучение трансформации N-

арилциклопропанкарбоксамидов, 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в условиях масс-спектрометрического анализа позволило детально изучить механизм этих превращений, а также продемонстрировать аналогии с превращениями этих соединений в растворах. Данные по анализу образцов окружающей среды значительно расширили информацию о составе органических соединений в атмосфере города Москвы. Полученные результаты способствовали выявлению приоритетных для атмосферы Москвы соединений, нуждающихся в регулярном мониторинге. Обнаруженная специфика загрязнения органическими веществами различных округов города Москвы и, проведенное на ее основе, картирование может быть использовано для установления источников загрязнения с целью их дальнейшего мониторинга или ликвидации. Разработанная процедура установления структур органических веществ в многокомпонентных смесях будет использоваться в перспективе при изучении состава органических соединений в других объектах окружающей среды. Использование совокупности методов масс-спектрометрии и хроматографии позволило с максимальной достоверностью разобраться в составе сложных многокомпонентных смесей органических веществ как техногенного, так и природного происхождения.

**Личный вклад** автора состоял в подборе и систематизации литературных данных, подготовке и проведении всех экспериментальных этапов масс-спектрометрического анализа проб синтетических веществ, снега и воды (пробоотбор, пробоподготовка, проведение всех упомянутых в работе анализов), обработке полученных экспериментальных данных и их интерпретации, подготовке материалов к публикации и представлении полученных результатов на конференциях. Все исследования, описанные в диссертации, выполнены лично автором или в сотрудничестве с коллегами.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Идентификация изомеров с помощью метода масс-спектрометрии, на примере транс-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов.
2. Масс-спектрометрический метод моделирования превращений изомерных соединений в газовой фазе, на примере трансформации 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в условиях электрораспыления и N-арилциклопропанкарбоксамидов в соответствующие N-арилпирролидиноны-2 в условиях электронной ионизации.

3. Определение наиболее распространенных органических экотоксикантов в пробах снега Москвы и конденсате облаков в районе города Клермон-Ферран (Франция) методом ГХ/МС.
4. Установление структуры специфических и выявление приоритетных для Московского региона органических веществ в пробах окружающей среды.
5. Разработка подхода с использованием комплекса методов масс-спектрометрии для установления структуры органических соединений в многокомпонентных смесях.
6. Картирование загрязнения атмосферы города Москвы по результатам анализа проб снега.

#### **Апробация работы.**

Результаты настоящей работы были представлены на V и VI Всероссийских конференциях с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Московский, Россия, 2013 и 2015 соответственно), 12<sup>ой</sup>, 13<sup>ой</sup>, 14<sup>ой</sup>, 16<sup>ой</sup> и 17<sup>ой</sup> конференциях Европейской ассоциации Химии и Окружающей среды – ЕМЕС (Clermont-Ferrand, France, 2011; Москва, Россия, 2012; Budva, Montenegro, 2013; Turin, Italy, 2015; Inverness, UK, 2016 соответственно), 19<sup>ой</sup> конференции Международного Масс-спектрометрического Общества (Kyoto, Japan, 2012), X Международной конференции Petromass-2014 (Тбилиси, Грузия, 2014), 59<sup>ой</sup>, 61<sup>ой</sup>, 63<sup>ой</sup>, 64<sup>ой</sup>, 65<sup>ой</sup> конференциях Американского Масс-спектрометрического Общества – «Mass Spectrometry and Allied Topics» (Denver, USA, 2011; Minniapolis, USA, 2013; Saint-Louis, USA, 2015; San Antonio, USA, 2016; Indianapolis, USA, 2017 соответственно) и на 6<sup>ой</sup> конференции Бразильского Масс-спектрометрического Общества (Rio de Janeiro, Brazil, 2016).

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 10 статей в индексируемых журналах, 1 глава в сборнике издательства Springer и 15 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

## 2. Обзор литературы

Современные достижения масс-спектрометрии позволяют использовать её для анализа очень разных объектов. Например, ГХ/МС используют для анализа пищевых продуктов, объектов окружающей среды, фармацевтических препаратов, биологических объектов, нефтей и т.д. В целом сами масс-спектрометрические методы аналогичны – это идентификация органических соединений по их масс-спектрам. Разница же заключается в объекте исследования и целевых соединениях. В зависимости от матрицы и целевых соединений разработано множество процедур пробоподготовки, а природа анализируемых соединений при этом определяет выбор конкретного метода масс-спектрометрии, используемого для анализа. Поскольку в данной работе речь идет об идентификации органических веществ в объектах окружающей среды, а именно в водной и снежной матрицах, в литературном обзоре рассмотрены достижения масс-спектрометрии именно в этой области.

При проведении анализа образцов объектов окружающей среды главным лимитирующим фактором является невозможность охвата всего спектра органических загрязняющих веществ различной природы. Это главным образом связано с различной летучестью, растворимостью и полярностью анализируемых веществ. Тем не менее достижения современной масс-спектрометрии открывают перед исследователем широкий ряд возможностей, включая методы пробоподготовки, ввода образца в прибор, ионизации, детектирования и обработки информации. Важнейшей характеристикой для выбора правильного метода анализа является применимость того или иного метода ионизации для целевых аналитов. Универсального метода ионизации не существует, поэтому только путем комбинации различных методов удастся практически полностью захватить все классы веществ (Рисунок. 1).

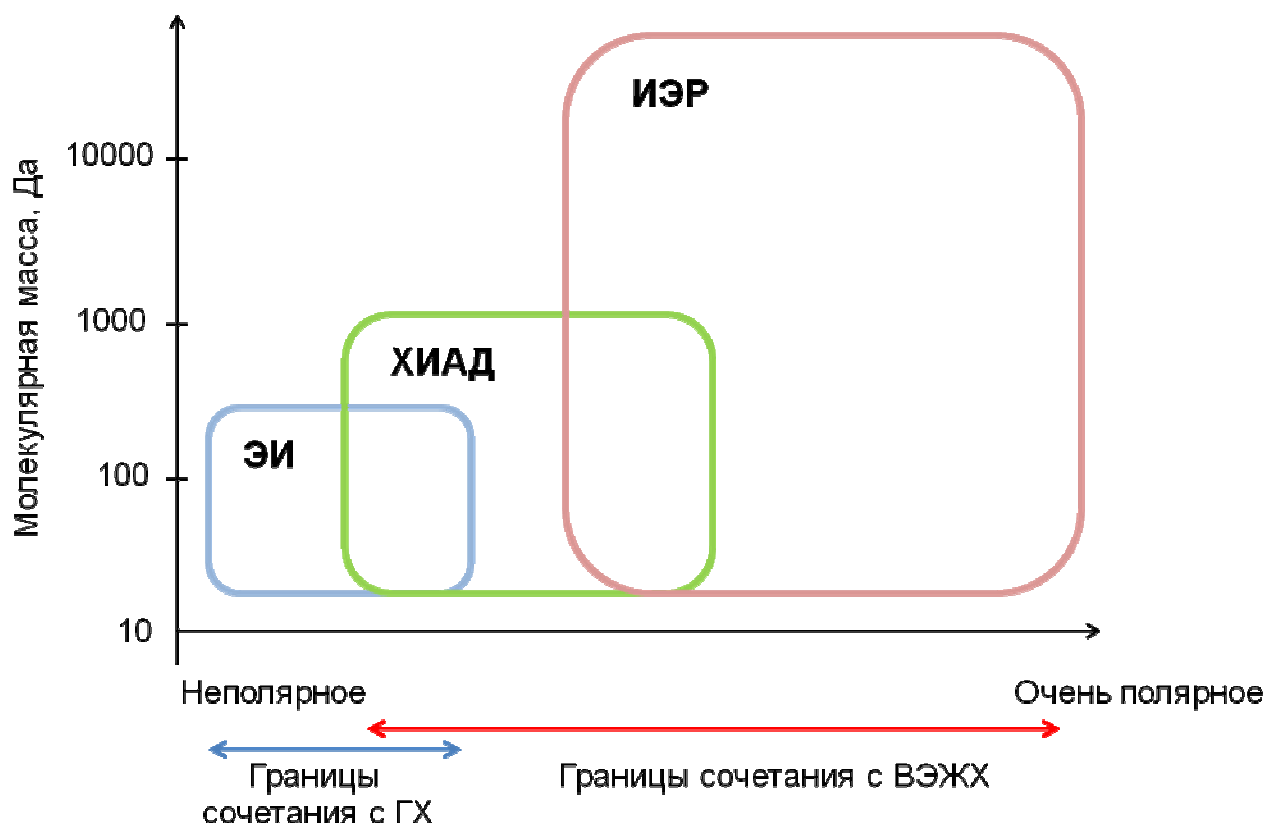


Рисунок.1. Возможности современных методов ионизации в масс-спектрометрии при анализе соединений различной природы (ЭИ – электронная ионизация, ХИАД – химическая ионизация при атмосферном давлении, ИЭР – ионизация электрораспылением).

В связи с обозначенными ограничениями большинство исследований связано с определением заранее выбранного круга веществ. Такой подход получил название – целевой анализ. Суть его заключается в идентификации и дальнейшем количественном анализе соединений по заранее сформированному списку. Для корректного определения метод всегда реализуется с использованием стандартных образцов. Другой подход предусматривает идентификацию соединений в образце, о составе которого неизвестно буквально ничего. Этот подход называется – нецелевой анализ. Суть его заключается в установлении состава компонентов образца настолько всеобъемлюще и достоверно, насколько это возможно. В этом случае, как правило, работают без стандартов, хотя они могут использоваться для проверки правильности установления структур детектированных компонентов. Иногда в исследовании применяются оба подхода. Задачи могут включать установление состояния окружающей среды на определенной

географической территории, изучение трансграничных атмосферных переносов, включая эффект «холодного пальца» [3], составление списка приоритетных экотоксикантов для конкретных промышленных объектов, водоемов, городов и т.д. Для реализации обоих подходов как нельзя лучше подходят различные вариации методов масс-спектрометрии (газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС), высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС) и др.).

Ниже рассмотрены варианты целевого и нецелевого анализа на примере исследования органических загрязнений дождя, снега, природных и сточных вод с использованием масс-спектрометрии, прежде всего с электронной ионизацией, как исторически первого и наиболее популярного до настоящего времени метода экологического контроля.

## 2.1 Масс-спектрометрия и целевой анализ экотоксикантов в пробах осадков

Примером классического целевого анализа осадков является работа [4]. Авторы проанализировали большое число образцов осадков (дождь и снег) в Ганновере, Германия. Определяли *n*-алканы, жирные кислоты, альдегиды, фенолы и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). *n*-Алканы определяли методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ/ПИД), ПАУ – с помощью ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием, альдегиды в виде 2,4-динитрофенилгидразонов – ВЭЖХ с УФ детектором. Жирные кислоты были прометилованы и определялись с помощью ГХ/МС. Наконец, фенолы и нитрофенолы определяли методами ГХ/МС и ВЭЖХ с фотодиодным детектором. В пробах были обнаружены алканы от  $C_{17}H_{36}$  до  $C_{40}H_{82}$ , причем образцы отличались не только по составу алканов, но и по их распределению. Среди жирных кислот доминировали пальмитиновая (*n*-гександекановая) и стеариновая (*n*-октадекановая) кислоты. Более того, результаты показали, что кислоты с четным числом атомов углерода доминировали над кислотами с нечетным числом. Данная картина является типичной для кислот биогенного происхождения. В образцах были также обнаружены фенол, 2-,3-,4-метилфенолы и изомеры диметилфенолов. Фенол среди них оказался доминирующим компонентом. Относительно высокие концентрации были обнаружены для 2,4-

динитрофенола и 3-метил-4-нитрофенола. Среди ПАУ преобладал флуорантен, в то время как канцерогенный бенз[а]пирен присутствовал в концентрациях на порядок ниже. Увеличение средней концентрации ПАУ в течение холодного периода было прогнозируемо, так как оно связано со сжиганием топлива и меньшей фотохимической деградацией в зимний период.

Alber и др. посвятили свое исследование важному классу экотоксикантов – нитрофенолам [5]. Нитрофенолы и особенно динитрофенолы являются токсичными веществами, которые ингибируют окислительное фосфорилирование в организмах [6]. 2-Нитрофенол, 4-нитрофенол, 2,4-динитрофенол и 4,6-динитро-2-метилфенол включены в список приоритетных загрязняющих веществ Агентства по охране окружающей среды США (US EPA). Высокие концентрации нитрофенолов, обнаруженные в осадках, вызваны фотохимическими реакциями ароматических углеводородов с  $\text{NO}_x$  и  $\text{OH}$ -радикалами [7]. Образцы снега и дождя были отобраны на территории Западной Германии [5] и проанализированы методами ГХ и ВЭЖХ. Для ГХ образцы экстрагировали классической жидкостно-жидкостной экстракцией дихлорметаном. Для ГХ использовали несколько видов детекторов, включая масс-спектрометрический с электронной ионизацией (ЭИ) и химической ионизацией отрицательных ионов (ХИОИ). Вследствие высокого сродства к электрону нитрофенолы в процессе МС анализа могут быть легко ионизированы с помощью ХИОИ, что повышает чувствительность и селективность по сравнению с ЭИ.

Китайские ученые проводили анализ проб снега в городе Пекин на присутствие 9 ароматических соединений (бензола, толуола, хлорбензола, этилбензола, п-ксилола, стирола, изопропилбензола, пропилбензола и 1,2-дихлорбензола) [8]. Анализ 10 мл образца талой воды осуществляли методом твердофазной микроэкстракции и ГХ/МС. Для оптимизации методики кроме МС-детектора также использовали пламенно-ионизационный (ПИД). Среди исследуемых 9 соединений наивысшие концентрации были определены для бензола и толуола. п-Ксилон, стирол и изопропилбензол присутствовали в пробах на уровне нескольких нг/мл, что на порядок меньше бензола, а хлорбензол, этилбензол и н-пропилбензол обнаружены не были. Бензол и толуол являются основными ароматическими загрязняющими веществами, и главный их источник – это выхлопные газы автомобилей и промышленные выбросы. Самые

высокие уровни бензола и толуола были зафиксированы на юге города, что связано с близким расположением к третьей транспортной кольцевой дороге, по которой проходит большой поток автомобилей. Кроме того, в том же районе находится и химический завод по производству органических веществ, поэтому концентрация 1,2-дихлорбензола в южной и восточной частях города была в 2 и более раз выше, чем в других районах.

Органические эфиры фосфорной кислоты (ОЭФК) – это класс антропогенных соединений, которые все чаще встречаются в образцах окружающей среды. ОЭФК часто используются в качестве пластификаторов и антипиренов, т.е. веществ, препятствующих возгоранию. Кроме того они используются как противопенные реагенты и добавки в смазочные материалы, растворы антифризов и гидравлические жидкости. Трис(2-хлорэтил)фосфат (ТХЭФ) включен Европейской Комиссией во второй список приоритетных экотоксикантов [9], а трис(1-хлор-2-пропил)фосфат (ТХПФ) и трис(1,3-дихлор-2-пропил)фосфат (ТДХПФ) включены в четвертый список приоритетных экотоксикантов [10]. Информации о токсичности ОЭФК довольно мало, но, по некоторым данным хлорированные ОЭФК, трибутилфосфат (ТБФ) и трис(2-этилгексил)фосфат (ТЭГФ) обладают пероральной токсичностью от низкой до средней. В отличие от остальных арильных фосфатов трифенилфосфат (ТФФ) обладает наибольшей острой токсичностью в отношении водных организмов. Авторами работы [11] были отобраны шесть образцов снега на территории муниципального аэропорта города Умео, Швеция и в окрестности главного пересечения дорог (Е4 и Kolbäcksvägen) в конце марта 2003 года. Из подготовленных экстрактов путем твердофазной экстракции выделили интересующие вещества, а 1 мкл концентрированного образца анализировали методом ГХ с азотнофосфорным детектором. Для проверки идентификации некоторые образцы были проанализированы с помощью ГХ/МС. Шесть из одиннадцати целевых веществ (ТБФ, ТХПФ, ТДХПФ, ТФФ, трис(2-бутоксиэтил)фосфат (ТБЭФ) и ТХЭФ) были обнаружены во всех образцах снега. Триметилфосфат (ТМФ) и ТЭГФ были обнаружены в образцах из аэропорта и одном образце близ дороги, трипропилфосфат (ТПФ) был обнаружен в одном из образцов из аэропорта. Средства транспорта являются источниками ТФФ, что было подтверждено обнаружением следов ТФФ в отработанном масле машин и некоторых авиационных маслах. ТБФ доминировал в пробах из аэропорта близ взлетной полосы. Повышенные уровни ТХПФ и ТХЭФ возле дороги



могут объясняться тем, что эти вещества выделяются из салонов автомобилей, так как ТХПФ и ТХЭФ используют в полиуретановых полимерах. Наивысшие уровни ТЭГФ были обнаружены в пробах возле дороги и аэропорта, а также в отработанном машинном масле. То есть транспорт можно рассматривать как источник ТЭГФ, хотя в литературе не найдено упоминаний о его использовании в маслах.

В работе [12] описана методика, разработанная для целевого анализа 41 соединения различных классов (ПАУ, полихлорированные бифенилы (ПХБ), фталаты, нонилфенолы, бисфенол А (БФА) и некоторые стероидные гормоны). Была использована микроэкстракция с помощью сорбента (MEPS) и простая твердофазная экстракция (ТФЭ) с последующим анализом методом ГХ/МС с вводом пробы большого объема. Оба метода позволяют с высокой точностью определить 41 органическое загрязняющее вещество в воде. Разработанные методы пробоподготовки были применены к образцам сточных вод из Лейпцига, Германия, а также образцам снега, отобранным в Лейпциге в 2010 году. В пробах снега, отобранных близ оживленной улицы и парковки института, содержалось наибольшее количество аценафтилена и аценафтена (>1000 нг/л), указывающее на накопление продуктов сжигания дизельного топлива. Концентрации остальных ПАУ были довольно близки во всех пробах и зафиксированы на уровне нг/л. Концентрации фталатов были на уровне мкг/л как в образцах снега, так и воды. БФА, будучи компонентом множества технических продуктов, был обнаружен в концентрациях до 2000 нг/л в образце снега близ парковки. В данном случае БФА, возможно, попал в окружающую среду из полимерных деталей автомобилей, из лака и шин.

Благодаря воздушному переносу на большие расстояния и эффекту «холодного пальца» наблюдается заметное загрязнение высокогорных экосистем и даже Антарктиды, хотя они находятся достаточно далеко от источников загрязнения. Так, например, в работе [13] сообщается об определении наиболее распространенных летучих хлорированных углеводородов (ЛХУ) в поверхностном снеге Антарктиды. В образцах, собранных первой экспедицией (обозначения Т1) в 1998/1999 году, определяли главным образом тетрахлорметан, 1,1,2-трихлорэтилен и тетрахлорэтилен. В пробах поверхностного снега второй экспедиции (обозначения Т2) в 2000/2001 году кроме упомянутых ЛХУ определяли также хлороформ и 1,1,1-трихлорэтан. Целью

работы был мониторинг ЛХУ вдоль континента для понимания механизма транспорта, с помощью которого ЛХУ достигают удаленных зон и оседают на снеге. Пробы снега анализировали с помощью выдувания – улавливания методом ГХ/МС. Распределение концентраций ЛХУ в пробах Т1 было довольно равномерным, концентрации изменялись в пределах 50 нг/кг. Авторы отмечают, что ранее [14] ЛХУ были обнаружены в поверхностных водах морей близ Антарктики, поэтому морские аэрозоли рассматривались как потенциальные источники ЛХУ. Маршрут экспедиции проходил с удалением от береговой зоны, поэтому авторы заключили, что равномерная концентрация ЛХУ в различных точках маршрута исключает морские аэрозоли, как один из основных источников ЛХУ. Появление ЛХУ вызвано атмосферным переносом на большие расстояния. Концентрации ЛХУ в пробах экспедиции Т2 были выше, чем в Т1. В частности, хлороформа было значительно больше, чем всех остальных рассматриваемых ЛХУ, поскольку он выбрасывается в атмосферу промышленными источниками в больших количествах.

Природные горные экосистемы являются своеобразными "ловушками" стойких органических загрязняющих веществ. Quiroz и др. в работе [15] анализировали снег, отобранный в горах, на наличие ПХБ. Полихлорированные бифенилы традиционно использовались в диэлектрических жидкостях трансформаторов и конденсаторов, как стабилизирующие добавки в ПВХ покрытиях, теплоносителях, смазках, антипиренах, гидравлических жидкостях и т.д. После обнаружения их высокой токсичности, включая разрушение эндокринной системы и нейротоксичность, в 1986 г производство ПХБ было прекращено. Тем не менее за время производства было наработано около 2 миллионов тонн ПХБ. Благодаря своей высокой стабильности эти вещества до сих пор обнаруживаются в самых разнообразных объектах окружающей среды, включая полярные регионы. Образцы снега для определения ПХБ были отобраны с гор Аконкагуа, Южные Анды в январе 2003 года. ПХБ извлекали из талой воды на магнитную мешалку, покрытую сорбирующей ПДМС-пленкой, и с помощью термодесорбера вводили в прибор ГХ/МС. В результате было найдено 25 ПХБ. Установлено, что основным источником ПХБ в данной области является продукт Aroclor 1260, который ранее активно использовался в южном полушарии. При сравнении полученных данных с аналогичными для другой части Анд, авторы пришли к

выводу, что ПХБ попадают в горную систему Анд благодаря воздушному переносу и процессам осаждения.

## 2.2 Масс-спектрометрический нецелевой анализ проб объектов окружающей среды

Примером нецелевого анализа объектов окружающей среды с помощью масс-спектрометрии можно назвать работу [16]. При анализе муниципальных сточных вод использовали газовую хроматографию и комбинацию двух детекторов: атомно-эмиссионного (АЭД) и масс-спектрометрического (МС) с электронной ионизацией. При этом авторы применили 2 подхода. Один подход предусматривал использование АЭД для скрининга, а МС детектор для последующей идентификации; другой – использование АЭД для корректировки списка кандидатов при первичной идентификации соединения с помощью библиотеки масс-спектров NIST98. Деление потока между двумя детекторами и некоторые преобразования с помощью программного обеспечения позволили сравнивать хроматограммы напрямую и сопоставлять пики с одинаковыми временами удерживания. Первый подход сделал возможным целевую идентификацию хлорсодержащих веществ. Например, в работе рассматривают идентификацию хлорпирифоса (инсектицид широкого действия) и трис(2-хлорэтил)фосфата. Прямая идентификация данных соединений по масс-спектру была затруднительна ввиду низкой сходимости экспериментального спектра с библиотечным, а в случае хлорпирифоса пик вообще был едва виден на хроматограмме. Однако на хроматограмме с АЭД данные компоненты дали отчетливые пики, демонстрирующие наличие хлора и фосфора, что позволило ограничить элементный состав возможных кандидатов и, в конечном итоге, правильно идентифицировать соединения. При использовании второй стратегии часто приходилось проводить ручную расшифровку масс-спектров. Даже данные по элементному составу от АЭД не помогали, поскольку наиболее интенсивные пики были обусловлены веществами состава СНО. Резюмируя, авторы отмечают, что данный подход хорошо показал себя при обнаружении неизвестных веществ, содержащих гетероатомы, отличные от С, Н, О.

Обзорный анализ, будучи нецелевым анализом, часто используется для выявления общего загрязнения различными классами органических веществ. Например, в работе

[17] были отобраны несколько образцов снега с целью определения широкого спектра экотоксикантов. Образцы были отобраны в нескольких городских и удаленных местностях в провинции Квебек и территории Нунавут, Канада. 12 образцов были отобраны на территории кампуса Университета МакГилл в центре Монреаля, Канада. Анализ проводили методом ТФМЭ-ГХ/МС. Образцы оказались насыщены кислородсодержащими соединениями (этилацетат, бензальдегид, нонаналь, ацетофенон и др.), а также ароматическими соединениями, например бензол, толуол, м- и п-ксилолы. Вторая по величине группа найденных веществ – это галогенпроизводные, включая хлороформ, дибромметан, диiodметан и хлорбензол. Все они в основном имеют антропогенное происхождение с небольшим вкладом из океанических источников (например, дибромметан). Наибольшее количество веществ было обнаружено в наиболее удаленной пробе “Resolute”. Антропогенное воздействие и воздушный перенос на большие расстояния являются основными причинами появления этих веществ в пробах. Высокая устойчивость одних соединений и высокая степень деградации других указывают на то, что снег уже лежалый, и речь идет о долговременном накоплении. Для идентифицированных экотоксикантов количественные характеристики получены лишь для ароматических соединений, причем наибольшая концентрация была отмечена для толуола 22,6-316 мкг/л. Концентрация всех остальных веществ (бензол, этилбензол, стирол, ксилолы, 1,2,4-триметилбензол, хлорбензол, 1,2-дихлорбензол, бензальдегид, ацетофенон) была ниже 40 мкг/л, в большинстве случаев около 10 мкг/л.

Описанный подход использовался также в исследовании под руководством Лебедева А.Т. [18] при оценке влияния на окружающую среду металлургического завода в Костомукше близ границы России и Финляндии. Сырьем для предприятия служит железная руда с высоким содержанием железа, тогда как основные атмосферные выбросы составляют диоксид серы и техногенная пыль. В конце марта 2001 года шесть образцов снега были отобраны в Карелии и Финляндии. Состав и содержание органических веществ определяли методом ГХ/МС, а содержание элементов с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП/МС). В результате анализа было обнаружено более 200 индивидуальных органических веществ, которые были сгруппированы следующим образом: нефтяные углеводороды, органические спирты и кислоты, ПАУ, фенолы, фталаты и антиоксиданты. Полученные значения концентраций

для некоторых экотоксикантов были сравнены с имеющимися рыбохозяйственными (ПДК<sub>р</sub>) [19] и санитарно-гигиеническими (ПДК<sub>с-г</sub>) нормативами для воды [20]. Для нефтяных углеводородов ПДК<sub>р</sub> была превышена во всех пробах, причем в некоторых пробах концентрация была вдвое выше допустимой. Разброс концентраций ПАУ в пробах был достаточно велик, что говорит о неоднородности распределения этих экотоксикантов по исследуемой территории. Суммарное количество ПАУ в пробах 4-6 оказалось выше, что, по всей видимости, вызвано наличием других источников загрязнения (выхлопы автомобилей, поездов и ТЭЦ). Концентрации дибутилфталата и бис(2-этилгексил)фталата превысили ПДК<sub>р</sub> почти во всех пробах. Кроме описанных экотоксикантов в пробах были обнаружены малотоксичные антиоксиданты на основе 2,6-дитрет-бутил-4-метилфенола (ионол), не представляющие опасности для окружающей среды. Кроме органических загрязняющих веществ отмечено высокое содержание Li, B, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Sn, Hg и Pb. Анализ образцов снега позволил предложить список приоритетных загрязняющих веществ в районе завода в Костомукше и оценить влияние предприятия на загрязнение окружающей среды как умеренное.

В работе [21] 10 образцов снега были отобраны в начале марта в нескольких районах Финляндии (центральная-восточная часть и Лапландия) и в различных регионах России (несколько районов Москвы, Щучье и Байкальск). Весьма неожиданно в пробах снега были обнаружены фосфорорганические пестициды. Наибольшие концентрации были отмечены в пробах снега озера Байкал ( $\Sigma=1,64$  мкг/кг), хотя данный регион считается чистым. Аналогичная ситуация была и в случае трех хлорорганических пестицидов (ДДД, ДДЕ и эльдрин альдегид; 0,4 мкг/кг). Среди прочих хлорорганических веществ в следовых количествах были обнаружены ПХБ, ди- и трихлорбензолы. Однако в финских пробах снега они обнаружены не были. Среди нефтяных углеводородов были найдены 47 соединений от C<sub>9</sub> до C<sub>36</sub>, причем образцы из Финляндии оказались в большей степени загрязнены данной группой экотоксикантов (превышение ПДК в 3 раза). Среди фталатов наиболее распространенными оказались дибутил- и бис(2-этилгексил)фталат. В случае дибутилфталата ПДК была превышена во всех образцах. В целом все образцы были не так сильно загрязнены ПАУ, хотя образец из Москвы, оказался весьма насыщен вышеупомянутыми загрязняющими веществами. В случае фенолов наблюдалась ситуация аналогичная ПАУ, наибольшая концентрация, превышающая ПДК,

наблюдалась только в образце из Москвы. Хотя в Москве находится множество источников загрязнения, это отнюдь не означает, что окружающая среда будет самой загрязненной. Немаловажный и значительный вклад в загрязнение окружающей среды вносит так называемый эффект «холодного пальца». Данный эффект заключается в дальнем воздушном переносе и оседании загрязняющих веществ в регионах преимущественно с холодным климатом. В подтверждении данного явления в заполярной пробе из Финляндии было найдено больше всего нефтяных углеводородов, хотя крупных источников поблизости не было.

Классический ГХ/МС анализ с ЭИ был также применен при целевом и нецелевом исследовании речных и сточных вод Испании [22]. Целевой список определяемых веществ включал соединения различного назначения: синтетические ароматизаторы, УФ-фильтры, антиоксиданты, антипирены, антисептики, инсектициды и продукты их трансформации. Анализ проводили с использованием квадрупольного масс-анализатора, чередуя режимы сканирования и мониторинга заданных ионов (МЗИ). Режим МЗИ использовали для определения веществ из целевого списка, в то время как режим сканирования – для нецелевой идентификации. Основным предметом нецелевой идентификации был поиск продуктов деградации веществ, включенных в список целевой идентификации. Поскольку для многих из этих соединений масс-спектры отсутствуют в библиотеках NIST, авторы использовали ретроспективный поиск путем построения масс-хроматограмм по характерным фрагментным ионам, предположенным согласно базовым принципам фрагментации органических соединений в условиях ЭИ. В трёх образцах авторам удалось обнаружить фрагменты 4-(трет-бутил)-2,6-диметил-3,5-динитроанилина (4-amino musk xylene), который является продуктом деградации 1-(трет-бутил)-3,5-диметил-2,4,6-тринитробензола (musk xylene) – препарата синтетического мускуса, используемого для парфюмерной фиксации в различных товарах. Так как масс-спектр этого вещества отсутствовал в доступных базах данных, а коммерчески доступного стандарта не было, для проверки «ручной» идентификации авторы синтезировали его самостоятельно. Идентичность экспериментального масс-спектра и масс-спектра синтезированного стандарта позволило однозначно провести идентификацию (Рисунок 2). Кроме этого в результате нецелевого поиска с использованием библиотек масс-спектров была идентифицирована группа из 12

веществ, применяемых в качестве антипиренов, антиоксидантов, дезинфектантов, репеллентов, пестицидов и синтетических мускусов.

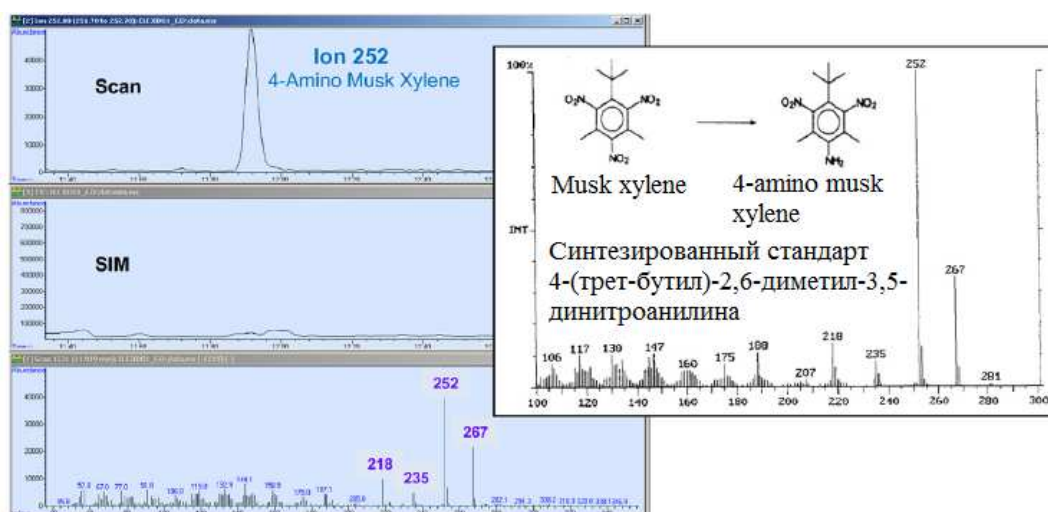


Рисунок 2. Экспериментальный масс-спектр (слева) и масс-спектр синтезированного стандарта (справа).

Масштабное исследование загрязнения рек Центральной Европы было проведено учеными из Германии [23]. Авторы сфокусировались на нецелевом поиске органических соединений при проведении мониторинга вод нескольких рек Европы. Экстракты воды анализировали методом ГХ/МС с ЭИ, а идентификацию соединений проводили путем сравнения полученных масс-спектров со спектрами библиотек NIST05 и Wiley. В случае наличия коммерчески доступных стандартов для анализируемых веществ проводили сравнение времен удерживания и масс-спектров. При изучении полученных данных удалось выделить 2 группы соединений, которые, по мнению авторов, следует включить в программы мониторинга. Первая группа представляет собой соединения специфические для каждой речной системы в отдельности, например 1,1-дихлоро-2,2-диэтоксиэтан, моно- и дибром(метоксифенил) пропионовые кислоты, 4-хлор-2-(трифторметил)анилин, диизопропилмочевина и N,N-диэтилкарбамоидитиановая кислота. Вторая группа веществ представляет собой соединения, которые наоборот были найдены во всех исследуемых объектах, например 2,4,7,9-тетраметилдецин-5-диол-4,7, 2,4,4-триметилпентандиол-1,3-диизобутират, (1-гидроксициклогексил)фенилкетон, N-бутилбензолсульфонамид. Суммируя данные ряда исследований, удалось идентифицировать несколько десятков органических соединений

различной природы, что позволило скорректировать списки приоритетных экотоксикантов для каждой изученной области.

### **Использование продвинутых методов масс-спектрометрии для нецелевого анализа**

Хотя масс-спектрометрия низкого разрешения позволяет делать определенные структурные выводы, а иногда и установить конечную структуру соединения, часто при анализе проб объектов окружающей среды аналиты характеризуются существенно искаженными спектрами. Зачастую помимо молекулярного отсутствуют и некоторые фрагментные пики, а в результате коэлюирования присутствуют посторонние пики. Работа с такими спектрами оказывается менее эффективной. Существенную помощь в этом случае могут оказать современные возможности метода, в частности применение масс-спектрометрии высокого разрешения, тандемной масс-спектрометрии, мягких методов ионизации, двумерной хроматографии, методов математической и химической деконволюции. Использование такого арсенала дает возможность достаточно надежно установить структуру нового органического соединения, спектр которого отсутствует в библиотеке или подтвердить правильность библиотечного поиска.

Примером использования газовой хроматографии – масс-спектрометрии высокого разрешения (ГХ/МСВР) для экологического анализа может быть работа [24]. Авторы отметили, что нецелевой поиск соединений, присутствующих в низких концентрациях, представляет собой довольно трудоемкую задачу. Успех в решении таких задач достигается редко, ввиду отсутствия какой-либо информации о составе, отсутствия некоторых фрагментных ионов и большого количества посторонних ионов, которые усложняют интерпретацию масс-спектра. По этим причинам высокопроизводительное программное обеспечение является необходимым инструментом решения подобных задач. В качестве примера авторы приводят программу ChromaLynx Application Manager (Waters) для автоматической обработки данных ГХ/МСВР. Согласно предложенному критерию рассматриваются лишь те масс-спектры, сходимость которых с библиотечными кандидатами выше 700 единиц из 1000 возможных. Выбор среди кандидатов проводился путем проверки элементных составов по точной массе 5 наиболее интенсивных ионов на предмет возможности их образования из соответствующего молекулярного иона. Авторы отметили, что идентификация некоторых метаболитов была более сложной, чем ранее было описано в литературе. Так,



потасан – вещество, используемое для дехлорирования, (Рисунок 3) отсутствует в библиотеке масс-спектров NIST. Построение масс-хроматограммы по точной массе молекулярного иона ( $m/z$  328.0543) позволило обнаружить хроматографический пик со временем удерживания 12.65 мин. Только путем сопоставления элементных составов фрагментных ионов и структуры потасана (Рисунок 3) удалось убедиться в правильности идентификации соединения.

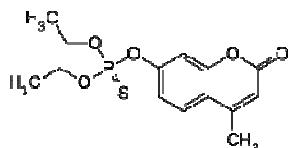


Рисунок 3. Структура потасана.

Кроме этого, таким образом удалось идентифицировать бисфенол А, 3,5-ди-(трет-бутил)-4-гидрокситолуол, полициклический мускус галаксолид и бензофенон. Поиск метил изофенфоса в образце методом масс-хроматографии по молекулярному иону ( $m/z$  331.1007) не привел к положительному результату.

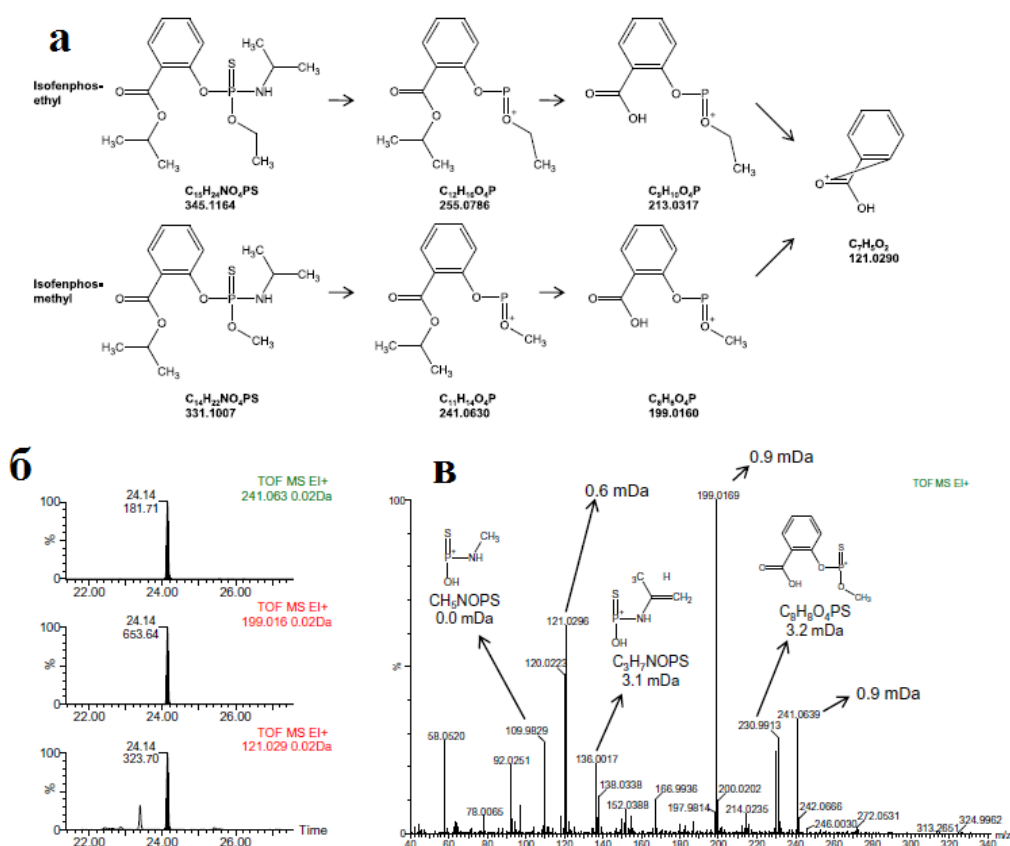


Рисунок 4. Идентификация метил изофенфоса. а – ожидаемые фрагментные ионы метил изофенфоса по аналогии с этил изофенфосом; б – масс-хроматограммы ожидаемых фрагментных ионов метил изофенфоса ( $m/z$  241.0630, 199.0160 и 121.0290); в – масс-спектр высокого разрешения идентифицированного метил изофенфоса.

Это, однако, авторов не остановило, поскольку присутствие молекулярного иона в масс-спектре ЭИ не было гарантировано. Ввиду отсутствия масс-спектра данного соединения в библиотеке NIST, авторы прибегли к предположению, что при фрагментации этого соединения фрагментные ионы должны быть аналогичны тем, что образуются при распаде этил изофенфоса (Рисунок 4а). Масс-хроматограммы по трем ожидаемым ионам ( $m/z$  241.0630, 199.0160 и 121.0290) содержали пик с одинаковым временем удерживания (Рисунок 4б), что позволило предположить их общее происхождение. Сгенерированный в данной области масс-спектр высокого разрешения (Рисунок 4в) содержал как упомянутые, так и другие фрагментные ионы, состав и предложенное строение которых находилось в полном соответствии со структурой предполагаемого метил изофенфоса.

Дополнение метода ГХ/МСВР с ЭИ более мягкими методами ионизации упрощает идентификацию вещества по его молекулярному иону. Точная масса молекулярного иона, интенсивная фрагментация и учет изотопных пиков вместе позволяют установить структуру соединения почти однозначно. Пример применения такой стратегии приведен в исследовании группы под руководством F. Hernández [25]. В данной стратегии образец анализируется с помощью метода ГХ-МС в двух режимах: электронной ионизации и химической ионизации (ХИ). Затем по точной массе протонированной молекулы рассчитывается предполагаемый состав в пределах погрешности в 5 мДа, используя при этом атомы С, Н, О, N и Р (С: 0–30; Н: 0–50; N: 0–10; О: 0–10 и Р: 0–3). Добавление в рассмотрение атомов F сильно увеличивает количество возможных составов, поэтому F учитывается только в том случае, если в масс-спектре наблюдаются характерные выбросы  $F^+$  или HF. В зависимости от изотопного распределения кластера протонированной молекулы в список рассматриваемых элементов добавляют необходимое количество атомов Cl, Br и S. После определения формулы проводят поиск её возможных структур в базах данных химических веществ. В частности авторы данной работы использовали базу данных Reaxys (Elsevier). Предполагаемую структуру далее соотносят с возможностью образования фрагментных ионов, присутствующих в масс-спектре. Такая процедура была применена при нецелевом анализе грунтовых вод. Например, поиск в библиотеке NIST масс-спектра ЭИ, соответствующего хроматографическому пику со временем удерживания 31,6 мин, показал сходимость со спектром 4-метокси-1,1-бифенила (184.0875 Да) на уровне 670 единиц. Исходя из масс-

спектра ХИ точная масса протонированной молекулы неизвестного соединения составила 301.1563 (Рисунок 5), что явно противоречит результату библиотечного поиска по масс-спектру ЭИ. В рамках вышеобозначенных ограничений были рассчитаны 5 вероятных составов протонированной молекулы и 3 основного фрагментного иона с  $m/z$  184.0881 в масс-спектре ЭИ. Фрагментные ионы с  $m/z$  менее 184.0881 могут образовываться путем последовательных выбросов частиц  $\text{CH}_3^\bullet$  ( $m/z$  169.06578),  $\text{CO}$  ( $m/z$  141.0708) и  $\text{C}_2\text{H}_2$  ( $m/z$  115.0551). Это позволяет исключить из рассмотрения 1 из 3 формул, соответствующих иону с  $m/z$  184.0881, оставляя в качестве вариантов составы  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}$  или  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NOP}$ . Далее эти 2 формулы позволили сузить количество вариантов состава протонированной молекулы неизвестного соединения до 4:  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_8\text{O}^+$ ,  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{P}^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3^+$  и  $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{OP}_2^+$ . Масс-спектр ЭИ в данном случае содержит информацию о субструктуре молекулы, указывая на наличие определенных функциональных групп и структурных фрагментов.

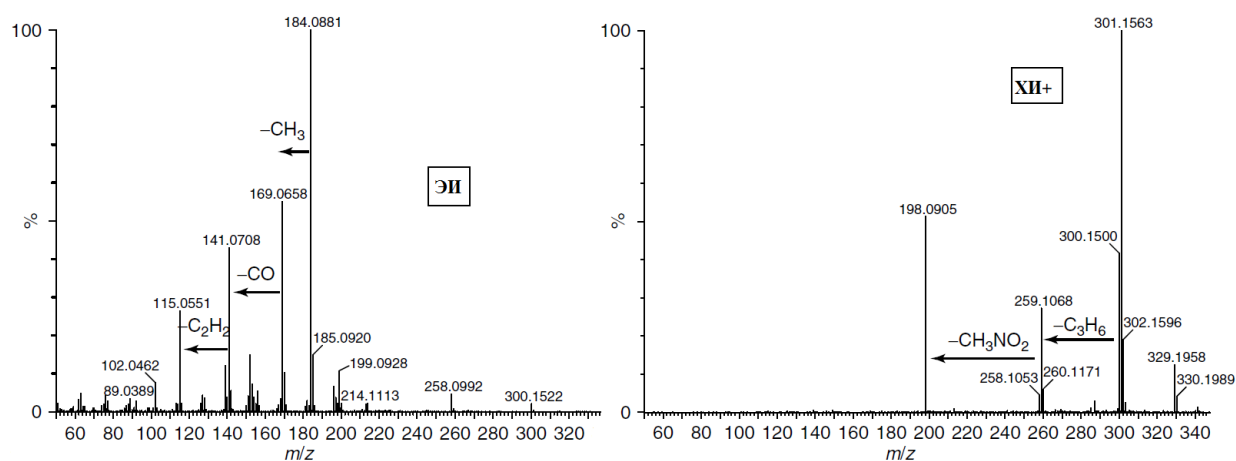


Рисунок 5. Масс-спектры ЭИ и ХИ(+) компонента смеси со временем удерживания 31,6 мин.

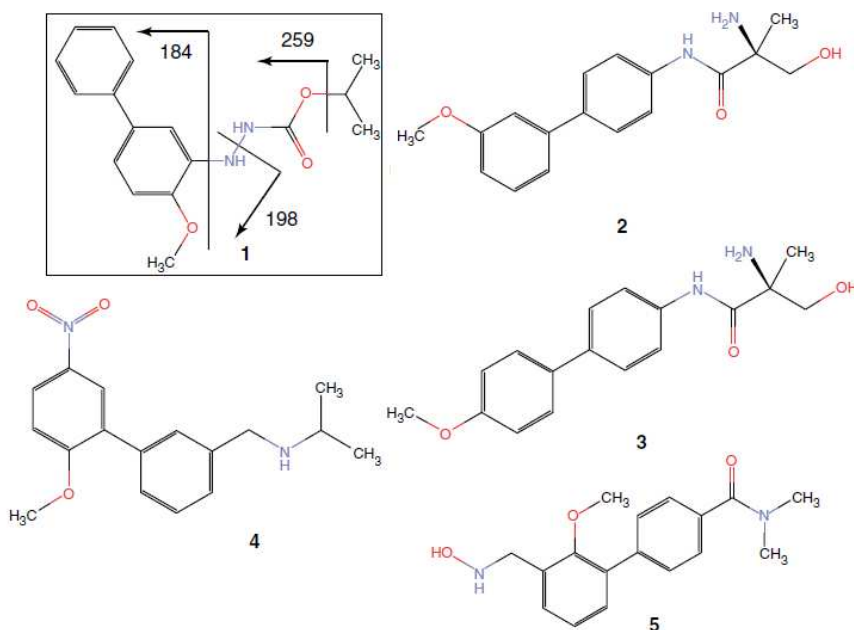


Рисунок 6. Предполагаемые структуры состава  $C_{17}H_{20}N_2O_3$  для компонента смеси со временем удерживания 31,6 мин.

Наиболее вероятно, что неизвестное соединение содержит метокси-замещенный бифенил, например 4-метокси-1,1-бифенил, однако метокси-группа может быть и в другом положении. Рассмотрение масс-спектров ЭИ 2-метокси и 4-метокси-1,1-бифенилов из библиотеки Wiley показало их высокую сходимость. Учитывая наличие данного структурного фрагмента в качестве кандидатов состава протонированной молекулы остались только 2 формулы:  $C_{17}H_{21}N_2O_3^+$  и  $C_{13}H_{17}N_8O^+$ , так как неизвестное соединение должно иметь степень ненасыщенности (DBE) больше 8. В спектре  $MS^2$  ХИ(+) (Рисунок 5) наблюдаются ионы, соответствующие потерям  $C_3H_6$  и  $CH_3NO_2$ , что возможно только для молекулы состава  $C_{17}H_{21}N_2O_3^+$ . Поиск по данному составу в базе данных Reaxys выдал 1492 вариантов структур, из которых только 5 содержали метоксибифенильный фрагмент (Рисунок 6). Учитывая потерю ионом  $[MH]^+$  молекулы  $C_3H_6$  с образованием иона с  $m/z$  259.1068, структуры **2,3** и **5** были исключены из дальнейшего рассмотрения. Образование нечетноэлектронного фрагментного иона с  $m/z$  184 в спектре ЭИ и четноэлектронных ионов с  $m/z$  259 и 198 в спектре ХИ(+) легко объясняется при выборе структуры **1**, тогда как образование этих же фрагментных ионов из структуры **4** не ожидается. В этом случае для образования иона с  $m/z$  184 должны порваться 2 разных связи: потеря  $NO_2$ -группы в виде радикала и элиминирование молекулы  $C_3H_6$ . Образующийся четноэлектронный ион вряд ли сможет

претерпеть разрыв связи в боковой цепи так, чтобы образовать ион с  $m/z$  184. Образование иона с  $m/z$  198 в спектре ХИ(+) подразумевает потерю двух радикалов  $\text{NO}_2$  и  $\text{CH}_3$ . Таким образом, молекула **1** была выбрана в качестве единственного варианта идентификации неизвестного вещества. Данная структура соответствует акарициду бифеназату и была подтверждена, используя стандарт данного соединения.

Использование мягких методов ионизации было также эффективно при обзорном анализе экотоксикантов и продуктов их трансформации в образцах воды методом ГХ/МСВР [26]. При анализе образцов грунтовых вод авторы использовали 2 независимых ГХ/МС метода: один с применением ЭИ, а второй с химической ионизацией при атмосферном давлении (ХИАД). Процесс нецелевой идентификации в случае ЭИ основывался на комбинации данных МСВР (элементный состав молекулярного и фрагментных ионов) и библиотеки масс-спектров NIST. В результате удалось идентифицировать 2 вещества, значимых с точки зрения защиты окружающей среды: бензофенон и пропилпарабен. Одним из недостатков метода ГХ/МС с ЭИ является слишком высокая степень фрагментации, что приводит к очень похожим масс-спектрам для гомологичных серий. На примере нецелевой идентификации бутилпарабена авторы демонстрируют возможность получения ложноположительного результата (Рисунок 7). Экспериментальный масс-спектр (Рисунок 7А) явно принадлежит одному из производных парабена. Наличие в масс-спектре иона с  $m/z$  180.0845 вводит в заблуждение, так как дает повод полагать, что это молекулярный ион пропилпарабена. Хотя погрешность для состава, соответствующего пропилпарабену не такая высокая – 5,9 ppm, это всё же оставляет сомнения в правильности идентификации. В масс-спектре ХИАД, напротив, наблюдается интенсивный ион протонированного бутилпарабена, что позволяет с уверенностью провести идентификацию соединения. В целом скрининг основывался на поиске молекулярного иона или протонированной молекулы в условиях ХИАД и дальнейшей его фрагментации при активации соударением для подтверждения или опровержения результатов идентификации, полученных при использовании ГХ/МС с ЭИ. Такая методика анализа позволила значительно повысить достоверность идентификации органических соединений особенно в случае нецелевого поиска.

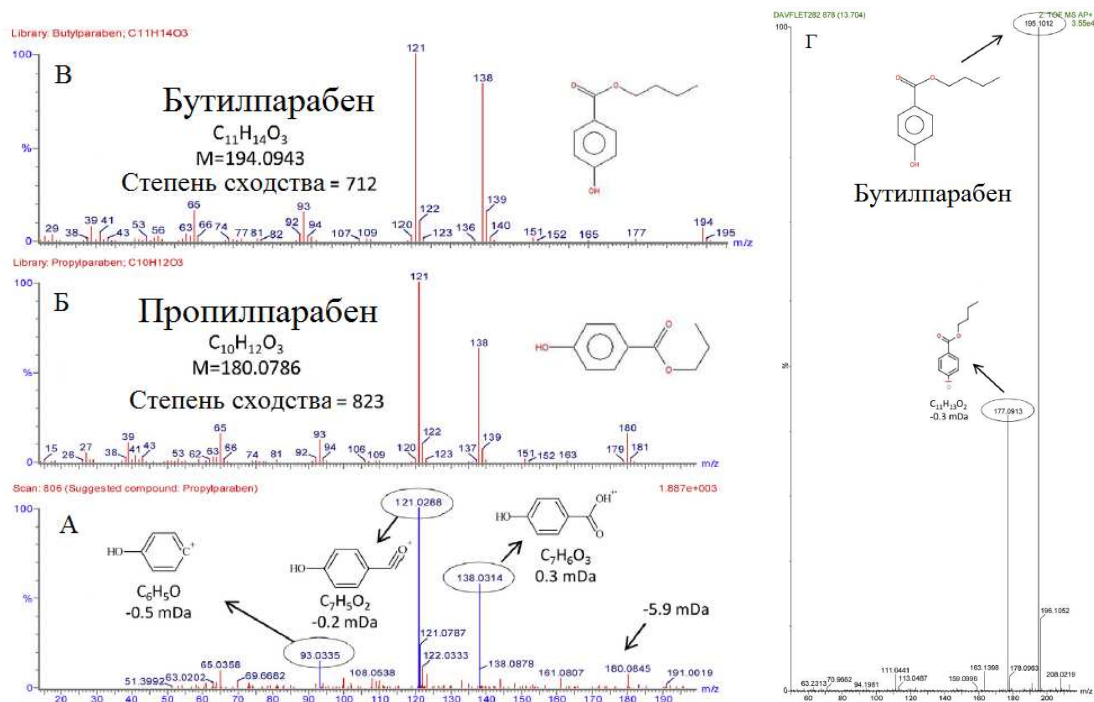


Рисунок 7. А – экспериментальный масс-спектр ЭИ производного парабена. Б,В – библиотечные масс-спектры ЭИ пропил- и бутилпарабена соответственно, Г – экспериментальный масс-спектр ХИАД производного парабена.

Альтернативный подход для уменьшения количества кандидатов при идентификации соединения в процессе ГХ/МС анализа был предложен Ulrich и др. [27]. Используя экспериментальные и рассчитанные температуры кипения, а также модели энергетических соотношений линейной сольватации, авторам удалось создать модель предсказания индексов удерживания Ковача и Ли. Разработанный подход авторы применили на примере анализа 14 изомеров состава C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>. Было отмечено, что комбинация рассчитанных индексов удерживания и путей фрагментации в условиях масс-спектрометрии с ЭИ, позволит существенно сузить круг претендентов при идентификации органических веществ в объектах окружающей среды.

Увеличить количество идентифицируемых соединений при нецелевом анализе многокомпонентных смесей можно также за счет лучшего хроматографического разделения. Так, при анализе образцов окружающей среды в бассейне Токийского залива был применен метод двумерной газовой хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения (ГХ×ГХ-МСВР) с ЭИ. [28]. После деконволюции полученных данных каждый масс-спектр, независимо от интенсивности и формы соответствующего ему хроматографического пика, был проанализирован с помощью библиотеки масс-

спектров NIST14. Из зарегистрированных 943 000 хроматографических пиков были выбраны только те, масс-спектры которых показали сходимость с библиотекой выше 900 единиц. Таких оказалось 528, и для них была проведена более глубокая идентификация с учетом элементного состава ионов и времен удерживания. Затем для соединений с наивысшей надежностью идентификации (403 соединений) были подобраны и проанализированы стандарты с целью проведения дальнейшего количественного анализа. В результате, удалось определить 67 соединений. Большая часть веществ представляла собой группы соединений с длинной алкильной цепочкой. Кроме них удалось также выделить группы терпенов, ароматизаторов, фармацевтических препаратов и антиоксидантов.

При нецелевом анализе проб воды реки Янцзы на разной глубине авторы использовали метод высоко эффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ-МСВР) с ИЭР [29]. Прибор был оснащен гибридным масс-анализатором: сочетание квадрупольного и времяпролетного, что позволило проводить МС/МС эксперименты. При анализе полученных хроматограмм рассматривались только пики веществ, обнаруженные в обоих образцах. После процедур компьютерной обработки хроматограмм и масс-спектров был сформирован список претендентов, для которых рассчитали коэффициенты распределения в системе октанол/вода. Идентификацию предполагаемых соединений проводили с помощью баз данных STOFF-IDENT, DAIOS и MassBank, используя точную массу и рассчитанный коэффициент распределения в качестве идентификаторов, а данные МС<sup>2</sup> в качестве верификатора. Подобный подход помог авторам сократить список рассматриваемых кандидатов сначала до 23 веществ. Структуры 7 веществ в результате поиска по базам данных выявить не удалось ввиду отсутствия претендентов с соответствующей точной массой или ввиду отсутствия разумных предлагаемых вариантов. Следующие 8 веществ не удалось идентифицировать из-за недостатка данных по фрагментным ионам в базе MassBank. Четыре структуры, подходившие по точной массе и полярности, были отклонены, поскольку не совпадали по фрагментным ионам. Наконец, для оставшихся 4 веществ было найдено соответствие по точной массе, полярности и по крайней мере по 1 фрагментному иону в базе MassBank. Таким образом, авторам удалось идентифицировать N,N-диэтил-м-толуиламид ( $C_{12}H_{17}NO$ ), изопропиолан ( $C_{12}H_{18}O_4S_2$ ),

мепанипирим ( $C_{14}H_{13}N_3$ ) и циклизин ( $C_{16}H_{22}N_2$ ), причем последнее вещество соответствовало только по одному фрагментному иону масс-спектра диссоциации, индуцированной соударением (ДИС).

Более детальный нецелевой анализ воды методом ВЭЖХ-МСВР с орбитальной ловушкой (Орбитрэп) был проделан группой ученых при изучении загрязнения реки Рейн [30]. В данной работе так же применяли ИЭР, поэтому всё внимание было сконцентрировано на идентификации полярных веществ в режимах регистрации положительных и отрицательных ионов. Точная масса молекулярного аддукта позволила получить элементный состав молекулы, который затем пропускался через поисковую систему структур в базах данных ChemSpider и SciFinder. Для ранжирования многочисленных вариантов структур использовали программу MetFrag, которая способна соединяться с базой ChemSpider и просчитывать пути фрагментации веществ, используя некоторые правила разрыва связей. Посчитанные фрагментные ионы ( $MS^2$ ) сравнивались с полученными данными и, таким образом, присваивалось значение сходимости. Перед дальнейшим подтверждением предполагаемой структуры, варианты с наивысшей сходимостью проверяли на предмет правдоподобия (возможность ионизации в условиях используемого метода). Другим важным фактором, используемым авторами, было количество ссылок и упоминаний о структуре в базе ChemSpider, поскольку это напрямую связано с распространенностью вещества. Наиболее вероятные структуры подтверждали с помощью программы предсказания фрагментации Mass Frontier 6.0, а также проверяли в библиотеках спектров  $MS^2$  MassBank, Metlin и mzCloud. В случае наличия коммерчески доступного стандарта для идентифицированного вещества, проводили сопоставление времен удерживания и спектров  $MS^2$  стандарта и определяемого соединения. В каждом образце было зафиксировано от 5300 до 7400 хроматографических пиков, из которых от 1500 до 2000 оказались фоновыми. Для оставшихся авторы использовали процедуру приоритетности, а именно выбирались все компоненты, которые содержали изотопные ионы  $[M+1]$  ( $^{13}C$ ) и  $[M+2]$  ( $^{37}Cl$ ) и встречались в нескольких образцах. Десять веществ удовлетворяли всем выбранным критериям и были выбраны для дальнейшего исследования, девяти из них удалось присвоить уникальный элементный состав. В результате действия по выработанному протоколу авторам удалось с полной или частичной уверенностью провести идентификацию 17 веществ, приведенных в Таблице 1.



Таблица 1. Список результатов нецелевой идентификации соединений, обнаруженных в образцах воды из реки Рейн.

<i>m/z</i>	Регистрируемая частица	Состав нейтральной молекулы	Количество вариантов в ChemSpider; SciFinder	Название соединения	Подтверждение стандартом
188.9521	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	37;928	2,4-Дихлорбензойная кислота	Да
196.9087	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>4</sub> HCl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	4;12	2,4,5-Трихлоро-3(2H)-пиридазинон	Нет
219.9846	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> NCIS	41;197	2-Амино-4-хлор-5-метилбензолсульфовая кислота	Нет
256.9091	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> S	0;2		Нет
304.9994	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub>	4;47	2-Этоксид-2-оксоэтил 3,6-дихлоро-2-метоксибензоат	Нет
325.1219	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> O <sub>4</sub> Cl	78;158	Этил 2-[6-(4-хлорофенокси)гексил]-2-оксиранкарбоксилат	Нет
200.0468	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> NCl	394;1542	3-(2-хлоранилино)-пропановая кислота	Да
254.0255	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>5</sub> ClS	23;97	Тизанидин	Да
272.0678	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> NCl	130;541	Метил 2-амино-5-(3-хлоропропокси)-4-метоксибензоат	Нет
115.0866	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	129	1,3-Диметил-2-имидазолидон	Да
116.1427	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> N	74;221	2-Аминогептан	Нет
127.0727	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>6</sub>	12;43	Меламин	Да
129.1017	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> ON <sub>2</sub>	327;1119	Пиперидинкарбоксамид или 1,3-Диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон	Нет
180.1741	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N	200;1875	Римантадин	Нет
183.0777	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	24;102	Триэтилфосфат	Да
186.2211	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> N	73;1032		Нет
219.1221	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	278;1416	Ди-трет-бутил-дикарбонат	Нет
240.1799	[M+NH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	27;100	Тетраглим	Да

Для снижения количества возможных элементных составов молекулярного иона был предложен подход на основе использования соотношения интенсивностей изотопных ионов и данных МС/МС экспериментов [31]. Получаемые таким образом формулы далее проверяются через доступные базы данных описанным выше методом. Хотя такой метод позволил установить структуры нескольких неизвестных соединений, зачастую предположить структуру вещества, основываясь только на молекулярных формулах и возможных функциональных группах, не представляется возможным. Это было продемонстрировано на примере анализа грунтовых вод методом ВЭЖХ-МС/МС с высоким разрешением с ИЭР. В режиме регистрации отрицательных ионов был зафиксирован пик депротонированной молекулы с точной массой 398.8762 со временем удерживания 32,8 мин (Рисунок 8а). Относительные интенсивности ионов  $[M+2]$  и  $[M+4]$  (106.5% и 42.7% соответственно) указывали на присутствие трёх атомов хлора и максимум четырех атомов серы в рамках заданной погрешности (Рисунок 8в). Опираясь на значение дефекта массы депротонированной молекулы, было также проверено наличие в составе йода, цинка и селена. Симуляция изотопного распределения кластера депротонированной молекулы значительно отличалась от экспериментальной, поэтому данные элементы были исключены из рассмотрения. В итоге, расчет элементного состава выдал 367 вариантов формул, из которых далее были выбраны составы:  $C_{12}H_5N_2OF_2S_2Cl_3$ ,  $C_{12}H_7O_5S_2Cl_3$ ,  $C_{13}H_9OFPS_2Cl_3$  и  $C_{10}H_9O_2F_2S_2Cl_3$ . Спектр ДИС (Рисунок 8б) неизвестного соединения содержал фрагментный ион, соответствующий потере молекулы  $SO_2$ , поэтому из предполагаемых формул были исключены составы не удовлетворяющие появлению такого фрагмента. Ни одна из оставшихся двух формул не была найдена в доступных базах данных. Для объяснения наблюдаемой фрагментации, а также установления положения атомов хлора были проведены дополнительные МС/МС эксперименты по фрагментации ионов с  $m/z$  400.8  $[M+2]$  (Рисунок 9а) и 402.8  $[M+4]$  (Рисунок 9б). Хотя удалось понять, что молекула содержит сульфоновую группу, установить структуру всей молекулы не удалось. Спустя год 2 полученных состава были проверены в базе данных SciFinder. Лишь 1 структура, представляющая собой дифенилсульфон с 3 атомами хлора и сульфонатной группой в неизвестных положениях, удовлетворяла предположенному составу [32]. Данный пример показывает, что успех такого подхода существенно зависит от наличия баз данных, в которых можно осуществлять поиск идентифицируемых соединений.

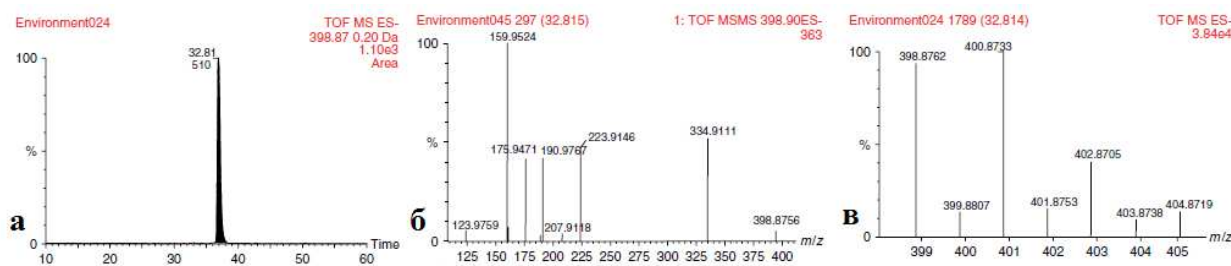


Рисунок 8. а – масс-хроматограмма, построенная по току протонированной молекулы неизвестного соединения, б – спектр ДИС иона с  $m/z$  398,8762 неизвестного соединения, в – кластер протонированной молекулы неизвестного соединения.

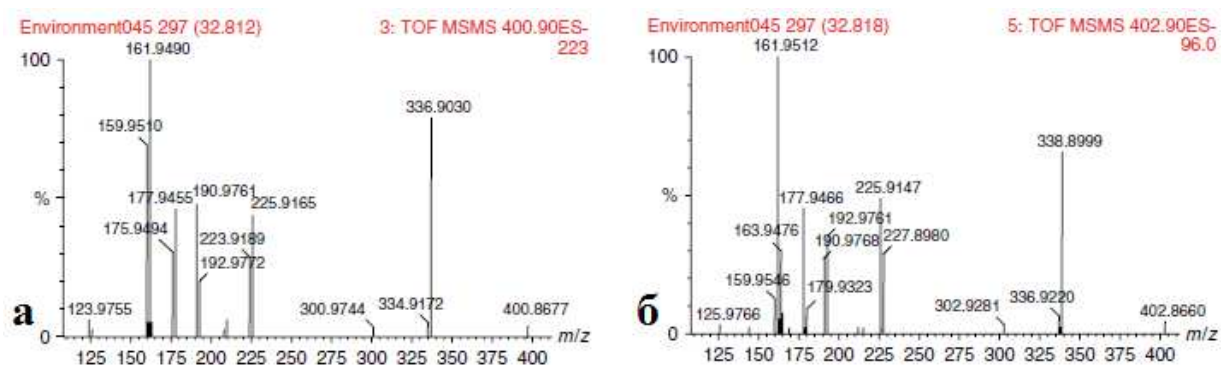


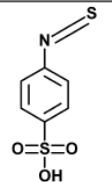
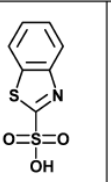
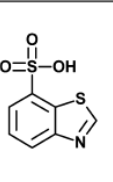
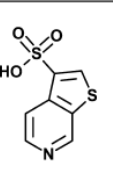
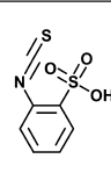
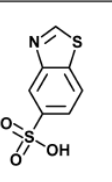
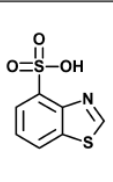
Рис. 9. а – спектр ДИС иона с  $m/z$  400,8677 и б – спектр ДИС иона с  $m/z$  402,8660.

Анализ сточных вод стал также предметом работы [33]. Скрининг на базе метода ВЭЖХ/МСВР с ИЭР использовали как для целевой, так и нецелевой идентификации экотоксикантов. В обоих случаях ручная расшифровка масс-спектров сопровождалась использованием автоматизированных программных процедур идентификации. Для целевого поиска 98 соединений были использованы точные массы и известные времена удерживания. Идентичность целевых веществ подтверждали тандемной масс-спектрометрией и верификацией изотопного распределения протонированной молекулы. При нецелевом поиске полученные экспериментальные данные (точная масса молекулярного аддукта, время удерживания, интенсивность и площадь хроматографического пика) использовали для комбинированного подхода по идентификации анализируемых веществ. Первым делом авторы убирали все пики с неправдоподобными дефектами масс. Далее списки пиков анализировались определенным программным пакетом, отбирая только хроматографические пики с интенсивностью выше  $3 \cdot 10^6$  и содержащие изотопные ионы, обусловленные  $^{37}\text{Cl}$ ,  $^{81}\text{Br}$ ,  $^{34}\text{S}$  или  $^{15}\text{N}$ . Такой выбор был связан с антропогенным происхождением многих веществ,

содержащих хлор и бром, и высокой вероятностью успешной идентификации молекулы при наличии четкого изотопного распределения. Таким образом, из 8520 пиков в режиме регистрации положительных ионов и 2573 в режиме регистрации отрицательных ионов удалось выделить 58 пиков, исходя из их четкого изотопного распределения, и 42 пика, благодаря их высокой интенсивности. Подбор элементных составов по точной массе молекулярного иона проводили, используя элементы C, H, N, O, S, P, F, Cl, и Br. Количество атомов C, N, S, Cl, и Br адаптировали по интенсивности изотопных ионов. Правдоподобность полученных составов проверяли, прибегая к семи правилам, изложенным в [34]. Количество возможных формул для 67 веществ удалось свести к одному варианту, а для 12 веществ - к двум. Затем проводили поиск всех элементных составов по базе данных ChemSpider, получая от 1 до 1615 возможных структур для каждого состава. Количество ссылок на каждое соединение в базе данных использовали как индикатор вероятности присутствия данного вещества в сточных водах. Согласно выбранному критерию любые кандидаты с количеством ссылок менее 10 исключались из рассмотрения. Таким образом, авторам удалось уменьшить количество рассматриваемых соединений на 50%. Дальнейшую идентификацию проводили путем сравнения предсказанных с помощью программы MetFrag тандемных спектров структурных кандидатов с экспериментальными масс-спектрами, а также сравнением предсказанных времен удерживания по модели энергетических соотношений линейной сольватации с экспериментальными значениями. Кроме этого, для установления количества подвижных водородов в идентифицируемых соединениях проводили сравнение данных, полученных при использовании в качестве подвижной фазы смесей  $H_2O/CH_3OH$  и  $D_2O/CD_3OD$ . Среди идентифицированных соединений были как хорошо известные экотоксиканты – кломазон, бензофенон-4 (5-бензоил-4-гидрокси-2-метоксибензолсульфоновая кислота), бензотиазол, так и вещества, детектированные ранее, но не являющиеся предметом целевого поиска в различных исследованиях – оксид трифенилфосфина, секобарбитал, амантадин, бензолсульфоновая кислота и 4-гидроксихлорталонил. Среди ранее необнаруженных веществ авторы смогли идентифицировать 2-(2-бензотиазолилтио)этанол, который используется для ускорения вулканизации, и 5-хлор-2,6-диметил-4-пиримидинамин, о котором никакой информации найти не удалось.

Похожее исследование было проведено при анализе сточных вод Швейцарии [35]. Целевой и нецелевой анализ вод проводили методом ВЭЖХ/МСВР с ИЭР в режимах регистрации положительных и отрицательных ионов. Используя уже описанный выше подход, авторы продемонстрировали все этапы идентификации на примере соединения с  $m/z$  213.9637.

Таблица 2. Кандидаты при нецелевой идентификации соединения с  $m/z$  213.9637

							
Вероятность совпадения	0.924	0.924	0.75	0.924	0.75	0.858	0.858
Ссылки	38	29	1	2	2	0	0
Стандарт	Нет	Да	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
Совпадение		MSMS, RT					

Точная масса, а также изотопное распределение депротонированной молекулы позволили определить состав вещества как  $C_7H_5NO_3S_2$ . В спектре ДИС присутствовали 2 фрагмента, соответствующие потере  $SO_2$  и  $SO_3$  из депротонированной молекулы. С помощью программы MetFusion из базы ChemSpider были извлечены 7 претендентов с таким составом, способные давать подобные фрагментные ионы. В Таблице 2 приведены вероятности совпадения, количество ссылок в базе данных ChemSpider и наличие стандартов. Только для одного кандидата был коммерчески доступен стандарт, при этом как раз для него совпали спектры ДИС и время удерживания (RT). Соединение обладает структурой 1,3-бензотиазол-2-сульфоната, который является продуктом окисления 2-меркаптобензотиазола – ускорителя вулканизации.

Один из вариантов при идентификации новых соединений в объектах окружающей среды предусматривает изучение трансформационной связи между изучаемыми веществами и их предшественниками [36]. При анализе сточных вод был использован метод ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения. Построение масс-хроматограмм по характерным фрагментным ионам позволяет одновременно обнаружить аналит, а также возможные продукты его трансформации, которые дают такие же ионы. Так, на масс-хроматограмме по фрагментному иону, характерному для антибиотика класса макролидов – эритромицина ( $m/z$  540 –  $C_{29}H_{49}NO_8$ ), было обнаружено 2 пика. Оказалось, что один из них соответствует исходной молекуле эритромицина, но второй – продукт его трансформации (TP1). Анализ его ДИС спектра (Рисунок 10) позволил

предположить, что это эритралозамин – продукт гидролиза эритромицина (Рисунок 11), ранее описанный в литературе [37]. ДИС спектр данного вещества подтверждает предположенную структуру, так как содержит тот же самый набор фрагментных ионов, что и эритромицин ( $m/z$  522,  $m/z$  158 и  $m/z$  116).

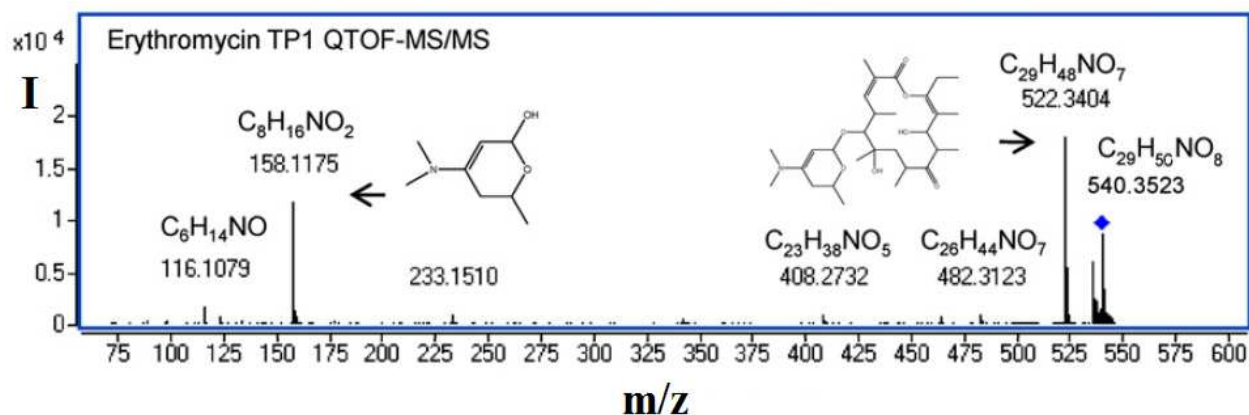


Рисунок 10. Спектр ДИС продукта трансформации эритромицина (TP1).

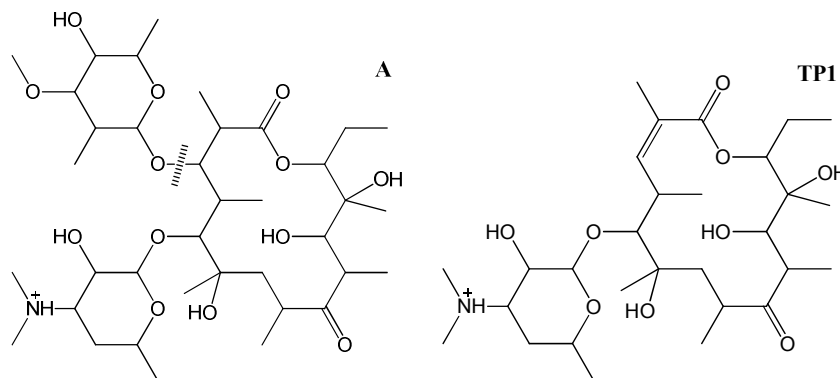


Рисунок 11. Структурные формулы эритромицина (A) и продукта его трансформации (TP1)

Идентификация веществ, которые потенциально могут быть продуктами трансформации, может быть упрощена не только путем построения масс-хроматограмм по фрагментным ионам, но также построением масс-хроматограмм по точным массам молекулярных ионов родительских соединений. Так, масс-хроматограмма по иону протонированной молекулы карбамазепина ( $m/z$  237 –  $C_{15}H_{12}N_2O$ ) содержала 2 пика с различными временами удерживания (Рисунок 12). Один из них соответствовал исходной протонированной молекуле карбамазепина (13.53 мин), но другой пик (10.73 мин) соответствовал другому веществу. Детальный анализ ДИС спектра позволил выяснить, что в действительности наблюдаемый ион ( $m/z$  237 –  $C_{15}H_{12}N_2O$ ) является в данном случае фрагментом соединения с более высокой молекулярной массой ( $m/z$  255) (Рисунок 12). Точная масса данного иона соответствовала составу  $C_{15}H_{14}N_2O_2$ , что,

вероятно, связано со структурой гидроксилированного производного карбамазепина – 10,11-дигидро-10-гидрокси карбамазепина. Спектр ДИС данной молекулы содержал 2 основных иона (Рисунок 12):  $m/z$  237 (результат потери молекулы  $H_2O$ ) и  $m/z$  194 (последовательный выброс молекул  $H_2O$  и  $CONH$ ).

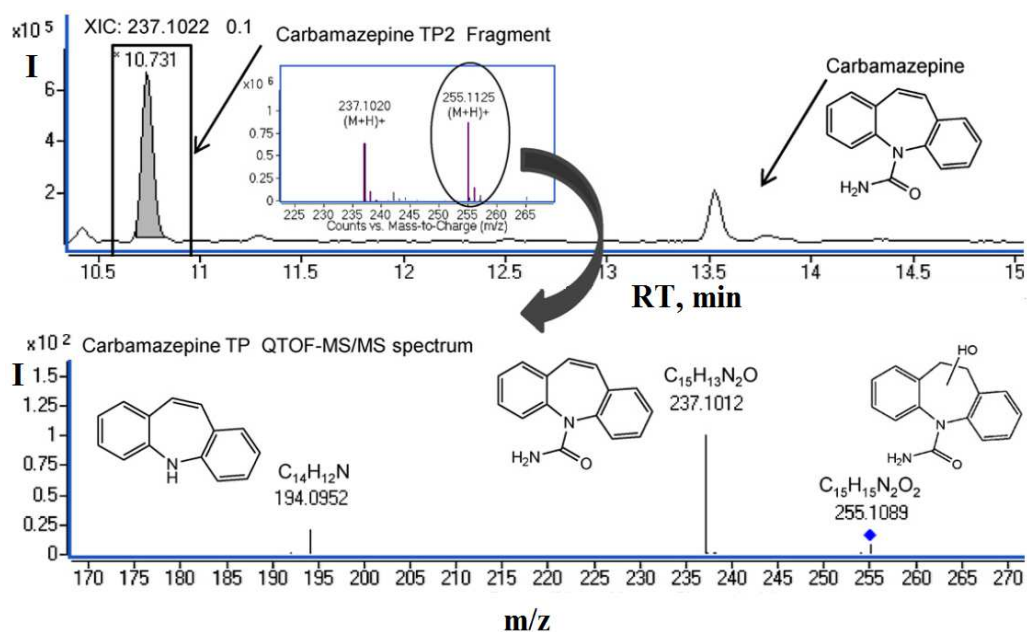


Рисунок 12. Масс-хроматограмма по иону протонированной молекулы карбамазепина (верхний рисунок) и спектр ДИС продукта трансформации карбамазепина (10,11-дигидро-10-гидрокси карбамазепина)

Идентификация дигидроксилированного производного ( $m/z$  271) также была проведена путем построения масс-хроматограммы по фрагментному иону (Рисунок 13), характерному для эпоксида карбамазепина ( $m/z$  253). Эпоксид карбамазепина – это хорошо известный метаболит карбамазепина, часто идентифицируемый в сточных водах. Продукт трансформации имел очень схожую с эпоксидом схему фрагментации. Разрыв связей, приводящий к образованию зарегистрированных фрагментных ионов, показан на Рисунке 13. Положение второй гидроксильной группы не удалось подтвердить методом тандемной масс-спектрометрии, поэтому авторы основывались на имеющихся в литературе данных [38].

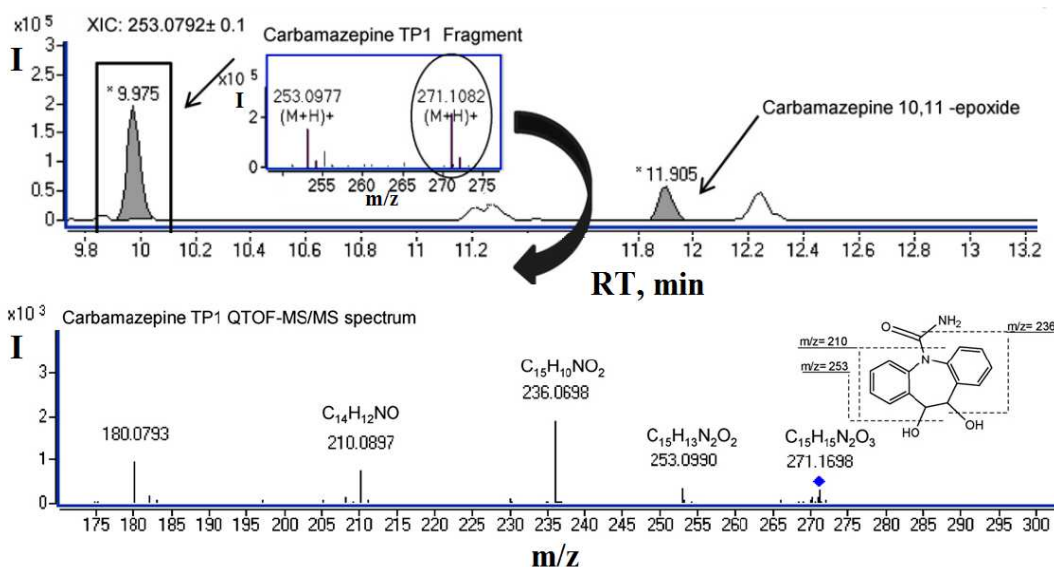


Рисунок 13. Масс-хроматограмма по иону протонированной молекулы эпоксида карбамазепина (верхний рисунок) и спектр ДИС предполагаемого продукта трансформации эпоксида карбамазепина (10,11-дигидро-10,11-дигидрокси карбамазепина)

## 2.3 Методы масс-спектрометрии, использованные в исследовании

### 2.3.1 Современные возможности метода газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС)

При проведении обзорного анализа важным аспектом является достоверная идентификация каждого компонента смеси. На текущий момент решение данного вопроса проблематично, так как это требует наличия стандартов всех определяемых соединений для установления времен удерживания. Возможность проведения обзорного анализа широкого круга органических веществ без необходимости анализа стандартов весьма привлекательна. В таком случае доступная информация о веществе будет ограничена его молекулярной формулой, его точной массой, а также набором фрагментных ионов, которые являются специфическими для каждого органического вещества. Таким образом, эффективный целевой поиск может быть осуществлен для тех соединений, которые дают относительно интенсивный молекулярный ион ( $M^+$ ) или характеристический фрагментный ион. При использовании классического варианта ГХ/МС с ЭИ необходимо знать основные фрагментные ионы в масс-спектре для того, чтобы осуществлять достоверный скрининг. Данную информацию можно получить из



доступных библиотек масс-спектров низкого разрешения (NIST, WILEY). Однако сравнение экспериментального и библиотечного масс-спектров может не дать убедительной сходимости в случае, например, искаженных масс-спектров или новых загрязняющих веществ, метаболитов и других соединений, отсутствующих в библиотеке. Данную проблему можно решить при использовании ручной расшифровки спектров на основе известных закономерностей фрагментации [39,40], а также при использовании данных масс-спектрометрии высокого разрешения. Использование жестких и мягких методов ионизации в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения для ГХ/МС позволяет получить данные с точной массой как молекулярного, так и фрагментных ионов, что необходимо при нецелевом анализе и идентификации неизвестных веществ.

Со времен первой стыковки газового хроматографа и масс-спектрометра в 1957 году [41] данный метод претерпел серьезные изменения и был существенно улучшен. Метод ГХ/МС позволяет эффективно анализировать неполярные и слабополярные вещества, обладающими достаточной летучестью. Ввод образца в хроматограф варьируется в зависимости от летучести анализируемых соединений. Вещества средней летучести (полулетучие) вводятся в инжектор хроматографа шприцем напрямую, в случае более летучих веществ возможно использование особых систем ввода – «выдувание – улавливание» и парофазный анализ. Базовые принципы метода сохранились: ввод пробы в хроматограф, разделение веществ на колонке, ионизация в источнике масс-спектрометра и, наконец, детектирование. За последние несколько десятилетий каждый из этих этапов был модернизирован, повышая, таким образом, возможности метода в целом.

### **2.3.1.1 Масс-спектрометрия высокого разрешения для ГХ/МС**

Современные приборы ГХ/МС стали оснащаться анализаторами высокого разрешения, которые позволяют измерять массу ионов с точностью лучше, чем 1 ppm (миллионная доля). Иначе говоря, мы можем получить массу иона, измеренную с точностью до 4-5 знаков после запятой, что, фактически, дает возможность установить элементный состав соединения [42]. Изначально ГХ/МС высокого разрешения требовала приборов с двойной фокусировкой (магнитно-секторный анализатор). Однако

на сегодняшний день появились новые виды анализаторов, способные давать высокую точность измерения величины  $m/z$  такие, как многоотражательный времяпролетный прибор [43] и орбитальная ловушка (Орбитрэп) [44,45]. Масс-спектрометрия высокого разрешения (МСВР) в сочетании с ЭИ позволяет определить элементный состав всех ионов во всем диапазоне детектируемых масс.

### **2.3.1.2 Альтернативные методы ионизации для ГХ/МС. Ионизация в тлеющем разряде**

Как известно [46, 47] при ионизации электронами молекулярный ион не всегда присутствует в спектре. В ряде случаев он не устойчив и не регистрируется вовсе. Нельзя считать идентификацию по спектру надежной, если отсутствует информация о молекулярном ионе. Кроме того, если деконволюция прошла не очень удачно или интенсивности минорных пиков в спектре малы, полагаться исключительно на вариант, предложенный библиотекой, неверно. Поэтому важно использовать дополнительные методы ионизации, которые позволяют зарегистрировать молекулярный ион. Таковыми, например, являются химическая ионизация [48], фотоионизация при атмосферном давлении [49], полевая ионизация [50], химическая ионизация при атмосферном давлении [51], электрораспыление [52], МАЛДИ [53] и другие. В данном исследовании использовалась ионизация в тлеющем разряде (ТР). Впервые устройства с тлеющим разрядом использовались в качестве полых катодных ламп для получения характеристических линий в спектроскопии, а в масс-спектрометрии [54] они стали использоваться в неорганическом анализе [55]. Однако этим применение устройств с тлеющим разрядом не ограничивается. Одной из первых работ, описывающих применение тлеющего разряда для ионизации органических веществ с последующим масс-спектрометрическим детектированием, была [56]. Источник с тлеющим разрядом представляет собой простое двухэлектродное пространство, заполненное благородным газом при давлении  $\sim 100$  мбар. Напряжение, равное нескольким сотням вольт, подаваемое на электроды, вызывает пробой газа и образование ионов, электронов и других частиц. Положительные ионы газа, ускоряясь в электрическом поле, бомбардируют катод, который обычно представляет собой непосредственно анализируемый образец, выбивая разнообразные вторичные частицы — ионы, молекулы, атомы анализируемого вещества. Относительное количество распыленных

нейтральных атомов и молекул больше, чем ионизированных, и они диффундируют в пространство между анодом и катодом, где в электронно-ионной плазме подвергаются ионизации. В основном выделяют два вида ионизации пробы — электронную:  $M + e^- \rightarrow M^+ + 2e^-$  и ионизацию Пеннинга (соударения с метастабильными атомами аргона):  $M + Ar^* \rightarrow M^+ + Ar + e^-$ . Аргон имеет метастабильные состояния с энергиями 11,55 эВ и 11,72 эВ, т.е. величинами, превосходящими энергии ионизации большинства органических соединений. Считают, что ионизация Пеннинга является преобладающим процессом в тлеющем разряде. В случае сопряжения с газовым хроматографом проба уже находится в газовой фазе, поэтому вещества диффундируют сразу в пространство между анодом и катодом, где в электронно-ионной плазме подвергаются ионизации. Тлеющий разряд – это довольно «мягкий» способ ионизации применимый для широкого спектра различных классов органических веществ. При ионизации могут образовываться как нечетноэлектронные молекулярные ионы  $[M]^+$ , так и протонированные молекулы  $[M+H]^+$  в зависимости от природы каждого вещества и его концентрации в источнике. Поскольку метод ионизации «мягкий», то образующиеся молекулярные ионы чаще всего не обладают избыточной внутренней энергией достаточной для фрагментации, вследствие чего в спектре присутствует в основном только пик молекулярного иона. Группа под руководством Веренчикова А.Н. разработала подобный источник ионизации и показала его высокую эффективность при анализе полуплетучих соединений различной природы, в том числе алканов, фталатов и нитро-соединений [57].

### **2.3.1.3 Метод двумерной газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ×ГХ/МС)**

Кроме улучшения разделения и детектирования получаемых ионов проблему анализа многокомпонентных смесей можно также решать, улучшая хроматографическое разделение. Один из способов добиться лучшего и более качественного разделения компонентов смеси является использование двумерной хроматографии (ГХ×ГХ). Разделение в этом случае осуществляется на двух хроматографических колонках. Вся процедура схематически изображена на Рисунке 14 [58].

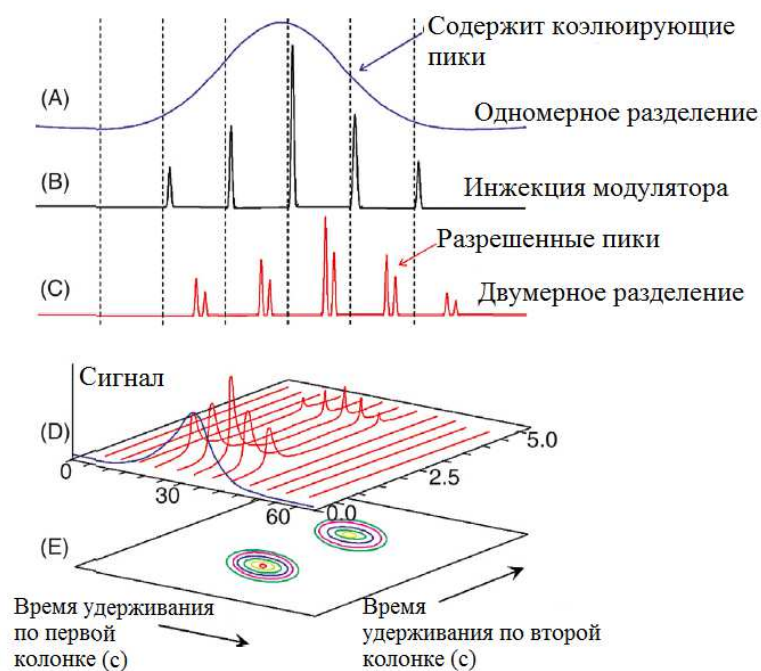


Рисунок 14. А) Одномерная хроматограмма, содержащая коэлюирующие вещества; В) Модулятор собирает пики после одномерной хроматографии и вводит узкий пик в следующую колонку; С) Коэлюирующие вещества разделяются на второй колонке; D) МС данные по полному ионному току разбиваются на сегменты и складываются в массив; E) Массив визуализируется контуром

Компоненты смеси сначала разделяются на первой колонке по температуре кипения с характеристическим временем удерживания ( $RT_1$ ). Далее элюат из первой колонки разделяется на небольшие порции каждые несколько секунд. Порции элюата отделяются друг от друга за счет быстрой заморозки и конденсации. Полученный конденсат после формирования быстро нагревается и поступает во вторую колонку, где компоненты смеси разделяются по полярности с временем удерживания ( $RT_2$ ). За время пока идет разделение на второй колонке на выходе из первой колонки формируется следующая порция конденсата, которая потом так же быстро нагревается и направляется во вторую колонку, замыкая цикл. После разделения на второй колонке элюат попадает в масс-спектрометр. Поскольку на второй колонке происходит сверхбыстрое разделение компонентов единственным вариантом масс-анализатора в данном случае является времяпролетный. Комбинация данных по двумерной хроматографии и масс-спектрометрии в едином интерфейсе позволяет проводить более детальную идентификацию и улучшать качество анализа.

Особенно эффективен такой подход оказывается при анализе нефтепродуктов и продуктов их превращений (Рисунок 15) [59]

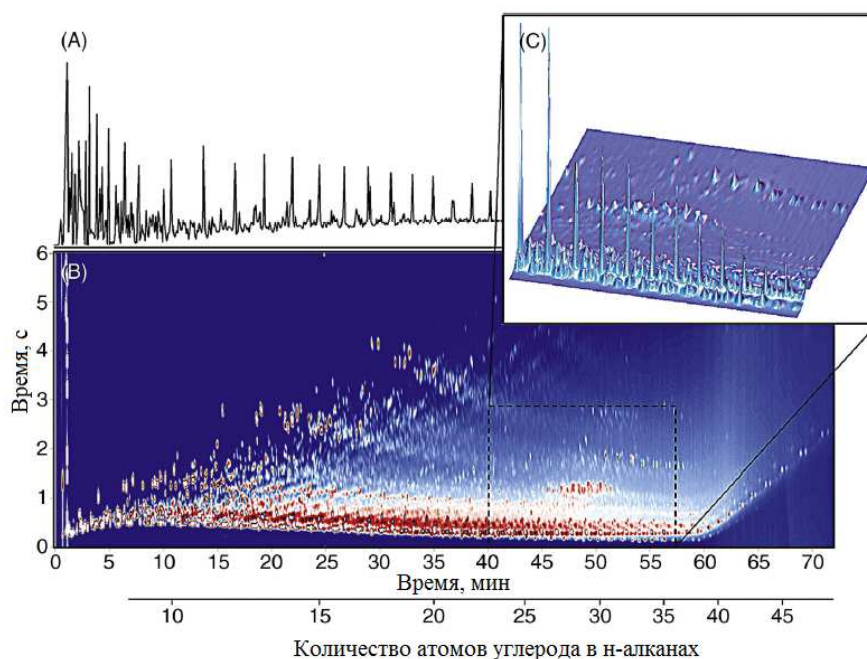


Рисунок 15. Хроматограммы грузового масла *Exxon Valdez*. А) Одномерная масс-хроматограмма по полному ионному току, полученная на неполярной колонке; В) Двумерная масс-хроматограмма по полному ионному току; С) Небольшой участок ГХ×ГХ хроматограммы в трёхмерном изображении.

### 2.3.2 Возможности метода масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС-ИЦР ПФ)

Как было показано выше, одним из ограничений метода ГХ/МС является невозможность анализа полярных и нелетучих соединений. Применение альтернативных методов ионизации, охватывающих другую область полярности и молекулярных масс соединений, является абсолютной необходимостью для получения полноценной картины состава образца. В данной работе сочетание источника ИЭР с МС-ИЦР ПФ позволяет разделять и регистрировать тысячи химически различных компонентов в одном масс-спектре без предварительного хроматографического разделения [42,60]. Получаемая разрешающая способность метода ИЦР ПФ в десятки раз выше, чем у альтернативных масс-анализаторов (времяпролетный, магнитный секторный). Это дает возможность при анализе сложных органических смесей различать

сигналы ионов с очень близкими массами (например 0,0034 Да – это разница между изобарными ионами, отличающихся по составу как  $\text{SH}_4$  и  $\text{C}_3$ ) [61]. Точная масса регистрируемых ионов позволяет однозначно определить их молекулярный состав. Масс-спектры высокого разрешения, получаемые без фрагментации, содержат только пики молекулярных ионов, где интенсивность каждого иона представляет совокупность сигналов от всех изомеров данного состава. Однако это не мешает установлению качественного состава смеси и дает весьма надежные данные по предполагаемым структурам компонентов. Данный метод хорошо зарекомендовал себя для анализа молекулярного состава природного органического вещества (ПОВ) и для объяснения химических и биологических изменений в широком ряду природных сред таких, как термальные воды [62], поровые воды глинистых материалов [63], поровые воды осадков континентального шельфа [64], воды поверхностных пресноводных водоемов и горных рек [65], морские воды [66-68] и др. Представление такого большого массива данных в основном реализуется с помощью диаграмм ван Кревелена и дефекта масс Кендрика как наиболее эффективных инструментов для получения максимальной информации о химическом составе органических веществ в сложных смесях [69-71]. Диаграммы ван Кревелена представляют собой графики, где одной из координат выбрано отношение количества атомов Н к С, а другой отношение О к С ( $\text{H/C} - \text{O/C}$ ). При известном составе молекулы найти эти соотношения не составляет труда. Для каждого класса веществ характерны свои значения отношений, поэтому поле с нанесенными точками можно разграничить по классам веществ в зависимости от природы исследуемого образца. Например, при изучении растворенного органического вещества в природных водах озера Верхнее [72] на полученной диаграмме ван Кревелена авторам удалось выделить следующие классы органических веществ: липиды, пептиды, аминоксахара, углеводы, конденсированные углеводороды, лигнин и танины (Рисунок 16). Полученная картинка позволяет качественно оценить органический состав изучаемого объекта.

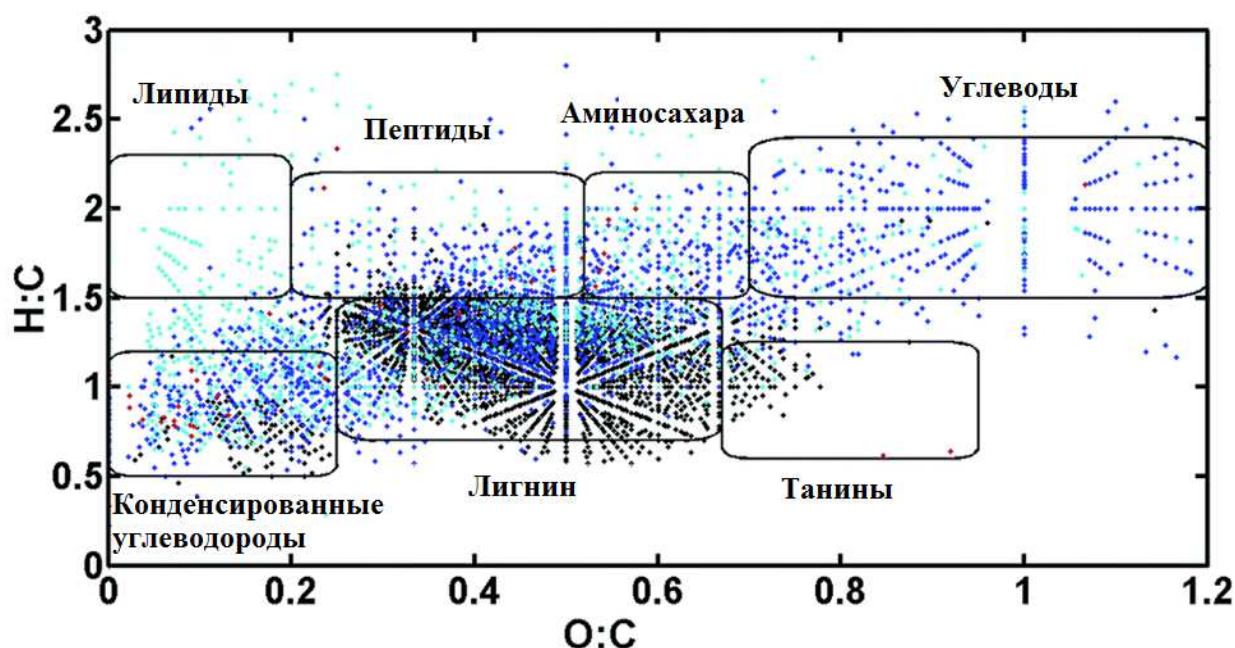


Рисунок 16. Диаграмма ван Кревелена растворенного органического вещества в водах озера Верхнее [72]. Черным цветом обозначены молекулы состава CHO и CH, синим – CHNO, бирюзовым – CHONP и красным – CHOP.

График масс Кендрика (зависимость дефекта масс Кендрика от номинальной массы Кендрика) позволяет визуализировать данные МС-ИЦРПФ посредством упорядочения всех пиков в масс-спектре по дефекту масс и молекулярной массе. Соединения, принадлежащие к одному классу и имеющие одинаковую степень ненасыщенности, но разное количество  $\text{CH}_2$ -групп, будут находиться на одной горизонтальной линии (Рисунок 17). Масса Кендрика при этом вычисляется следующим образом:

$$\text{Масса Кендрика} = \text{Масса ИЮПАК} \times (14,00000/14,01565)$$

Шкала Кендрика конвертирует массу  $\text{CH}_2$ -группы из 14,01565 точно в 14,00000. Таким образом, последовательные члены гомологической серии будут отличаться в шкале масс Кендрика на 14,00000 и могут быть легко опознаны по одинаковому дефекту масс Кендрика (ДМК):

$$\text{ДМК} = \text{НМК} - \text{масса Кендрика},$$

где НМК – номинальная масса Кендрика, округленное значение массы Кендрика



Рисунок 17. Схематическое изображение диаграммы масс Кендрика.

Таким образом, использование различных методов ионизации, тандемной хроматографии и масс-спектрометрии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения, дает возможность детектировать и устанавливать структуры самых разнообразных органических соединений.



### 3. Экспериментальная часть

#### 3.1 Анализ индивидуальных синтетических органических соединений

##### 3.1.1 Анализ региоизомерных *транс*-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов методом ГХ/МС

Растворы *транс*-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов анализировали на хроматомасс-спектрометре с тройным квадруполем TRACE 1310-TSQ 8000 фирмы Thermo Fisher Scientific GmbH (Германия). Энергия ионизации составляла 70 эВ, сканируемые массы 29–500 Да. Для газовой хроматографии применялась капиллярная силиконовая колонка TraceGOLD™ TG-5SilMS внутренним диаметром 0.25мм и толщиной нанесенной фазы 0,25 мкм, длиной 15 м, температурный режим которой был следующий: 50 °С (2 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> – 280 °С (5 мин). Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 270 °С с делением потока 1:10.

Для более надежной идентификации элементного состава фрагментных ионов 2 пары региоизомеров были также проанализированы на времяпролетном хроматомасс-спектрометре высокого разрешения Pegasus GC-HRT фирмы LECO (США) в режиме электронной ионизации. Для этого использовали колонку Rxi-5SilMS длиной 30м, внутренним диаметром 0.25мм и толщиной нанесенной фазы 0.25 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Энергия ионизации составляла 70 эВ, сканируемые массы 10–500 Да. Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 280 °С, с делением потока 50:1. Температуры инжектора, трансферной линии и источника ионизации были 280 °С, 300 °С и 320 °С соответственно. Температурный режим задавался следующим образом: 50 °С (2 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> до до 280 °С (5 мин).

##### 3.1.2 Анализ изомерных N-арилциклопропанкарбоксамидов и N-арилпирролидинонов-2 методом ГХ/МС

Растворы N-арилциклопропанкарбоксамидов анализировали на времяпролетном хроматомасс-спектрометре Pegasus GC-HRT фирмы LECO (США) в режиме электронной ионизации. Условия анализа полностью совпадают с указанными выше в пункте 3.1.1.

**Квантово-химические расчеты.** Оптимизация геометрии молекул, переходных состояний и интермедиатов проводили на базе DFT-PBE расчетов с использованием полноэлектронного TZ базисного набора L2. Число сжатых и элементарных гауссовых функций, использованных в L2, были соответственно {3,2,1}/{8,4,2} для H, {4,3,2,1}/{12,8,4,2} для C, N и O [73]. Стационарные точки на поверхности потенциальной энергии были идентифицированы путем анализа Гессианов. Термодинамические функции (энергии Гиббса, G) при 298,15 К были рассчитаны, используя приближения жесткого ротатора и гармонического осциллятора. Атомные заряды рассчитывались по Хиршфельду [74]. Пути реакции определяли методом внутренней координаты реакции [75]. Все расчеты проводились на кластере MVS100k Объединенного суперкомпьютерного центра (Москва, Россия) с помощью программы PRIRODA04, написанной Лайковым [76].

### **3.1.3 Анализ изомерных 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов методом МСВР с ИЭР**

Растворы 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов анализировали на масс-спектрометре Orbitrap Elite фирмы Thermo Fisher Scientific GmbH (Германия) с ионизацией электрораспылением. Для проведения анализов в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов в растворы добавляли муравьиную кислоту и аммиак соответственно. Ацетонитрильный раствор каждого вещества вводили через шприцевой насос напрямую в источник ионизации со скоростью 5 мкл/мин. Температура капилляра составляла 275°C, напряжение на источнике ИЭР было 3.5 и 3.2 кВ для положительного и отрицательного режимов соответственно. Разрешающая способность Орбитрэп анализатора была 480000, а элементные составы определялись с погрешностью не более 5 ppm. МС/МС эксперименты проводили при различных энергиях, используя 2 режима фрагментации – ДИС и диссоциацию, активируемую соударениями при повышенной энергии (ДАСПЭ). В ячейке соударений применяли азот. Сканируемые массы в ДИС и ДАСПЭ составляли от 100 до 50 Да и от 60 до 500 Да соответственно, массовое окно – 1 Да. Каждый спектр записывали в течение 30 с.

### 3.2 Совершенствование пробоподготовки при анализе органических соединений методом ГХ/МС. Метод ускоренной пробоподготовки при анализе проб воды окружающей среды

Вода объемом 1 мл помещалась в виалу объемом 5 мл, туда же добавляли 1 мл дихлорметана, и интенсивно встряхивали в течение 5 минут. Рассчитанное количество внутреннего стандарта (2-100 нг) добавляли с помощью шприца непосредственно в органическую фазу, а затем небольшими порциями добавляли около 1,5 г безводного сульфата натрия. Образец интенсивно встряхивали после добавки каждой новой порции сульфата натрия. После связывания всей воды прозрачный дихлорметановый экстракт переносили в чистую виалу для дальнейшего анализа методом ГХ/МС. Калибровочные растворы приоритетных экотоксикантов и растворы внутренних стандартов (для анализа полувolatile веществ – пердеитерированные нафталин, аценафтен, фенантрен, хризен и перилен, для летучих – дибромфторметан, пердеитеротолуол, 1-бром-2-фторбензол) приготовили из стандартных смесей компании Restek (США). Скорость записи данных ( $m/z$  10-500) - 10 полных спектров в секунду в режиме высокого разрешения (25000 на половине высоты максимума). Далее условия анализа различались в зависимости от списка определяемых веществ.

**Летучие соединения.** Хроматографическое разделение проводилось на колонке Rxi-5SilMS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной нанесенной фазы 0.25 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Газ-носитель – гелий, энергия ионизации составляла 70 эВ. Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 250 °С, без деления потока на протяжении 75 секунд, а далее с делением потока 10:1. Затем инжектор продували гелием со скоростью 20 мл/мин. Температуры инжектора, трансферной линии и источника ионизации были 250 °С, 320 °С и 300 °С соответственно. Температурный режим задавался следующим образом: 33 °С (5 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> до 160 °С – 6 °С/мин<sup>-1</sup> до 330 °С (5 мин). Список анализируемых веществ представлен в Таблице 3.

Таблица 3. Список летучих экотоксикантов анализируемых в пробах воды по разработанной методике.

цис-1,2-Дихлорэтилен	Дибромхлорметан	1-Хлор-4-метилбензол
2,2-Дихлорпропан	Тетрахлорэтилен	1,2,4-Триметилбензол
Бромхлорметан	1,2-Дибромэтан	Трет-бутилбензол
Хлороформ	Хлорбензол	1,2,3-Триметилбензол
1,1,1-Трихлорэтан	1,1,1,2-Тетрахлорэтан	1,3-Дихлорбензол
1,2-Дихлорэтан	Этилбензол	п-Пропилтолуол
1,1-Дихлорпропен	м + п-Ксилол	1,4-Дихлорбензол
Бензол	Бромоформ	о-Изопропилтолуол
Тетрахлорметан	Стирол	1,2-Дихлорбензол
Трихлорэтилен	о-Ксилол	Бутилбензол
1,2-Дихлорпропан	1,1,2,2-Тетрахлорэтан	1,2-Дибром-3-хлорпропан
Дибромометан	Изопропилбензол	1,2,4-Трихлорбензол
Бромдихлорметан	1,2,3-Трихлорпропан	Нафталин
Толуол	Бромбензол	1,2,3-Трихлорбензол
1,1,2-Трихлорэтан	1-Хлор-2-метилбензол	Гексахлоробутадиен-1,3
1,3-Дихлорпропан	Пропилбензол	

**Полулетучие соединения.** Хроматографическое разделение проводилось на колонке DIOXIN2 длиной 40 м, внутренним диаметром 180 мкм и толщиной нанесенной фазы 0.18 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Газ-носитель – гелий, энергия ионизации составляла 70 эВ. Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 270 °С, без деления потока на протяжении 75 секунд, а далее с делением потока 10:1. Затем инжектор продували гелием со скоростью 20 мл/мин. Температуры инжектора, трансферной линии и источника ионизации были 270 °С, 330 °С и 300 °С соответственно. Температурный режим задавался следующим образом: 40 °С (5 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> до 250 °С – 6 °С/мин<sup>-1</sup> до 330 °С (5 мин). Список анализируемых веществ представлен в Таблице 4.

### 3.3 Анализ проб снега из Москвы и конденсата облаков из Клермон-Ферран методами масс-спектрометрии

Для изучения состава проб окружающей среды методами масс-спектрометрии нами были взяты по восемь образцов снега в марте 2011-2013 годов по окружности МКАД, периметр которой составляет 109 км. Пробы отобраны в 25–100 м от дороги. В 2011 году пробы отбирали в следующих точках: 5, 22, 36, 46, 66, 79, 89, 100 км. В 2012 и 2013 точки пробоотбора были одинаковые: 15, 29, 42, 53, 66, 78, 91, 106 км. Точки пробоотбора указаны на Рисунке 18. Кроме того, пробы снега отбирались также на территории МГУ имени М. В. Ломоносова в феврале 2013 и 2016 годов.

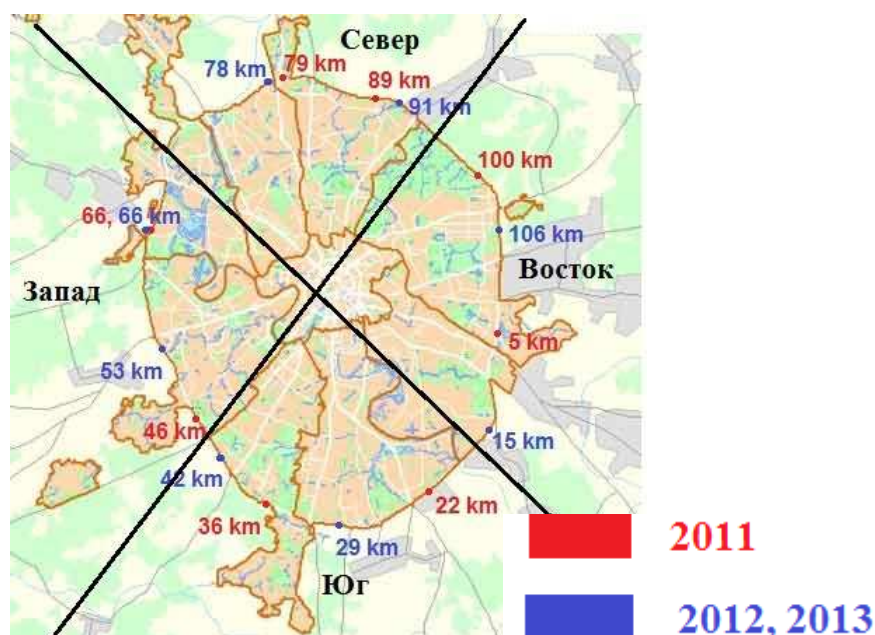


Рисунок 18. Точки пробоотбора по периметру МКАД в 2011-2013 годах.

Толщина снежного покрова в разные годы в местах пробоотбора колебалась от 35 до 70 см. Керны снега отбирали с помощью трубы диаметром 10 см. Снег помещали в трехлитровые стеклянные банки, которые предварительно были тщательно вымыты, промыты смесью пероксида водорода и серной кислоты (1:5) и высушены в сушильном шкафу при 180 °С. При отборе проб свежего снега верхние 5 см поверхности снежного покрова отбирались непосредственно после снегопада в трехлитровые стеклянные банки так, что объем пробы после таяния составлял около 1 л. Снег далее растапливали при комнатной температуре, а талую воду фильтровали через бумажные фильтры.

Конденсат облаков собирался в полевой лаборатории университета Клермон-Ферран, расположенной непосредственно на горе Пуй-де-Дом. Полученная таким образом вода аналогичным образом фильтровалась через бумажные фильтры.

### 3.3.1 Анализ методом ГХ/МС

Подготовку воды к анализу методом ГХ/МС проводили по методу 8270 Агентства по охране окружающей среды США (US EPA 8270) [77]: 1 л воды подщелачивали до pH = 11, трижды экстрагировали 60 мл дихлорметана, экстракты объединяли и высушивали над безводным сульфатом натрия. Затем водную фазу подкисляли серной кислотой до pH = 2 и повторяли процедуру экстракции. Перед анализом кислые и щелочные экстракты концентрировали до объема 1 мл и объединяли. Кроме того анализ приоритетных экотоксикантов также проводили по разработанной в данной работе методике, которая была описана выше (3.2). Анализ органических соединений проводили на времяпролетном хроматомасс-спектрометре с электронной ионизацией Regasus 4D фирмы LECO (США). Энергия ионизации составляла 70 эВ, сканируемые массы 29–500 Да. Для газовой хроматографии применялась капиллярная силиконовая колонка SPB-5 толщиной 0,25 мкм, длиной 30 м, температурный режим которой был следующий: 40 °С (4 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> – 300 °С (10 мин). Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 270 °С без деления потока. В качестве внутренних стандартов использовали perdeйтерированные нафталин, фенантрен и хризен. При обнаружении веществ опирались на данные поиска в библиотеке масс-спектров NIST14. Более тщательную идентификацию проводили, используя «ручную» расшифровку масс-спектра на основе известных спектро-структурных корреляций [78].

Приоритетные экотоксиканты, входящие в список Агентства по охране окружающей среды США (Таблица 4), определяли количественно с использованием факторов отклика, рассчитанных по стандартным смесям (Mega Mix 8270, SV Internal Standard Mix 2 mg/ml; Restek).

Таблица 4. Список приоритетных экотоксикантов Агентства по охране окружающей среды США.

1,2,4-Трихлорбензол	4-Бромдифениловый эфир	Гексахлорбензол
1,2-Динитробензол	4-Метилфенол	Гексахлорбутадиен-1,3
1,2-Дихлорбензол	4-Нитроанилин	Гексахлорциклопентадиен
1,3-Динитробензол	4-Нитрофенол	Гексахлорэтан
1,3-Дихлорбензол	4-Хлор-3-метилфенол	Дибензо(а,h)антрацен
1,4-Динитробензол	4-Хлоранилин	Дибензофуран
1,4-Дихлорбензол	4-Хлордифениловый эфир	Диметилфталат
1-Метилнафталин	N-нитрозо-диметиламин	Ди-n-бутилфталат
2,3,4,6-Тетрахлорфенол	N-нитрозо-ди-n-пропиламин	Ди-n-октилфталат
2,3,5,6-Тетрахлорфенол	Азобензол	Дифениламин
2,4,5-Трихлорфенол	Анилин	Диэтилфталат
2,4,6-Трихлорфенол	Антрацен	Изофорон
2,4-Диметилфенол	Аценафтен	Индено(1,2,3-cd)пирен
2,4-Динитротолуол	Аценафтилен	Карбазол
2,4-Динитрофенол	Бенз(b)флуорантен	Нафталин
2,4-Дихлорфенол	Бенз(ghi)перилен	Нитробензол
2,6-Динитротолуол	Бенз(k) флуорнатен	Пентахлорфенол
2-Метилнафталин	Бенз(a)антрацен	Пирен
2-Метилфенол	Бенз(a)пирен	Пиридин
2-Нитроанилин	Бензилбутилфталат	Фенантрен
2-Нитрофенол	Бензиловый спирт	Фенол
2-Хлорнафталин	Бис(2-хлоризопропиловый) эфир	Флуорантен
2-Хлорфенол	Бис(2-хлорэтиловый) эфир	Флуорен
3-Метилфенол	Бис(2-хлорэтокси)метан	Хризен
3-Нитроанилин	Бис(2-этилгексил) адипат	
4,6-Динитро-2-метилфенол	Бис(2-этилгексил) фталат	

Для прочих соединений проводили полуколичественную оценку, принимая факторы отклика этих соединений равными единице. Дополнительно все пробы были проанализированы на многоотражательном времяпролетном хроматомасс-спектрометре высокого разрешения (ГХ/МСВР) Pegasus GC-HRT (LECO, США) с разрешающей способностью 25000 в режимах электронная ионизация и тлеющего разряда. При реализации электронной ионизации использовали колонку Rxi-5SilMS длиной 30м,

внутренним диаметром 0.25мм и толщиной нанесенной фазы 0.25 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Энергия ионизации составляла 70 эВ, сканируемые массы 35–510 Да. Образцы объемом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа при температуре 270 °С, без деления потока на протяжении 75 секунд, а далее с делением потока 10:1. Затем инжектор продували гелием со скоростью 3 мл/мин. Температуры инжектора, трансферной линии и источника ионизации были 270 °С, 300 °С и 320 °С соответственно. Температурный режим задавался следующим образом: 40 °С (5 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> до 250 °С – 6 °С/мин<sup>-1</sup> до 300 °С (10 мин). Для ионизации в тлеющем разряде использовали колонку Rtx-5 (Restek) длиной 10 м, с внутренним диаметром 180 мкм, толщиной нанесенной фазы 0,2 мкм. В газоразрядной камере использовали аргон. Анализ проводили с делением потока 10:1. Температурный режим колонки такой же, как описано выше.

Кроме того, в работе был использован метод двумерной хроматографии совмещенной с масс-спектрометрией высокого разрешения (ГХ×ГХ/МСВР). При этом использовали вышеупомянутый прибор Pegasus GC-HRT (LECO, США) с дополнительной приставкой для двумерной хроматографии. При проведении анализов использовали колонки Rxi-5SilMS длиной 30м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной нанесенной фазы 0.25 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA) и Rxi-17SilMS длиной 1,4 м, внутренним диаметром 0,18 мм и толщиной нанесенной фазы 0,18 мкм (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Энергия ионизации составляла 70 эВ, сканируемые массы 35–510 Да. Температурный режим задавался следующим образом: 40 °С (5 мин.) – 10 °С мин<sup>-1</sup> до 300 °С (15 мин). Параметры ГХ×ГХ: время прохождения колонки 1,5с, время нагревания модулятора 0,45с, время охлаждения модулятора 0,3с.

### **3.3.2 Анализ методом МС-ИЦР ПФ**

Анализ методом масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованиями Фурье (МС-ИЦР ПФ) с ионизацией электрораспылением (ИЭР) проводили на приборе Bruker Solarix фирмы Bruker Daltonics (Германия), оснащенном сверхпроводящим магнитом напряженностью поля 12Т. При подготовке образцов для анализа методом МС-ИЦРПФ талая вода, полученная из отобранных проб снега, была разбавлена метанолом (LC-MS CHROMASOLV, Fluka) 1:1. Далее разбавленные



метанолом образцы вводились напрямую через шприц в источник ИЭР со скоростью 120 мкл/ч. Давление газа в распылителе составляло 103 кПа. Температура источника ионизации поддерживалась на уровне 200°C для обеспечения быстрого испарения растворителя из заряженных капель. Запись масс-спектров осуществлялась в режиме регистрации отрицательных ионов, при этом использовали накопление 500 сканов, а полученная точность измерения величины  $m/z$  была лучше 500 ppb (миллиардных долей).

## 4. Обсуждение результатов

### 4.1 Установление структур изомеров методами масс-спектрометрии

#### 4.1.1 Изомерные 4-аминопиперидин-3-олы и 3-аминопиперидин-4-олы

Функционализированные пиперидины являются многофункциональными синтонами для направленного дизайна синтетических аналогов алкалоидов и лекарственных препаратов. Они используются в органическом синтезе и выступают в качестве общей структурной мишени в фармакологических исследованиях [79]. В последнее время большое внимание привлекают  $\beta$ -аминогидроксилированные производные пиперидина как биологически активные вещества и строительные блоки для получения гидроксилированных и аминогидроксилированных пиперидиновых алкалоидов. [80-82]. Некоторые пиперидиновые алкалоиды – псевдодистамины А-Ф (Рисунок 19), выделенные из морских организмов, стали объектом тщательных исследований благодаря их противораковой активности [83-86].

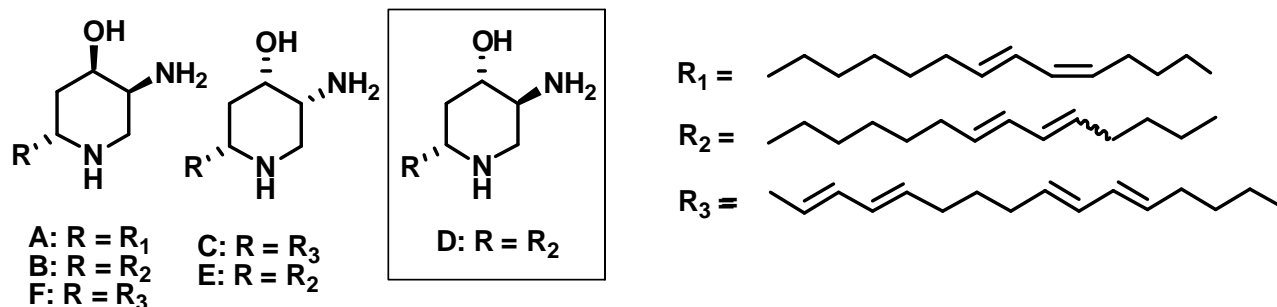


Рисунок 19. Структуры псевдодистаминов А-Ф.

Один из подходов для направленного синтеза псевдодистаминов предусматривает предварительное получение их прекурсоров – замещенных *транс*-3-аминопиперидин-4-олов. Они вызывают определенный интерес не только как строительные блоки, но и как рН-чувствительные амфифильные молекулы, которые выполняют функцию молекулярного переключателя и могут использоваться для целевой доставки лекарств [87]. Синтетический подход, разработанный в группе Гришиной Г.В. [88,89], предполагает трансформацию ненасыщенных 3-пиперидинов в эпоксиды и их дальнейшее превращение в соответствующие производные аминопиперидинов. Для оптимизации условий регио- и стереоспецифического получения обоих изомеров – 4-аминопиперидин-3-ола и 3-аминопиперидин-4-ола возникла необходимость надежной

идентификации обоих региоизомеров. Сравнение спектров  $^1\text{H}$  ЯМР этих групп соединений показало высокую степень сходства, что сделало отнесение сигналов специфических протонов и определение вицинальных констант спин-спинового взаимодействия очень сложной задачей. Хотя в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР можно найти сигналы от каждого протона, и, таким образом, провести идентификацию, процедура оказывается трудоёмкой и требует глубоких знаний и опыта работы со спектрами  $^1\text{H}$  ЯМР. Поэтому было интересно посмотреть на возможности масс-спектрометрии с ЭИ для быстрой, надёжной и простой идентификации региоизомерных *транс*-1-бензил-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов.

Закономерности фрагментации были исследованы на четырех парах региоизомеров с вариацией первичного и вторичного аминов в 3-ем и 4-ом положениях пиперидинового кольца: пирролидинил, морфолинил, бензил и 1-фенилэтил (Рисунок 20). В масс-спектрах ЭИ региоизомеров **a,b** действительно наблюдаются пики нескольких характеристических для каждого из них ионов (Рисунок 21,22).

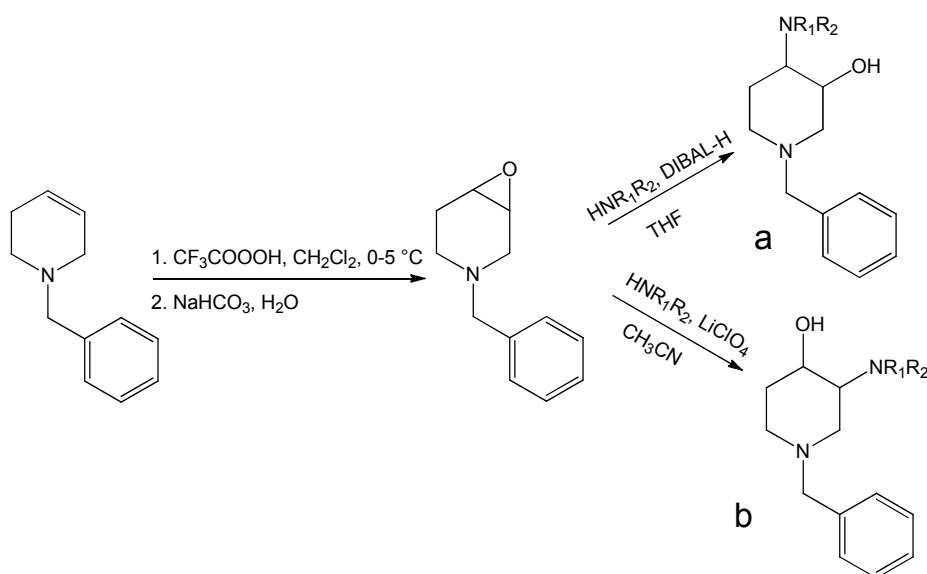


Рисунок. 20. Схема синтеза региоизомерных *транс*-1-бензил-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов. 1:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{Bn}$ ; 2:  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ =пирролидинил; 3:  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ =морфолинил; 4:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_3$

Ионы, представляющие интерес для дифференцирования региоизомеров, представлены в Таблице 5. Схемы 1 и 2 иллюстрируют фрагментацию изученных соединений с образованием характеристических ионов.

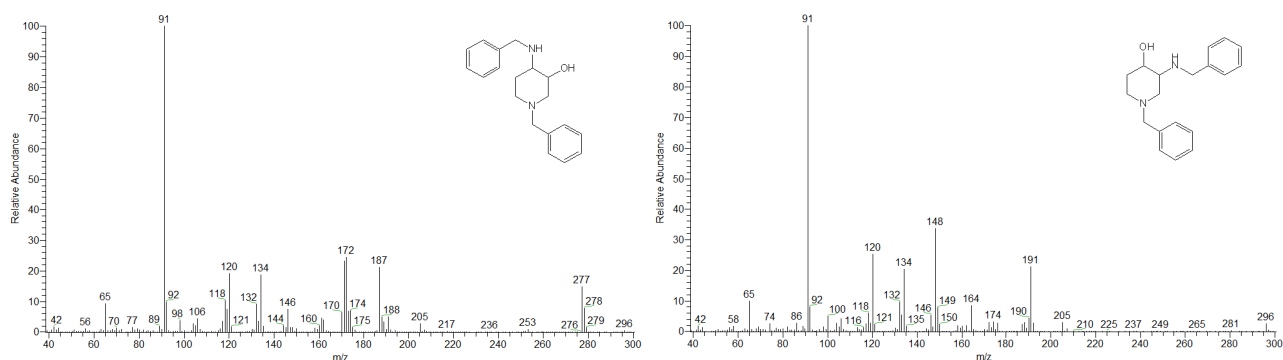


Рисунок 21. Масс-спектры ЭИ региоизомерных **a1** и **b1** *транс*-1-бензил-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов.

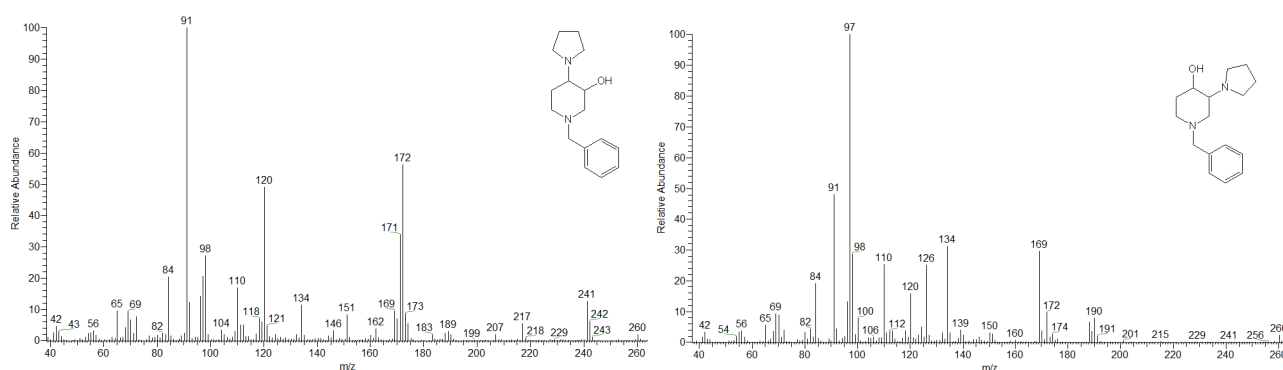


Рисунок 22. Масс-спектры ЭИ региоизомерных **a2** и **b2** *транс*-1-бензил-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов.

Молекулярные ионы всех рассмотренных соединений присутствуют в масс-спектрах, что говорит об их относительной стабильности. При вариации аминного фрагмента относительная интенсивность молекулярного иона может составлять от 1 до 20 процентов от пика максимального иона в спектре. Поскольку все молекулы содержат, по крайней мере, 1 бензильный фрагмент, ион  $m/z$  91, соответствующий катиону тропилия, доминирует во всех спектрах (интенсивность до 100%). Однако, он не представляет интереса, так как не несет никакой структурной информации для различения упомянутых региоизомеров.

Наиболее очевидное отличие масс-спектров региоизомеров (**a1-b1** и **a2-b2**) – это образование ионов вследствие выбросов небольших частиц. Образование ионов  $[M-H_2O]^+$  и  $[M-H_2O-H]^+$  (D-ион –  $m/z$  278 и 277 и E-ион –  $m/z$  242 и 241 на Рисунке 21, 22 соответственно) характерно только для *транс*-1-бензил-4-аминопиперидин-3-олов. Наблюдение подобных выбросов происходит только в случае **a** региоизомеров (Таблица 5), вероятно, благодаря лучшей стабилизации заряда в образующихся фрагментных

ионах. Разрыв цикла вблизи гидроксильной группы с выбросом  $\text{CH}_3\text{CO}$  радикала (F-ион –  $m/z$  253 и 217 на Рисунок 21, 22 соответственно) является другим предпочтительным процессом только для соединений **a 1-4**, поскольку ион  $[\text{M}-43]^+$  отсутствует в масс-спектрах **b 1-4** (Таблица 5). Учитывая уже только три указанных иона, можно легко и надежно различить упомянутые региоизомеры по их масс-спектрам ЭИ. Тем не менее в эту группу следует добавить еще один ион из области низких значений  $m/z$ . Образование иона  $m/z$  100 предполагает выброс бензильного радикала и дегидрированного фрагмента амина (Схема 2). Данный ион характерен только для **b** региоизомеров (Таблица 5). Иными словами, наличие в масс-спектре иона состава  $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}^+$  можно использовать в качестве маркера структуры *транс*-1-бензил-3-аминопиперидин-4-олов. Единственное исключение в исследованной серии наблюдается для морфолинил-производного, так как оно образует изомерный ион ( $m/z$  100,  $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}^+$ ) со структурой морфолина при фрагментации обоих региоизомеров.

Таблица 5. Интенсивности характеристических фрагментных ионов (Схема 1,2) в полном ионном токе.

Соединение	1		2		3		4	
	a	b	a	b	a	b	a	b
D	2.2	-	0.9	-	0.8	-	1.3	-
E	4.1	-	1.9	-	1.4	-	1.7	-
F	0.2	-	1.0	-	1.0	-	0.1	-
G	0.8	0.8	1.4	5.7	1.5	3.1	1.1	2.8
I	1.1	0.5	0.2	4.9	0.1	1.1	-	0.9
J ( $m/z$ 172)	6.8	0.9	9.0	1.9	15.1	1.8	5.8	0.9
K ( $m/z$ 170)	1.7	0.2	1.1	0.7	0.7	0.2	1.2	0.2
L ( $m/z$ 100)	0.1	1.4	0.1	1.5	3.8	3.9	-	0.8
M ( $m/z$ 190)	0.25	1.25	0.3	1.6	0.5	1.5	0.3	2.1
N ( $m/z$ 134)	5.8	5.2	1.7	6.3	1.6	6.2	2.1	6.4
O	1.0	1.6	3.4	18.9	1.6	21.9	0.1	1.6
P	5.2	5.8	4.0	5.4	2.3	6.9	1.5	9.4

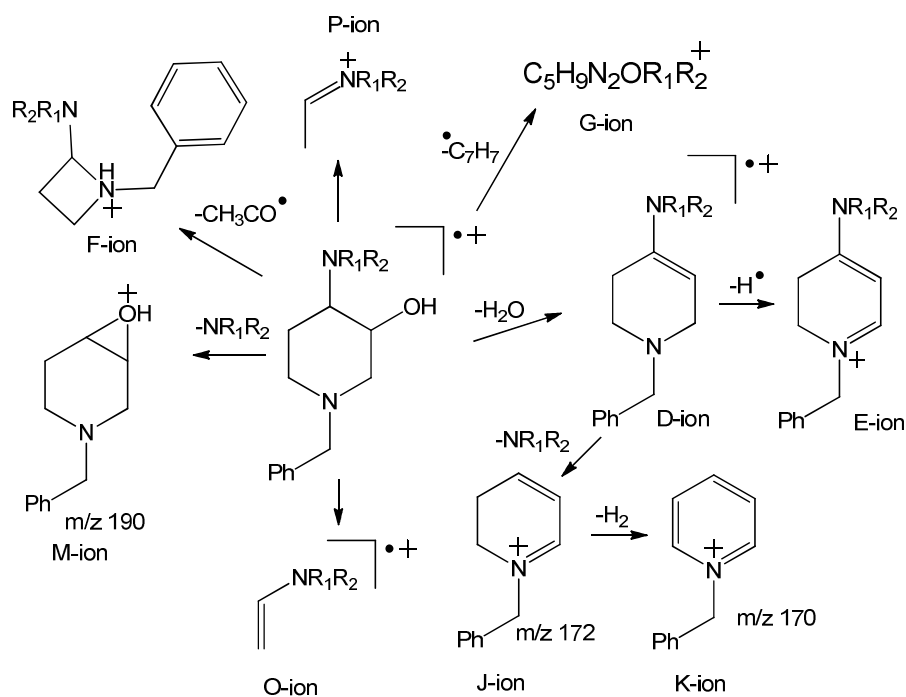


Схема 1. Путь фрагментации *транс*-1-бензил-4-аминопиперидин-3-олов.

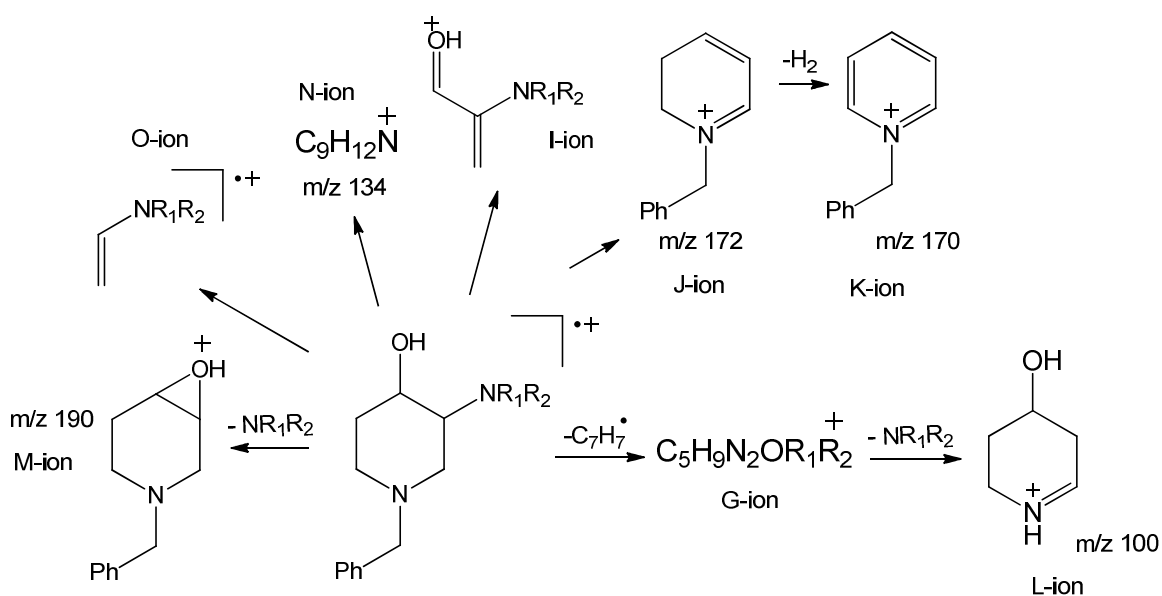


Схема 2. Путь фрагментации *транс*-1-бензил-3-аминопиперидин-4-олов.

Другой подход для того, чтобы различить региоизомеры предусматривает сравнение интенсивностей некоторых ионов, присутствующих в спектрах обоих региоизомеров. Так, интенсивность G-иона, получающегося в результате выброса бензильного радикала, почти в 2 раза выше для **b** региоизомеров, за исключением пары **a1-b1**, так как эти соединения содержат дополнительную бензильную группу в аминном фрагменте. Дальнейшая фрагментация G-иона включает элиминирование молекулы H<sub>2</sub>O. Элиминирование радикала амина из молекулярного иона приводит к образованию

иона  $m/z$  190 (М-ион) (Схемы 1,2). Аналогично G-иону, интенсивность М-иона минимум в 2 раза выше в спектрах **b** региоизомеров. Все исследованные аминопиперидинолы **a,b** представляют собой *транс*-изомеры с диэкваториальной ориентацией амина- и гидроксильной групп. Несмотря на это, в условиях ЭИ конформационный барьер легко преодолевается, вследствие высокой энергии молекулярного иона, что приводит к образованию реакционноспособного диаксиального конформера пиперидинового цикла. Диаксиальное расположение заместителей обеспечивает анхимерное содействие для элиминирования гидроксильной или амина-группы из 3-го положения пиперидинового кольца. Подобное анхимерное содействие хорошо известно в органической химии [90] и часто наблюдается в процессе фрагментации дигалогенциклогексанов [91,92] и многих других соединений [1,2], индуцированной ЭИ. Сравнивая интенсивности D, E и М-ионов, можно заключить, что заместитель из 3-го положения в общем случае отщепляется лучше, чем из 4-го.

Другой ион, заслуживающий внимания, – это К-ион ( $m/z$  170). Последовательное отщепление молекулы  $H_2O$  и радикала амина приводит к образованию J-иона ( $m/z$  172), который в свою очередь теряет молекулу  $H_2$ , образуя ароматический К-ион (Схемы 1,2). Интенсивность К-иона выше в спектрах **a** региоизомеров, вероятно, вследствие более легкого элиминирования молекулы  $H_2O$  из 3-го положения, чем из 4-го.

Целый ряд ионов, наблюдаемых в спектрах обоих региоизомеров, образуется благодаря разрыву пиперидинового цикла (Схемы 1,2). Среди них наибольшей интенсивностью обладает катион-радикал со структурой виниламина (О-ион). В случае алициклических амина-производных *транс*-1-бензил-3-аминопиперидин-4-олов эти ионы ( $m/z$  97, 113 соответствующие производным **2**, **3**) обладают самой высокой интенсивностью в спектрах **b** региоизомеров. Появление бензильного фрагмента в структуре амина приводит к образованию катионов на 1 Да больше (Р-ионы –  $m/z$  134, 148 соответствующие производным **1**, **4**). Другой путь фрагментации пиперидинового цикла для обоих региоизомеров предполагает образование бензиламинового производного (N-ион) и производного аминспирта (I-ион) с возможностью удержания заряда на обоих фрагментах (Схема 2). Для алициклических аминопроизводных интенсивность комплементарных ионов  $m/z$  134 и  $[M-134]^+$  существенно выше в спектрах **b2** и **b3**, чем **a2** и **a3** (Рисунок 22). В случае аминов с бензильным фрагментом интенсивности пиков данных ионов близки.

#### 4.1.2 Установление направления изомеризации производных фенилциклопропанов в условиях ЭИ

Кроме идентификации изомерных органических соединений масс-спектрометрия также применима для предсказания протекания некоторых реакций изомеризации в конденсированной фазе. Ранее масс-спектрометрия с ЭИ использовалась для изучения трансформации различных орто-замещенных фенилциклопропанов и диазосоединений в положительном [2] и отрицательном [93] режимах регистрации ионов, моделируя реакции, катализируемые кислотами и основаниями в растворе. Продукты циклизации молекулярных ионов арилциклопропанов до начала фрагментации были идентичны полученным в реакции в колбе [94-97]. В данной работе была изучена возможность перегруппировки N-арилциклопропанкарбоксамидов (**1a-m**) в N-арилпирролидиноны-2 в условиях электронной ионизации. Эта реакция протекает в конденсированной фазе с хорошими выходами (Рисунок 23) [98,99].

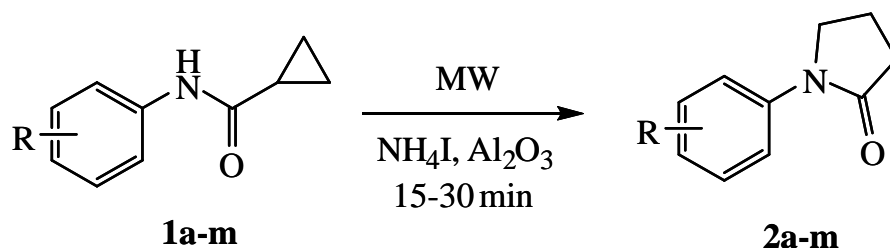


Рисунок 23. Схема синтеза N-арилпирролидинонов-2 в колбе. а) R=H, б) R = o-CH<sub>3</sub>, в) R = p-CH<sub>3</sub>, д) R = o-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, е) R = p-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, ф) R = o-F, г) R = o-Cl, х) R = p-Cl, и) R = p-Br, j) R = p-I, к) R = o-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, л) R = p-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, м) R = p-NO<sub>2</sub>

Кислотно катализируемая перегруппировка N-арилциклопропанкарбоксамидов (**1**) теоретически может приводить к образованию нескольких продуктов, включая алкены, вследствие раскрытия циклопропильного фрагмента, или гетероциклические соединения, образованные вследствие орто-замещения в ароматическом кольце [94-97]. Трансформация соединений **1** в конденсированной фазе во всех случаях приводила к получению продуктов **2**, при этом часть реагента оставалась непрореагировавшей.

Масс-спектры ЭИ изомеров **1** и **2** значительно отличались друг от друга (Рисунок 24). Пики молекулярных ионов во всех спектрах ярко выражены, что типично для ароматических соединений. Основной пик в спектрах N-



арилциклопропанкарбоксамидов **1** всегда соответствует иону со структурой молекулярного иона замещенного анилина ( $m/z$  93 на Рисунке 24), образуемому в результате разрыва связи N–C(O) сопровождаемому миграцией водорода. Данный процесс типичен для N-фенилалкиламида и проходит через четырехчленное переходное состояние [39], при этом гидрид-анион мигрирует от СН-группы циклопропильного фрагмента. Данный процесс сопровождается потерей молекулы циклопропилкетена.

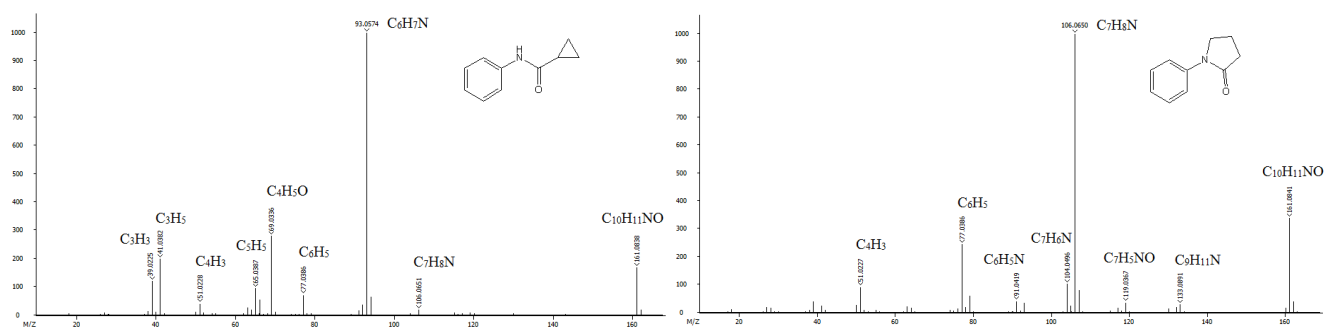


Рисунок 24. Масс-спектры ЭИ N-фенилциклопропанкарбоксамид (**1a**) и N-фенилпирролидинона-2 (**2b**).

Альтернативный путь предполагает удержание заряда на комплементарном ионе  $m/z$  69 (Схема 3), который образуется путем разрыва той же связи N–C(O), но без миграции водорода. Другой ион, заслуживающий внимания – это C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup> ( $m/z$  41). Он образуется вследствие потери молекулы CO из иона  $m/z$  69. Его интенсивность достаточно высокая во всех спектрах N-арилциклопропанкарбоксамидов **1** (Таблица 6)

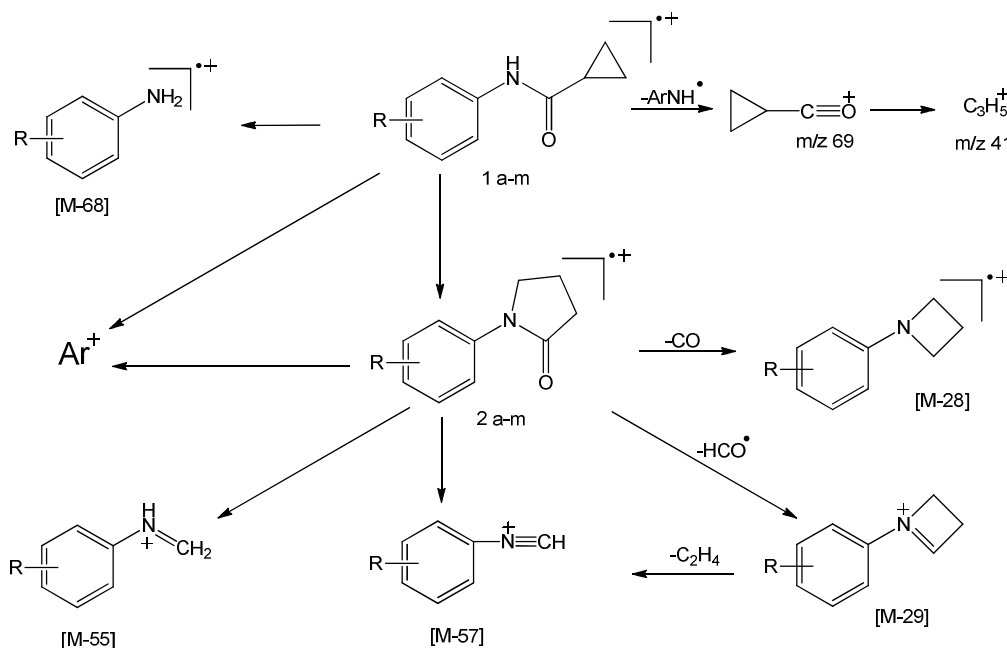


Схема 3. Наиболее значимые пути фрагментации изомерных соединений **1** и **2**.

Интенсивность всех трех упомянутых пиков ( $\text{ArNH}_2^+$ ,  $m/z$  69 и 41) в масс-спектрах ЭИ N-арилпирролидинонов-2 невелика (Таблица 6). Основной пик в спектрах этих соединений получается при последовательном разрыве связей C-C и N-C(O) пирролидинового кольца с выбросом 55 Да, что соответствует радикалу  $\text{CH}_2\text{CHCO}$ . Миграция водорода на положительно заряженный атом азота в интермедиате приводит к образованию стабильного фрагментного иона аммонийного типа ( $m/z$  106 на Рисунке 24). Альтернативная миграция водорода от ариламинового фрагмента объясняет потерю радикала  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}$  (57 Да) с образованием иона изонитрильного типа ( $m/z$  104 на Рисунке 24). Минорный процесс предполагает потерю частиц CO и HCO из молекулярных ионов пирролидинонов **2**. Их состав был подтвержден измерением точной массы с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения, тогда как структура может быть линейной или циклической (азетидины на Схеме 3). Ион  $[\text{M}-57]^+$  может образовываться и путем последовательных потерь радикала HCO и молекулы этилена.

Важно подчеркнуть, что два характеристических иона пирролидинонов **2** ( $[\text{M}-55]^+$  и  $[\text{M}-57]^+$ ) также присутствуют во всех спектрах N-арилциклопропан-карбоксамидов **1** (Рисунок 24,  $m/z$  104 и 106), хотя их интенсивность низкая.

Таблица 6. Относительные интенсивности характеристических ионов в масс-спектрах ЭИ соединений **1** и **2** (% от полного ионного тока).

Соединение	$m/z$ <b>41</b>	$m/z$ <b>69</b>	M-HCO	M-CO	[M-55]	[M-57]	[M-68]	[M-84]
<b>1a</b>	7.74	11.0	0.09	-	0.71	0.24	38.9	2.73
<b>2a</b>	0.89	-	0.77	1.12	38.1	3.94	1.30	9.30
<b>1b</b>	6.04	10.1	-	-	0.71	0.24	38.8	1.51
<b>2b</b>	1.02	0.07	2.48	2.22	19.5	5.92	0.26	5.27
<b>1c</b>	5.68	7.49	0.10	0.04	0.83	0.16	40.2	1.19
<b>2c</b>	0.73	0.1	0.50	0.28	42.4	1.99	0.25	4.94
<b>1d</b>	6.70	8.47	-	-	0.68	0.12	22.9	0.19
<b>2d</b>	1.08	1.24	0.06	0.06	22.2	1.58	-	0.73
<b>1e</b>	6.78	10.0	-	-	0.21	0.16	17.2	0.19
<b>2e</b>	5.4	8.49	0.11	-	1.21	2.00	11.7	0.52
<b>1f</b>	8.55	12.4	-	-	0.83	0.28	37.8	0.53
<b>2f</b>	0.62	0.44	0.39	0.39	44.0	4.02	0.22	3.83
<b>1g</b>	8.04	12.6	-	-	0.45	0.09	21.4	0.39
<b>2g</b>	0.85	0.04	0.05	-	15.6	2.23	0.06	3.3
<b>1h</b>	9.49	15.7	-	-	0.32	0.08	28.7	0.75
<b>2h</b>	0.76	0.09	0.41	0.22	32.95	2.57	0.11	4.98

<b>1i</b>	8.14	13.9	-	-	0.19	0.04	17.9	0.37
<b>2i</b>	0.62	-	0.1	0.52	16.79	1.71	0.09	2.6
<b>1j</b>	6.93	11.2	-	0.01	0.34	0.06	35.3	0.28
<b>2j</b>	1.04	0.54	0.16	0.35	27.9	1.44	1.17	1.59
<b>1k</b>	6.59	9.91	-	-	0.15	0.07	22.9	0.12
<b>2k</b>	1.22	0.53	0.2	-	2.58	3.29	-	1.02
<b>1l</b>	12.9	38.0	0.06	0.01	0.09	0.03	5.68	3.23
<b>2l</b>	1.48	0.98	0.16	0.97	33.7	0.33	0.08	0.21

Поскольку данные ионы определенно не могут образоваться напрямую из N-арилциклопропанкарбоксамидов, предполагается, что небольшая часть последних трансформируется в N-арилпирролидиноны-2 в условиях ЭИ. В связи с этим интенсивности данных ионов могут использоваться как мера выхода реакции трансформации молекулярных ионов из **1** в **2** по нижеприведенной формуле:

$$R_i = \frac{[M-55]_{1i}^+ + [M-57]_{1i}^+}{[M-55]_{2i}^+ + [M-57]_{2i}^+} \times 100\%$$

Числитель содержит сумму интенсивностей ионов  $[M-55]^+$  и  $[M-57]^+$  для соединения **1**, а знаменатель – сумму интенсивностей ионов  $[M-55]^+$  и  $[M-57]^+$  для соединения **2**. В Таблице 7 представлены выходы реакции трансформации **1** в **2**, посчитанные по предложенной формуле.

Таблица 7. Рассчитанные выходы реакции трансформации молекулярных ионов из **1** в **2**.

Соединение	R <sub>i</sub> , %
1a	2.3
1b	3.7
1c	2.1
1d	21.3
1e	11.5
1f	2.3
1g	2.9
1h	1.1
1i	1.2
1j	1.4
1k	3.7
1l	0.4

Результаты, приведенные в Таблице 7, сложно объяснить с позиции индуктивного, мезомерного или стерического эффектов. Важно, что базируясь на полученных

результатах, становится понятно, что по какой-то причине масс-спектры ЭИ N-арилциклопропанкарбоксамидов **1** нельзя использовать для моделирования их трансформации в N-арилпирролидиноны-2 в конденсированной фазе. Для объяснения полученных результатов использовали квантово-химический расчет на базе теории функционала электронной плотности (DFT). Были рассмотрены 3 варианта трансформации **1** в **2**: (1) термическая изомеризация нейтральной молекулы; (2) изомеризация, катализируемая кислотами Бренстеда (протонированная молекула), которая моделирует реакцию в колбе; (3) изомеризация ионизированной молекулы (катион-радикала), образующейся в источнике ионизации масс-спектрометра.

Согласно расчетам изомеризация нейтральной молекулы **1a** должна проходить многостадийно. Первая стадия предполагает раскрытие трехчленного цикла сопровождающееся разрывом связи N–C(O) с образованием новой связи N–C, что приводит к структуре кетена **3** через переходное состояние **TS1** (Рисунок 25). Вторая стадия включает трансформацию кетена **3** в фенилпирролидон **2a** через пятичленное переходное состояние **TS2** (Рисунок 25). В связи с высоким активационным барьером (64 ккал/моль для первой стадии и 55,4 ккал/моль для второй стадии) можно сделать вывод, что реакция **1** → **2** вряд ли возможна даже при повышенной температуре (200°C).

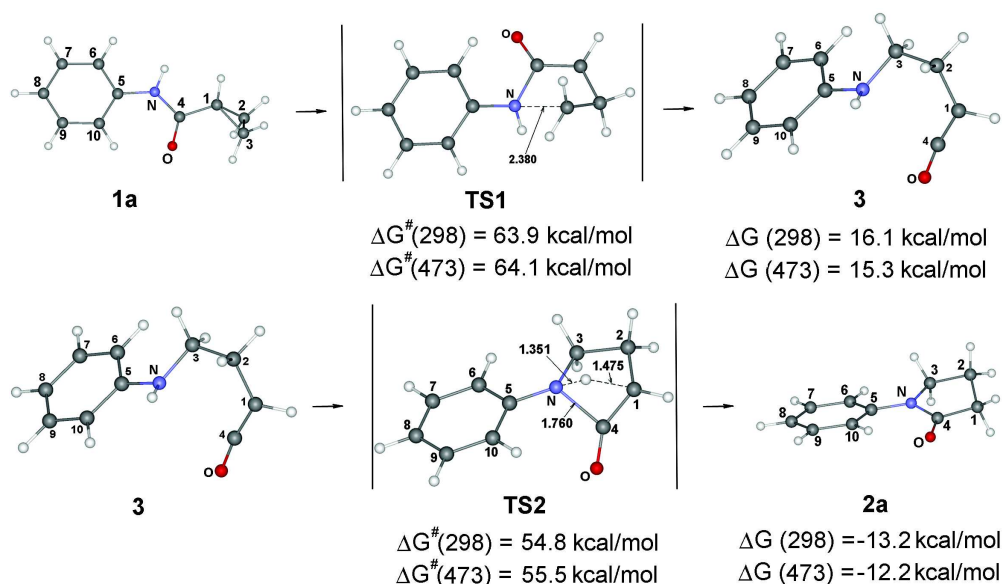


Рисунок 25. Механизм термической изомеризации **1** → **2**.

Протонирование циклопропанов **1** может происходить как по кислороду карбонильной группы (катион **4**) так и по азоту амидной группы (катион **5**). В газовой фазе протонирование кислорода более эффективно (12,8 ккал/моль), однако, в условиях реакции в колбе соединения **1** адсорбируются оксидом алюминия благодаря связыванию

с кислотой Льюиса  $C = O: \rightarrow Al(O^-)_3$ . Таким образом, протонирование кислорода с образованием катиона **4** затруднено. Несмотря на это, изомеризация протонированных циклопропанов **1** была рассчитана для обеих структур **4** и **5**. Согласно расчетам, разрыв циклопропильного фрагмента в катионе **4** и образование связи C3–N протекает через переходное состояние **TS3** (Рисунок 26) с высоким энергетическим барьером. Образование пирролидина **6** протонированного по атому кислорода энергетически невыгодно, тогда как последующий водородный сдвиг от атомов O или N на C<sub>1</sub> не может протекать как внутримолекулярный процесс (барьеры 71 ккал/моль и 65 ккал/моль соответственно), так как он запрещен по симметрии. В конденсированной фазе эти процессы возможны в виде межмолекулярных реакций с участием молекул-переносчиков протонов.

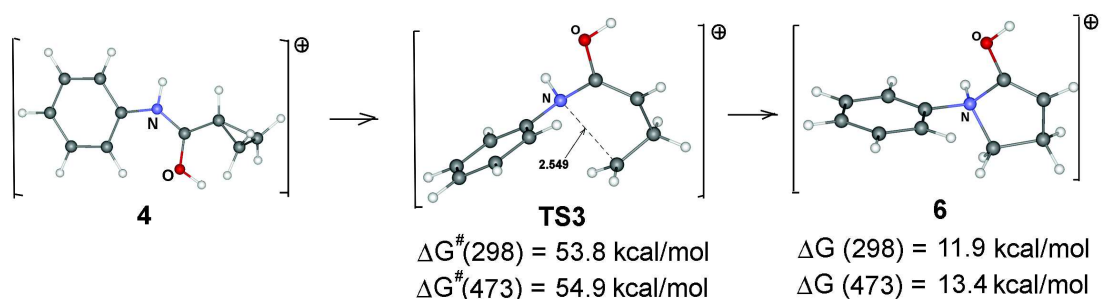


Рисунок 26. Изомеризация катиона **4** с раскрытием малого цикла.

Тем не менее, представленные выше факты свидетельствуют в пользу того, что изомеризация **1**  $\rightarrow$  **2** с участием катиона **4** едва ли возможна. Рисунок 27 иллюстрирует изомеризацию катиона **5**. Аналогично изомеризации нейтральной молекулы в случае катиона **5** предполагается раскрытие трехчленного цикла, сопровождающееся разрывом связи N–C(O). Стоит отметить, что связь N–C(O) в катионе **5** удлиняется от 1,383 Å до 1,693 Å, что приводит к значительному (~30 ккал/моль) снижению энергетического барьера в **TS4**. Первая стадия всего процесса, термодинамически нейтральная, приводит к образованию N-протонированного кетена **7**. Его циклизация – процесс экзотермический и довольно легко протекает через переходное состояние **TS5**.

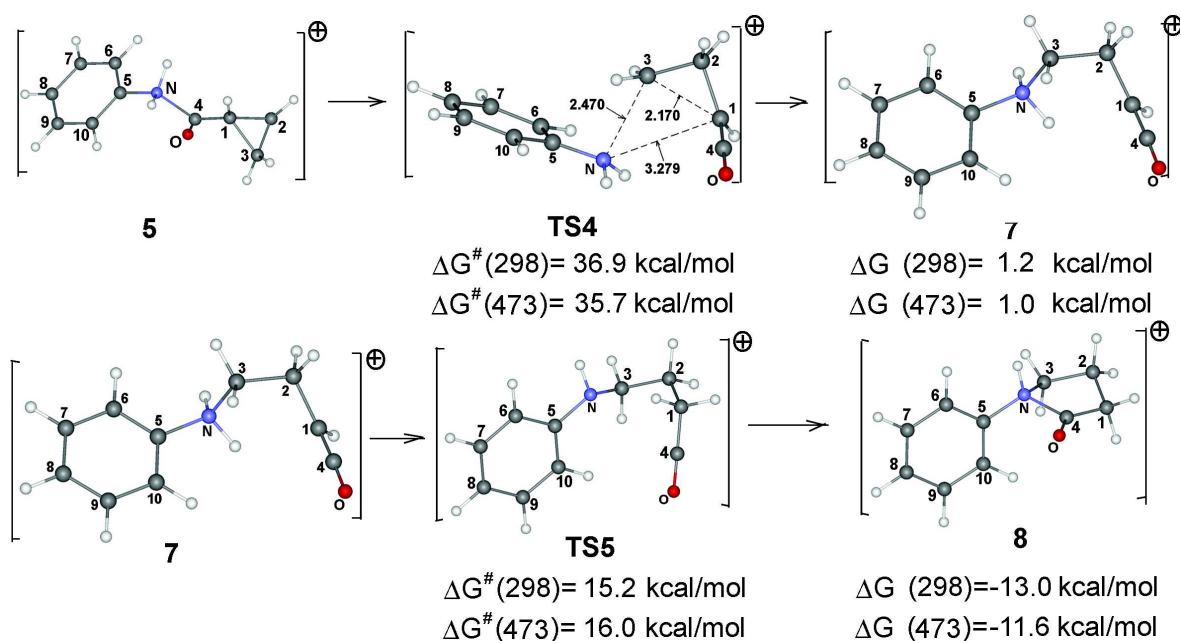


Рисунок 27. Изомеризация катиона **5** с раскрытием малого цикла.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что изомеризация **1** → **2**, катализируемая кислотами Бренстеда при повышенных температурах, протекает через N-протонированный катион **5**. Расчет энергетического барьера для лимитирующей стадии в газовой фазе показал, что реакция возможна при повышенных температурах (35,7 ккал/моль при 200°C). Структура переходного состояния **TS4** обладает достаточно высокой полярностью (рассчитанный дипольный момент – 3,4D), поэтому использование полярного растворителя или адсорбция реагента могут снизить барьер еще больше.

Электронная ионизация соединения **1a** приводит к образованию нечетноэлектронного  $M^{\bullet+}$  **9** в результате потери электрона с ВЗМО. Ионизация приводит к определенным изменениям в геометрии молекулы еще до того, как она начинает фрагментироваться. Например, длина связи N–C(O) увеличивается от 1,386 до 1,462 Å. Проведенные расчеты показывают, что описанный выше механизм изомеризации (Рисунок 25-27) в случае катион-радикала приводит к распаду основной молекулы на 2 фрагмента через переходное состояние **TS7** (Рисунок 28).

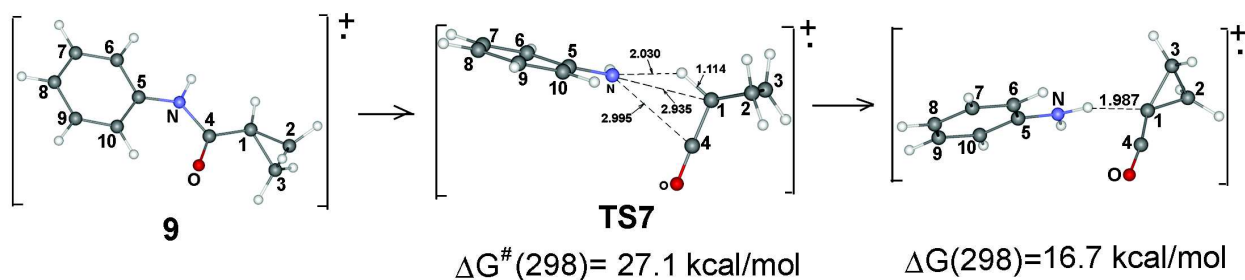


Рисунок 28. Энергетические параметры изомеризации катион-радикала **1a**, приводящей к распаду молекулы с образованием ионов  $m/z$  93 и 69.

Образующиеся ионы ( $m/z$  93 и 69) обладают самой высокой интенсивностью в масс-спектре соединения **1a** (Рисунок 24). Альтернативный процесс предполагает раскрытие трехчленного цикла с одновременной циклизацией в пятичленный пирролидин (Рисунок 29). Энергетический барьер для данной трансформации при 200°C составляет 45,3 ккал/моль. Хотя это значение на ~20 ккал/моль выше, чем то, что приводит к распаду катион-радикала (Рисунок 28), оно достижимо для молекул в условиях ЭИ, благодаря широкому диапазону значений внутренней энергии молекулярных ионов [39]. При всём этом количество циклизующихся молекул всё же невелико.

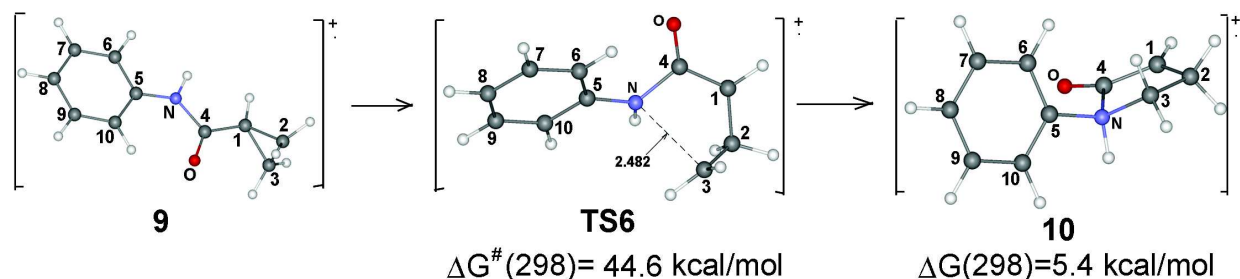


Рис. 29. Энергетические параметры изомеризации катион-радикала **9**, приводящей к образованию пирролидинового цикла.

Таким образом, масс-спектрометрия, с привлечением квантово-химических расчетов позволяет не только устанавливать структуры изомерных соединений, но и моделировать превращения, идущие в конденсированной фазе.

### 4.1.3 Установление структур и взаимных переходов изомерных гетероциклических соединений в условиях ионизации электрораспылением

Недавно описан метод синтеза изомерных 4,5-функционализованных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов (Рисунок 30) [100].

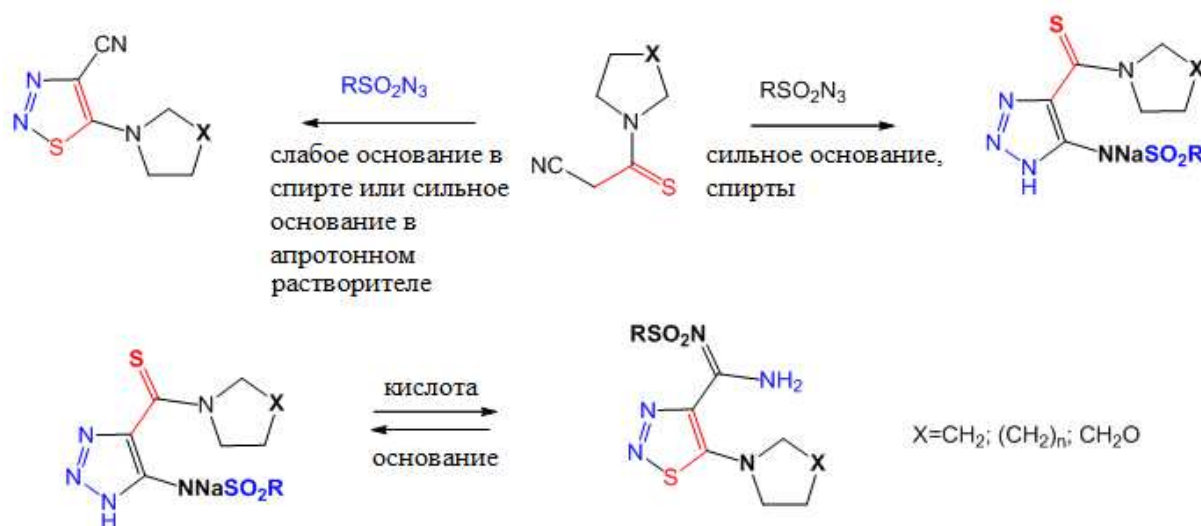


Рисунок 30. Схема синтеза 4,5-функционализованных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов

Было показано, что 1,2,3-триазолы могут превращаться в соответствующие 1,2,3-тиадиазолы в воде. Данная реакция протекает очень быстро даже при комнатной температуре в присутствии кислоты. 1,2,3-Тиадиазолы в свою очередь могут изомеризоваться обратно в соответствующие 1,2,3-триазолы в присутствии основания. Обе молекулы представляют интерес в связи с их высокой реакционной способностью и многообещающими биологическими свойствами [101-106]. Вследствие возможности быстрых перегруппировок между 1,2,3-тиадиазолами и 1,2,3-триазолами даже в относительно мягких условиях, возникла необходимость в быстром и надежном способе их идентификации. В связи с этим было проведено масс-спектрометрическое исследование с использованием ИЭР как в положительном, так и в отрицательном режимах регистрации ионов для воспроизведения процессов перегруппировки, которые имеют место в растворе. Кроме того, были изучены спектры тандемной масс-спектрометрии с применением ДИС и ДАСПЭ для идентификации каждого изомера.

Мономолекулярные превращения 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в газовой фазе были исследованы на примере 4 пар пиперидинил-производных с вариацией арильного заместителя при сульфоновой группе: фенил, 4-метилфенил, 4-фторфенил и



4-метоксифенил (Рисунок 31). Путь фрагментации каждого изомера был изучен, сканируя энергии ДИС и ДАСПЭ как в положительном, так и в отрицательном режимах регистрации ионов. Взаимосвязь между всеми фрагментными ионами, упомянутыми в Схеме 4, 5, была установлена в МС<sup>3</sup> экспериментах.

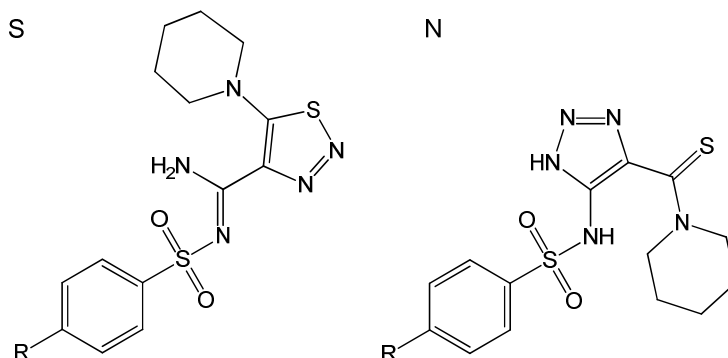


Рисунок 31. Структуры исследованных 1,2,3-тиадиазолов (S) и 1,2,3-триазолов (N)  
1: R=H, 2: R=CH<sub>3</sub>, 3: R=F, 4: R=OCH<sub>3</sub>

#### 4.1.3.1 (+)ИЭР-МС/МС изучение 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов. Моделирование реакции изомеризации в присутствии кислоты

МС/МС спектры изученных изомерных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов содержат ряд одинаковых ионов, но все же отличаются благодаря наличию пиков нескольких характеристических фрагментных ионов (Рисунок 32, 33)

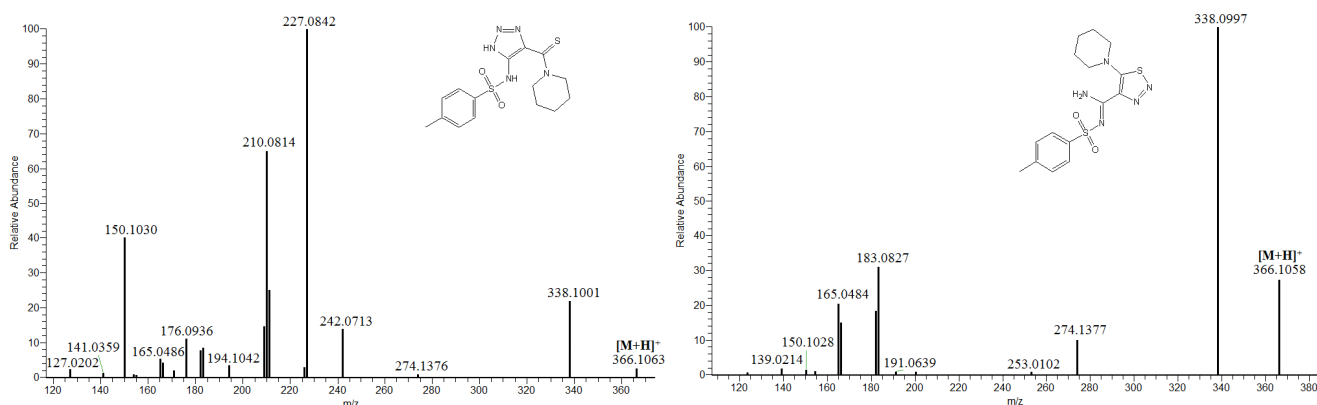


Рисунок 32. Масс-спектры (+)ДИС изомерных N2 1,2,3-триазола и S2 1,2,3-тиадиазола

Доминирующий процесс фрагментации для протонированных 1,2,3-тиадиазолов – это отщепление молекулы азота. Все остальные фрагментные ионы в спектре МС<sup>2</sup> образуется из первичного иона [МН-N<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Схема 4). Подобное утверждение было доказано последующими МС<sup>3</sup> экспериментами. Ион [МН-N<sub>2</sub>]<sup>+</sup> теряет молекулу SO<sub>2</sub>,

сульфониларильный радикал ( $\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_2^\bullet$ ) или  $\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_2^\bullet$  и  $\text{NH}_3$  в виде согласованного процесса.

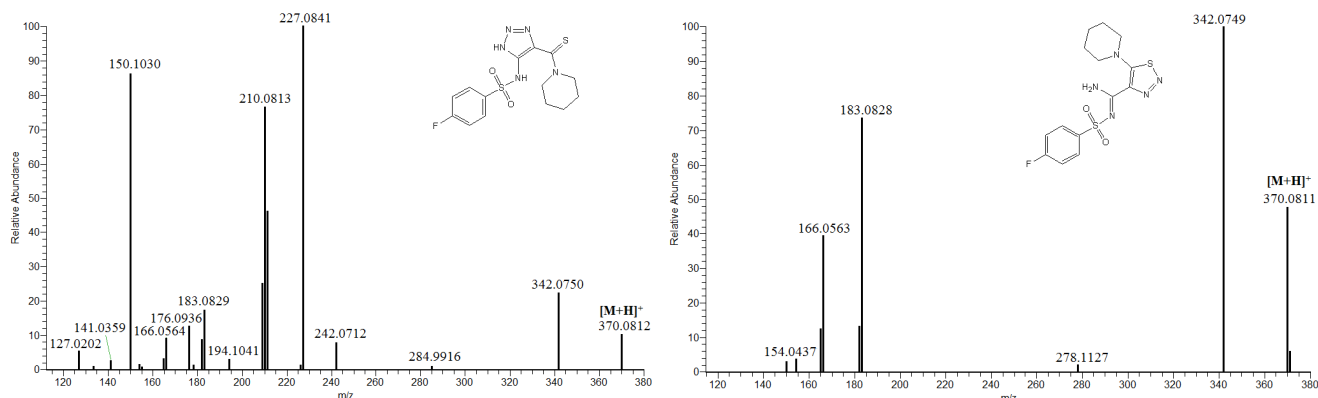


Рисунок 33. Масс-спектры (+)ДИС изомерных **N3** 1,2,3-триазола и **S3** 1,2,3-тиадиазола

Данные процессы позволяют предложить структуру тиирена или изотиазола для иона  $[\text{MH}-\text{N}_2]^+$  (Схема 4). Структура изотиазола выглядит более стабильной и способна объяснить дальнейшее образование ионов с  $m/z$  183 и 182. В то же время наличие тииренового цикла в структуре иона  $[\text{MH}-\text{N}_2]^+$  хорошо коррелирует с дальнейшим отщеплением молекулы аммиака и  $\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_2^\bullet$  ( $m/z$  166). Фрагментные ионы ( $m/z$  183, 182, 166, 165, 154, 150), образующиеся после элиминирования сульфонилярильного радикала, характерны для всех производных 1,2,3-тиадиазолов, демонстрируя отсутствие влияния заместителя в ароматическом кольце на фрагментацию.

В отличие от 1,2,3-тиадиазолов,  $\text{MH}^+$  ионы 1,2,3-триазолов обладают более богатой фрагментацией без потери молекулы  $\text{N}_2$  (Схема 5). Основной процесс фрагментации состоит в потере сульфонилярильного радикала  $\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}^\bullet$  с образованием иона  $m/z$  227. Последний, вероятно, образуется при миграции 5-аминотриазольного заместителя к атому кислорода аналогично тому, как это происходит при фрагментации сульфонов в условиях ЭИ [107, 108]. МС<sup>3</sup> спектр иона с  $m/z$  227 содержит пики ионов с  $m/z$  210, 209 и 194, соответствующие потере  $\text{OH}$  радикала, молекулы  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{SH}$  радикала. Ион с  $m/z$  176 образуется в результате последовательного отщепления молекулы  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{SH}$  радикала. Элиминирование  $\text{SH}$  радикала может проходить аналогично фрагментации 1-пиперидинилтионов в условиях ЭИ с исключением атома азота из цикла [109] (Схема 5,  $m/z$  176, 194, 242).

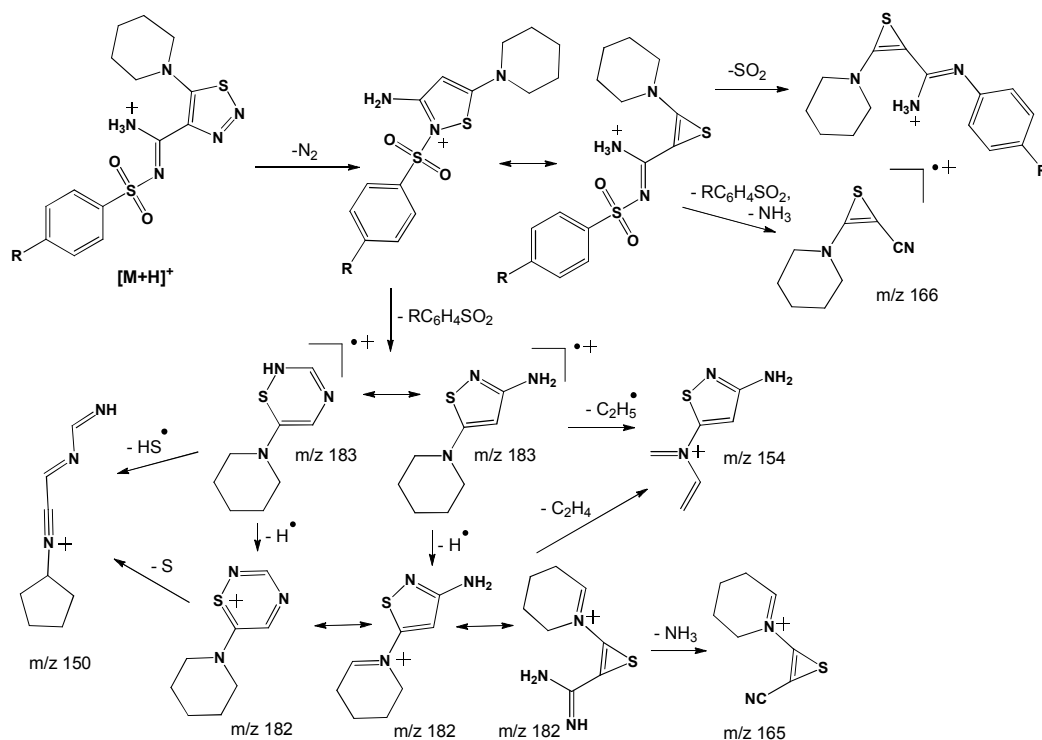


Схема 4. Пути фрагментации протонированных производных 1,2,3-тиадиазолов в условиях анализа (+)ИЭР-МС/МС, включающие характеристические и наиболее интенсивные ионы

Кроме пиперидин-1-ил производных методом (+)ИЭР-МС/МС был также исследован ряд 4,5-функционализованных 1,2,3-тиадиазолов с другими аминозаместителями (морфолин-4-ил, пирролидин-1-ил, азепан-1-ил и 4-бензилпиперидин-1-ил) в 5-ом положении. Все основные наблюдаемые ионы были те же самые. Отличие заключалось лишь в появлении в спектрах МС/МС пиков ионов, образующихся при разрыве соответствующего циклического амина.

Таким образом, идентификация изомерных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов по их спектрам ИЭР-МС/МС может легко и быстро осуществляться по набору определенных фрагментных ионов. А именно, ионы с  $m/z$  242, 210, 209, 194, 176 следует рассматривать в качестве маркеров структуры 4,5-функционализованных 1,2,3-триазолов, а ионы с  $m/z$  183, 182, 166, 165, 150 и  $[MH-N_2]^+$  – структуры 4,5-функционализованных 1,2,3-тиадиазолов.

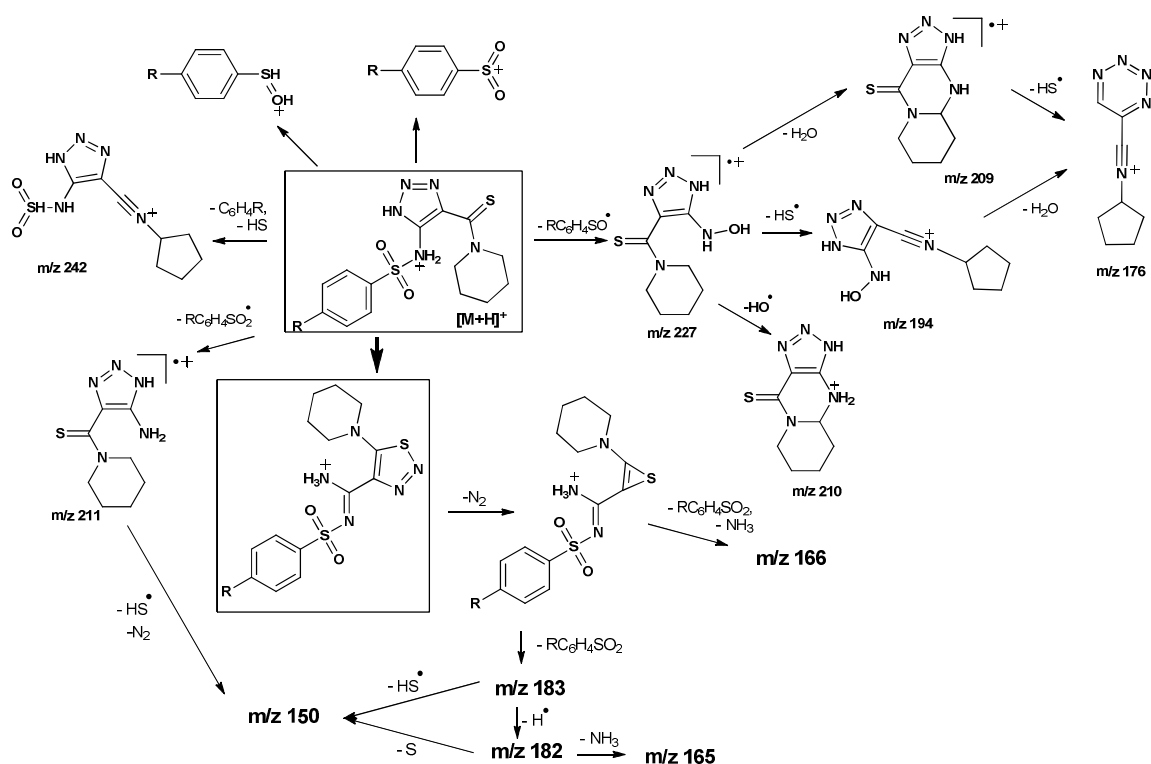


Схема 5. Пути фрагментации протонированных производных 1,2,3-триазолов в условиях анализа (+)ИЭР-МС/МС, включающие характеристические и наиболее интенсивные ионы.

Одновременно с этим, группа интенсивных пиков ионов, присутствующих в спектрах ДАС протонированных 1,2,3-триазолов, имела такой же элементный состав, что и ионы в спектрах ДАС 1,2,3-тиадиазолов. Для выяснения их происхождения была проведена серия МС<sup>3</sup> экспериментов, используя методы ДИС и ДАСПЭ. Было обнаружено, что данные ионы ( $m/z$  183, 182, 166, 165, 154, 150 и некоторые другие) обладали таким же набором фрагментных ионов, что и в случае 1,2,3-тиадиазолов (Рисунок 34). В связи с этим, очевидно было предполагать у них одинаковую структуру. Поскольку относительные интенсивности пиков этих ионов в спектрах ДАС 1,2,3-триазолов были ниже, чем в спектрах соответствующих 1,2,3-тиадиазолов, было резонно заключить, что в условиях (+)ИЭР-МС/МС часть молекул 1,2,3-триазолов изомеризуется в соответствующие 1,2,3-тиадиазолы через диазо-интермедиат, предложенный для реакции в растворе [101,104,110]. Следовательно, метод масс-спектрометрии с ИЭР в режиме регистрации положительных ионов хорошо моделирует трансформацию в конденсированной фазе 1,2,3-триазолов в 1,2,3-тиадиазолы в присутствии кислоты.

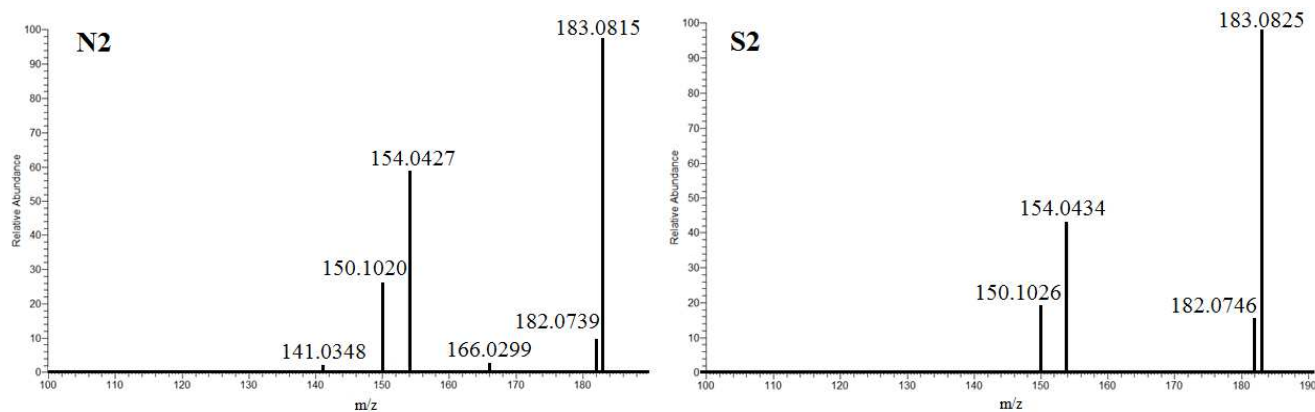


Рисунок 34. Масс-спектры  $MC^3$  (+)ДИС иона  $m/z$  183, полученного из изомерных **N2** 1,2,3-триазола и **S2** 1,2,3-тиадиазола.

#### 4.1.3.2 (-)ИЭР-МС/МС изучение 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов. Моделирование реакции изомеризации в присутствии основания

Спектры (-)ИЭР-МС/МС исследованных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов очень похожи (Рисунок 35, 36). Следует подчеркнуть, что появление любых фрагментных ионов за исключением  $RC_6H_4SO_2^-$  наблюдалось только при повышенных энергиях фрагментации (до 60 эВ). В отличие от (+)ИЭР-МС/МС большинство ионов в спектрах (-)ИЭР-МС<sup>2</sup> образуются с удержанием заряда на сульфонилярильном фрагменте, что, к сожалению, не дает информации для установления структуры изомерных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов (Схема 6). Можно только предполагать, что перегруппировка 1,2,3-тиадиазолов в 1,2,3-триазолы в условиях анализа (-)ИЭР-МС происходит аналогично реакции в растворе [100], но для подтверждения этого недостаточно доказательств, так как все фрагментные ионы отражают только структуру сульфонилярильного фрагмента.

Таким образом, масс-спектрометрия ИЭР позволяет не только различать изомерные тиадизолы и триазолы, но и дает возможность моделировать реакции изомеризации в присутствии кислот и щелочей непосредственно в ионном источнике масс-спектрометра.

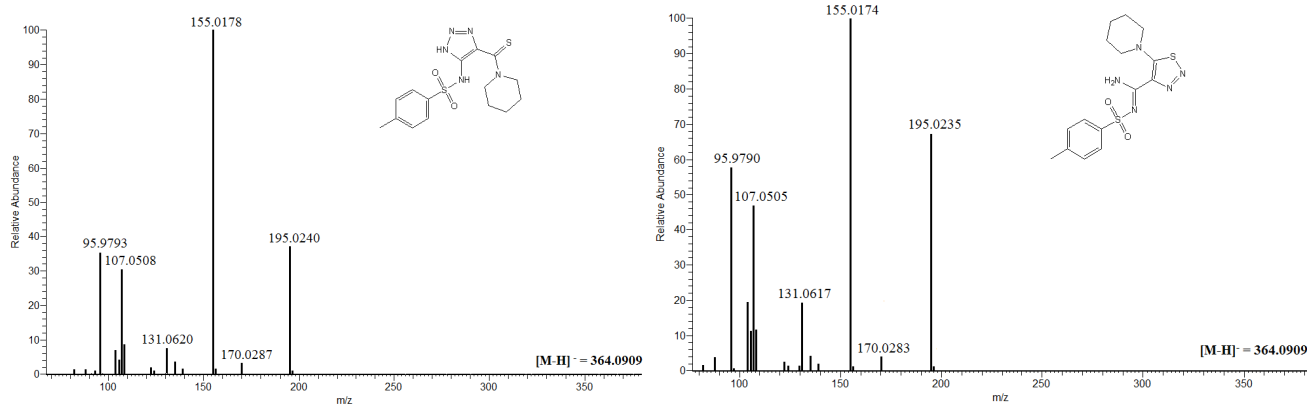


Рисунок 35. Масс-спектры (-)ДАСПЭ изомерных N2 1,2,3-триазола и S2 1,2,3-тиадиазола.

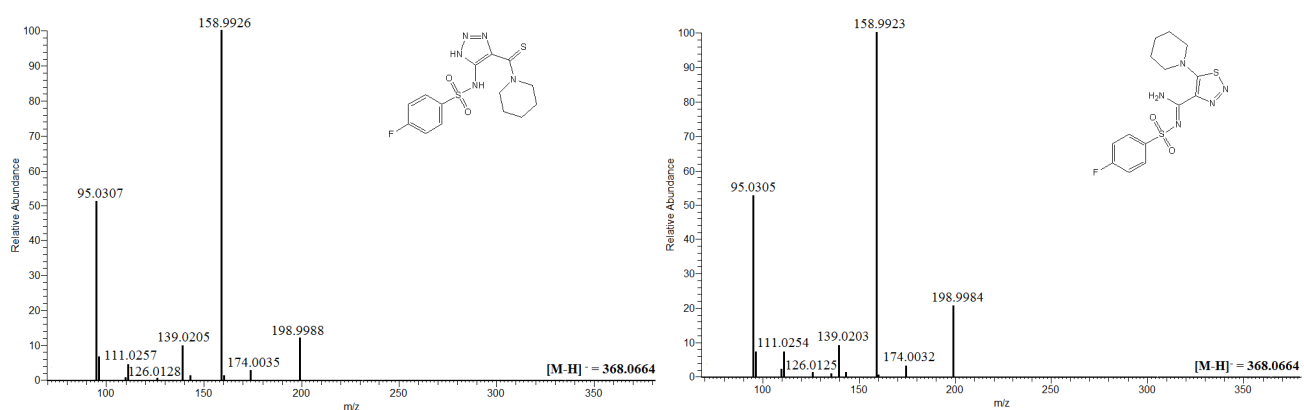


Рисунок 36. Масс-спектры (-)ДАСПЭ изомерных N3 1,2,3-триазола и S3 1,2,3-тиадиазола.

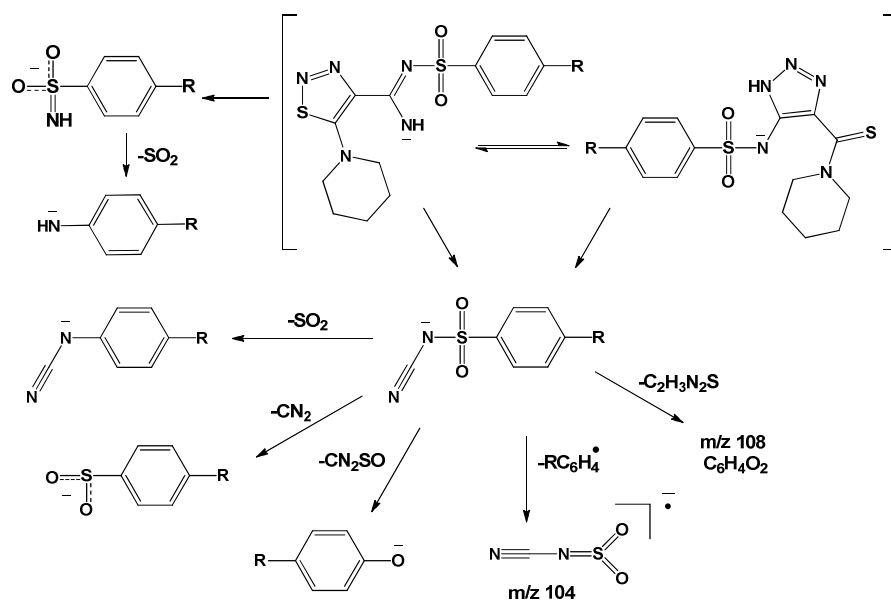


Схема 6. Пути фрагментации депротонированных производных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в условиях анализа (-)ИЭР-МС/МС, включающие характеристические и наиболее интенсивные ионы.

Кроме идентификации индивидуальных веществ масс-спектрометрия хорошо зарекомендовала себя в работе со смесями. Хорошо и легко решается задача, когда смесь состоит из 10 – 20 соединений, но что делать, когда компонентов несколько сотен? Одной из целей работы было создание комплексного масс-спектрометрического подхода для успешного установления структур органических соединений и оценки их уровней в природных образцах. Для достижения этой цели использованы классические методы хроматомасс-спектрометрии, а также современные подходы, отработанные в рамках выполнения настоящей работы. Эти новые возможности охватывают все процедуры масс-спектрометрического анализа, включая пробоподготовку, проведение анализа, сбор и обработку данных.

## 4.2 Классический ГХ/МС анализ объектов окружающей среды

### 4.2.1 Целевой поиск приоритетных экотоксикантов

Для всех целевых ксенобиотиков был использован метод масс-хроматографии, позволяющий селективно провести качественный и количественный анализ соединений, присутствующих в микроколичествах, включая коэлюируемые и маскируемые на хроматограмме по полному ионному току мажорными компонентами [111]. Эффективность этого подхода продемонстрирована на Рисунке 37. Пики искомых  $\alpha$ - и  $\beta$ -метилнафталинов отсутствуют на хроматограмме по полному ионному току, но представлены четкими пиками с временами выхода 947 и 962 с на масс-хроматограмме, построенной по току характеристических для этих соединений ионов ( $m/z$  142). Методом масс-хроматографии проверено присутствие в пробах всех значимых экотоксикантов, принадлежащих к классам полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и их алкильных производных, хлорорганических соединений, включая пестициды, полихлорированных бифенилов (ПХБ), фенолов, фталатов, других соединений из списка приоритетных экотоксикантов Агентства по охране окружающей среды США.

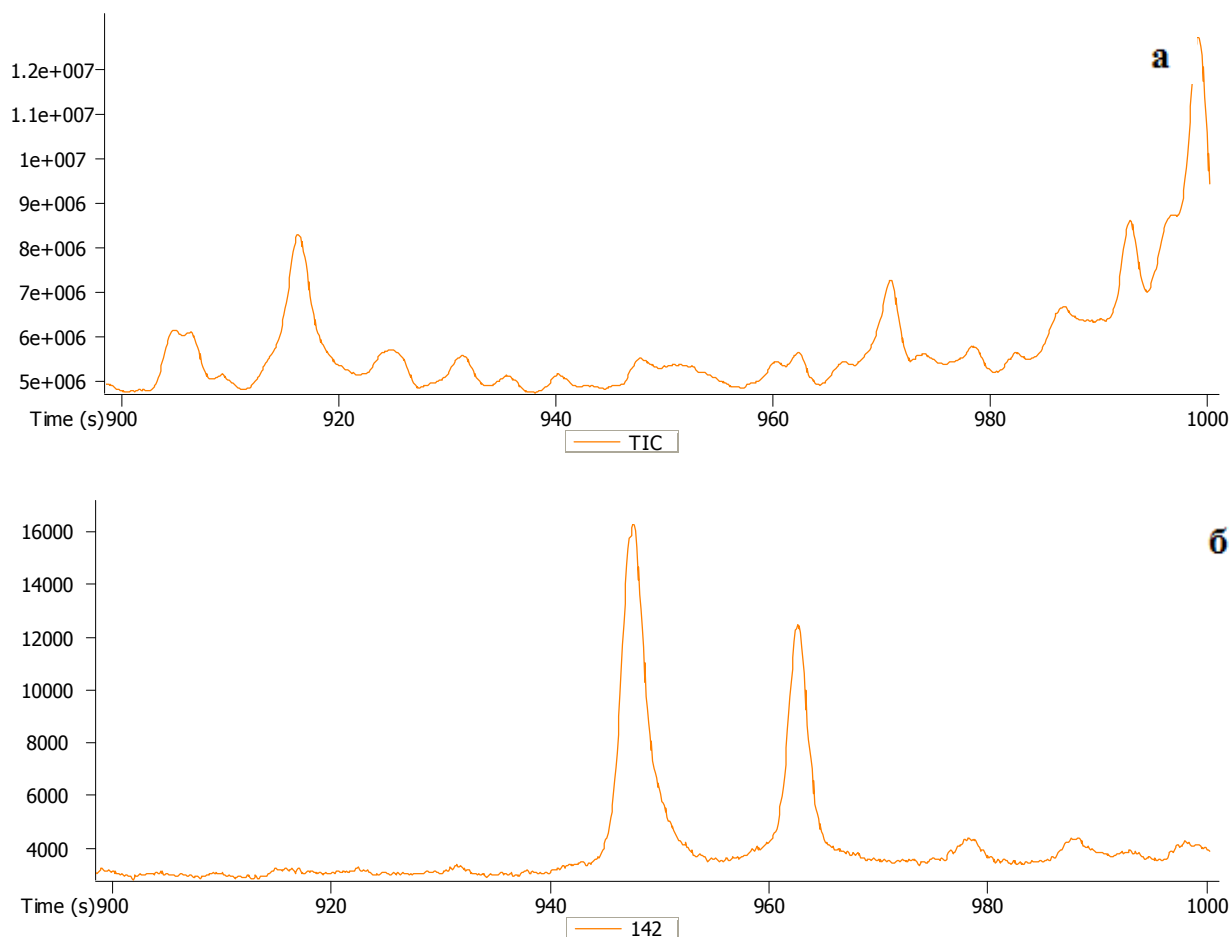


Рисунок 37. Фрагмент хроматограммы (900–1000 с) пробы 22 по полному ионному току (а) и масс-хроматограмма по характеристическому для метилнафталинов иону ( $m/z$  142) на том же участке(б).

#### 4.2.1.1 Углеводороды

Состав химических соединений в изученных пробах снега вдоль МКАД был почти одинаков, что связано с доминирующим влиянием транспортной компоненты загрязнения атмосферы. Наиболее распространенными загрязняющими соединениями в большинстве объектов окружающей среды в течение последних десятилетий являются нефтяные углеводороды. Они представлены в основном алканами, нафтенами, алкилбензолами (компоненты топлива), а также полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) и их производными. В пробах обнаружено около 70 индивидуальных алифатических углеводородов и 26 алкилбензолов.

ПАУ обычно рассматриваются экологами в качестве самостоятельного класса ксенобиотиков. Концентрации ПАУ в проанализированных пробах представлены в





	(изомер)								
5	Метилфенантрен	0.01	0.01	0.06	0.07	0.04	0.02	0.01	0.03
6	Метилфенантрен (изомер)	0.09	0.08	0.08	0.1	0.09	0.08	0.07	0.08
7	Метилфенантрен (изомер)	0.15	0.14	0.09	0.14	0.12	0.11	0.09	0.11
8	Метилфенантрен (изомер)	0.1	0.09	0.07	0.12	0.14	0.1	0.1	0.1
9	Метилфенантрен (изомер)	0.17	0.11	0.08	0.12	0.12	0.12	0.13	0.12
10	Диметилфенантрен	0.02	0.02	0.08	0.04	0.02	0.06	0.02	0.04
11	Диметилфенантрен (изомер)	0.01	0.01	0.04	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02
12	Диметилфенантрен (изомер)	0.01	0.01	0.05	0.02	0.01	0.03	0.01	0.02
13	Триметилфенантрен	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02
14	Тетраметилфенантрен	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02

с – следы

Говоря об уровнях ПАУ, следует обратить внимание на довольно значительный разброс результатов в зависимости от места пробоотбора. Наиболее грязными оказались восточные и южные пробы: 5, 22, 89, а наиболее чистыми – западные: 46 и 66. Хотя ПАУ и внесены в списки приоритетных загрязняющих веществ практически во всех странах мира, разработанных величин ПДК для индивидуальных соединений очень мало. Также стоит отметить, что разработанные данные по ПДК в основном относятся к воде или воздуху, прямая связь между концентрациями веществ в снеге и их влиянием на жизнедеятельность организмов не исследовалась. Однако, при таянии снега вещества, содержащиеся в нем, так или иначе попадают в природные воды. Было отмечено, что в период активного таяния снега концентрации ПАУ в городских реках увеличиваются на несколько порядков по сравнению с показателями в другое время года [112]. В связи с этим для оценки концентраций идентифицированных в снеге веществ вполне уместно использовать ПДК разработанные для вод рыбохозяйственного назначения или санитарно-гигиенические нормативы. В России такие нормативы есть только на нафталин (ПДК 4 мкг л<sup>-1</sup>) [19] и наиболее опасный канцероген бенз[а]пирен (ПДК 5 нг л<sup>-1</sup>) [20]. Полученные данные демонстрируют, что количество бенз[а]пирена превосходит безопасный уровень во всех точках. Только на 46 километре концентрация была на уровне ПДК, в то время как в пробе 5 она оказалась практически в 100 раз

выше. Ввиду опасности бенз[а]пирена, его уровни должны замеряться регулярно по всей территории столицы.

Хотя экологические нормативы разработаны лишь для нескольких соединений класса углеводородов, существует интегральный норматив на сумму нефтяных углеводородов (ПДК 50 мкг л<sup>-1</sup> [19]). В связи с этим в Таблице 9 представлена суммарная концентрация всех зафиксированных углеводородов (алифатические, ароматические, ПАУ).

Таблица 9. Суммарные концентрации углеводородов в пробах снега (мкг кг<sup>-1</sup>).

Суммарное содержание углеводородов	Пробы снега							
	5 км	22 км	36 км	46 км	66 км	79 км	89 км	100 км
	56	37	62	43	31	42	64	32

Как видно, интегральные концентрации нефтяных углеводородов в пробах лежат в диапазоне от 31 до 64 мкг кг<sup>-1</sup> снега, что находится вблизи или даже превышает ПДК для этого класса соединений. Равномерное распределение нефтяных углеводородов вдоль МКАД свидетельствует о том, что их важнейшим источником является транспорт.

#### 4.2.1.2 Полихлорированные бифенилы (ПХБ)

Несмотря на то, что ПХБ давно запрещены к использованию, благодаря своей высокой стабильности они до сих пор обнаруживаются в самых разнообразных объектах окружающей среды, включая полярные регионы. Не стали исключением и пробы снега в Москве. В Таблице 10 представлены концентрации обнаруженных индивидуальных ПХБ. Концентрации ПХБ находятся в узком диапазоне от 0,01 (предел обнаружения) до 0,1 мкг л<sup>-1</sup>. Из этих данных видно, что какие-либо значимые всплески концентраций этих опасных соединений от пробы к пробе отсутствуют. Достаточно сложно установить источники ПХБ. Можно лишь отметить, что этих соединений меньше на западе и больше на востоке и севере столицы.

Таблица 10. Концентрации полихлорированных бифенилов (ПХБ) в пробах снега (мкг/кг).

№	Соединение	Пробы снега							
		5 км	22 км	36 км	46 км	66 км	79 км	89 км	100 км
1	Тетрахлорбифенил	0.03	0.03	0.03	0.01	0.01	0.03	0.03	0.01
2	Тетрахлорбифенил (изомер)	0.03	0.03	0.03	0.01	0.03	0.03	0.03	0.02
3	Пентахлорбифенил	0.1	0.02	0.02	0.01	0.02	0.05	0.05	0.02
4	Пентахлорбифенил (изомер)	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05	0.06	0.01	0.04
5	Пентахлорбифенил (изомер)	0.05	0.05	0.02	0.02	0.05	0.05	0.05	0.04
6	Пентахлорбифенил (изомер)	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01
7	Пентахлорбифенил (изомер)	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01
8	Пентахлорбифенил (изомер)	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.05	0.01	0.02
9	Пентахлорбифенил (изомер)	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01
10	Пентахлорбифенил (изомер)	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05	0.05	0.1	0.05
11	Пентахлорбифенил (изомер)	0.05	0.05	0.05	0.06	0.01	0.05	0.1	0.05
12	Пентахлорбифенил (изомер)	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
13	Гексахлорбифенил	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02
	Всего	0.44	0.36	0.3	0.28	0.28	0.56	0.43	0.31

#### 4.2.1.3 Диалкиловые эфиры фталевой кислоты (фталаты)

Концентрации фталатов в пробах снега представлены в Таблице 11. Это самый распространенный класс антропогенных экотоксикантов на территории России. В настоящее время в любой точке страны трудно найти пробу любого объекта окружающей среды, в которой не содержались хотя бы следы фталатов. Это связано с высокой стабильностью этих веществ и их широчайшим использованием в качестве пластификаторов в полимерах. В пробах обнаружены 24 соединения этого класса экотоксикантов. Поскольку большая часть из них является технологическими

примесями к основным представителям этой группы и присутствует в незначительных количествах, в Таблице 11 указаны концентрации только наиболее значимых из них.

Таблица 11. Концентрации диалкилфталатов в пробах снега (мкг л<sup>-1</sup>).

№	Соединение	Пробы снега							
		5 км	22 км	36 км	46 км	66 км	79 км	89 км	100 км
1	Диметилфталат	6.7	5.4	4.9	10	8	4.1	9.2	3
2	Диэтилфталат	49	8	11	92	91	70	41	53
3	Ди(изо-бутил)фталат	45	42	41	38	43	38	62	11
4	Ди(втор-бутил)фталат	1.4	1.6	1.6	1.8	1.7	1.6	2	0.71
5	Дибутилфталат	226	180	37	150	31	168	275	41
6	Бензилбутилфталат	0.1	0.09	0.07	0.37	0.12	0.09	0.11	0.22
7	Бис(2-этилгексил)фталат	10	8.7	10	8.9	14	8.8	10	6.1
8	Диоктилфталат	0.14	0.04	0.13	0.06	0.11	0.09	0.02	0.1

Среди обнаруженных в пробах фталатов наибольшего внимания заслуживает дибутилфталат. Дибутилфталат — популярнейший пластификатор. Однако с учетом его свойств директивой Европейского Союза 76/768/ЕЕС в 1976 г. он был запрещен в качестве компонента косметических средств, включая лаки для ногтей. В 1999 г. запрещено его использование в игрушках. В ноябре 2006 г. в США дибутилфталат был внесен в список потенциальных тератогенов, то есть веществ, вызывающих нарушение эмбрионального развития. Максимальные концентрации этого соединения (более 200 мкг л<sup>-1</sup>) обнаружены в самых грязных пробах (5 и 89) на востоке Москвы. Это очень высокий уровень с экологической точки зрения, особенно учитывая, что концентрации сопутствующих ди(изо-бутил)фталата и ди(втор-бутил)фталата также очень высоки. Рыбохозяйственный норматив (ПДК) для дибутилфталата составляет 1 мкг л<sup>-1</sup>, т.е. концентрации дибутилфталата выше нормативов ПДК в десятки и сотни раз во всех точках пробоотбора.

#### 4.2.1.4 Фенолы

Фенолы входят в списки приоритетных экотоксикантов во всех странах мира. Несмотря на то, что в каждой пробе был проведен индивидуальный поиск каждого из 11 приоритетных фенолов из списка Агентства по охране окружающей среды США, удалось обнаружить в незначительных количествах только незамещенный фенол (ПДК 1 мкг л<sup>-1</sup> [19, 20]). Поскольку во всех пробах содержание фенола практически одинаковое (Таблица 12), можно сделать вывод, что значимых точечных источников этого токсиканта нет. Обнаруженный во всех пробах фенилфенол пока не имеет величины ПДК. Он используется в качестве антисептика для натуральной кожи, текстиля, древесины и бумаги, вспомогательного вещества при использовании дисперсных красителей, при синтезе неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ). Учитывая, что максимальные концентрации этого соединения зарегистрированы в западных пробах (46 и 66), с учетом розы ветров можно предположить, что фенилфенол переносится с территории Московской области или строительных и автомобильных рынков вдоль МКАД.

Таблица 12. Концентрации производных фенола в пробах снега (мкг кг<sup>-1</sup>)

№	Соединение	Пробы снега							
		5 км	22 км	36 км	46 км	66 км	79 км	89 км	100 км
1	Фенол	0.37	0.5	0.63	0.38	0.43	0.35	0.44	0.61
2	Фенилфенол	1.2	0.96	1.2	4.1	4.3	2.1	2	2

#### 4.2.2 Нецелевой поиск

В результате проведения обзорного анализа кроме заранее определенного списка экотоксикантов были обнаружены также соединения вне этого списка. С широким распространением полимерных материалов в окружающей среде всё чаще встречаются вещества различной природы, используемые в качестве стабилизаторов, антиоксидантов, антипиренов. Наиболее часто встречающимися на территории России антиоксидантами являются соединения на базе *трет*-бутилфенола. Основное из них –

2,6-ди(*трет*-бутил)-4-метилфенол (ионол), однако следует отметить, что в пробах снега 4-этил- и 4-нитропроизводные присутствуют практически в таких же количествах (Таблица 13). Несмотря на распространенность, токсичность этих соединений не высока, поэтому большой опасности для окружающей среды они не представляют.

Неожиданно широко представленным классом органических соединений оказались эфиры фосфорной кислоты. В литературном обзоре уже упоминалось об этом классе веществ. Напомним, что ОЭФК используются в качестве многоцелевых добавок (прежде всего — пластификаторов и антипиренов) в полимерные материалы. В отличие от полибромированных дифениловых эфиров органофосфаты менее опасны. Их становится все больше в объектах окружающей среды, и как было показано, транспорт является основным источником данного класса экотоксикантов. Следует так же отметить, что концентрации фосфатов оказались наиболее высокими в западных пробах. Исключение составили крезилфосфаты, равномерно распределенные по всему периметру МКАД.

Вероятно, с транспортом можно связать и появление дибензотиофенов (Таблица 13). Эти соединения являются компонентами дизельного топлива. Их равномерное распределение по всему периметру кольцевой дороги указывает на отсутствие других точечных источников. Аналогичные выводы можно сделать по алкилпиридинам (Таблица 13). Еще одна группа серосодержащих соединений включает сульфоны. Три сульфона обнаружены практически во всех пробах. Максимальные концентрации зарегистрированы в пробе 66 (Таблица 13). Происхождение этих соединений не очень понятно. Однако следует отметить, что они все чаще обнаруживаются в пробах окружающей среды.

Среди азотсодержащих соединений можно выделить хинолин, изохинолин, N,N-диметил- и дибутилформамиды. Эти соединения используются в химической промышленности. Максимальные концентрации этих веществ обнаружены в восточной пробе 100 (Таблица 13). Для всех соединений, представленных в Таблице 6, величины ПДК либо отсутствуют, либо достаточно высоки для того, чтобы бить тревогу.

Следует отметить, что помимо представленных в табл. 5-10 соединений в пробах зарегистрировано 65 представителей жирных кислот и сложных эфиров этих кислот, 35

альдегидов и кетонов, 20 жирных спиртов, более 100 соединений других классов. Концентрации этих соединений существенно ниже имеющихя отдельных экологических нормативов, хотя для большинства из них нормативы не установлены.

Таблица 13. Концентрации разнообразных антропогенных соединений в пробах снега (мкг кг<sup>-1</sup>)

№	Соединение	Пробы снега							
		5 км	22 км	36 км	46 км	66 км	79 км	89 км	100 км
1	Фенол	0.37	0.5	0.63	0.38	0.43	0.35	0.44	0.61
2	Фенилфенол	1.2	0.96	1.2	4.1	4.3	2.1	2	2
Ионол, продукты трансформации и родственные соединения									
1	2,4-Ди(трет-бутил)-фенол	0.05	–	с	0.49	0.05	–	0.56	0.29
2	2,6-Ди(трет-бутил)-4-метилфенол	0.2	0.1	0.2	0.46	0.66	0.41	0.1	0.38
3	2,4-Ди(трет-бутил)-6-нитрофенол	0.1	–	0.1	0.57	0.3	0.33	0.1	0.25
4	2,6-Ди(трет-бутил)-4-этилфенол	0.1	0.05	0.31	0.4	0.35	0.05	0.05	0.06
5	2,6-Ди(трет-бутил)-1,4-бензохинон	1.2	–	–	–	–	–	1.7	–
Органические эфиры фосфорной кислоты									
1	Триэтилфосфат	0.15	0.87	0.11	0.22	0.83	0.73	0.61	0.28
2	Трибутилфосфат	3.1	3.9	5	1.6	0.86	2.4	4	2.8
3	Трис(2-хлорэтил)фосфат	0.76	1.1	0.76	3.4	2.8	0.43	1.2	5.2
4	Трис(1-хлор-2-пропил)фосфат	0.45	0.1	0.1	0.84	0.86	1	0.36	0.1
5	Дибутилфенилфосфат	–	с	0.07	0.85	с	с	с	0.1
6	Трифенилфосфат	0.09	0.03	0.03	0.26	0.26	0.1	0.07	0.09
7	Крезилдифенилфосфат	0.04	0.01	0.01	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03
8	Крезилдифенилфосфат (изомер)	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02
Серосодержащие соединения									
1	Элементарная сера	0.09	–	–	–	–	–	0.07	–



2	Диметилсульфон	–	с	0.06	0.13	0.43	0.08	с	0.23
3	Ди(орто-толил)сульфон	0.08	0.53	0.01	1.1	1.8	0.02	0.06	0.1
4	Ди(пара-толил)сульфон	2.2	2.1	0.26	2	3.2	2.1	2.2	1.4
5	Бензотиазол	1.5	0.4	1.8	0.75	2.1	0.5	1.5	2.7
6	Дибензотиофен	0.01	0.01	0.02	0.1	0.02	0.02	0.02	0.02
7	Метилдибензотиофен	0.02	0.03	0.03	0.01	0.05	0.06	0.02	0.02
8	Метилдибензотиофен (изомер)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.01	0.01
9	Метилдибензотиофен (изомер)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01
10	Диметилдибензотиофен	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	0.02	0.01	0.03
11	Диметилдибензотиофен (изомер)	с	с	0.02	0.02	0.01	0.01	с	0.04
12	Диметилдибензотиофен (изомер)	с	с	0.01	0.01	с	0.01	с	0.02
Азотсодержащие соединения									
1	N,N-диметилформаид	0.1	0.18	0.25	0.19	0.23	0.01	–	0.51
2	N,N-дибутилформаид	0.2	0.55	0.85	0.63	0.89	2.9	1.1	1.6
3	Хинолин	0.01	0.05	0.04	0.05	0.04	0.05	0.01	0.09
4	Изохинолин	0.01	0.05	–	0.13	–	0.05	–	0.71
5	Дифениламин	0.04	0.02	0.03	0.06	0.04	0.03	0.05	0.09
6	Метилпиридин	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.1	0.04	0.1
7	Диметилпиридин	0.08	0.05	0.07	0.07	0.1	0.06	0.02	0.1
8	Диметилпиридин (изомер)	0.04	0.05	0.11	0.03	0.02	0.02	0.01	0.1
9	п-Толуилизоцианат	–	–	0.84	0.3	0.2	0.57	–	0.34

с – следы

После подробного рассмотрения состава органических соединений в пробах снега, отобранных зимой 2011 года, образцы 2012 и 2013 годов не дали дополнительной информации по ассортименту загрязняющих веществ. Интервалы концентраций основных и экологически значимых компонентов за все 3 года исследования приведены в качестве обзорной таблицы по областям периметра Москвы (Таблица 14).

Таблица 14. Концентрации антропогенных соединений в пробах снега 2011-2013 годов(мкг кг<sup>-1</sup>)

№	Соединение	Пробы снега			
		Юг	Запад	Север	Восток
1	Всего ПХБ	0,18-0,44	0,13-0,28	0,17-0,56	0,23-0,44
2	Всего ПАУ и алкилзамещенные ПАУ	0.85-4.28	0,89-2,97	0,9-4,81	0,79-6,32
3	Всего углеводородов	18-62	22-43	19-64	30-56
4	Диметилфталат	0,8-4,9	1,2-10	1,1-9,2	1,1-6,7
5	Дибутилфталат	37-180	31-150	79-275	41-226
6	Бис(2-этилгексил)фталат	6,5-12	5,1-14	4,4-13	6,1-12
7	Фенол	0,03-0,63	0,11-0,43	0,13-0,44	0,1-0,61
8	Триэтилфосфат	0,02-0,87	0,06-0,83	0,03-0,73	0,13-0,28
9	Трибутилфосфат	0,25-5	0,86-1,6	0,15-4	0,56-3,1
10	Трис(2-хлорэтил)фосфат	0,76-3,3	2,8-11	0,43-3,4	0,76-5,2
11	Трис(1-хлор-2-пропил)фосфат	0,1-0,35	0,14-0,86	0,2-1	0,1-0,45
12	Дибутилфенилфосфат	0,01-0,08	0,01-0,85	0-0,01	0,01-0,1
13	Трифенилфосфат	0,003-0,14	0,26-0,48	0,07-0,34	0,09-0,32

#### 4.3 Метод ускоренной пробоподготовки при анализе проб воды окружающей среды методом ГХ/МС

Подготовка пробы окружающей среды к анализу методом ГХ/МС традиционно является самым времязатратным этапом всего анализа. Задача сокращения времени, которое отводится на пробоподготовку, без потери анализируемых соединений является актуальной и важной. Несмотря на широкое применение и предпочтение метода пробоподготовки 3510С в качестве «золотого» стандарта для анализа приоритетных экотоксикантов в воде US EPA 8270 и 8260 (летучие и полуметучие органические вещества различной природы) [77,113], у него есть ряд недостатков, среди которых большое количество используемого хлорированного растворителя (дихлорметан), трудоемкость, времязатратность и потеря анализируемых веществ при выполнении процедуры. Учитывая, что чувствительность современных коммерчески доступных

масс-спектрометров существенно улучшилась за последние пару десятков лет, уменьшение объема пробы с 1 л (метод US EPA 8270) кажется вполне очевидным шагом модернизации данной методики. Самый низкий предел обнаружения веществ согласно методу US EPA 8270 составляет 10 мкг/л, поэтому 1 мл воды должен содержать не менее 10 нг каждого анализируемого соединения. Заявленная чувствительность масс-спектрометра Pegasus GC-HRT (LECO, США), применяемого в данном исследовании, составляет ниже 1 пкг. Поэтому даже 1 мкл будет достаточно, чтобы идентифицировать и определить все приоритетные экотоксиканты. Хотя вариант прямого введения образца воды в газовый хроматограф возможен, этого стараются избегать, поскольку он приводит к быстрой деградации колонки. В данной работе был разработан новый вариант ускоренной пробоподготовки для анализа летучих и полуметучих экотоксикантов [114,115], в которой используется классическая жидкостно-жидкостная экстракция 1 мл дихлорметана из 1 мл пробы воды с рассчитанными количествами (1 – 100 нг) анализируемых веществ. Безводный сульфат натрия, используемый для связывания воды, одновременно улучшает экстракцию благодаря эффекту «высаливания». Фактически описанный процесс можно рассматривать как замещение водной фазы на органическую (в данном случае на дихлорметан). Вся процедура занимает 5-10 мин без необходимости дополнительного концентрирования, что не приводит к потерям летучих соединений. Более того пробоподготовка в таком виде может быть осуществлена за пределами лаборатории в полевых условиях (Рисунок 38).



Рисунок 38. Набор посуды и оборудования для классической (слева) и ускоренной (справа) пробоподготовки.

Использование МСВР позволяет повысить надежность идентификации, устранить ложно-положительные результаты и улучшить пределы обнаружения, существенно понижая при этом отношение сигнал/шум [116] (Рисунок 39). Несмотря на это, предложенный подход может использоваться и для приборов низкого разрешения.

Диапазон концентраций для разработанной методики составил 10 – 100 нг/мл для полуволетучих и 5 – 100 нг/мл для летучих соединений, а степень извлечения такая же или даже лучше, чем в методиках US EPA 8270 и 8260 (Таблица 15,16).

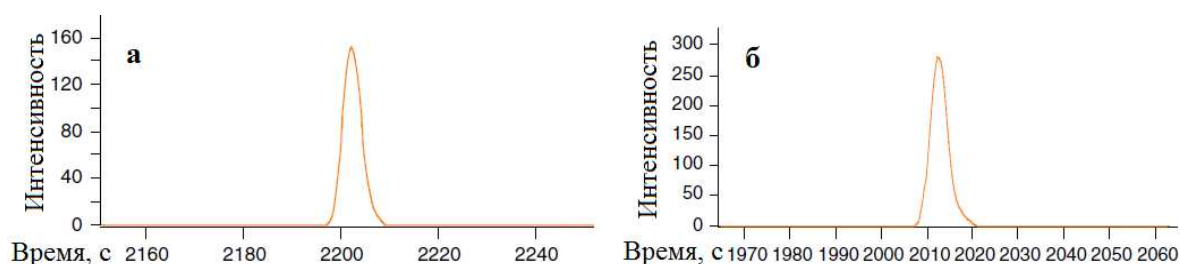


Рисунок 39. Форма хроматографических пиков для масс-хроматограмм в случае количественного определения дибенз[а,h]антрацена (а) и бензо[а]пирена (б). Интенсивность и форма сигнала приемлемая для количественного определения.

Таблица 15. Степень извлечения (%) полуволетучих органических соединений для концентраций 10, 40 и 100 нг/мл.

		Степень извлечения (%) для 3 концентраций			Средняя степень извлечения (%)
		10 нг/мл	40 нг/мл	100 нг/мл	
ПАУ					
1	Нафталин	95	98	100	98
2	2-Метилнафталин	98	100	98	99
3	1-Метилнафталин	96	95	95	95
4	Аценафтилен	101	103	106	103
5	Аценафтен	91	95	99	95
6	Флуорен	103	100	104	102
7	Фенантрен	96	100	105	100
8	Антрацен	91	98	99	96
9	Флуорантен	100	103	108	104
10	Пирен	105	103	109	106
11	Бенз[а]антрацен	102	103	105	103
12	Хризен	96	98	104	99
13	Бензо[б]флуорантен	94	103	102	100

14	Бензо[к]флуорантен	91	98	102	97
15	Бензо[а]пирен	87	95	102	95
16	Индено[1,2,3-сd]пирен	100	103	100	101
17	Дибенз[а,h]антрацен	92	98	98	96
18	Бензо[ghi]перилен	83	98	98	93
Хлорбензолы					
1	1,3-Дихлорбензол	96	88	98	94
2	1,4-Дихлорбензол	92	83	97	91
3	1,2-Дихлорбензол	88	93	96	92
4	1,3,5-Трихлорбензол	91	95	99	95
5	Гексахлорбензол	99	98	98	98
Фенолы					
1	Фенол	120	98	98	105
2	2-Хлорфенол	111	108	104	108
3	3-Метилфенол	120	103	98	107
4	3,4-Диметилфенол	95	95	97	96
5	2,4-Дихлорфенол	133	115	120	123
6	Хлорометилфенол	94	98	98	97
7	2,4,5-Трихлорфенол	103	111	83	99
8	2,4,6-Трихлорфенол	110	91	82	94
Хлорорганические соединения					
1	Бис(2-хлорэтиловый) эфир	110	95	97	101
2	Бис(2-хлор-1-метилэтиловый) эфир	117	93	98	103
3	Гексахлорэтан	86	98	104	96
4	Бис(2-хлорэтокси) метан	96	93	97	95
5	п-Хлоранилин	103	103	109	105
6	Гексахлорбутадие-н-1,3	83	78	86	82
7	1-Хлорнафталин	99	93	97	96
8	4-Феноксихлорбензол	91	95	101	96
Фталаты					

1	Диметил фталат	100	103	108	104
2	Диэтил фталат	110	103	103	105
3	Бензил бутил фталат	80	88	96	88
4	Бис(2-этилгексил) фталат	110	108	108	109
5	Ди-н-октил фталат	90	93	101	95
Другие					
1	Анилин	113	98	103	103
2	Бензиловый спирт	110	103	99	105
3	Нитробензол	91	80	84	84
4	Изофорон	100	100	100	100
5	2-Метил-1,3-динитробензол	107	98	103	101
6	Дибензофуран	101	103	106	102
7	Дифениламин	95	100	99	98
8	Азобензол	87	88	93	88
9	Карбазол	108	110	118	109
10	2-Этилгексиловый эфир гександиовой кислоты	74	68	61	70

Таблица 16. Степень извлечения (%) летучих органических соединений для концентраций 5, 10, 25 и 100 нг/мл.

		Степень извлечения (%) для 4 концентраций				Средняя степень извлечения (%)
		5 нг/мл	10 нг/мл	25 нг/мл	100 нг/мл	
1	цис-1,2-Дихлоэтилен	71	76	75	83	76
2	2,2-Дихлорпропан	73	64	76	86	75
3	Бромохлорметан	81	89	90	90	88
4	Хлороформ	99	99	88	90	93
5	1,1,1-Трихлорэтан	64	60	74	83	70
6	1,2-Дихлорэтан	91	95	90	89	95

7	1,1-Дихлорпропен	86	72	75	72	78
8	Бензол	94	91	79	80	84
9	Тетрахлорид углерода	68	66	65	76	69
10	Трихлорэтилен	72	74	72	82	75
11	1,2-Дихлорпропан	90	81	78	75	83
12	Дибромметан	91	80	99	100	92
13	Бромодихлорметан	91	99	90	87	95
14	Толуол	97	85	78	74	87
15	1,1,2-Трихлорэтан	68	87	94	97	87
16	1,3-Дихлорпропан	82	92	94	91	90
17	Дибромохлорметан	76	91	98	99	91
18	Тетрахлорэтилен	71	58	74	80	71
19	1,2-Дибромэтан	85	87	95	93	86
20	Хлорбензол	70	77	82	84	78
21	1,1,1,2-Тетрахлорэтан	70	75	91	93	82
22	Этилбензол	90	86	82	79	81
23	м+п Ксилол	88	80	80	79	81
24	Бромоформ	80	96	113	105	99
25	Стирол	74	80	84	79	79
26	о-Ксилол	78	73	75	73	75
27	1,1,2,2-Тетрахлорэтан	89	92	93	68	86
28	Изопропилбензол	80	68	73	70	73
29	1,2,3-Трихлорпропан	103	99	90	98	98
30	Бромбензол	78	83	82	77	80
31	2-Метилхлорбензол	95	81	81	72	85
32	Пропилбензол	92	72	74	71	78
33	4-Метилхлорбензол	77	70	74	74	74
34	1,2,4-Триметилбензол	80	74	76	73	76
35	Трет-бутилбензол	75	80	78	76	77
36	1,2,3-Триметилбензол	76	73	79	72	75
37	1,3-Дихлорбензол	67	76	90	86	80
38	п-Пропилтолуол	82	71	76	73	76
39	1,4-Дихлорбензол	68	79	87	84	80

40	о-Изопропилтолуол	70	73	76	72	73
41	1,2-Дихлорбензол	78	83	88	87	84
42	Бутилбензол	78	81	84	75	79
43	1,2-Дибром-3-хлорпропан	81	89	110	110	98
44	1,2,4-Трихлорбензол	67	81	96	89	83
45	Нафталин	102	103	102	86	100
46	1,2,3-Трихлорбензол	71	82	98	93	86
47	Гексахлорбутадиен-1,3	58	57	74	75	66

#### 4.4 Использование масс-спектрометрии высокого разрешения при анализе проб окружающей среды (ГХ/МСВР)

##### 4.4.1 Целевой поиск методом ГХ/МСВР

Для проведения целевого анализа многокомпонентных смесей методом ГХ/МСВР используется режим мониторинга заданных ионов или описанный выше метод масс-хроматографии [111]. Основным преимуществом построения хроматограмм по точной массе, является значительное снижение фона и, как следствие, значительное увеличение отношения сигнал/шум (S/N). Применяя МСВР, увеличение количества ионов аналита, достигающих детектора, не происходит, однако, снижается количество интерферирующих ионов фона, которые достигают детектора [117]. Например, при целевом поиске нафталиндикарбоновой кислоты в пробах снега можно отчетливо видеть, как точность задаваемой массы меняет вид масс-хроматограммы (Рисунок 40). При работе с регистрацией четырех знаков после запятой на хроматограмме остается исключительно пик целевого компонента.

Другим важным моментом при работе с целевым анализом является возможность обнаружения в образце различных соединений с такой же номинальной массой (изобарные ионы). Рисунки 41 и 42 представляют масс-спектры для двух разных снежных образцов (неразделенные с помощью ГХ) в очень узком массовом интервале. В первом случае – это целочисленная масса 276, характерная для приоритетного



загрязняющего вещества индено[1,2,3-*cd*]пирена, а во втором – 180, используемая для детектирования флуоренона. Как можно заметить, в масс-спектре присутствуют 14 различных пиков с номинальной массой индено[1,2,3-*cd*]пирена (Рисунок 41) и 22 различных пика с номинальной массой флуоренона (Рисунок 42).

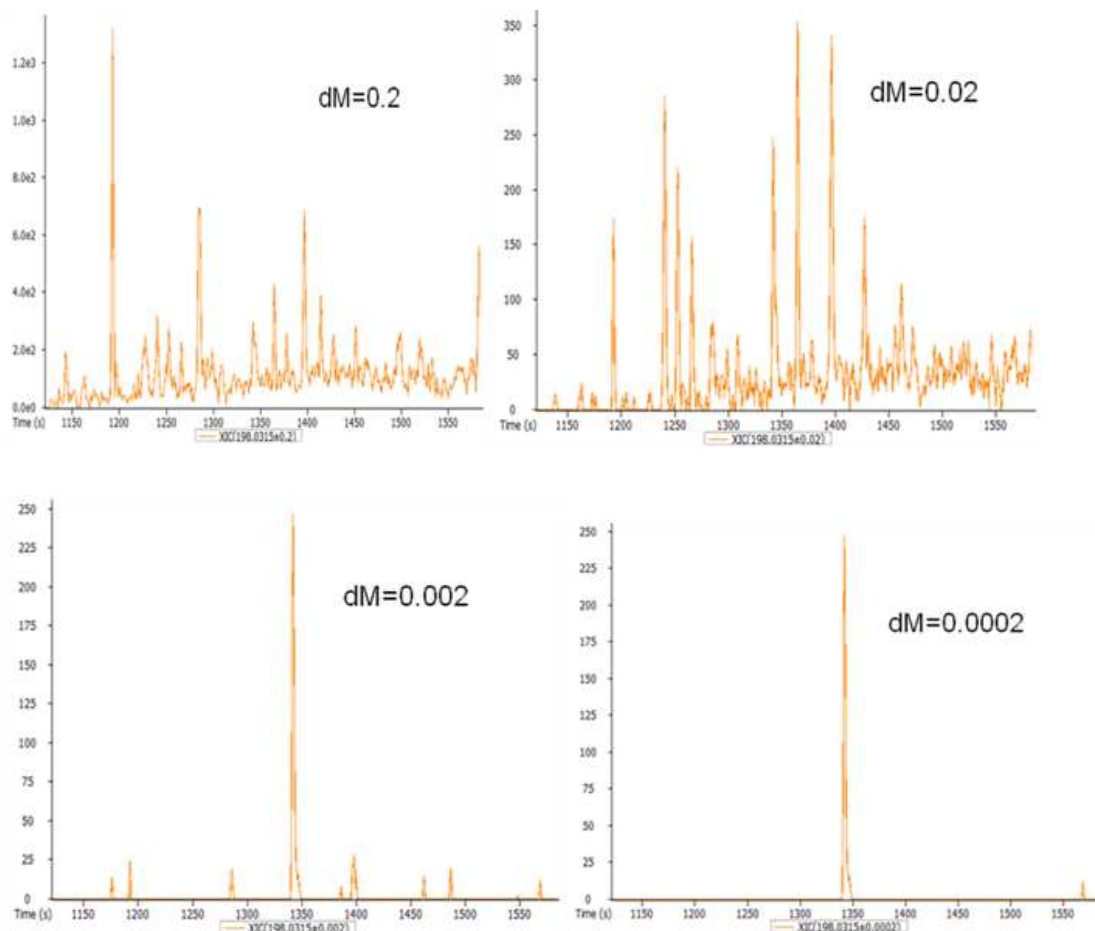


Рисунок 40. Масс-хроматограммы по иону с  $m/z$  198.0315, построенные с различной ТОЧНОСТЬЮ.

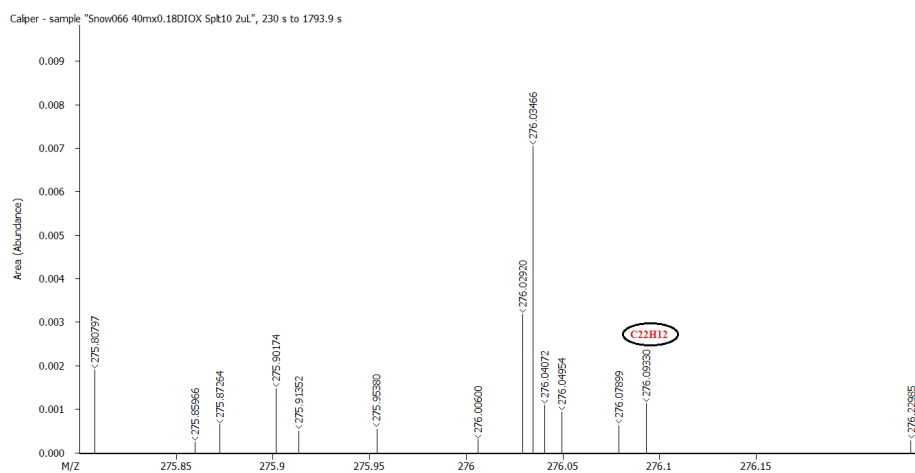


Рисунок 41. Интегральный масс-спектр образца снега в области целочисленной массы 276 (масса для количественного определения индено[1,2,3-*cd*]пирена).

Важно отметить, что целевые пики (выделены красным цветом) не являются самыми интенсивными в спектре. При этом каждому пику в спектре соответствует свой индивидуальный элементный состав, который может представлять собой не одно, а несколько соединений (изомеры) с одинаковым элементным составом. Таким образом, суммарное количество веществ с одинаковым номинальным значением  $m/z$  в пробе может достигать сотен. Если хотя бы одно из этих веществ будет иметь близкое к целевому аналиту время удерживания, то появление ложно положительного или ошибочного результата неизбежно. В представленном эксперименте речь идет о довольно простой матрице (снег), но чем сложнее матрица, тем выше вероятность ошибочного результата.

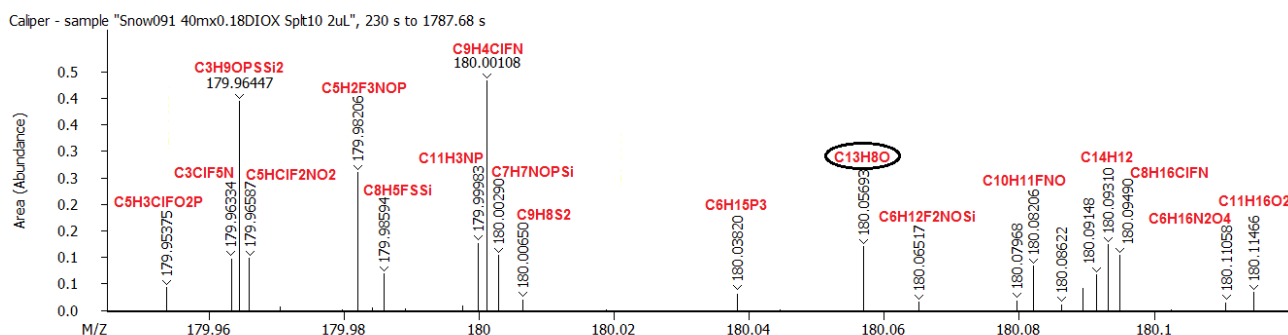


Рисунок 42. Интегральный масс-спектр образца снега в области целочисленной массы 180 (масса для количественного определения флуоренона).

В пробах 2012 и 2013 годов был обнаружен дихлорнитрометан ( $\text{CHCl}_2\text{NO}_2$ ). Масс-спектр низкого разрешения не позволял с уверенностью заявлять это, поскольку молекулярный ион был едва заметен, а основной пик масс-спектра соответствовал фрагменту  $\text{CHCl}_2$ , который характерен для распада и других галогеналканов. Так как стандарт для этого вещества отсутствовал, определить время удерживания дихлорнитрометана в условиях данного анализа не представлялось возможным (Рисунок 43).

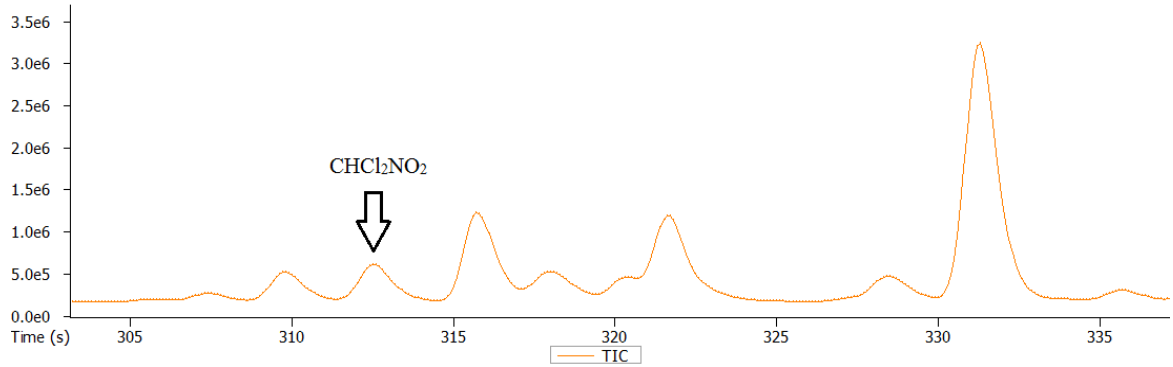


Рисунок 43. Фрагмент хроматограммы (305–335 с) пробы снега по полному ионному току.

Использование высокого разрешения позволило установить элементный состав молекулярного и фрагментных ионов (Рисунок 44), включая азотсодержащие (Рисунок 45), что дает возможность однозначно идентифицировать соединение как дихлорнитрометан.

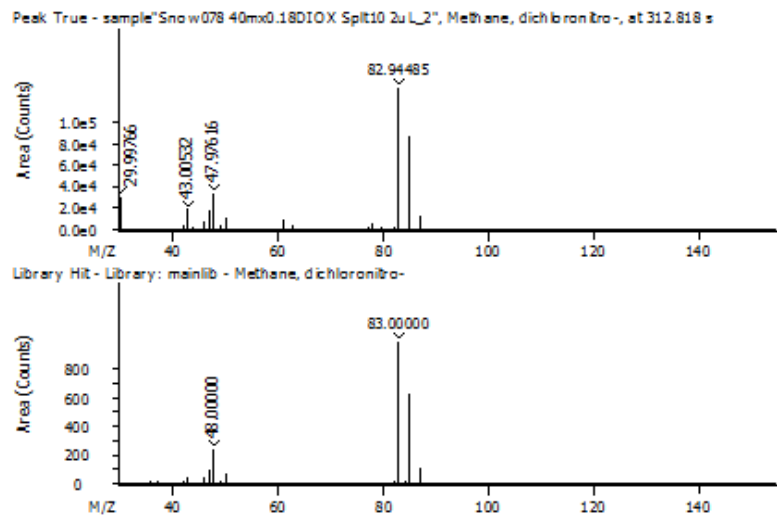


Рисунок 44. Экспериментальный и библиотечный масс-спектры дихлорнитрометана.

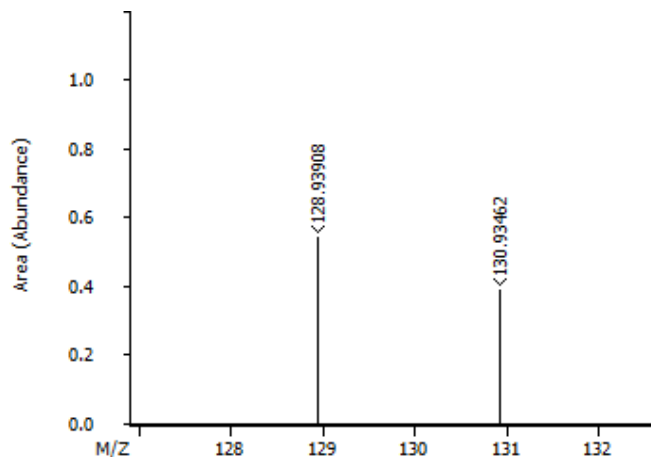


Рисунок 45. Фрагмент масс-спектра дихлорнитрометана, содержащий молекулярный ион.

Детектирование дихлорнитрометана в окружающей среде ранее практически не отмечалось. Исключение составляют осадки на территории Швеции и Польши [118]. Предполагается, что один из путей попадания данного соединения в окружающую среду может быть связан с водой после процедуры ее дезинфекции. Другой путь предусматривает восстановление хлорпикрина ( $\text{CCl}_3\text{NO}_2$ ), который до сих пор применяют в России в качестве фумиганта. Тем не менее наиболее вероятным источником этого соединения являются мусоросжигательные заводы [119].

#### 4.4.2 Нецелевой поиск методом ГХ/МСВР

Поскольку состав проб снега был приблизительно идентичен в разных точках и в разные годы было интересно найти новые неизвестные соединения, а также подтвердить присутствие соединений, в идентификации которых с помощью библиотеки были сомнения.

##### 4.4.2.1 Коррекция результатов идентификации библиотечного поиска

При работе со сложными матрицами масс-спектры после программной обработки бывают неидеальны. При малых концентрациях анализируемых веществ в пробе низкоинтенсивные пики могут отсутствовать в спектре, а некоторые накладывающиеся соединения могут привести к появлению дополнительных пиков в масс-спектре. Обычный поиск по библиотеке в таких случаях часто не так эффективен, а степень совпадения с библиотечным спектром может быть весьма низка. Идентификация в таких случаях может быть очень трудной. Поскольку программное обеспечение выдает таблицу кандидатов в порядке уменьшения степени совпадения их масс-спектров, правильный вариант может оказаться довольно низко в данном списке. Во многих случаях весьма сложно выбрать правильный результат. Измерение точной массы позволяет значительно упростить задачу, так как все ошибочные элементные составы могут быть устранены из рассмотрения. Точные измерения массы **позволили для образцов снега скорректировать результат библиотечного поиска в 25% случаев.**

Ниже разобран ряд примеров того, как именно производилась коррекция библиотечного результата идентификации. На Рисунке 46 представлен экспериментальный масс-спектр и наиболее похожий библиотечный спектр (2-метоксифуран) из библиотеки масс-

спектров NIST11. При получении предварительного результата на приборе ГХ/МС низкого разрешения (LECO Pegasus IVD) не возникло никаких сомнений в его правильности, поскольку в пробе были обнаружены 15 других производных фурана. Коэффициент сходимости спектров на уровне 786 был также вполне удовлетворительным. Однако точно измеренная масса данного компонента оказалась 98.0726 Да, тогда как для 2-метоксифурана – это 98.0362. Определенно данный гетероцикл был неверным вариантом идентификации. Среди лучших 50 библиотечных вариантов только №21 имел правильный элементный состав ( $C_6H_{10}O$ ). Это был 4-метилпентен-3-он-2 со сходимостью 673 (Рисунок 47). Более низкая сходимость может быть вызвана отсутствием в зарегистрированном спектре пиков фрагментных ионов с низкими массами. Нельзя быть уверенным, что 4-метил-3-пентен-2-он – правильный ответ, может быть, в данном случае мы имеем дело с изомером, однако, элементный состав данного компонента точно  $C_6H_{10}O$ , а его степень ненасыщенности равна 2.

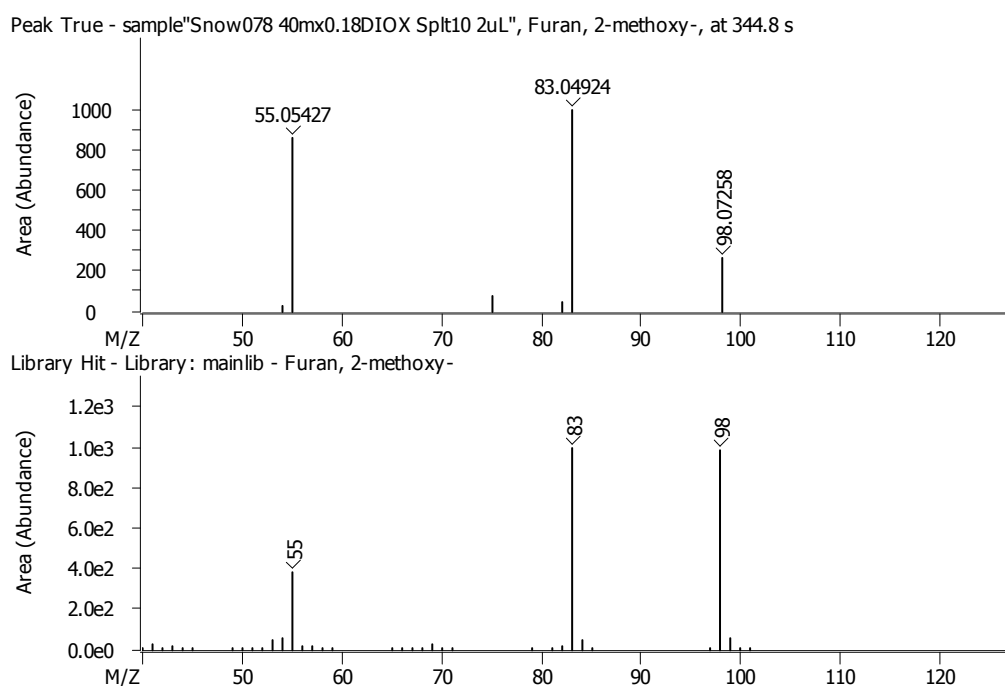


Рисунок 46. Экспериментальный масс-спектр компонента образца снега с временем удерживания 344с и библиотечный спектр (лучший вариант).

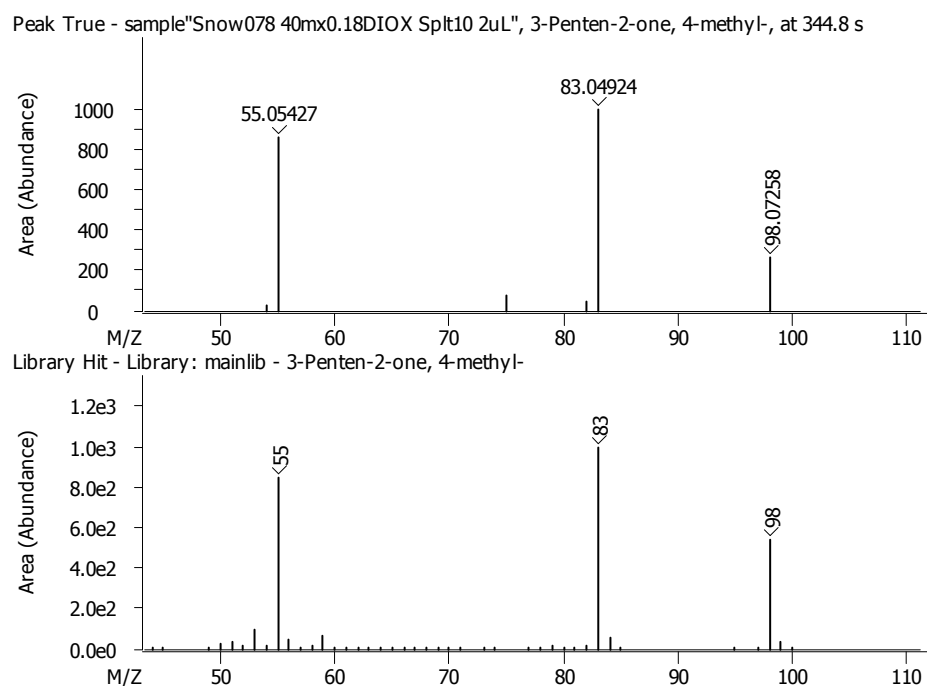


Рисунок 47. Экспериментальный масс-спектр компонента образца снега с временем удерживания 344с и библиотечный спектр 4-метилпентен-3-она-2.

На Рисунке 48 показан небольшой фрагмент хроматограммы по полному ионному току, который содержит трудно различимый пик со временем удерживания 908 с. Его масс-спектр после деконволюции (Рисунок 49) содержит пик молекулярного иона с величиной  $m/z$  212.06582. Вследствие низкого отношения S/N сходимость даже лучшего варианта была очень низкой (466). К тому же точная масса данного варианта была отлична от экспериментальной. Правильная масса принадлежала лишь варианту № 43 – 4,9-диметилнафто[2,3-b]тиофену (сходимость 386). Невозможно настаивать, что данный хроматографический пик обусловлен именно этим соединением. Но однозначно это должен быть один из изомеров данного состава. Например, вариант №74 – 4,6-диметилдибензотиофен (сходимость 355) или другой дибензотиофен с отличным положением метильных групп является более предпочтительным вариантом, поскольку в данной пробе были обнаружены 5 других диметилдибензотиофенов с близкими временами удерживания. Более того, обратный поиск показал сходимость 402 для 4,6-диметилдибензотиофена и 386 для 4,9-диметилнафто[2,3-b]тиофена.

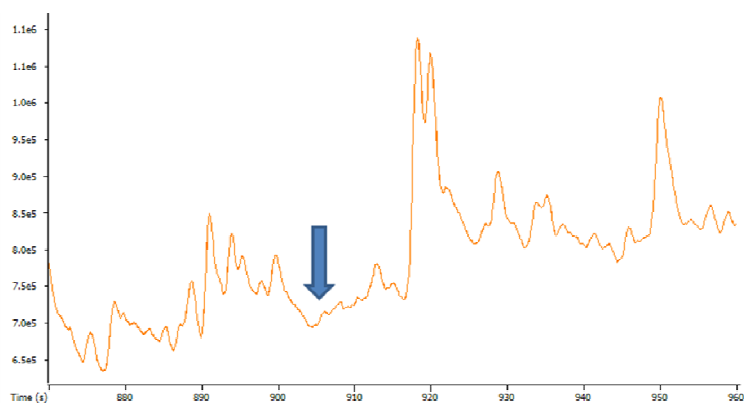


Рисунок 48. Фрагмент хроматограммы по полному ионному току образца снега в интервале 870-960 с. Стрелкой указан пик идентифицируемого вещества со временем удерживания 908 с.

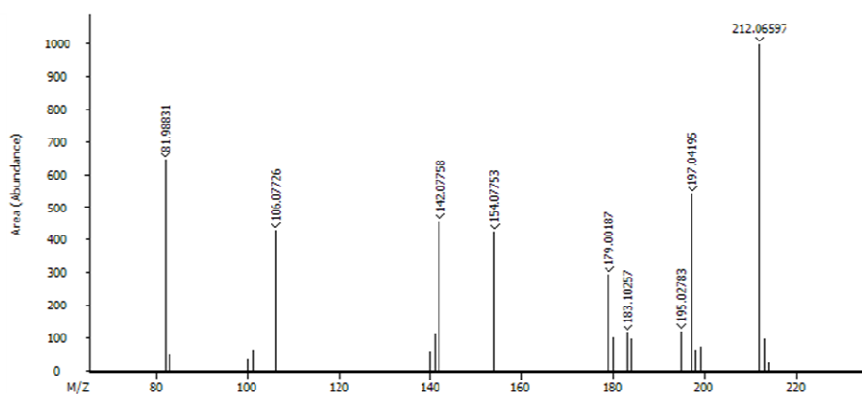


Рисунок 49. Масс-спектр загрязняющего вещества в снеге со временем удерживания 908 с.

Третий пример, показывающий преимущества измерения точной массы для нецелевого анализа, представляет компонент образца снега со временем удерживания 889 с. В данном случае соответствующий хроматографический пик был более выражен (Рисунок 50 стрелкой указан пик идентифицируемого вещества), а масс-спектр (Рисунок 51) богаче.

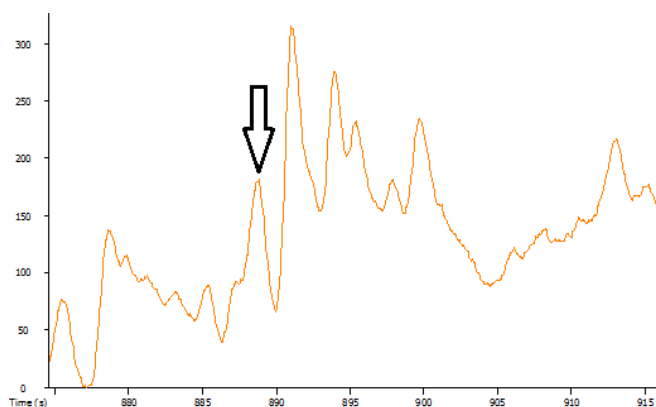


Рисунок 50. Участок хроматограммы по полному ионному току образца снега 870-915 с.

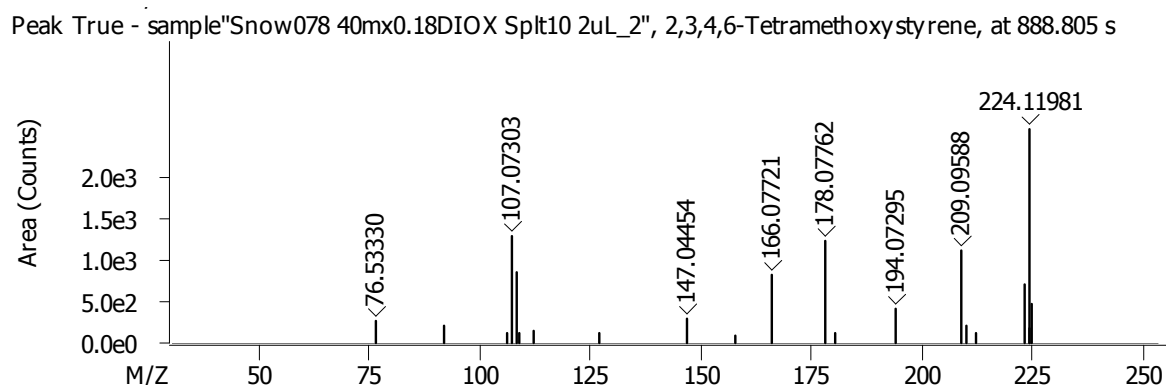


Рисунок 51. Масс-спектр загрязняющего вещества в снеге со временем удерживания 889 с.

Лучший вариант со сходимостью 628 принадлежал 2,3,4,5-тетраметоксистиролу. Однако, точная масса данного соединения не совпадает с экспериментальной. Единственный вариант (№ 11) с верной точной массой (224.1196) и сходимостью 519 принадлежал 1-(4-метоксифенил)-2-фенилциклопропану. Это было довольно интересно, так как данное соединение активно использовалось в исследованиях кафедры органической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова с 70-х годов прошлого века. Поскольку данное соединение до сих пор доступно, его подвергли ГХ/МС анализу в таких же условиях. Его время удерживания и масс-спектр в точности совпали с компонентом снега. Этот циклопропан не является промышленным химикатом. Поскольку проба отбиралась рядом с МГУ, а на кафедре Органической химии продолжают активно заниматься реакциями подобных соединений, источником найденного фенилциклопропана может быть только Химический факультет. Альтернативно его можно рассматривать как пример загрязнения образца в процессе пробоподготовки. Но без точных измерений массы вряд ли можно было бы сделать подобный вывод, отдав предпочтение другим вариантам с более высокой сходимостью.

#### 4.4.2.2 Ручная расшифровка масс-спектров ЭИ

Правила фрагментации органических соединений под действием электронной ионизации хорошо известны [39, 40]. Поскольку времяпролетные приборы позволяют записывать полный масс-спектр с точными массами всех фрагментных ионов, осуществлять ручную интерпретацию спектра становится проще. Рисунок 52 иллюстрирует экспериментальный масс-спектр ароматического соединения в образце снега, молекулярный ион которого с величиной  $m/z$  148.052 соответствует элементному



составу  $C_9H_8O_2$ . В качестве лучшего кандидата библиотечный поиск определил винилбензоат с таким же элементным составом. Однако его спектр (Рисунок 52а) не содержит пика фрагментного иона с  $m/z$  133. Точное измерение массы показывает, что этот ион образуется вследствие потери метильного радикала из молекулярного иона. Поэтому было целесообразно предложить структуру с легко уходящей метильной группой. Другой важный фрагментный ион ( $m/z$  105.033) соответствует потере ацетильной группы из молекулярного иона. Наличие ацетильной группы также согласуется с выбросом  $CH_3$ . Вариант № 9 библиотечного поиска – 1-фенил-1,2-пропандион мог бы быть вполне разумным выбором при идентификации. Однако, пик с  $m/z$  133 отсутствует и в его спектре (Рисунок 52в). Просмотр 200 лучших вариантов показал, что библиотека NIST11 не содержит каких-либо соединений с соответствующим элементным составом и масс-спектром. Исходя из правил фрагментации и используя точные массы всех фрагментных ионов, можно предположить, что данный спектр обусловлен одним из изомерных ацетилбензальдегидов.  $M^+$  этих соединений должен последовательно элиминировать  $CH_3$  и две  $CO$  группы, образуя фрагментные ионы с  $m/z$  133, 105 и 77 с соответствующим элементным составом. К сожалению, спектры этих соединений не содержатся в библиотеке NIST. В любом случае никакие другие структуры не могут соответствовать данному пути фрагментации. Без точных масс задача была бы куда более сложной, так как рассматривались бы совсем другие элементные составы. Например, таблица вариантов содержит много соединений состава  $C_{10}H_{12}O$ . Некоторые из них содержат ионы с такими же номинальными массами, как и идентифицированное вещество.

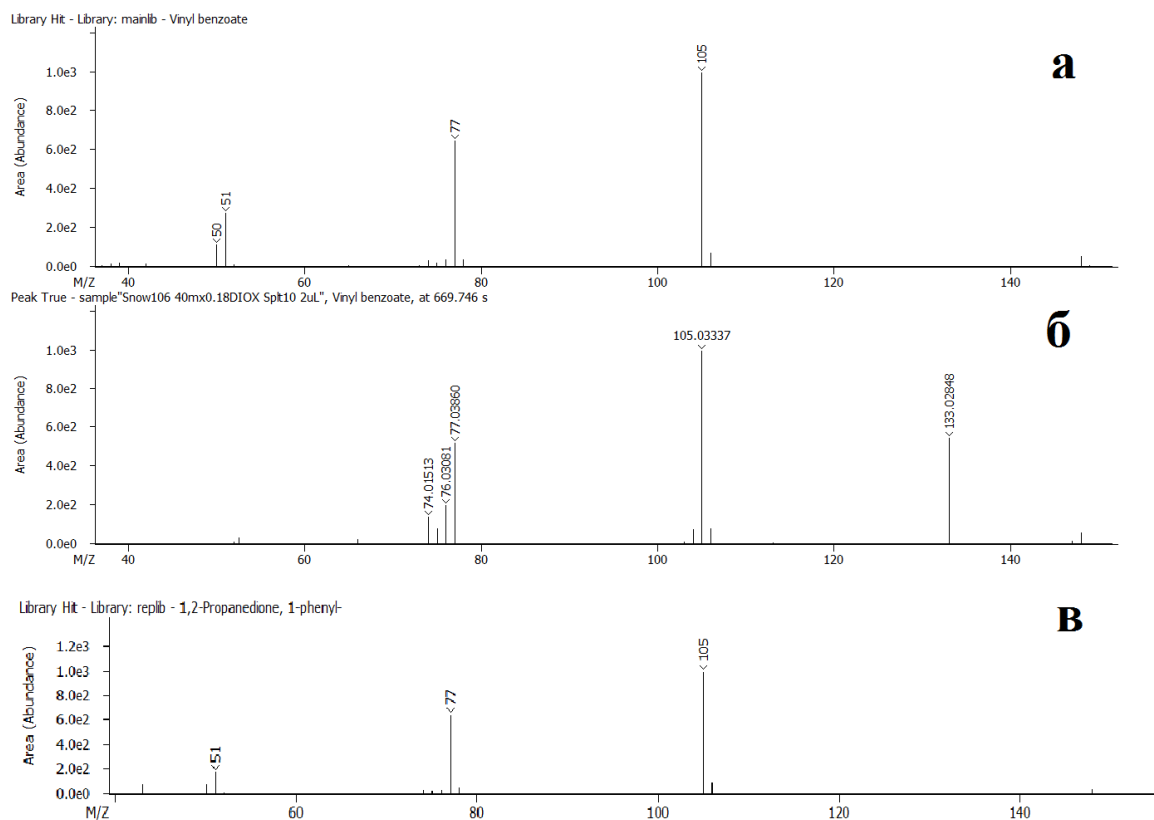


Рисунок 52. а – библиотечный масс-спектр NIST11 винилбензоата (лучший вариант), б – экспериментальный масс-спектр и в – библиотечный масс-спектр NIST11 1-фенил-1,2-пропандиона.

Другой пример эффективности измерений точных масс включает идентификацию пропокситолуола. Его спектр приведен на Рисунке 53. 3-Метилфенол лидировал среди всех вариантов библиотечного поиска со сходимостью 693. В первой сотне вариантов было несколько соединений с молекулярной массой 150, хотя точная масса во всех случаях значительно отличалась. В то же время точная масса соответствовала составу  $C_{10}H_{14}O$  со степенью ненасыщенности 4, предположительно, означая, что молекула содержит бензольное кольцо. Основные потери из молекулярного иона соответствуют отрыву этильного и пропильного радикалов, а также молекулы пропена. Последний процесс должен сопровождаться перегруппировкой.

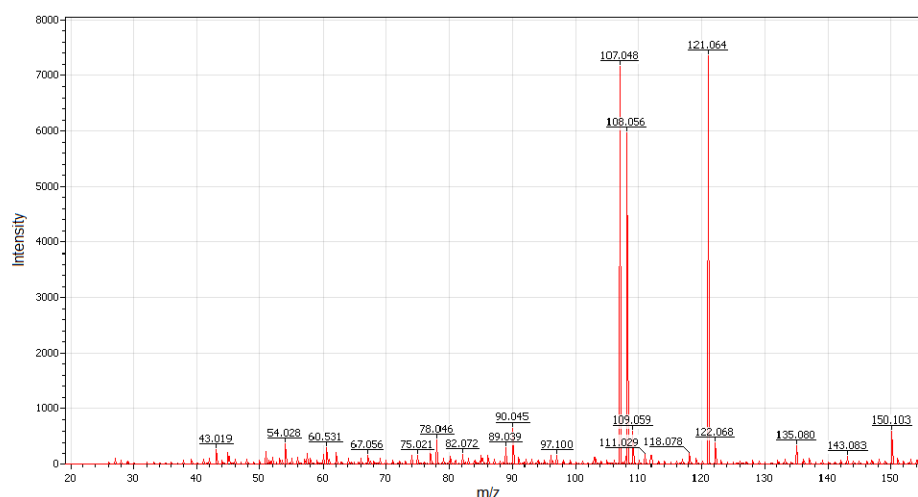


Рисунок 53. Масс-спектр соединения с молекулярной массой 150,103.

Пропокситолуол идеально соответствует данному пути фрагментации (Схема 7). Молекулярный ион данного соединения легко теряет этильный радикал по механизму распада простых эфиров. Перегруппировка МакЛафферти с выбросом молекулы пропена приводит к образованию иона крезоло. Один из его изомеров возглавлял список вариантов в таблице библиотечного поиска. Потеря атома водорода из метильного радикала весьма характерна для крезолов, особенно для орто- и пара-изомеров, так как это приводит к хиноновой структуре. Поэтому масс-спектр на Рисунке 53 должен соответствовать одному из изомеров пропокситолуола, возможно пара-изомеру, так как в спектре отсутствуют пики, связанные с орто-эффekten.

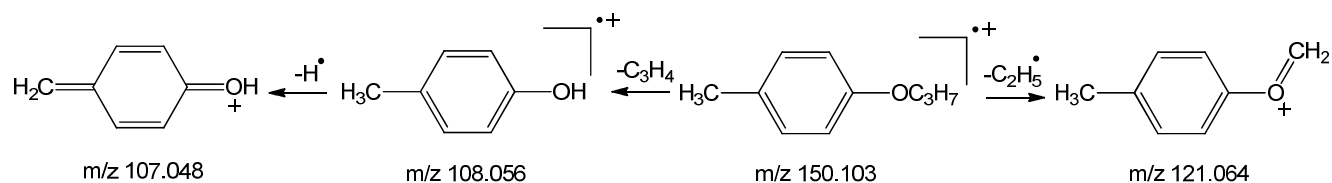


Схема 7. Первичные направления фрагментации пара-пропокситолуола в условиях ЭИ.

Ручная деконволюция эффективна при идентификации органических соединений в тех случаях, когда в масс-спектре присутствуют фрагментные ионы разных веществ. Такое явление имеет место, когда несколько соединений не полностью разделены хроматографически. Разница между временами удерживания компонентов может быть настолько малой, что программное обеспечение уже не справляется, и автоматическая деконволюция выдаёт масс-спектр смеси двух или более веществ. Библиотечный поиск для масс-спектров смеси может оказаться неэффективным, так как результат

сходимости спектров будет крайне низкий или идентификация будет вообще неверной. Для решения этой проблемы используется построение масс-хроматограмм ионов с целью проверки времен выхода, а также установление элементных составов фрагментных ионов и их соотношение с составом молекулярного иона.

Например, при попытке выявить молекулярный ион в масс-спектре (Рисунок 54), который соответствует времени удерживания 691 с, было выявлено 2 иона:  $m/z=177.0640$  состава  $C_7H_{15}NS_2$  и  $m/z=146.0362$  состава  $C_9H_6O_2$ . На масс-хроматограммах этих двух ионов (Рисунок 55) видно, что время удерживания у них отличается примерно на 0,2 с. Следовательно, в этом случае результирующий масс-спектр (Рисунок 54) представляет собой смесь пиков фрагментных ионов веществ состава  $C_7H_{15}NS_2$  и  $C_9H_6O_2$ . Выделение фрагментных ионов, соответствующих составу  $C_7H_{15}NS_2$ , и дальнейший библиотечный поиск позволил идентифицировать соединение как S-этиловый эфир N,N-диэтилкарбамодитиановой кислоты. Аналогичная процедура для фрагментных ионов, соответствующих составу  $C_9H_6O_2$  привела к структуре кумарина (2H-1-бензопиранон-2). Подобным образом были идентифицированы S-метилвый эфир N,N-диэтилкарбамодитиановой кислоты и сама N,N-диэтилкарбамодитиановой кислота.

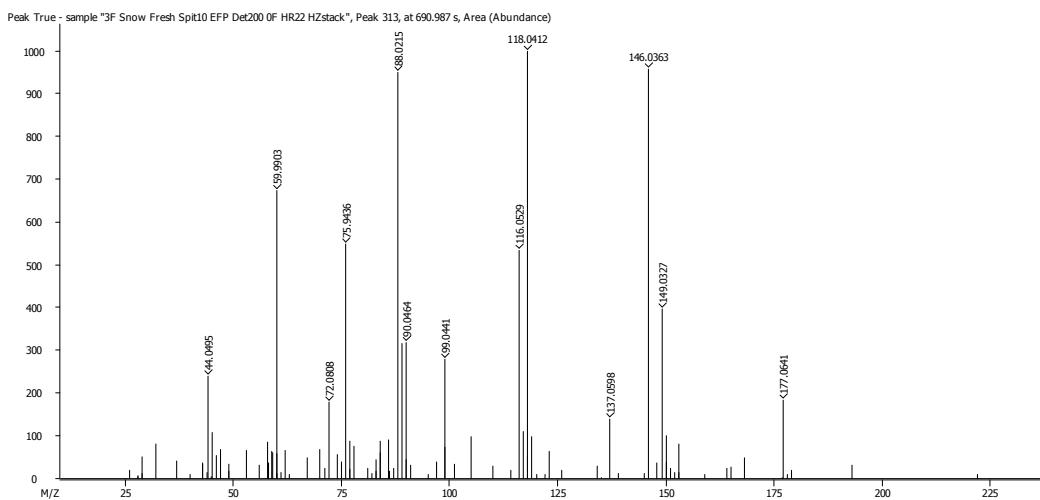


Рисунок 54. Масс-спектр ЭИ S-этилового эфира N,N-диэтилкарбамодитиановой кислоты ( $C_7H_{15}NS_2$ ,  $m/z=177.0640$ ) в смеси с другим соединением состава  $C_9H_6O_2$  ( $m/z=146.0362$ ).

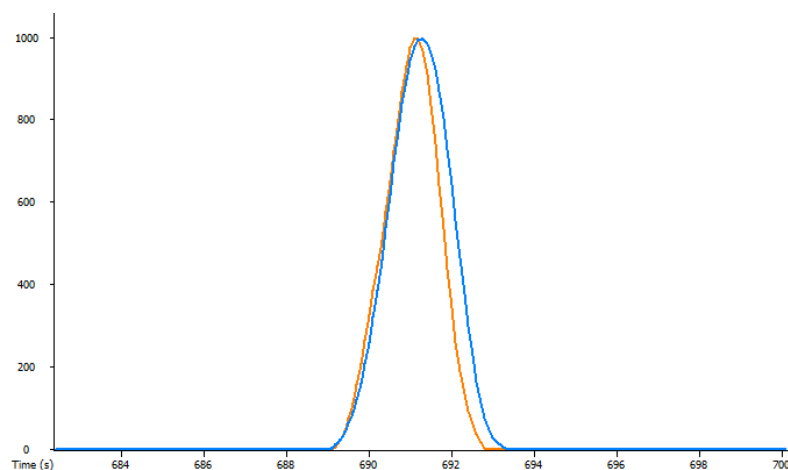


Рисунок 55. Масс-хроматограммы по ионам с  $m/z$  177.0642 (красная) и 146.0362 (синяя), демонстрирующие, что эти ионы принадлежат разным веществам.

Еще один пример применения ручной расшифровки включает в себя соединение, экспериментальный масс-спектр которого приведен на Рисунке 56. Кандидат в молекулярный ион ( $m/z$  151) показал наличие 1 атома хлора (изотопная картина) и нечетного количества атомов азота (азотное правило). Использование точной массы привело к элементному составу  $C_5H_{10}ClNS$ . Элементные составы других интенсивных ионов были соответственно: 116.0529 –  $C_5H_{10}NS$ ; 88.02157 –  $C_3H_6NS$ ; 78.9403 –  $CSCl$ ; 59.99025 –  $CH_2NS$ ; 44.04962 –  $C_2H_5NH$ . Максимум масс-хроматограмм, построенных по всем этим ионам совпадал, демонстрируя таким образом, что они принадлежат одному соединению. С другой стороны максимум на ионной хроматограмме, построенной по иону 133 (не содержит атом хлора и вводит в заблуждение при выборе иона с  $m/z$  151 в качестве молекулярного), несколько смещен (Рисунок 57).

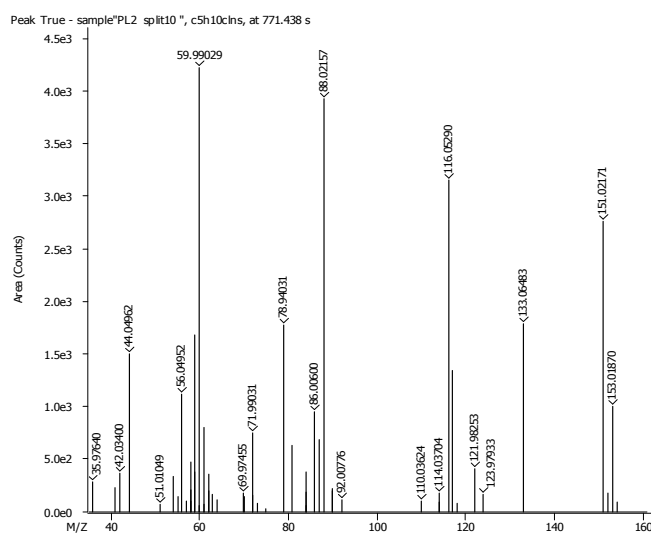


Рисунок 56. Масс-спектр ЭИ соединения с временем удерживания 438 с в образце снега.

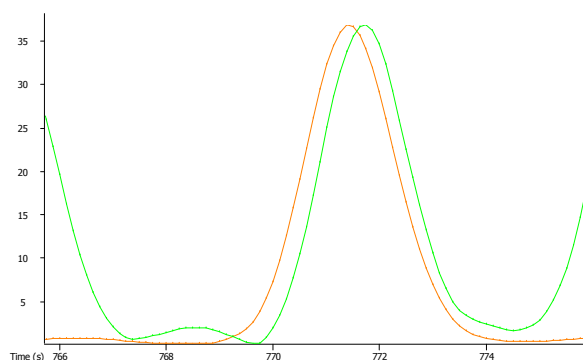


Рисунок 57. Масс-хроматограммы по ионам с  $m/z$  133.065 и 151.022, демонстрирующие, что эти ионы принадлежат разным веществам.

Применение известных правил фрагментации органических соединений [39, 40] позволяет довольно легко получить структуру N,N-диэтилтиокарбамоил хлорида. Самые важные фрагментные ионы образуются вследствие потери атома хлора ( $m/z$  116) с дальнейшим выбросом двух молекул  $C_2H_4$  (Схема 8) вследствие характерной перегруппировки в четноэлектронных ионах [120]. Образование ионов с  $m/z$  78.9403 –  $CSCl$  и 44.04962 –  $C_2H_5NH$  также довольно очевидно при рассмотрении N,N-диэтилтиокарбамоил хлорида в качестве исходной молекулы.

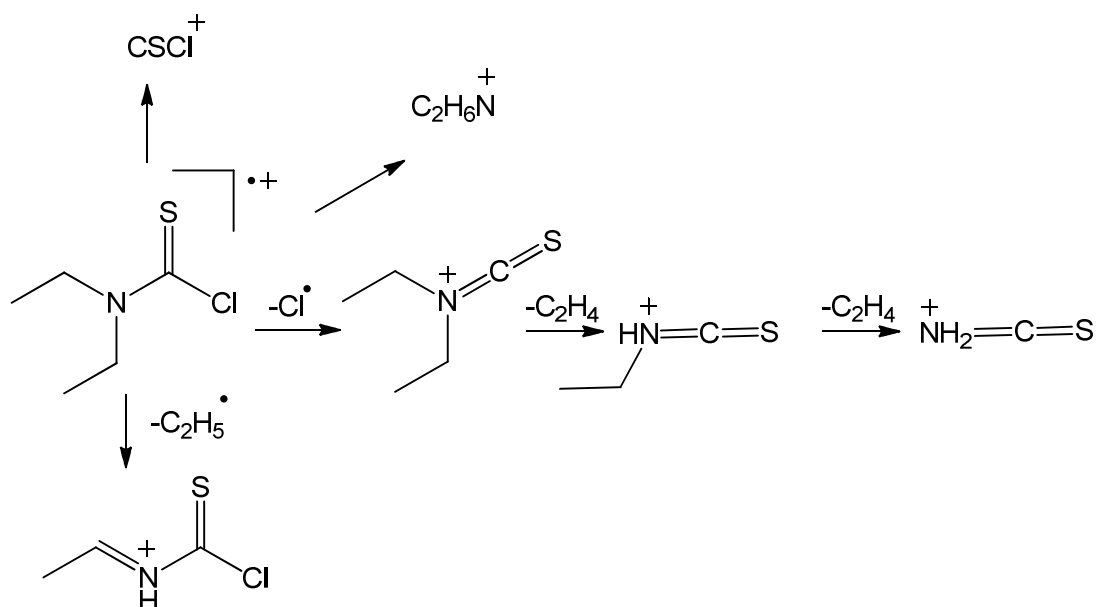


Схема 8. Основные направления фрагментации N,N-диэтилтиокарбамоил хлорида.

Подобный подход позволил идентифицировать еще одно производное N,N-диэтилкарбамоидитиановой кислоты со временем удерживания 851,8 с., масс-спектр которого приведен на Рисунке 58. Наиболее вероятный молекулярный ион ( $m/z$

230.9698) данного соединения свидетельствует о наличии элемента со значительным отрицательным дефектом массы. Также учитывая относительно высокую интенсивность иона  $[M+2]$ , молекула, вероятно, должна содержать 2 атома хлора. Высокая точность измерения масс позволяет получить состав молекулярного иона в соответствии с высказанными предположениями –  $C_6H_{11}Cl_2NS_2$ .

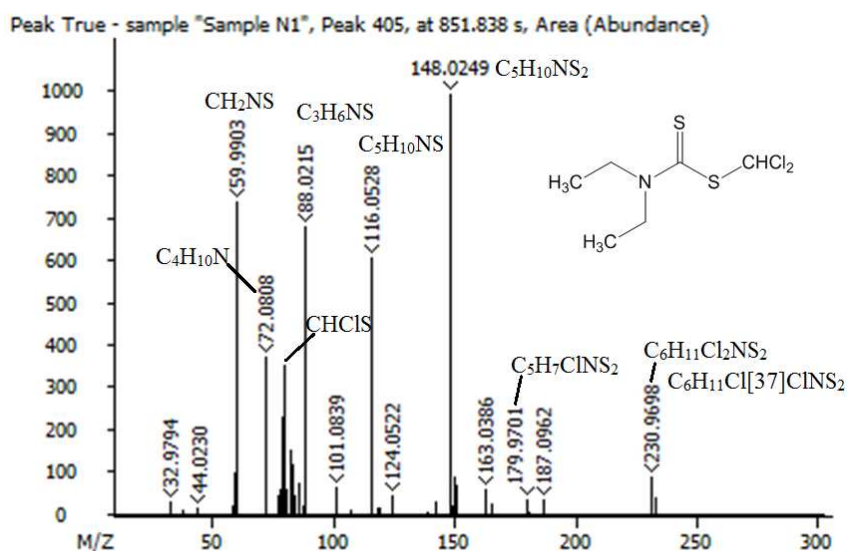


Рисунок 58. Масс-спектр ЭИ соединения, идентифицированного как дихлорметил дитио-N,N-диэтилкарбамат.

Элементные составы наиболее интенсивных и структурно важных фрагментных ионов в масс-спектре (Рисунок 58) также хорошо соотносятся с предложенным составом молекулярного иона. Некоторые другие низкоинтенсивные ионы, присутствующие в масс-спектре, но не соответствующие по составу, относятся к другим соединениям с очень близкими временами удерживания. Некоторые фрагментные ионы в данном масс-спектре совпали по составу с теми, что присутствовали в масс-спектре идентифицированного выше N,N-диэтилтиокарбамоил хлорида. Данный факт позволил предположить наличие сходной структуры у данного вещества со структурой N,N-диэтилтиокарбамоил хлорида. Разница в структуре этих соединений становится очевидной при рассмотрении ионов с  $m/z$  179.9695 ( $C_5H_7ClNS_2^+$ ), 82.9449 ( $CHCl_2^+$ ) и 79.9481 ( $CHClS^+$ ). Такой набор ионов указывает на наличие в молекуле дихлорметильной группы, причем наиболее вероятное её расположение – рядом с атомом серы. Учитывая всё вышесказанное, рассматриваемая молекула должна иметь строение дихлорметил дитио-N,N-диэтилкарбамата (Рисунок 58).

Следует также подчеркнуть, что ручная интерпретация спектра является необходимой стадией работы с любым спектром, даже если он совпал с библиотечным спектром. Знание направления фрагментации органических соединений дает возможность значительно повысить качество идентификации. В случаях же отсутствия масс-спектра соединения в библиотеке ручная интерпретация является единственным инструментом установления структуры. Приведенные выше примеры наглядно демонстрируют эффективность этого подхода.

#### 4.5 Применение ГХ×ГХ/МС при анализе образцов окружающей среды

Значительного повышения эффективности хроматомасс-спектрометрического эксперимента при работе со сложными образцами объектов окружающей среды можно достичь при использовании двумерной хроматографии. За счет того, что на длинной капиллярной колонке с неполярной фазой вещества разделяются по температуре кипения, а на короткой полярной колонке по полярности, в случае двумерной хроматографии все классы соединений с одинаковой полярностью располагаются в ряды. Построив масс-хроматограмму по характеристическому иону каждого класса веществ, можно сразу обнаружить, например, компоненты фазы колонки и жирные кислоты (Рисунок 59). Характеристическими ионами для обоих классов соединений являются фрагментные ионы с  $m/z$  73. Таким образом можно вообще сразу изъять из рассмотрения все пики, принадлежащие фазовым ионам.

Показательным примером для демонстрации возможности метода ГХ×ГХ/МС является ситуация с идентификацией нафтенон и спиртов. Различия в масс-спектрах этих двух классов органических соединений весьма невелики. Молекулярные ионы спиртов нестабильны, и в спектрах электронной ионизации, как правило, не регистрируются [121]. Легко теряя молекулу воды, они превращаются в молекулярные ионы алкенов или изомерных нафтенон. Так что по масс-спектру различить их зачастую проблематично даже используя библиотечные данные. При построении масс-хроматограммы по характерным как для нафтенон, так и для спиртов ионам ( $m/z$  55, 69) на двумерной хроматограмме появляется 2 ряда пиков. Первый ряд, вещества обладающие меньшей полярностью, принадлежит нафтенон, второй ряд – спиртам (Рисунок 60).



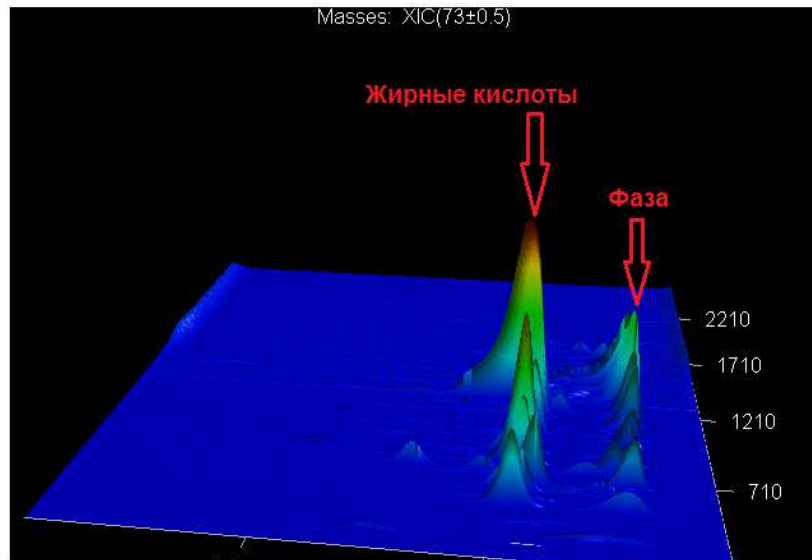


Рисунок 59. Двумерная масс-хроматограмма по иону с  $m/z$  73, характерному для жирных кислот и фазовым компонентам.

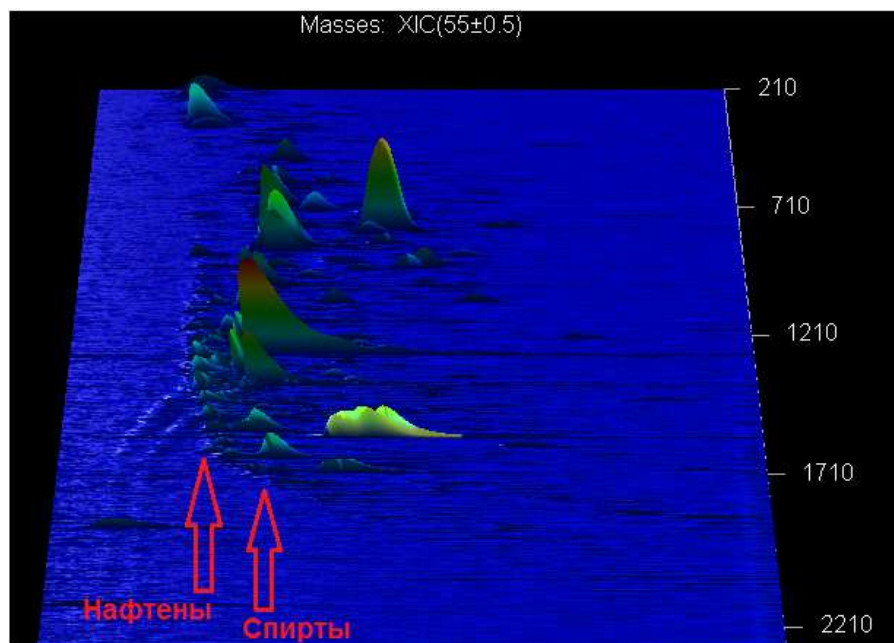


Рисунок 60. Двумерная масс-хроматограмма по характеристическому иону для нафтеннов и спиртов с  $m/z$  55.

Примером, иллюстрирующим данную проблему является вещество с RT 406,5с. Масс-спектр данного соединения приведен на Рисунке 61.

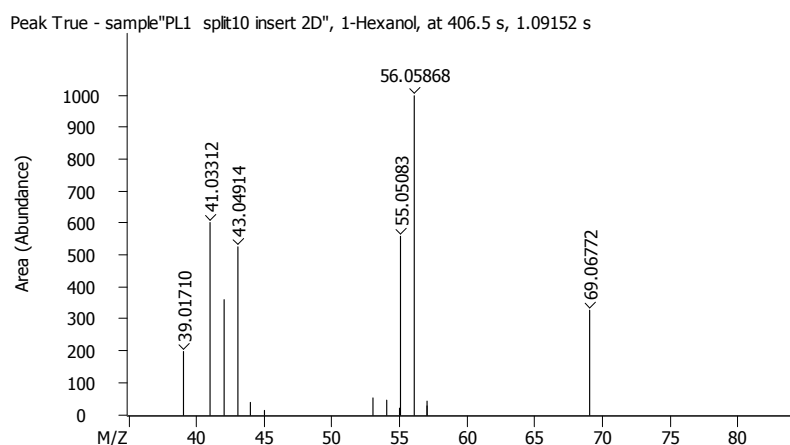


Рисунок 61. Масс-спектр вещества с RT 406,5 с образца снега.

В результате библиотечного поиска первым кандидатом оказался нафтен (Рисунок 62). Но при дальнейшем исследовании, используя двумерную хроматографию, нами было доказано, что неизвестное соединение относится к спиртам (Рисунок 63) и скорее всего является гексанолом-1.

Hit	Name	Similarity	Mass Differe	Reverse	Probability
1	Cyclopropane, propyl-	838	0	843	2426
2	1-Hexene	830	0	831	1810
3*	Hexyl trifluoroacetate	821	0	821	1314
4	Hexyl chloroformate	806	0	806	796
5	1-Hexanol	787	0	787	386
6	Cyclobutane, butyl-	782	0	783	311
7	Oxirane, (1-methylbutyl)-	780	0	797	287
8	Formic acid, hexyl ester	780	0	780	287
9	Cyclopentane, methyl-	772	0	773	214
10	2H-Pyran-2-one, tetrahydro-5,6-	770	0	774	197
11	Hydroperoxide, hexyl	759	0	759	135
12	1-Hexene, 5-methyl-	756	0	757	119
13	2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6,7-	754	0	758	110
14	Propane, 2-cyclopropyl-	750	0	752	93
15	1-Hexene, 2-methyl-	749	0	750	89
16	Cyclobutane, ethyl-	749	0	750	89
17	1-Pentene, 4-methyl-	748	0	749	86
18	Tetrazolo[1,5-b]1,2,4-triazine,	742	0	748	67
19	2-Oxepanone, 4-methyl-	742	0	742	67
20	1-Hexene, 3-methyl-	740	0	741	62

Рисунок 62. Список кандидатов вещества с RT 406,5с, составленный по результатам поиска в библиотеке масс-спектров.

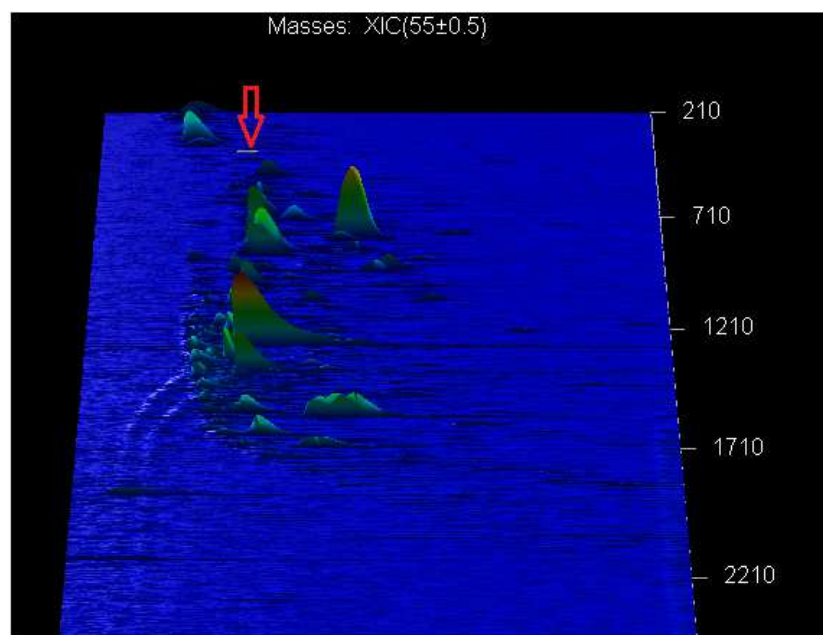


Рисунок 63. Масс-хроматограмма по иону с  $m/z$  55. Стрелкой указано неизвестное соединение.

Наиболее ярким примером, иллюстрирующим преимущество использования двумерной хроматографии, была идентификация коэлюирующих соединений при анализе образца конденсата из облаков. При использовании обычного варианта одномерной хроматографии (ГХ/МСВР) в области времени удерживания 646 секунд был получен масс-спектр, приведенный на Рисунке 64. При попытке выделить молекулярный ион было обнаружено, что в спектре присутствуют 2 иона, подходящие по критериям молекулярного иона:  $m/z=112.0519$  состава  $C_6H_8O_2$  и  $m/z=100.0519$  состава  $C_5H_8O_2$ . На масс-хроматограмме, построенной по ионам  $m/z$  112.0519, 100.0519, 97.0285 и 85.0286 (Рисунок 65), видно, что времена удерживания данных ионов отличается на десятые доли секунды. Такие близкие времена удерживания позволяют говорить о наложении масс-спектров двух соединений состава  $C_6H_8O_2$  и  $C_5H_8O_2$ . В случае двумерной хроматографии данные соединения удалось разделить на второй колонке (Рисунок 66). Построение двумерной масс-хроматограммы по тем же ионам позволяет выявить принадлежность ионов с  $m/z$  112.0519 и 97.0285 к одному веществу, а ионов с  $m/z$  100.0519 и 85.0286 к другому (Рисунок 67). В этих условиях можно получить 2 отдельных масс-спектра (Рисунок 68, 69). С помощью библиотеки NIST14 первый компонент состава  $C_5H_8O_2$  удалось идентифицировать как 5-метилдигидрофуран-2(3H)-он, а второй состава  $C_6H_8O_2$  как 3,4-диметилфуран-2(5H)-он.

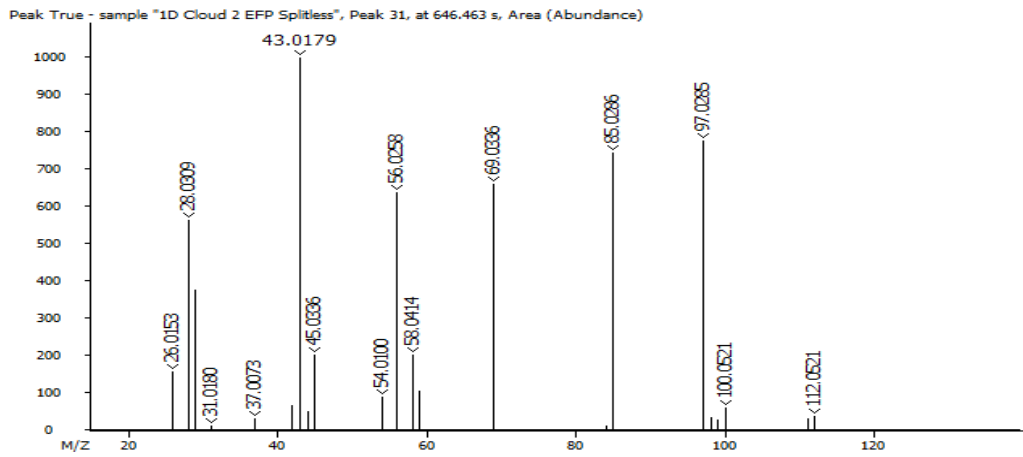


Рисунок 64. Масс-спектр ЭИ образца конденсата облаков в области времени удерживания 646 с.

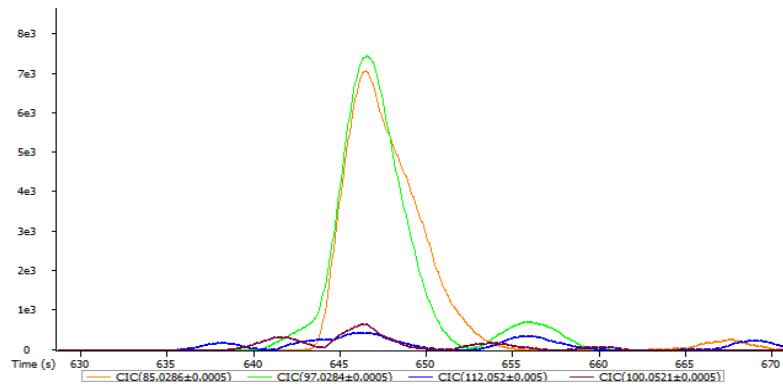


Рисунок 65. Масс-хроматограмма в области 646 с, построенная по ионам  $m/z$  112.0519, 100.0519, 97.0285 и 85.0286.

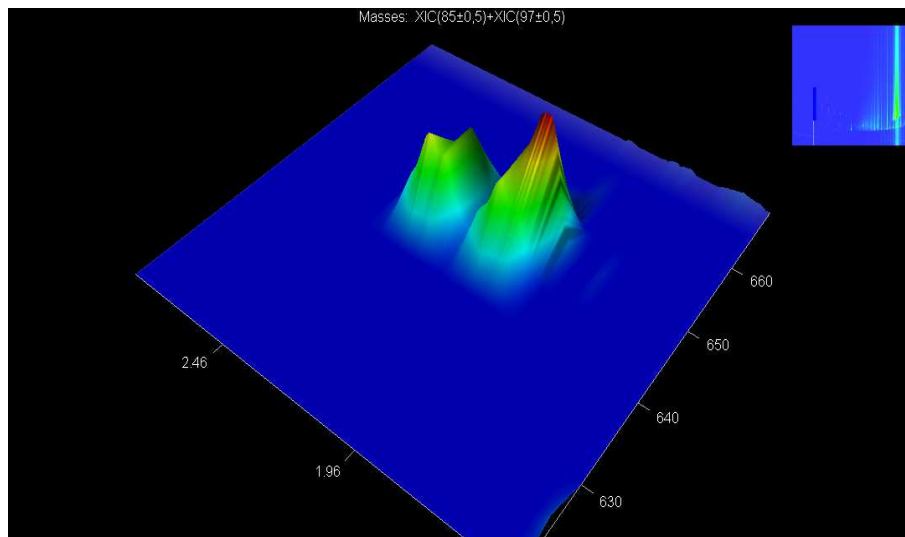


Рисунок 66. Трехмерное изображение масс-хроматограммы в области 646 с, построенной по ионам с  $m/z$  97 и 85.

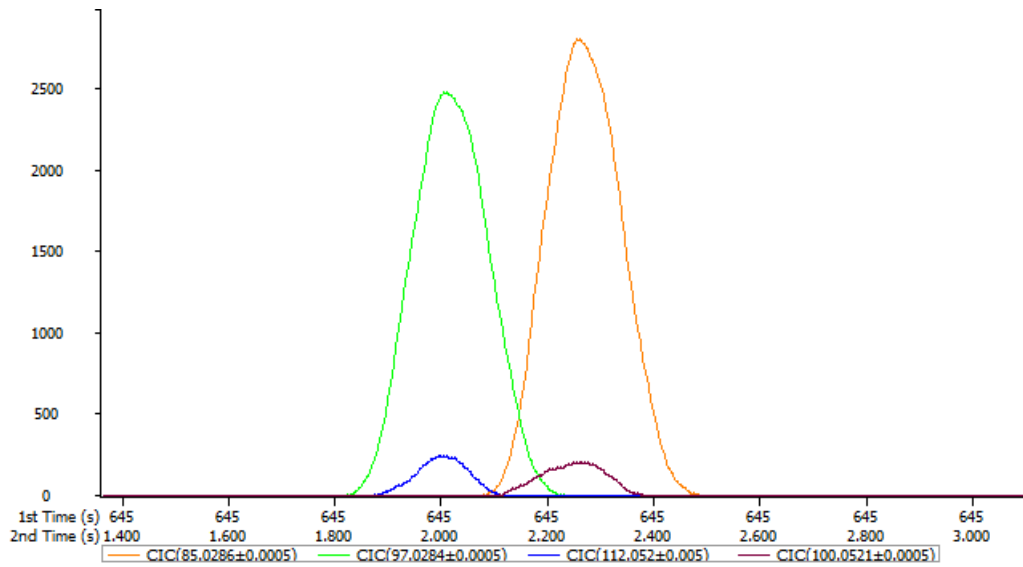


Рисунок 67. Масс-хроматограмма в области 646 с, построенная по ионам  $m/z$  112.0519, 100.0519, 97.0285 и 85.0286.

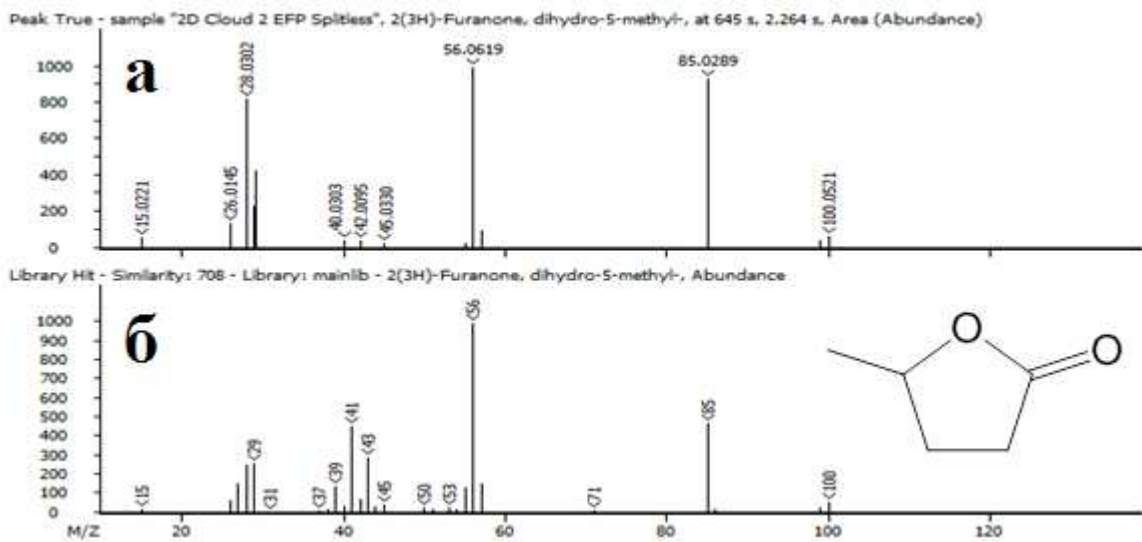


Рисунок 68. Масс-спектр ЭИ после деконволюции (а) и соответствующий ему библиотечный масс-спектр 5-метилдигидрофуран-2(3Н)-она в образце конденсата облаков.

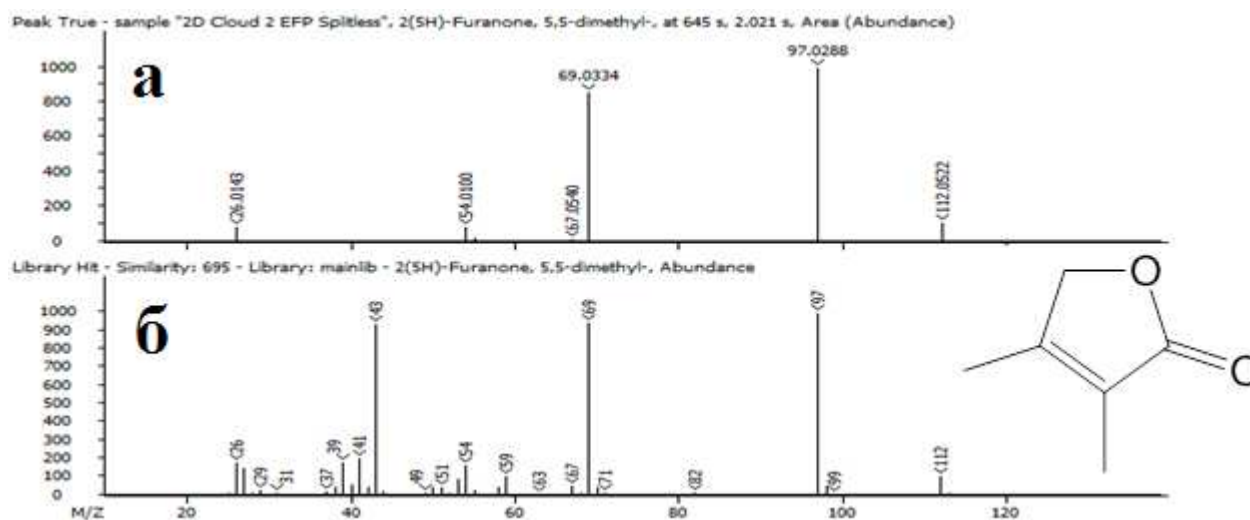


Рисунок 69. Масс-спектр ЭИ после деконволюции (а) и соответствующий ему библиотечный масс-спектр 3,4-диметилфуран-2(5Н)-она в образце конденсата облаков.

#### 4.6 Использование альтернативного метода ионизации для ГХ/МС

Как уже было сказано ранее, использование других методов ионизации (помимо ЭИ) оказывается весьма полезным при идентификации веществ, образующих неустойчивый или малоинтенсивный молекулярный ион. Сопоставление масс-спектров электронной ионизации и ионизации в тлеющем разряде в сочетании с высоким разрешением позволило в ряде случаев значительно повысить достоверность идентификации аналитов. Например, на Рисунке 70 приведен экспериментальный масс-спектр компонента образца снега со временем удерживания 1163 с и библиотечный спектр трис(2-хлорэтил)фосфата. Как видно, несмотря на отсутствие молекулярного иона как в библиотечном, так и в экспериментальном спектрах, они очень похожи, что собственно и показал результат библиотечного поиска, т.е. в данном случае сомнений в правильности идентификации было мало. Тем не менее можно считать идентификацию достоверной только в случае регистрации пика молекулярного иона. Для устранения сомнений был снят спектр с ионизацией в тлеющем разряде [57]. В таком спектре наблюдается исключительно пик протонированной молекулы этого соединения с корректной изотопной картиной (Рисунок 71).

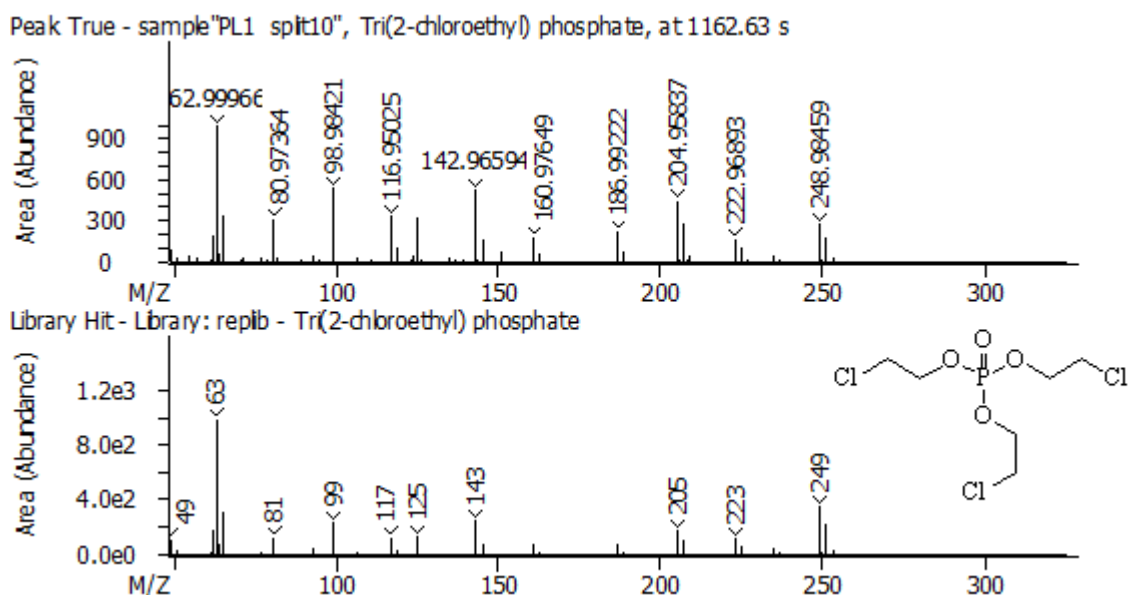


Рисунок 70. Библиотечный и экспериментальный масс-спектры ЭИ трис(2-хлорэтил)фосфата.

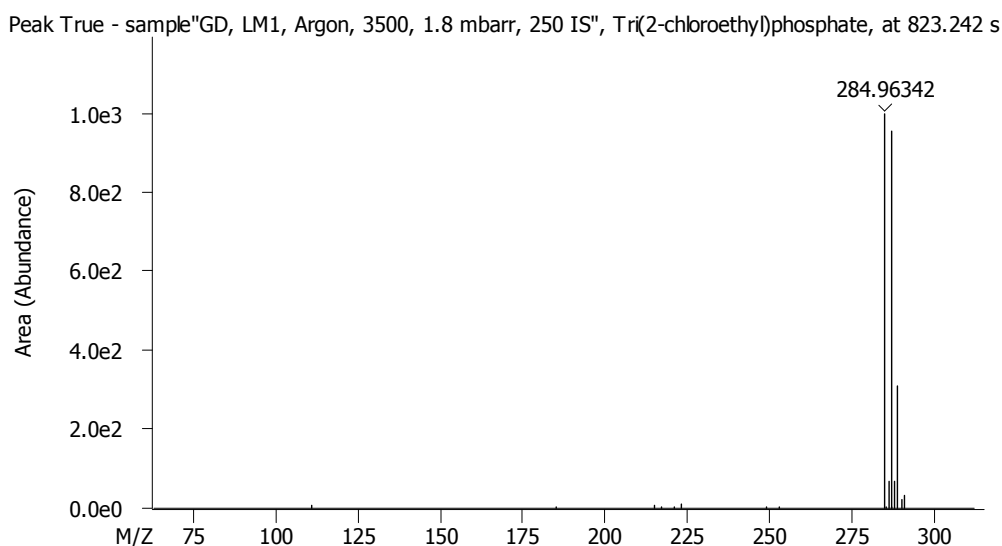


Рисунок 71. Масс-спектр ТР трис(2-хлорэтил)фосфата.

Но стоит перейти к гомологу данного соединения, трис(1-хлор-2-пропил)фосфату (Рисунок 72), как картина сильно изменяется. На Рисунок 54 представлен библиотечный и экспериментальный масс-спектры ЭИ трис(1-хлор-2-пропил)фосфата. Программа библиотечного поиска для данного примера выдала результат сходимости 589, что вносит сомнения в правильность идентификации. Применяя источник ионизации с тлеющим разрядом, был получен масс-спектр с единственным пиком (Рисунок 73), точная масса которого соответствует составу протонированной молекулы трис(1-хлор-2-пропил)фосфата  $[M+H]^+$ . Это не оставляет никаких сомнений в том, что идентифицируемое вещество действительно трис(1-хлор-2-пропил)фосфат.

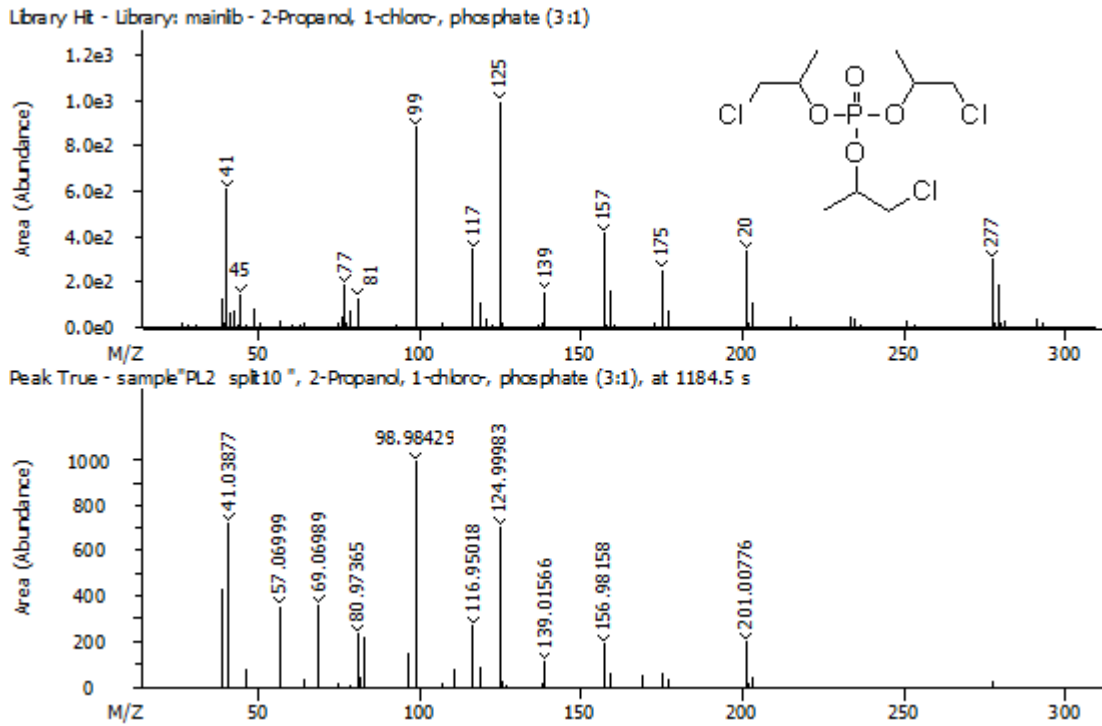


Рисунок 72. Библиотечный и экспериментальный масс-спектры ЭИ трис(1-хлор-2-пропил)фосфата

Peak True - sample"GD, LH1, Argon, 3500, 1.8 mbarr, 250 IS", 2-propanol, 1-chloro phosphate (3:1), at 84 5.845 s

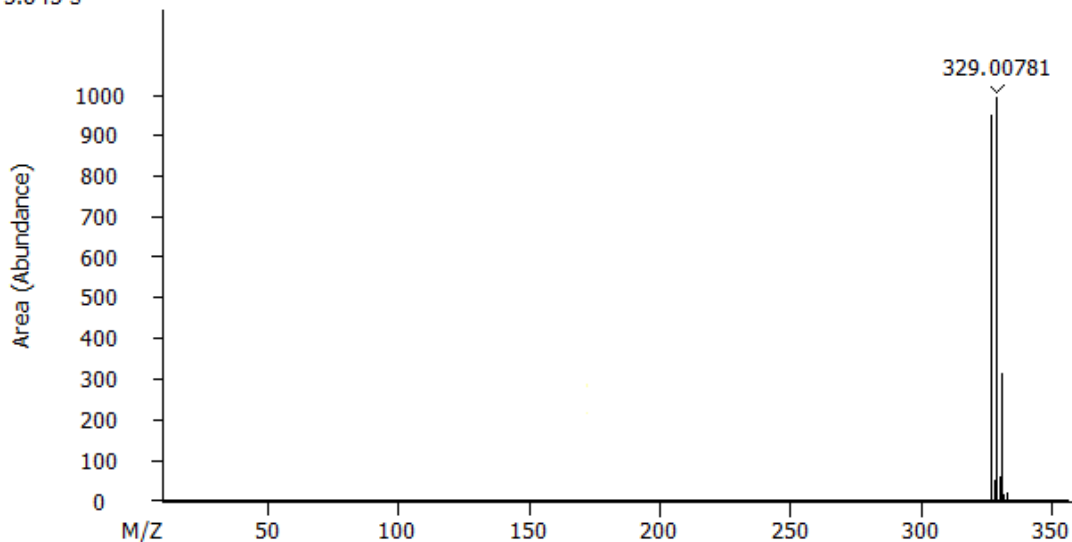


Рисунок 73. Масс-спектр ТР трис(1-хлор-2-пропил)фосфата.

Пики молекулярных ионов низших карбоновых кислот довольно низкоинтенсивны в спектрах ЭИ. Однако, при увеличении длины алкильного радикала, а также числа разветвлений в углеродной цепи молекулярные ионы становятся менее устойчивы, а их пики можно и не заметить в спектре [122]. В образцах снега были обнаружены почти все жирные кислоты нормального строения. Определение некоторых из них по спектрам ЭИ



порой было не столь однозначным, поэтому информация об их молекулярном ионе в спектрах ТР поставила точку в идентификации.

В частности, в спектрах ЭИ декановой и додекановой кислот (Рисунок 74, 76) молекулярный ион отсутствует, а перегруппировочные ионы могут соответствовать кислотам и с более длинной углеродной цепью. Масс-спектры тлеющего разряда, представленные на Рисунке 75, 77 для двух данных кислот по точно измеренной массе однозначно определяют составы протонированных молекул ( $C_{10}H_{21}O_2$  и  $C_{12}H_{25}O_2$  соответственно).

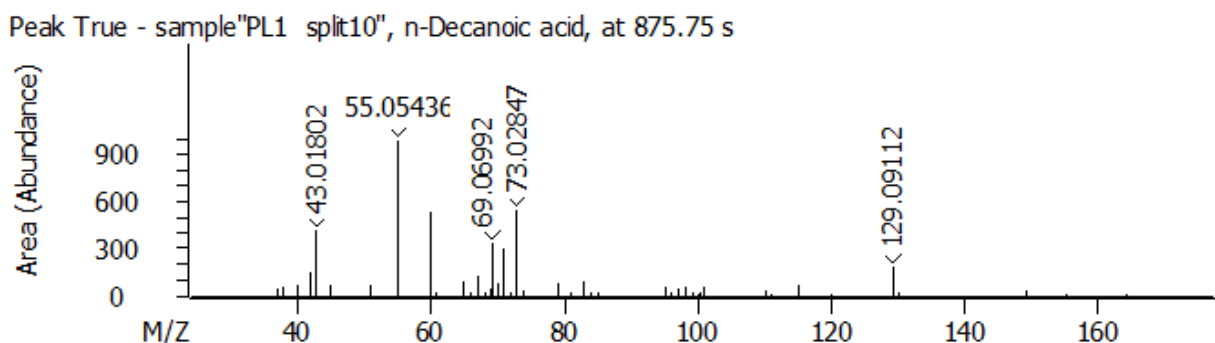


Рисунок 74. Экспериментальный масс-спектр ЭИ декановой кислоты.

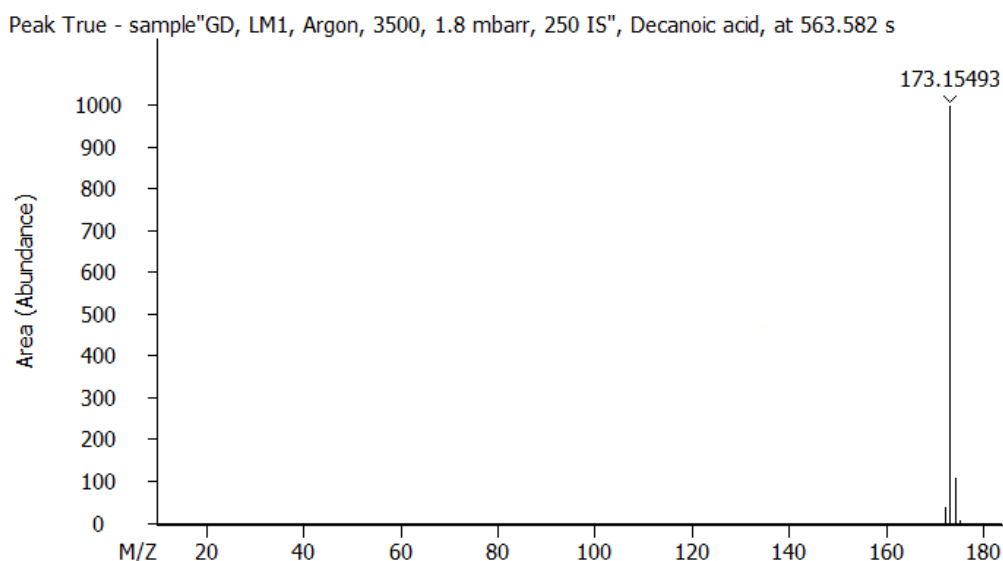


Рисунок 75. Экспериментальный масс-спектр ТР декановой кислоты.

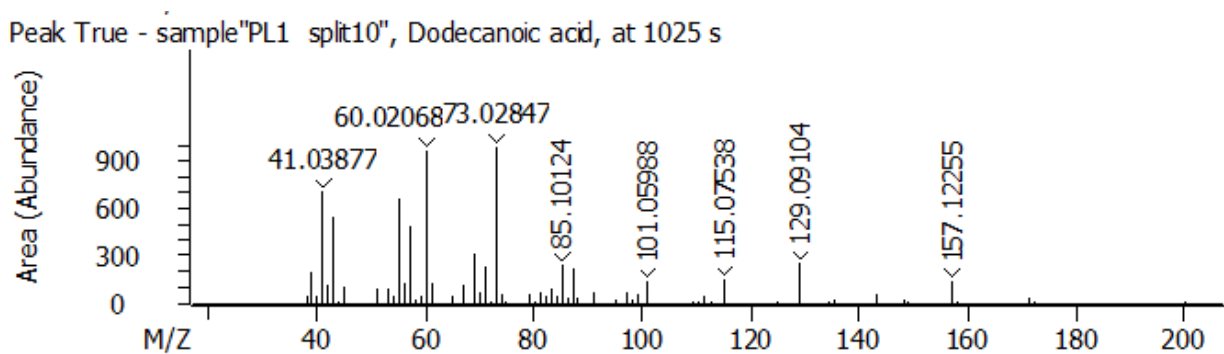


Рисунок 76. Экспериментальный масс-спектр ЭИ додекановой кислоты.

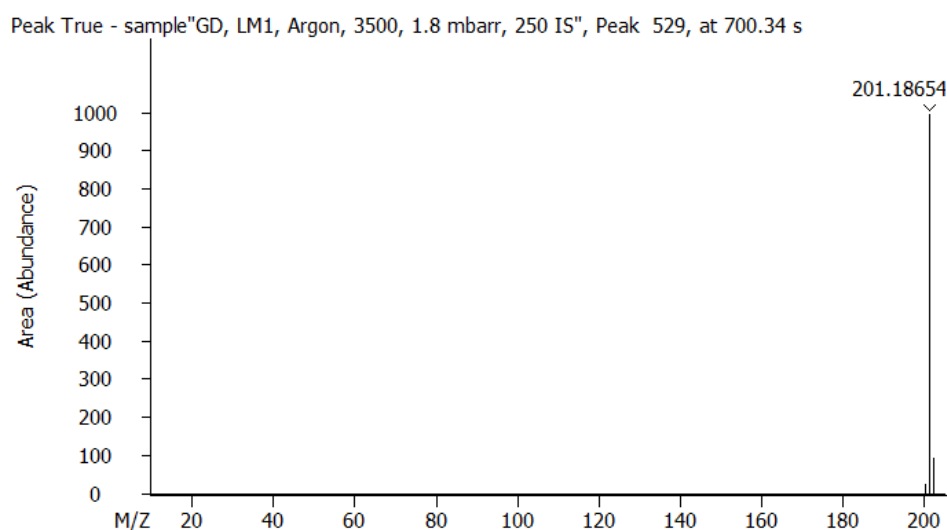


Рисунок 77. Экспериментальный масс-спектр ТР додекановой кислоты.

## 4.7 Применение метода МС-ИЦРПФ при анализе образцов снега из Москвы

### 4.7.1 Общее описание состава проб снега из Москвы

Как было показано выше, метод МС-ИЦР ПФ даёт сверхвысокое разрешение, позволяя получить элементный состав каждого пика иона в спектре. Типичный для этого метода масс-спектр отрицательных ионов образца снега представлен на Рисунке 78 А. Каждый образец содержал в своем составе более 2000 органических соединений, видимых методом ИЭР, в интервале  $m/z$  от 130 до 700 Да. Элементные составы, сгенерированные по точным массам ионов в спектре, были получены путем введения разумных химических ограничений (азотное правило, отношение  $O/C \leq 1$ , отношение  $N/C \leq 2n + 2$  ( $C_nH_{2n+2}$ ); количество элементов:  $C \leq 100$ ,  $H \leq 200$ ,  $O \leq 80$ ,  $N \leq 3$ ,  $S \leq 2$  и точность измерения массы 500 миллиардных долей (ppb)). Конечные формулы были поделены на группы CHO, CHNO, CHOS и CHNOS по содержанию элементов,

входящих в их состав, для построения элемент-селективных масс-спектров. Представление такого большого массива данных в основном реализуется с помощью диаграмм ван Кревелена и дефекта масс Кендрика как наиболее эффективных инструментов для получения максимальной информации о химическом составе органических веществ в сложных смесях [69-71]. Диаграммы ван Кревелена и элементных соотношений типичны для образцов снега Москвы (Рисунок 78Б,В) показывают, что спектры насыщены химическими соединениями различной природы.

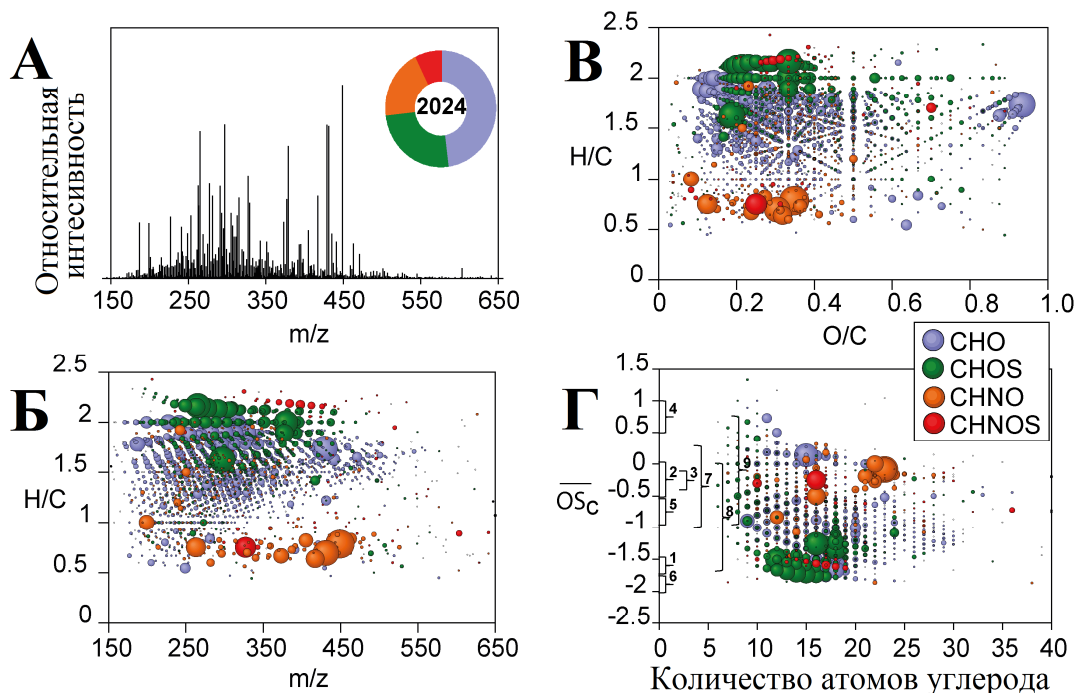


Рисунок 78. **А** Масс-спектр отрицательных ионов, полученный методом МС-ИЦРПФ, образца снега. **Б** и **В** представляют диаграммы ван Кревелена в различных координатах для молекул состава CHO (синий), CHNO (оранжевый), CHOS (зеленый) и CHONS (красный). **Г** Диаграмма зависимости количества атомов углерода от средней степени окисления углерода. Цифрами выделены области, характерные для различных типов аэрозолей: 1) углеводородоподобные органические аэрозоли, (2) полуволетучие окисленные органические аэрозоли, (3) гуминоподобные вещества, (4) низколлетучие окисленные органические аэрозоли, (5) водорастворимый органический углерод (6) выхлопы автомобилей, (7) биогенные аэрозоли, (8) антропогенные аэрозоли anthropogenic, (9) органические аэрозоли сгорания биомассы согласно [123, 124].

Рассматривая классификацию органических веществ по диаграмме ван Кревелена, можно отметить, что образцы в основном состоят из первичных органических аэрозолей (ПОА), вторичных органических аэрозолей (ВОА), природного органического вещества

(ПОВ) суши и продуктов сульфирования ВОА. Общие данные по элементному составу каждого образца приведены в Таблице 17. Среднее значение количества атомов углерода во всех образцах колеблется в интервале от 16 до 18 атомов. У большинства веществ элементные соотношения Н/С более 1, а О/С менее 0,5.

Таблица 17. Рассчитанные средние значения степени окисления углерода ( $OS_c$ ), количества атомов С, Н, N, О, S, элементных соотношений О/С, Н/С, С/С, С/Н, степени ненасыщенности (DBE) и величин  $m/z$  для ионов в масс-спектрах образцов снега

Образцы снега	$OS_c$ avg	C avg	H avg	N avg	O avg	S avg	O/C avg	H/C avg	C/S avg	C/N avg	DBE avg	$m/z$ avg
53	-0.92	16.35	25.39	0.32	5.14	0.37	0.31	1.55	44.14	51.10	4.82	319.36
66	-1.08	16.75	27.08	0.23	4.43	0.39	0.26	1.62	42.95	73.70	4.32	313.78
91	-1.04	16.34	26.62	0.17	4.61	0.42	0.28	1.63	38.93	96.10	4.11	311.36
78	-1.03	16.29	26.62	0.22	4.85	0.42	0.30	1.63	38.60	72.84	4.09	315.59
15	-0.83	16.11	23.96	0.35	5.01	0.27	0.31	1.49	60.03	46.15	5.31	310.02
29	-0.89	17.51	25.83	0.41	5.10	0.37	0.29	1.48	47.61	42.45	5.80	334.29
42	-0.96	17.93	27.28	0.28	5.01	0.22	0.28	1.52	82.37	63.75	5.42	332.62
106	-0.93	18.26	27.85	0.34	5.25	0.20	0.29	1.53	91.93	53.93	5.51	341.17

Количество атомов кислорода в каждом составе примерно одинаковое – около 5. Среднее количество атомов серы в первых четырех образцах (53, 66, 91 и 78) выше, чем в остальных образцах. Это также наглядно продемонстрировано на меньших значениях соотношения  $C/S_{avg}$  для упомянутых образцов. Значения степени ненасыщенности (DBE) изменяются в узком диапазоне от 4 до 6. Средние значения  $m/z$  для всех 8 образцов меняются в интервале от 310 до 341 Да.

#### 4.7.2 Обработка массива данных МС-ИЦР ПФ. Разделение на группы

Хотя каждый образец представляет собой конкретную точку Москвы со вкладом определенных специфических веществ в зависимости от источников загрязнения, рассматривать и описывать каждый образец отдельно становится очень трудоёмко. Поэтому гораздо эффективнее проанализировать такой массив данных, используя статистические расчёты. Формулы общие для всех образцов не учитывались и

рассматривались в качестве органического фона. Сходство или различия между снежными образцами были исследованы, используя иерархический кластерный анализ.

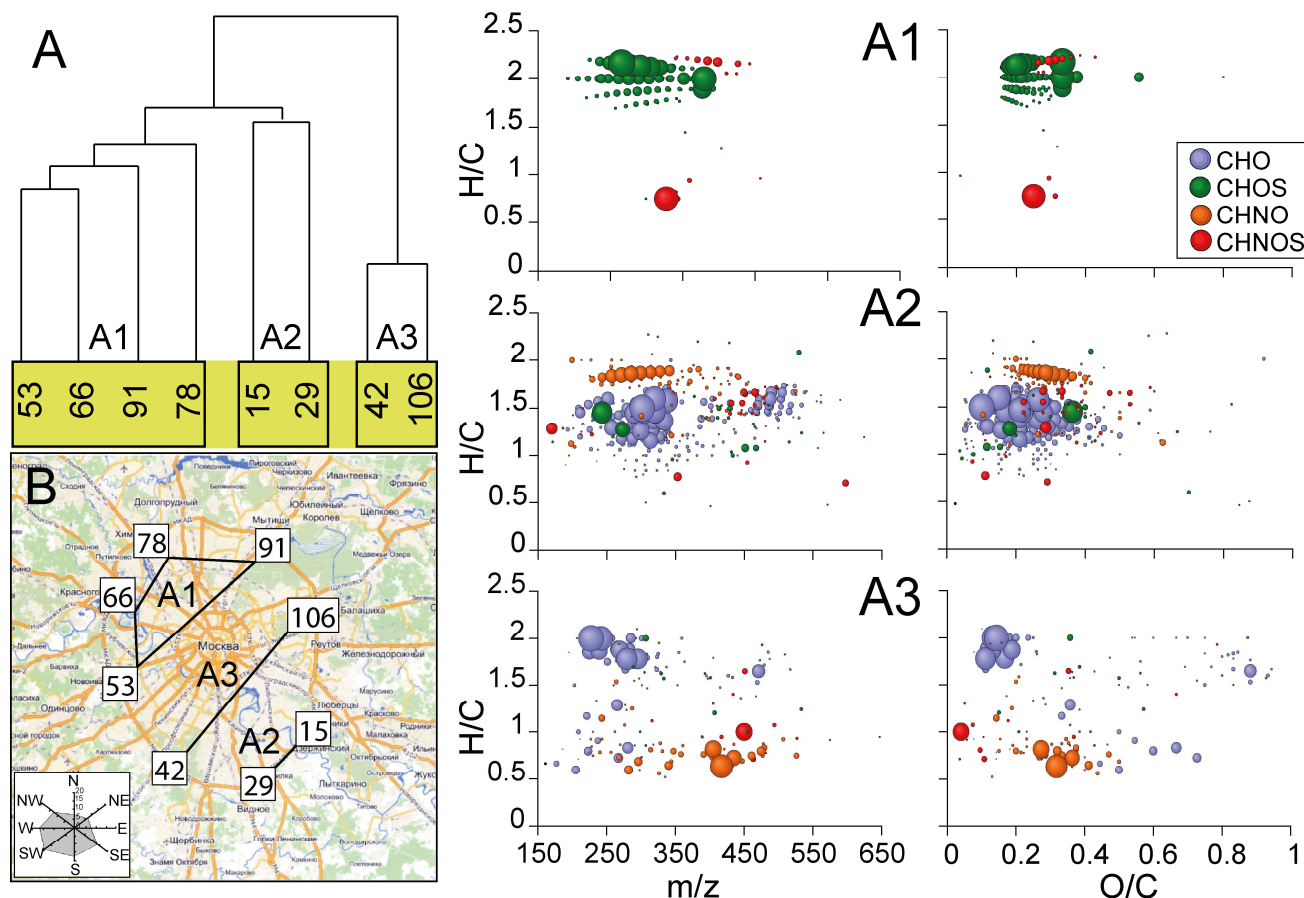


Рисунок 79. Сравнительный анализ данных МС-ИЦРПФ 8 образцов снега. (А) Кластерная диаграмма на основе сходств и различий масс-спектров, (В) Области пробоотбора. (А1), (А2) и (А3) представляют диаграммы ван Кревелена в координатах  $H/C - m/z$  и  $H/C - O/C$  для молекул состава CHO (синий), CHNO (оранжевый), CHOS (зеленый) и CHNOS (красный). Размер пузыря соответствует относительной интенсивности пика в масс-спектре.

Кластерный анализ проводили, применяя корреляцию Пирсона, причем только для ионов с однозначными сгенерированными формулами. Статистическая обработка данных позволила выделить 3 группы образцов – А1, А2, А3 (Рисунок 79). Каждая группа содержит набор специфических соединений, присутствующих только в данной области. Принимая во внимание розу ветров, характерную для Москвы, можно отметить хорошую корреляцию полученных групп с доминирующими ветрами Юго-Западного и Южного направлений.

Детальный анализ специфических элементных составов для каждой группы приведен на Рисунке 80. Диаграммы ван Кревелена показывают, что для каждой группы образцов характерны разные по составу соединения. Размер каждой точки соответствует интенсивности ионов в масс-спектрах.

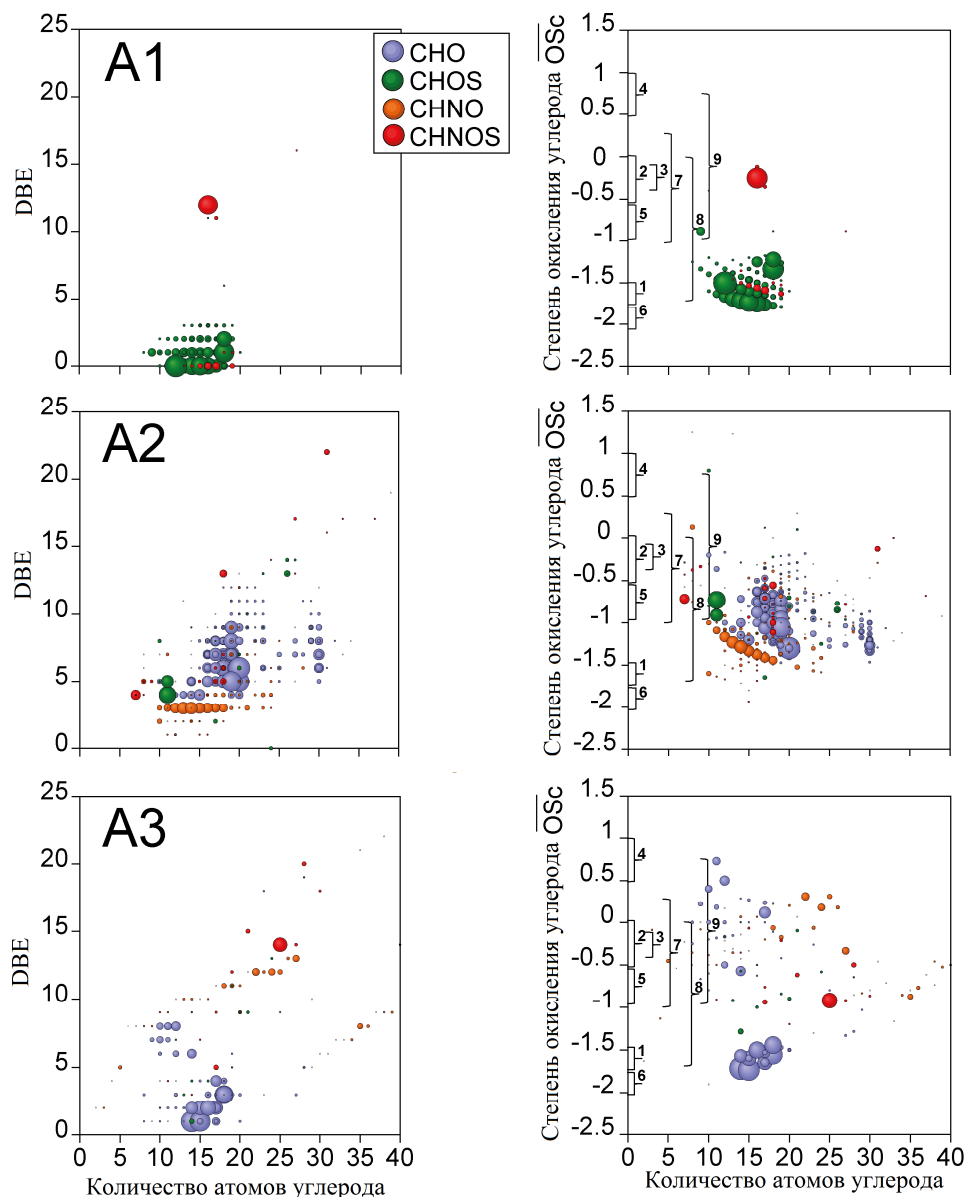


Рисунок 80. Диаграммы зависимости степени ненасыщенности (DBE) от количества атомов углерода для молекул состава CHO (синий), CHNO (оранжевый), CHOS (зеленый) и CHONS (красный), наблюдаемые в высоких интенсивностях в группах A1, A2 и A3. Размер пузыря соответствует относительной интенсивности пика в масс-спектре.

Группа А1 выделяется специфическими веществами состава CHOS и CHNOS, тогда как группа А2 – различными соединениями состава CHO и CHNO. Группа А3 содержит полностью отличающиеся элементные составы групп CHO и CHNO.

#### 4.7.2.1 Группа А1

Группа А1 отличается от двух других в первую очередь благодаря значительному вкладу веществ типа CHOS. Соединения данного состава обладают довольно высоким соотношением Н/С –  $1,93 \pm 0,22$ , относительно низким соотношением О/С –  $0,25 \pm 0,09$ , низкой степенью ненасыщенности (DBE – 0-3) и средней степенью окисления углерода ( $\overline{OS}_C$ ) от -1,25 до -1,75. Подобные элементные соотношения и  $\overline{OS}_C$  типичны для аэрозолей углеводородного происхождения и выхлопных газов автомобилей, то есть они представляют собой алифатические эфиры серной кислоты или другие производные сульфоксидов и сульфонов. Подобные соединения могут образовываться на поверхности взвешенных частиц в присутствии серной кислоты или диоксида серы вследствие фотохимических процессов в атмосфере [125-128] или они могут быть продуктами неполного сгорания в двигателях автомобилей. Основные компоненты группы А1 содержат 1 атом серы и 3 или 4 атома кислорода, образуя соответствующие составы  $C_xH_yO_3S$  и  $C_xH_yO_4S$  (Таблица 18).

Таблица 18. Рассчитанные составы и степени ненасыщенности (DBE) для веществ  $C_nH_{2n+z}SO_3$  и  $C_nH_{2n+z}SO_4$ , обнаруженных в высоких интенсивностях в группе А1.

Масса ионов	C	H	O	S	O:C	H:C	DBE	Z	Формулы нейтральных молекул
221.12169	10	21	3	1	0.30	2.20	0	2	C10H22O3S1
235.13733	11	23	3	1	0.27	2.18	0	2	C11H24O3S1
249.15299	12	25	3	1	0.25	2.17	0	2	C12H26O3S1
263.16863	13	27	3	1	0.23	2.15	0	2	C13H28O3S1
277.18429	14	29	3	1	0.21	2.14	0	2	C14H30O3S1
291.19993	15	31	3	1	0.20	2.13	0	2	C15H32O3S1
305.21560	16	33	3	1	0.19	2.13	0	2	C16H34O3S1
319.23123	17	35	3	1	0.18	2.12	0	2	C17H36O3S1

333.24690	18	37	3	1	0.17	2.11	0	2	C18H38O3S1
347.26254	19	39	3	1	0.16	2.11	0	2	C19H40O3S1
191.07474	8	15	3	1	0.38	2.00	1	0	C8H16O3S1
205.09040	9	17	3	1	0.33	2.00	1	0	C9H18O3S1
219.10604	10	19	3	1	0.30	2.00	1	0	C10H20O3S1
233.12170	11	21	3	1	0.27	2.00	1	0	C11H22O3S1
247.13734	12	23	3	1	0.25	2.00	1	0	C12H24O3S1
261.15299	13	25	3	1	0.23	2.00	1	0	C13H26O3S1
275.16864	14	27	3	1	0.21	2.00	1	0	C14H28O3S1
289.18429	15	29	3	1	0.20	2.00	1	0	C15H30O3S1
303.19995	16	31	3	1	0.19	2.00	1	0	C16H32O3S1
317.21558	17	33	3	1	0.18	2.00	1	0	C17H34O3S1
331.23124	18	35	3	1	0.17	2.00	1	0	C18H36O3S1
345.24691	19	37	3	1	0.16	2.00	1	0	C19H38O3S1
217.09039	10	17	3	1	0.30	1.80	2	-2	C10H18O3S1
231.10605	11	19	3	1	0.27	1.82	2	-2	C11H20O3S1
245.12168	12	21	3	1	0.25	1.83	2	-2	C12H22O3S1
259.13733	13	23	3	1	0.23	1.85	2	-2	C13H24O3S1
273.15299	14	25	3	1	0.21	1.86	2	-2	C14H26O3S1
287.16864	15	27	3	1	0.20	1.87	2	-2	C15H28O3S1
301.18428	16	29	3	1	0.19	1.88	2	-2	C16H30O3S1
315.19994	17	31	3	1	0.18	1.88	2	-2	C17H32O3S1
329.21560	18	33	3	1	0.17	1.89	2	-2	C18H34O3S1
257.12170	13	21	3	1	0.23	1.69	3	-4	C13H22O3S1
271.13734	14	23	3	1	0.21	1.71	3	-4	C14H24O3S1
285.15302	15	25	3	1	0.20	1.73	3	-4	C15H26O3S1
299.16866	16	27	3	1	0.19	1.75	3	-4	C16H28O3S1
313.18427	17	29	3	1	0.18	1.76	3	-4	C17H30O3S1
327.19993	18	31	3	1	0.17	1.78	3	-4	C18H32O3S1
341.21555	19	33	3	1	0.16	1.79	3	-4	C19H34O3S1
265.14791	12	25	4	1	0.33	2.17	0	2	C12H26O4S1
321.21051	16	33	4	1	0.25	2.13	0	2	C16H34O4S1
335.22614	17	35	4	1	0.24	2.12	0	2	C17H36O4S1



349.24182	18	37	4	1	0.22	2.11	0	2	C18H38O4S1
363.25746	19	39	4	1	0.21	2.11	0	2	C19H40O4S1
277.14791	13	25	4	1	0.31	2.00	1	0	C13H26O4S1
291.16355	14	27	4	1	0.29	2.00	1	0	C14H28O4S1
305.17919	15	29	4	1	0.27	2.00	1	0	C15H30O4S1
319.19486	16	31	4	1	0.25	2.00	1	0	C16H32O4S1
333.21049	17	33	4	1	0.24	2.00	1	0	C17H34O4S1
347.22616	18	35	4	1	0.22	2.00	1	0	C18H36O4S1
361.24181	19	37	4	1	0.21	2.00	1	0	C19H38O4S1
375.25749	20	39	4	1	0.20	2.00	1	0	C20H40O4S1
289.14791	14	25	4	1	0.29	1.86	2	-2	C14H26O4S1
303.16354	15	27	4	1	0.27	1.87	2	-2	C15H28O4S1
317.17918	16	29	4	1	0.25	1.88	2	-2	C16H30O4S1
331.19481	17	31	4	1	0.24	1.88	2	-2	C17H32O4S1
345.21051	18	33	4	1	0.22	1.89	2	-2	C18H34O4S1
301.14789	15	25	4	1	0.27	1.73	3	-4	C15H26O4S1
315.16355	16	27	4	1	0.25	1.75	3	-4	C16H28O4S1

Диаграмма дефекта масс (ДМ) Кендрика веществ состава CHOS группы A1 (Рисунок 81) подчеркивает их одинаковую степень ненасыщенности и принадлежность к одному классу. Точки, образующие горизонтальную линейную последовательность на диаграмме ДМ Кендрика, представляют собой ряд гомологов, отличающихся по составу количеством CH<sub>2</sub>-групп. Можно отметить 4 ряда гомологов состава C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>O<sub>3</sub>S со степенью ненасыщенности от 0 до 3 и 3 ряда гомологов состава C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>O<sub>4</sub>S со степенью ненасыщенности от 0 до 2.

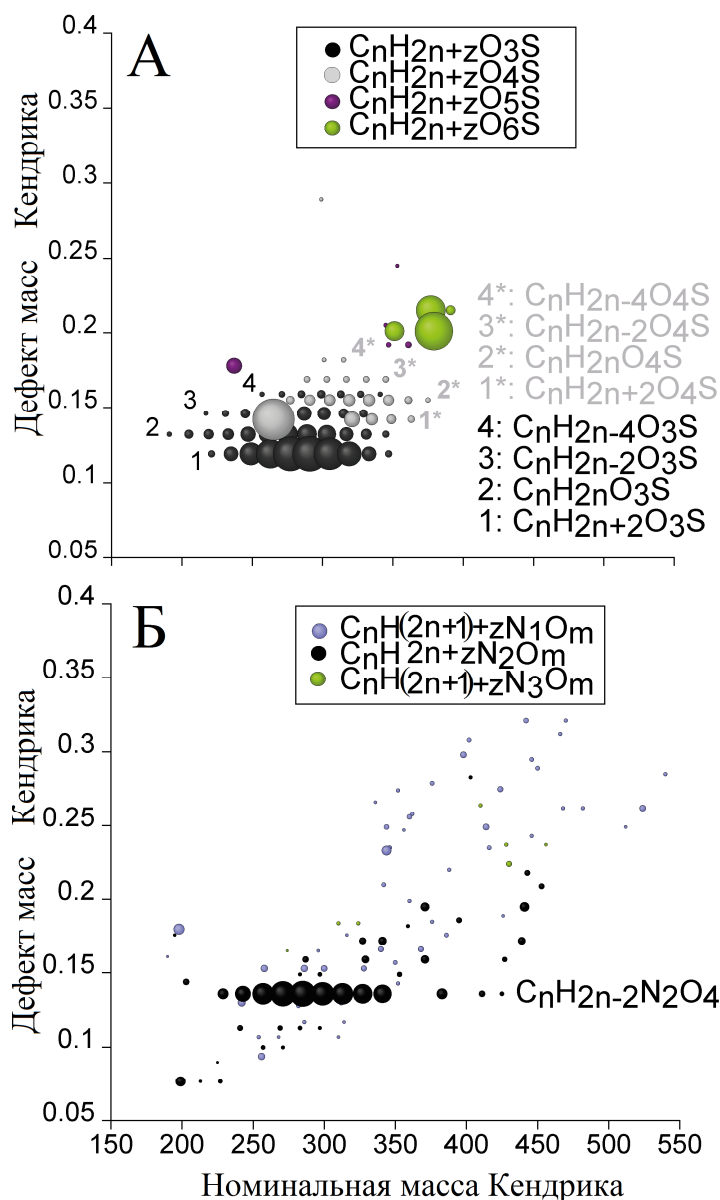


Рисунок 81. (А) Диаграмма ДФ Кендрика для соединений состава  $C_nH_{2n+z}O_3S$ ,  $C_nH_{2n+z}O_4S$ ,  $C_nH_{2n+z}O_5S$  и  $C_nH_{2n+z}O_6S$  в группе А1. (Б) Диаграмма Кендрика для соединений состава  $C_nH_{(2n+1)+z}N_1O_m$ ,  $C_nH_{2n+z}N_2O_m$  и  $C_nH_{(2n+1)+z}N_3O_m$  в группе А2.

Данный факт, вероятно, связан с одинаковым происхождением углеводов, поскольку они являются предшественниками рассмотренных сульфоксидов и сульфонов. Другие соединения группы CHOS представляют индивидуальные точки на диаграмме, поэтому сложно предположить их природу и происхождение.

Вещества состава CHNOS в группе А1 менее интенсивны, чем CHOS. У них наблюдаются различные элементные соотношения и, следовательно, у них различное происхождение. Единственные соединения CHNOS в группе А1, обладающие гомологической связью на диаграмме Кендрика, имеют состав  $C_nH_{2n+3}NO_5S_2$  ( $n=13-17$ ,

19). Принимая во внимание только количество атомов кислорода, можно предположить, что азот в этих соединениях восстановлен и, вероятно, присутствует в виде амино-группы. Такого рода вещества могут последовательно или одновременно образовываться из углеводов в присутствии аммиака и диоксида серы или серной кислоты [129].

#### 4.7.2.2 Группа A2

Группа A2 выделяется благодаря большому количеству соединений СНО, локализованных в одной области на диаграмме ван Кревелена в интервале значений Н/С 1-1,75 и О/С 0,05-0,5 (Рисунок 79 A2). Кроме данных соединений можно выделить несколько специфических составов группы СННО, СНОS и СННОS. Несмотря на то, что вещества группы СНО локализованы в одной области, построение диаграммы Кендрика не показало наличие каких-либо гомологических корреляций. Поэтому данная группа соединения была описана используя диаграмму зависимости степени ненасыщенности от количества атомов углерода и  $\overline{OS}_C$  от количества атомов углерода (Рисунок 80 A2). Наиболее интенсивные вещества делятся на 2 группы, содержащие от 15 до 20 атомов углерода и 30 атомов углерода. Степень окисления углерода этих соединений изменяется от -0.5 до -1.5, а степень ненасыщенности от 4 до 9. Количество атомов кислорода в составе этих веществ изменяется от 5 до 9. Молекулы с таким составом можно ассоциировать с различными классами биогенных и антропогенных аэрозолей, а также органическими аэрозолями сгорания биомассы [123]. В частности, это могут быть окисленные ненасыщенные алифатические и ароматические углеводороды.

Основная масса молекул состава СННО группы A2 представлена на диаграмме ван Кревелена в области значений  $H/C \geq 1.5$  и  $O/C$  между 0,15 и 0,45. Построение диаграммы Кендрика для этих соединений позволило выявить одну четкую гомологическую серию молекул с общей формулой  $C_nH_{2n-2}N_2O_4$  (Рисунок 81 Б). Большую часть молекул состава СННО связывают с нитро-производными, которые образуются в загрязненном воздухе вследствие реакции оксидов азота ( $NO_x$ ) с алкенами в течение дня и радикала- $NO_3$  в течение ночи [130]. Состав  $C_nH_{2n-2}N_2O_4$  характеризуется степенью ненасыщенности 3, что, по всей видимости, свойственно нафтенам или алкенам с двумя нитро-группами.

Остальные соединения группы CHNO содержат около 5 атомов кислорода и 1 или 2 атома азота, а степень ненасыщенности находится в пределах от 3 до 5. Учитывая информацию по составу, можно предположить, что данные вещества представляют собой гидроксинитраты, дигидроксинитраты, карбонилнитраты, гидропероксинитраты, а также нитриты, нитраты и нитросоединения [130].

#### 4.7.2.3 Группа А3

Как видно из Рисунка 79, группа А3 отличается специфическим набором молекул состава CHO, CHNO и CHNOS. В отличие от групп А1 и А2, молекулы состава CHO сконцентрированы в трех областях диаграммы ван Кревелена. Первая область соответствует значениям  $H/C > 1,6$ ,  $O/C < 0,2$ , DBE от 1 до 5 и среднему значению степени окисления углерода от -1,5 до -2. Количество атомов кислорода при этом изменяется от 1 до 7. Данная группа относится по большей части к углеводородоподобным органическим аэрозолям [123]. Молекулы  $C_xH_yO_2$  и  $C_xH_yO_3$  ( $x=14-20$ ) в области DBE 1-4 были наиболее интенсивны. Состав  $C_xH_yO_2$  с DBE 1 в основном соответствует жирным кислотам (Таблица 19, Рисунок 82). Нафтенновые кислоты, которые являются циклическими алифатическими карбоновыми кислотами состава  $C_xH_yO_2$  ( $x=10-14$ ) [131], обладают более высокими значениями DBE. Соединения с тремя кислородами, соответственно, получаются вследствие окисления веществ состава  $C_xH_yO_2$ . Этот класс веществ детально рассмотрен в отрасли науки, изучающей составы нефтей – петролеомике [132-134]. Вторая область соответствует значениям  $H/C > 1,5$  и  $O/C > 0,75$ . Такие элементные соотношения могут быть характерны для углеводов и их производных, то есть типичных природных веществ, которые, вероятно, попали в снег из растений. Третья область также может состоять из молекул природного происхождения. Поскольку у них довольно низкое соотношение  $H/C$  ( $H/C < 1$ ) и высокое соотношение  $O/C$  ( $O/C > 0,5$ ), они могут представлять окисленные ароматические молекулы. Зачастую такие составы характерны различным флавоном, флавоноидам и структурно похожим молекулам.

Таблица 19. Рассчитанные составы и степени ненасыщенности (DBE) для веществ  $C_nH_{2n+z}O_2$  и  $C_nH_{2n+z}O_3$  (карбоновые кислоты), обнаруженных в высоких интенсивностях в группе А3.

Масса ионов	C	C	O	O:C	H:C	DBE	z	Формулы нейтральных молекул
227.20166	14	27	2	0.14	2.00	1	0	$C_{14}H_{28}O_2$
241.21731	15	29	2	0.13	2.00	1	0	$C_{15}H_{30}O_2$
225.18600	14	25	2	0.14	1.86	2	-2	$C_{14}H_{26}O_2$
239.20166	15	27	2	0.13	1.87	2	-2	$C_{15}H_{28}O_2$
267.23296	17	31	2	0.12	1.88	2	-2	$C_{17}H_{32}O_2$
251.20166	16	27	2	0.13	1.75	3	-4	$C_{16}H_{28}O_2$
265.21731	17	29	2	0.12	1.76	3	-4	$C_{17}H_{30}O_2$
279.23297	18	31	2	0.11	1.78	3	-4	$C_{18}H_{32}O_2$
277.21732	18	29	2	0.11	1.67	4	-6	$C_{18}H_{30}O_2$
257.21221	15	29	3	0.20	2.00	1	0	$C_{15}H_{30}O_3$
285.24353	17	33	3	0.18	2.00	1	0	$C_{17}H_{34}O_3$
269.21222	16	29	3	0.19	1.88	2	-2	$C_{16}H_{30}O_3$
283.22787	17	31	3	0.18	1.88	2	-2	$C_{17}H_{32}O_3$
295.22787	18	31	3	0.17	1.78	3	-4	$C_{18}H_{32}O_3$
309.24352	19	33	3	0.16	1.79	3	-4	$C_{19}H_{34}O_3$
323.25918	20	35	3	0.15	1.80	3	-4	$C_{20}H_{36}O_3$

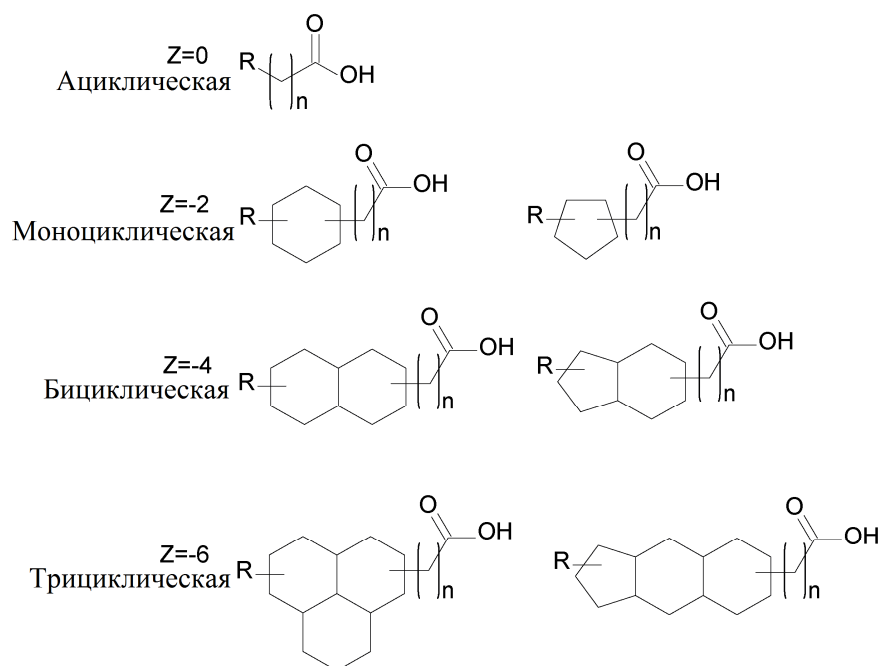


Рисунок 82. Предполагаемые структуры углеводородного скелета для соединений состава  $C_nH_{2n+z}O_2$  (нафтеновые кислоты) и  $C_nH_{2n+z}O_3$  (гидрокси нафтеновые кислоты), обнаруженные в высоких интенсивностях в группе А3

Большая часть веществ группы CHNO находятся в области ароматических соединений ( $H/C < 1$  и  $O/C$  от 0,4 до 0,2 – Рисунок 79 А3). Количество атомов азота в молекулах колеблется от 1 до 3, а количество атомов кислорода от 2 до 9. Молекулы состава  $C_xH_yO_zN_n$  ( $n=1$ ,  $x=11-19$  и  $n=2$ ,  $x=12-26$ ) имели степень ненасыщенности от 2 до 13 и от 5 до 17 соответственно. Наиболее интенсивными были соединения с DBE 9 и 12. Согласно литературным данным подобные молекулы содержат восстановленный азот, поэтому это могут быть производные карбазолов, бензокарбазолов и дибензокарбазолов [135,136], как показано на Рисунке 83. Было выдвинуто также предположение, что это могут быть нитро-производные ПАУ. Однако, твердо заявлять об упомянутых структурах всё равно нельзя, поскольку провести различие между данными изомерами представляет собой непростую задачу.

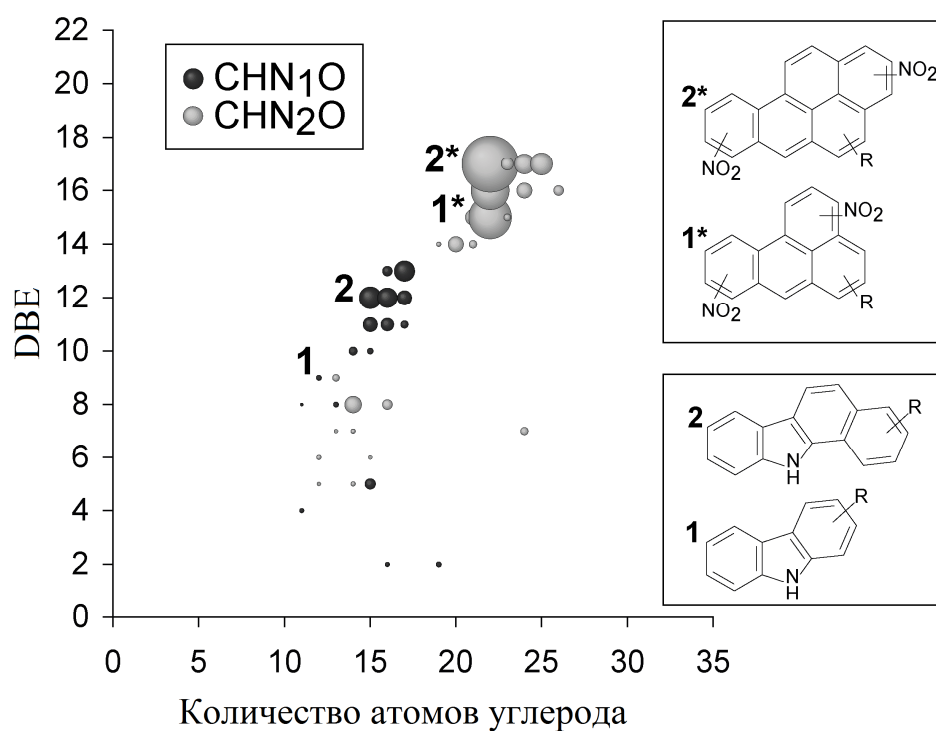


Рисунок 83. Диаграмма в координатах количества атомов углерода и степени ненасыщенности для молекул состава CHN<sub>1</sub>O и CHN<sub>2</sub>O, обнаруженных в высоких интенсивностях в группе А3. Размер пузыря соответствует относительной интенсивности пика в масс-спектре. Предполагаемые структуры соответствуют значениям DBE 9, 12, 15 и 17 соответственно.

## 5. ВЫВОДЫ

1. Впервые разработан метод идентификации и дифференциации изомерных транс-3(4)-аминопиперидин-4(3)-олов с помощью ГХ/МС с электронной ионизацией.
2. Доказано различие механизмов трансформации N-арилциклопропанкарбоксамидов в соответствующие N-арилпирролидиноны-2 в условиях электронной ионизации и в растворе.
3. Впервые разработан масс-спектрометрический метод дифференциации, а также изучена взаимная трансформация изомерных 4,5-функционализированных 1,2,3-тиадиазолов и 1,2,3-триазолов в условиях электрораспыления.
4. Используя библиотеки масс-спектров, установлена структура нескольких сотен органических соединений, обнаруженных в объектах окружающей среды.
5. Для надежного определения структуры индивидуальных органических соединений в их сложных смесях разработан подход с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения, альтернативных методов ионизации и тандемной газовой хроматографии.
6. Продемонстрирована важность сочетания библиотечного поиска и ручной расшифровки при установлении структуры органических соединений по их масс-спектрам.
7. В результате нецелевого анализа исследованных образцов с ручной расшифровкой спектров установлены структуры производных N,N-диэтилкарбамодитиановой кислоты, производных фурана и окисленных алкилбензолов, ранее недектированных в объектах окружающей среды.
8. По специфике обнаруженных сульфоксидов, сульфонов, сульфатов, различных нитропроизводных, нитратов и окисленных углеводов (карбоновые кислоты, карбонильные соединения, спирты) в изученных пробах удалось провести картирование загрязнения территории Москвы.
9. Предложена методика экспрессной пробоподготовки для последующего ГХ/МС анализа с установлением структур групп летучих и полуметучих соединений одновременно.

## 6. Список литературы

1. Lebedev, A.T. Mass spectrometry of diazocompound // Mass Spectrom. Rev. – 1991. – V.10 – P. 91-132.
2. Лободин, В.В., Лебедев, А.Т. Аналогии протекания мономолекулярных превращений органических соединений в растворе и в масс-спектрометрических экспериментах // Масс-спектрометрия. – 2005. – Т.2. – С.91-128.
3. CIBA Foundation Symposium. Environmental Change and Human Health. / CIBA Foundation Symposium – John Wiley & Sons Ltd, Baffins Lane, Chichester, West Sussex PO19 1UD, England, 1993. – p.282.
4. Levsen, F.K., Behnert, S., Winkeler H.D. Organic compounds in precipitation // J. Anal. Chem. – 1991. – V.340. – P. 665-671.
5. Alber, M., Böhm, H.B., Brodesser, J., Feltes, J., Levsen, K., Schöler, H.F. Determination of nitrophenols in rain and snow // Fresenius Z Anal. Chem. – 1993. – V.334. – P.540-545.
6. McLeese, D., Zitko, V., Peterson, M. Toxicity of mixtures of phosphamidon and methidathion to lobsters (*Homarus americanus*) // Chemosphere. – 1979. – V.8. – P. 53-57.
7. Nojima, K., Fukaya, K., Fukui, S., Kanno, S., Nishiyama, S., Wada, Y. Studies on photochemistry of aromatic hydrocarbons-III // Chemosphere. – 1976. – V.5. – P. 25-30.
8. Zhou, S., Huang, J., Gao, X., Zhao, L. SPME-GC-MSD for Determination of Nine Phenyl Compounds in Snow Water in Beijing China // Chromatographia. – 2005. – V.62. – P. 109-111.
9. European Commission. Regulation (EC) No. 2268/95 of 27 September 1995 concerning the second list of priority substances as foreseen under Council Regulation (EEC) No. 793/3. European Chemicals Bureau.
10. European Commission. Regulation (EC) No. 2364/2000 of 25 October 2000 concerning the fourth list of priority substances as foreseen under Council Regulation (EEC) No. 793/3. European Chemicals Bureau.



11. Marklund, A., Andersson, B., Haglund, B. Traffic as a Source of Organophosphorus Flame Retardants and Plasticizers in Snow // *Environ. Sci. Technol.* – 2005. – V.39. – P. 3555-3562.
12. Prieto, A., Schrader, S., Moeder, M. Determination of organic priority pollutants and emerging compounds in wastewater and snow samples using multiresidue protocols on the basis of microextraction by packed sorbents coupled to large volume injection gas chromatography–mass spectrometry analysis // *J. Chromatogr. A.* – 2010. – V.1217. – P. 6002-6011.
13. Zoccolillo, L., Amendola, L., Cafaro, C., Insogna, S. Volatile chlorinated hydrocarbons in antarctic superficial snow sampled during Italian ITASE expedition // *Chemosphere.* – 2007. – V.67. – P. 1897-1903.
14. Zoccolillo, L., Abete, C., Amendola, L., Ruocco, R., Sbrilli, A., Termine, M. Halocarbons in aqueous matrices from the Rennick Glacier and the Ross Sea (Antarctica) // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* – 2004. – V.84. – P. 513-522.
15. Quiroz, R., Popp, P., Barra, R. Analysis of PCB levels in snow from the Aconcagua Mountain (Southern Andes) using the stir bar sorptive extraction // *Environ. Chem. Lett.* – 2009. – V.7. – P. 283-288.
16. van Stee, L.L.P., Leonards, P.E.G., Vreuls, R.J.J., Brinkman, U.A.Th. Identification of non-target compounds using gas chromatography with simultaneous atomic emission and mass spectrometric detection (GC-AED/MS): analysis of municipal wastewater // *Analyst.* – 1999. – V.124. – P. 1547-1552.
17. Kos, G., Ariya, P.A. Determination of a wide range of volatile and semivolatile organic compounds in snow by use of solid-phase micro-extraction (SPME) // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2006. – V.385. – P. 57-66.
18. Lebedev, A., Sinikova, N., Nikolaeva, S., Poliakova, O., Khrushcheva, M., Pozdnyakov, S. Metals and organic pollutants in snow surrounding an iron factory // *Environ. Chem. Lett.* – 2003. – V.1. – P. 107-112.
19. Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. – Издательство ВНИРО. – 1999. – 303 с.

20. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования: ГН 2.1.5.690-98. – М.: Минздрав России, 1998. – 171 с
21. Lebedev, A., Poliakova, O., Hanninen, O. Organic pollutants in snow of urban and rural Russia and Finland // *Toxicol. Environ. Chem.* – 2005. – V.75. – P. I8I-I94.
22. Gomeza, M.J., Gomez-Ramos, M.M., Aguera, A., Mezcuca, M., Herrera, S., Fernandez-Alba, A.R. A new gas chromatography/mass spectrometry method for the simultaneous analysis of target and non-target organic contaminants in waters // *J. Chromatogr. A.* – 2009. – V.1216. – P. 4071-4082.
23. Schwarzbauer, J., Ricking, M. Non-target screening analysis of river water as compound-related base for monitoring measures // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2010. – V.17. – 934-947.
24. Hernandez, F., Portoles, T., Pitarch, E., Lopez, F.J. Gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry to analyze trace-level organic compounds in the environment, food safety and toxicology // *TrAC, Trends in Analytical Chemistry.* – 2011. – V.30. – N.2– P.388-400.
25. Portolés, T., Pitarch, E., López, F.J., Hernández, F., Niessen, W.M.A. Use of soft and hard ionization techniques for elucidation of unknown compounds by gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2011. – V.25. – P.1589-1599.
26. Portolés, T., Mol, J.G.J., Sancho, J.V., Hernández, F. Use of electron ionization and atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for screening and identification of organic pollutants in waters // *J. Chromatogr. A.* – 2014. – V.1339. – P.145-153.
27. Ulrich, N., Schüürmann, G., Brack, W. Prediction of gas chromatographic retention indices as classifier in non-target analysis of environmental samples // *J. Chromatogr. A.* – 2013. – V.1285. – P.139-147.
28. Zushi, Y., Hashimoto, S., Tanabe, K. Nontarget approach for environmental monitoring by GC-GC-HRTOFMS in the Tokyo Bay basin // *Chemosphere.* – 2016. – V.156. – P. 398-406.

29. Deyerling, D., Schramm, K.-W. Integrated targeted and non-targeted analysis of water sample extracts with micro-scale UHPLC–MS // *MethodsX*. – 2015. – V.2. – P.399-408.
30. Ruff, M., Mueller, M.S., Loos, M., Singer, H.P. Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry - Identification of unknown sources and compounds // *Water Research*. – 2015. – V.87. – P.145-154.
31. Hernández, F., Sancho, J.V., Ibáñez, M., Portolés, T. Time-of-Flight and Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry for Identifying Unknown Contaminants and Degradation Products in the Environment / *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. – John Wiley & Sons, Ltd, 2011. – P.1-36.
32. Grange, A.H., Zumwalt, M.C., Sovocool, G.W. Determination of Ion and Neutral Loss Compositions and Deconvolution of Product Ion Mass Spectra using an Orthogonal Acceleration Time-of-Flight Mass Spectrometer and an Ion Correlation Program // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2006. – V.20. – P.89-102.
33. Hug, C., Ulrich, N., Schulze, T., Brack, W., Krauss, M. Identification of novel micropollutants in wastewater by a combination of suspect and nontarget screening // *Environ. Pollut.* – 2014. – V.184. – P.25-32.
34. Kind, T., Fiehn, O., Seven golden rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry // *BMC Bioinformatics*. – 2007. – V.8. – N.105. – P.1-20.
35. Schymanski, E.L., Singer, H.P., Longrée, Ph., Loos, M., Ruff, M., Stravs, M.A., Ripollés Vidal, C., Hollender, J. Strategies to Characterize Polar Organic Contamination in Wastewater: Exploring the Capability of High Resolution Mass Spectrometry // *Environ. Sci. Technol.* – 2014. – V.48. – P.1811-1818.
36. Gómez-Ramos, M., Pérez-Parada, A., García-Reyes, J.F., Fernández-Alba, A.R., Agüera, A. Use of an accurate-mass database for the systematic identification of transformation products of organic contaminants in wastewater effluents // *J. Chromatogr. A*. – 2011. – V.1218. – P.8002-8012.
37. Tsuji, K., Robertson, J.H. Determination of erythromycin and its derivatives by gas-liquid chromatography // *Anal. Chem.* – 1971. – V.43. – P.818-821.

38. Kern, S., Fenner, K., Singer, H.P., Schwarzenbach, R.P., Hollender. Identification of Transformation Products of Organic Contaminants in Natural Waters by Computer-Aided Prediction and High-Resolution Mass Spectrometry // *J. Environ. Sci. Technol.* – 2009. – V.43. – P.7039-7046.
39. Tureček, F., McLafferty, F.W. Interpretation of mass spectra / F. Tureček, F.W. McLafferty. – Sausalito, USA, University Science Books, 1993. – P.290.
40. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 291-429с.
41. Holmes, J.C., Morrell, F.A. Oscillographic Mass Spectrometric Monitoring of Gas Chromatography // *Appl. Spectrosc.* – 1957. – V.11. – P.86-87.
42. Лободин, В.В., Роджерс, Р.П., Маршалл, А.Дж. ИЦР ПФ-Анализ сложных органических смесей. Петролеомика – 513-546с. / ред. А.Т. Лебедев Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды. – М.:Техносфера, 2013. – 632с.
43. Хасин, Ю.И., Веренчиков, А.Н., Гаврик, М.А., Явор, М.И. Первые экспериментальные исследования планарного многоотражательного ВПМС // *Науч. Приборостр.* – 2004. – Т.14. – №2. – С.59-71.
44. Makarov, A.A. Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping: A High-Performance Technique of Mass Analysis // *Anal. Chem.* – 2000. – V.72. –P.1156-1162.
45. Makarov, A., Denisov, E., Kholomeev, A., Balschun, W., Lange, O., Strupat, K., Horning, S. Performance Evaluation of a Hybrid Linear Ion Trap/Orbitrap Mass Spectrometer // *Anal. Chem.* – 2006. – V.78. – P.2113-2120.
46. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 79-83с.
47. Самохин, А.С., Ревельский, И.А. Интенсивность пика молекулярного иона в масс-спектрах электронной ионизации // *Масс-спектрометрия.* – 2012. – Т.9. – С. 58-60.
48. Harrison, A.G. Chemical Ionization Mass Spectrometry / A.G. Harrison. – CRC Press. Boca Raton, 1992. – 208p.
49. Revelskii, I.A., Yashin, Y.S., Voznesenskii, V.N., Kurochkin, V.K., Kostyanovskii, R.G. Mass-spectrometry with photoionization of n-alkanes, alcohols, ketones, esters, and amines at atmospheric-pressure // *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Division of Chemical Science.* – 1986. – V.35. – № 9. – P.1806-1810.

50. Beckey, H.D. Principles of Field Ionization and Field Desorption Mass Spectrometry / H.D. Beckey.– Pergamon, London, 1977. – 348p.
51. Horning, E.C., Horning, M.G., Carroll, D.I., Dzidic, I., Stillwell R.N. New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure // *Anal. Chem.* – 1973. – V. 45. – P.936–943.
52. Yamashita, M., Fenn, J.B. Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme // *J. Phys. Chem.* – 1984. – V.88. – P.4451–4459.
53. Karas, M., Bachmann, D., Hillenkamp F. Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules // *Anal. Chem.* – 1985. – V.57. – P.2935–2939.
54. Daughtrey, E.H., Harrison, W.W. Critical Parameters Affecting the Hollow Cathode Ion Source // *Anal. Chem.* – 1975. – V.47. – P.1024-1028.
55. Harrison, W.W., Hess, K.R., Marcus, R.K., King F.L. Glow discharge mass spectrometry // *Anal. Chem.* – 1986. – V.58. – P.341A.
56. Carazzato, D., Bertrand, M. J. Characterization of a Glow Discharge Ion Source for the Mass Spectrometric Analysis of Organic Compounds // *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* – 1994. – V.5. – P.305-315.
57. Веренчиков, А.Н., Колосов, А.П. Метод мягкой ионизации полуплетучих соединений // *Масс-спектрометрия.* – 2014. – Т.11. – № 4. – С.206-212.
58. Frysinger, G.S., Gaines, R.B., Reddy, C.M. GC × GC--A New Analytical Tool For Environmental Forensics // *Environ. Forensics.* – 2002. – V.3. –P.27-34.
59. Nelson, R.K., Aeppli, C., Arey, J.S., Chen, H., de Oliveira, A.H.B., Eiserbeck, C., Frysinger, G.S., Gaines, R.B., Grice, K., Gros, J., Hall, G.J., Koolen, H.H.F., Lemkau, K.L., McKenna, A.M., Reddy, C.M., Rodgers, R.P., Swarthout, R.F., Valentine, D.L., White, H.K. Applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC) in studying the source, transport, and fate of petroleum hydrocarbons in the environment. *Standard Handbook Oil Spill Environmental Forensics* / S. Stout, Zh. Wang. – 2<sup>nd</sup> ed. – Academic Press, 2016. – 1142p.
60. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды / ред. А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2013. – с.522.
61. Шмитт-Копплин, Ф., Харир, М., Тциотис, Д., Габелика, Д., Херткорн, Н. Применение масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения с масс-анализатором

- ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье для анализа природного органического вещества в объектах окружающей среды / ред. А.Т. Лебедев Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды. – М.:Техносфера, 2013. – с. 547.
62. Kovacs, K., Gaspar, A., Sajgo, C., Schmitt-Kopplin, Ph., Tombacz, E. Comparisons of humic substances isolated from thermal water and surface water by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // *Eur. J. Mass Spectrom.* – 2010. – V.16. – P.625-630.
  63. Huclier-Markai, S., Landesman, C., Rogniaux, C.H., Monteau, F., Vinsot, A., Grambow, B. Nondisturbing characterization of natural organic matter contained in clay rock pore water by mass spectrometry using electrospray and atmospheric pressure chemical ionization modes // *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 2010. – V.24. – P.191-202.
  64. Schmidt, F., Elvert, M., Koch, B.P., Witt, M., Hinrichs, K-U. Molecular characterization of dissolved organic matter in pore water of continental shelf sediments // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2009. – V.73. – P.3337-3358.
  65. Sleighter, R.L., McKee, G.A., Hatcher, P.G. Direct Fourier transform mass spectral analysis of natural waters with low dissolved organic matter // *Org. Geochem.* – 2009. – V.40. – P.119-125.
  66. D'Andrilli, J., Dittmar, T., Koch, B.P., Purcell, J.M., Marshall, A.G., Cooper, W.T. Comprehensive characterization of marine dissolved organic matter by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry with electrospray and atmospheric pressure photoionization // *Rapid Comm. Mass Spectrom.* – 2010. – V.24. – P.643-650.
  67. Kujawinski, E.B., Longnecker, K., Blough, N.V., Del Vecchio, R., Finlay, L., Kitner, J.B., Giovannoni, S.J. Identification of possible source markers in marine dissolved organic matter using ultrahigh resolution mass spectrometry // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 2009. – V.73. – P.4384-4399.
  68. Koch, B.P., Witt, M.R., Engbrodt, R., Dittmar, T., Kattner, G. Molecular formulae of marine and terrigenous dissolved organic matter detected by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 2005. – V.69. – P.3299-3308.
  69. Hertkorn, N., Meringer, M., Gugisch, R., Ruecker, C., Frommberger, M., Perdue, E.M., Witt, M., Schmitt-Kopplin, Ph. High-precision frequency measurements: indispensable

- tools at the core of the molecular-level analysis of complex systems // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2007. – V.389. – P.1311-1327.
70. Hertkorn, N., Frommberger, M., Schmitt-Kopplin, Ph., Witt, M., Koch, B., Perdue, E.M.. Natural Organic Matter and the Event Horizon of Mass Spectrometry // *Anal. Chem.* – 2008. – V.80. – P.8908-8919.
71. Schmitt-Kopplin, Ph., Gelencsér, A., Dabek-Zlotorzynska, E., Kiss, G., Hertkorn, N., Harir, M., Hong, Y., Gebefugi I. Analysis of the Unresolved Organic Fraction in Atmospheric Aerosols with Ultrahigh-Resolution Mass Spectrometry and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Organosulfates As Photochemical Smog Constituents // *Anal. Chem.* – 2010. – V.82. – P.8017-8026.
72. Minor, E.C., Swenson, M.M., Mattson, B.M., Oyler, A. R. Structural characterization of dissolved organic matter: a review of current techniques for isolation and analysis // *Environ. Sci.: Processes Impacts.* – 2014. – V.16. – 2064-2079.
73. Laikov, D.N. A new class of atomic basis functions for accurate electronic structure calculations of molecules // *Chem. Phys. Lett.* – 2005. – V.416. – P.116-120.
74. Hirshfeld, F.L. Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities // *Theoret. Chim. Acta (Berl.)*. – 1977. – V.44. – P.129-138.
75. Gonzalez, C., Schlegel, H.B. Reaction path following in mass-weighted internal coordinates // *J. Phys. Chem.* – 1990. – V.94. – P.5523-5527.
76. Laikov, D.N., Ustynyuk, Y.A. PRIRODA-04: a quantum-chemical program suite. New possibilities in the study of molecular systems with the application of parallel computing // *Russ. Chem. Bull.* – 2005. – V.54. – P.820-826.
77. Method 8270D (2007) Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). US Environ Prot Agency. <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8270d.pdf>
78. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.: Техносфера, 2015. – 176-303 с.
79. Cossy, J. Selective methodologies for the synthesis of biologically active piperidinic compounds // *J. Chem. Rec.* – 2005. – V. 5. – P. 70-80.
80. Lohse, A., Jensen, H.H., Bach, P., Bols, M. Synthesis of 3-substituted isofagomine analogues using an unusual *syn* hydrogenation reaction // *J. Chem. Soc., Perkin Trans I.* – 2000. – V.5. – P.659-665.

81. Bernotas, R.C., Ganem, B. (3R,4R,5S)-5-acetamido-3,4-piperidinediol: a selective hexosaminidase inhibitor // *Carbohydr. Res.* –1987. –V.167. – P.312-316.
82. Buchheit, K.H., Gamse, R., Giger, R., Hoyer, D., Klein, F., Kloepfner, E., Pfannkuche, H.J., Mattes, H. The Serotonin 5-HT<sub>4</sub> Receptor. 1. Design of a New Class of Agonists and Receptor Map of the Agonist Recognition Site // *J. Med. Chem.* – 1995. – V.38. – P.2326-2330.
83. Ishibashi, M., Ohizumi, Y., Sasaki, T., Nakamura, H., Hirata, Y., Kobayashi, J. Pseudodistomins A and B, novel antineoplastic piperidine alkaloids with calmodulin antagonistic activity from the Okinawan tunicate *Pseudodistoma kanoko* // *J. Org. Chem.* – 1987. – V.52. – P.450-453.
84. Kiguchi, T., Yuamoto, Y., Ninomiya, I., Naito, T., Deki, K., Ishibashi, M., Kobayashi, J. Pseudodistomin B: Revised structure and first total synthesis // *Tetrahedron Lett.* – 1992. – V.33. – P.7389-7390.
85. Kobayashi, J., Naitoh, K., Doi, Y., Deki, K., Ishibashi, M. Pseudodistomin C, a new piperidine alkaloid with unusual absolute configuration from the Okinawan tunicate *Pseudodistoma kanoko* // *J. Org. Chem.* – 1995. – V.60. – P.6941-6945.
86. Freyer, A.J., Patil, A.D., Killmer, L., Troupe, N., Mentzer, M., Carte, B., Faucette, L., Johnson, R.K. Three New Pseudodistomins, Piperidine Alkaloids from the Ascidian *Pseudodistoma megalarva* // *J. Nat. Prod.* – 1997. – V.60. – P.986-990.
87. Samoshin, A.V., Veselov, I.S., Chertkov, V.A., Yaroslavov, A.A., Grishina, G.V., Samoshina, N.M., Samoshin, V.V. Fliposomes: new amphiphiles based on trans-3,4-bis(acyloxy)-piperidine able to perform a pH-triggered conformational flip and cause an instant cargo release from liposomes // *Tetrahedron Lett.* – 2013. – V.54. – P.5600-5604.
88. Veselov, I.S., Trushkov, I.V., Zefirov, N.S., Grishina, G.V. *trans*-4-Amino-3-hydroxypiperidines. Regio- and Stereoselective Synthesis // *Russ. J. Org. Chem.* – 2009. – V.45. – P.1050-1060.
89. Grishina, G.V., Veselov, I.S., Savronova, E.N., Mazur, D.M., Samoshin, V.V. Convenient synthesis of trans-3-amino-1-benzylpiperidin-4-ols using regiospecific cleavage of 1-benzyl-3,4-epoxypiperidine with diisobutylaluminum amides (DIBAL-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>) // *Tetrahedron Letters.* – 2017. – V.58. – P.2019-2022.



90. Carey, F.A., Sundberg, R.J. *Advanced Organic Chemistry* / F.A. Carey, R.J. Sundberg. – New York, Springer, 2007. – P.1203.
91. Pechine, J.M. Evidence for one bromine participation in the expulsion of the other from 1,2-dibrominated compounds // *Org. Mass Spectrom.* – 1971. – V.5. – P.705-711.
92. Lebedev, A.T. Mass spectrometry in the study of mechanisms of aquatic chlorination of organic substrates // *Eur. J. Mass Spectrom.* – 2007. – V.13. – P.51-56.
93. Lebedev, A.T., Bakulev, V.A., Hayes, R.N., Bowie, J.H. Anionic rearrangement in the gas phase. The collision - induced dissociations of deprotonated 2-diazo-2-cyanoacetamides // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 1991. – V.5. – P.234-237.
94. Lebedev, A.T., Alekseeva, T.N., Kutateladze, T.G., Mochalov, S.S., Shabarov, Yu.S., Petrosyan, V.S. The Electron Impact-Induced Cyclization of *o*-Carboxy- and *o*-Carboxamidocyclopropylbenzenes // *Org. Mass Spectrom.* – 1989. – V.24. – P.149-152.
95. Lebedev, A.T., Dianova, I.V., Mochalov, S.S., Lobodin, V.V., Samguina, T.Yu., Gazzaeva, R.A., Blumenthal, T. Cyclization of ortho-cyclopropylphenyl benzamides in gas and liquid phases // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2001. – V.12. – P.956-963.
96. Лободин, В.В., Овчаренко, В.В., Чен, П., Мочалов, С.С., Пихлая, К., Джонс, П.Р., Лебедев, А.Т. Циклизация замещенных N-(орто-циклопропилфенил)ариламидов в условиях химической ионизации и химической ионизации при атмосферном давлении // *Масс-спектрометрия.* – 2004. – Т.1. – С.127-134.
97. Lebedev, A.T., Giorgi, G., Maloshitskaya, O.A., Kuchumova, J., Samgina, T., Dem'yanov, P., Karakhanova, N., Mochalov, S., Fedotov, A. Cyclization of 2-acyl- and 2-thioacyl-aminobenzylcyclopropanes in the gas phase and solution // *Eur. Journal of Mass Spectrometry.* – 2009. – V.15. – P.385-398.
98. Yang, Y.-H., Shi, M. Ring-Expanding Reaction of Cyclopropyl Amides with Triphenylphosphine and Carbon Tetrahalide // *J. Org. Chem.* – 2005. – V.70. – P.8645-8648.
99. Appel, R. Tertiary Phosphane/Tetrachloromethane, a Versatile Reagent for Chlorination, Dehydration, and P-N Linkage // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 1975. – V.14. – P.801-811.
100. Filimonov, V.O., Dianova, L.N., Galata, K.A., Beryozkina, T.V., Novikov, M.S., Berseneva, V.S., Eltsov, O.S., Lebedev, A.T., Slepukhin, P.A., Bakulev, V.A. Switchable Synthesis of 4,5-Functionalized 1,2,3-Thiadiazoles and 1,2,3-Triazoles from

- 2-Cyanothioacetamides under Diazo Group Transfer Conditions // *J. Org. Chem.* – 2017. – V.82. – P.4056–4071.
101. Bakulev, V.A., Dehaen, W. *The Chemistry of 1,2,3-Thiadiazoles* / V.A. Bakulev, W. Dehaen. – John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, 2004. – P.241.
102. Morzherin, Yu.Yu., Glukhareva, T.V., Bakulev, V.A. Rearrangements and Transformations of 1,2,3-Thiadiazoles in Organic Synthesis // *Chem. Heterocycl. Compd.* – 2003. – V.39. – P.679-706.
103. Bakulev, V., Dehaen, W., Beryozkina, T. Thermal rearrangements and transformations of 1,2,3-triazoles / W. Dehaen, V. Bakulev Eds. *Chemistry of 1,2,3-triazoles.* – Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2015. –P. 1-50.
104. Bakulev, V.A., Morzherin, Y.Y., Lebedev, A.T., Dankova, E.F., Kolobov, M.Y., Shafran, Y.M. Study of polyfunctional diazo compounds reactivity in heterocyclization by the method of intramolecular competitive reactions // *Bull. Soc. Chim. Belg.* – 1993. – V.102. – P.493-502.
105. Singh, M.S., Nagaraju, A., Verma, G.K., Shukla, G., Verma, R.K., Srivastava, A., Raghuvanshi, K. Eco-efficient, regioselective and rapid access to 4,5-disubstituted 1,2,3-thiadiazoles *via* [3 + 2] cycloaddition of  $\alpha$ -enolicdithioesters with tosyl azide under solvent-free conditions // *Green Chem.* – 2013. – V.15. – P.954-962.
106. da Silva, F.G., Do Carmo Cardoso, M.F., Ferreira, G.P., Ferreira, V.F. Biological properties of 1*H*-1,2,3- and 2*H*-1,2,3-triazoles / W. Dehaen, V. Bakulev Eds. *Chemistry of 1,2,3-triazoles.* – Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2015. –P. 117-165.
107. Dynesen, E., Lawesson, S.-O., Schroll, G., Bowie, J.H., Cooks, R.G. Electron-impact studies. Part XXI. The mass spectra of sulphonamides and sulphonyl chlorides: the formation of C–O and C–N bonds upon electron impact // *J. Chem. Soc. B.* – 1968. – P.15-21.
108. Meyerson, S., Drews, H., Fields, E.K. Mass Spectra of Diaryl Sulfones // *Anal. Chem.* – 1994. – V.36. – P.1294-1300.
109. Lebedev, A.T., Samgina, T.Y., Sharbatyan, P.A., Bakulev, V.A., Dankova, E.F., Petrosyan, V.S. Mass-spectra of 4,5-disubstituted 1,2,3-thiadiazoles // *Khim. Geterotsikl. Soedin.* – 1988. – V.1. – P.118-122.

110. Bakulev, V.A., Tarasov, E.V., Morzherin, Y.Y., Luyten, I., Toppet, S., Dehaen W. Synthesis and study of the rearrangements of 5-(1,2,3-triazol-4-yl)-1,2,3-thiadiazoles // *Tetrahedron*. – 1998. – V.54. – P.8501-8514.
111. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 491-501с.
112. Meyer, T., Lei, Y.D., Wania, F. Transport of polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides during snowmelt within an urban watershed // *Water Research*. – 2011. – V.45. – P.1147-1156.
113. Method 8260C (2006) Volatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). US Environ Prot Agency. <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/pdfs/8260c.pdf>
114. Polyakova, O.V., Mazur, D.M., Lebedev, A.T. Improved sample preparation and GC/MS analysis of priority organic pollutants // *Environ. Chem. Lett.* – 2014. – V.12. – P.419-427.
115. Polyakova, O.V., Mazur, D.M., Artaev, V.B., Lebedev, A.T. Rapid liquid–liquid extraction for the reliable GC/MS analysis of volatile priority pollutants // *Environ. Chem. Lett.* – 2016. – V.14. – P.251-257.
116. Lebedev, A.T., Polyakova, O.V., Mazur, D.M., Artaev, V.B. The benefits of high resolution mass spectrometry in environmental analysis // *Analyst*. – 2013. – V.138. – P.6946-6953.
117. Li, Z., Pittman, E.N., Trinidad, D.A., Romanoff, L.C., Mulholland, J., Sjödin, A. Determination of 43 polycyclic aromatic hydrocarbons in air particulate matter by use of direct elution and isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – V.396. – P.1321-1330.
118. Laniewski, K., Boren, H., Grimvall, A. Identification of Volatile and Extractable Chloroorganics in Rain and Snow // *Environ. Sci. Technol.* – 1998. – V.32. – P. 3935-3940.
119. Laniewski, K., Borén, H., Grimvall, A., Ekelund, M. Pyrolysis–gas chromatography of chloroorganic compounds in precipitation. // *J. Chromatogr. A*. – 1998. – V.826. – P. 201-210.
120. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 65-67с.

121. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 314-331с.
122. Лебедев, А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.:Техносфера, 2015. – 375-399с.
123. Kroll, J.H., Donahue, N.M., Jimenez, J.L., Kessler, S.H., Canagaratna, M.R., Wilson, K.R., Altieri, K.E., Mazzoleni, L.R., Wozniak, A.S., Bluhm, H., Mysak, E.R., Smith, J.D., Kolb, C.E., Worsnop, D.R. Carbon oxidation state as a metric for describing the chemistry of atmospheric organic aerosol // *Nat. Chem.* – 2011. – V.3. – P.133-139.
124. Cottrell, B.A., Gonsior, M., Isabelle, L.M., Luo, W., Perraud, V., McIntire, T.M., Pankow, J.F., Schmitt-Kopplin, Ph., Cooper, W.J., Simpson, A.J. A regional study of the seasonal variation in the molecular composition of rainwater // *Atmos. Environ.* – 2013. – V.77. – P.588-597.
125. Gao, S., Keywood, M., Ng, N.L., Surratt, J.D., Varutbangkul, V., Bahreini, R., Flagan, R.C., Seinfeld, J.H. Low-Molecular-Weight and Oligomeric Components in Secondary Organic Aerosol from the Ozonolysis of Cycloalkenes and  $\alpha$ -Pinene // *J. Phys. Chem.* – 2004. – V.108. –P.10147-10164.
126. Gao, S., Surratt, J.D., Knipping, J.D., Edgerton, E.M., Shahgholi, E.S., Seinfeld, M. Characterization of polar organic components in fine aerosols in the southeastern United States: Identity, origin, and evolution // *J. Geophys. Res.* – 2006. – V.111. – D14314.
127. Liggiio, J., Li, S.M., Brooks, J.R., Mihele, C. Direct polymerization of isoprene and  $\alpha$ -pinene on acidic aerosols // *Geophys. Res. Lett.* – 2007. – V.34. – L05814.
128. Surratt, J.D., Lewandowski, M., Offenberg, J.H., Jaoui, M., Kleindienst, T.E., Edney, E.O., Seinfeld, J.H. Effect of Acidity on Secondary Organic Aerosol Formation from Isoprene // *Environ. Sci. Technol.* – 2007. – V.41. – P.5363-5369.
129. O'Brien, R.E., Nguyen, T.B., Laskin, A., Laskin, J., Hayes, P.L., Liu, S., Jimenez, J.L., Russell, L.M., Nizkorodov, S.A., Goldstein, A.H. Probing molecular associations of field-collected and laboratory generated SOA with nano-DESI high-resolution mass spectrometry // *J. Geophys. Res.: atmospheres.* – 2013. – V.118. – P.1042-1051.
130. Day, D.A., Liu, S., Russell, L.M., Ziemann, P.J. Organonitrate group concentrations in submicron particles with high nitrate and organic fractions in coastal southern California // *Atmos. Environ.* – 2010. – V.44. – P.1970-1979.

131. McKee, R.H., North, C.M., Podhasky, P., Charlap, J.H., Kuhl, A. Toxicological Assessment of Refined Naphthenic Acids in a Repeated Dose/Developmental Toxicity Screening Test // *Int. J. Toxicol.* – 2014. – V.33. – P.168S-180S.
132. Clemente, J.S., Fedorak., Ph.M. A review of the occurrence, analyses, toxicity and biodegradation of naphthenic acids // *Chemosphere.* – 2005. – V.60. – P.585-600.
133. Headley, J.V., Armstrong, S.A., Peru, K.M., Mikula, R.J., Germida, J.J., Mapolelo, M.M., Rodgers, R.P., Marshall, A.G. Ultrahigh-resolution mass spectrometry of simulated runoff from treated oil sands mature fine tailings // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2010. – V.24. – P.2400-2406.
134. Rowland S.J., Scarlett, A.G., Jones, D., West, C.E., Frank R.A. Diamonds in the Rough: Identification of Individual Naphthenic Acids in Oil Sands Process Water // *Environ. Sci. Technol.* – 2011. – V.45. – P.3154-3159.
135. Hughey, C.A., Rodgers, R.P., Marshall, A.G., Qian, K.N., Robbins, W.K. Identification of acidic NSO compounds in crude oils of different geochemical origins by negative ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // *Org. Geochem.* – 2002. – V.33. – P.743–759.
136. Hughey, C.A., Rodgers, R.P., Marshall, A.G., Walters, C.C., Qian, K.N., Mankiewicz, P. Acidic and neutral polar NSO compounds in Smackover oils of different thermal maturity revealed by electrospray high field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // *Org. Geochem.* – 2004. – V.35. – P.863–880.