

УДК 543.226

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ СИСТЕМ

В.А. Покровский

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина*

Рассмотрены специфические технические и научные проблемы масс-спектрометрии, возникающие и решаемые при исследовании наноструктурированных систем. Под этим углом зрения проведен краткий анализ тенденций развития метода и приложений масс-спектрометрии в мире и в Украине. Обозначены наиболее впечатляющие достижения в этой области на протяжении последних десятилетий. Приведен краткий обзор результатов, которые получены украинскими исследователями, активно использующими различные разновидности масс-спектрометрии для решения задач химии поверхности, катализа, супрамолекулярной химии, биологии и охраны окружающей среды. Особое внимание уделено методам температурно-программированной десорбционной и лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии наноматериалов на основе кремния.

Краткий очерк истории масс-спектрометрии

Создание современной масс-спектрометрии принято связывать с именем Дж. Дж. Томсона, знаменитого физика-экспериментатора конца девятнадцатого – начала двадцатого века, который много сделал для становления современной физики в том виде, в котором она ныне существует. Он стал лауреатом Нобелевской премии по физике 1906 г. «в ознаменование огромного значения его теоретических и экспериментальных исследований электропроводности газов». За этой осторожной формулировкой Нобелевского комитета скрываются, в частности, доказательство существования электрона и прямое экспериментальное наблюдение изотопов. Для разделения изотопов Томпсоном был специально изобретен так называемый «метод парабол», позволивший непосредственно наблюдать и регистрировать изотопы инертных газов, образующиеся в газоразрядной трубке, которую, таким образом, следует считать родоначальницей всех современных масс-спектрометров. Следует отметить, однако, что с конструктивной точки зрения устройство Томсона имело мало общего с ныне используемыми приборами.

Честь сделать следующий крупный шаг в развитии масс-спектрометрии принадлежит Ф. В. Астону. В 1919 г. на чердаке собственного дома из подручных материалов ему удалось сконструировать и изготовить прибор, который уже содержал основные элементы современных масс-спектрометрических (МС) устройств. Это предопределило успех прибора и позволило получить фундаментальные результаты в исследовании изотопов. Нобелевский комитет на сей раз осознал важность проводимых МС исследований и присудил Астону Нобелевскую премию по химии 1922 г. «за открытие, с помощью его масс-спектрографа, изотопов большого числа нерадиоактивных элементов и закона целых чисел».

Таким образом, масс-спектрометрия первоначально возникла и далее существовала на границе физики и химии и в качестве метода исследования внесла существенный вклад в обе эти дисциплины. Такое положение сохранилось и до настоящего времени, хотя сфера применений метода не только расширилась и в физике, и в химии, но широко

распространилась на многочисленные области фундаментальных и прикладных исследований, результаты которых оказались особенно значительными в биологии, биохимии, медицине и охране окружающей среды. Что касается технологии и промышленности, то в настоящее время практически не существует области, где масс-спектрометрия не играла бы значительной роли, заняв в мировом аналитическом приборостроении второе место по объему продаж (после хроматографии) и продолжая наращивать свой относительный вклад.

Современный исследовательский масс-спектрометр претерпел со времени Астона существенное усложнение и теперь, в общих чертах, выглядит следующим образом (рис.1). Прибор включает в себя минимум семь элементов (часто больше), из которых подготовка пробы и интерфейс ввода функционируют при атмосферном давлении, как и система обработки данных, включающая компьютер и библиотеку масс-спектров. Все остальные события происходят в вакууме. Изучаемое вещество, подготовленное к анализу тем или иным способом, помещается в ионный источник, где молекулы, подлежащие исследованию, превращаются в ионы, которые затем фокусируются в пучок, пригодный для разделения по массам. Процесс разделения пучка ионов на компоненты с различными массами происходит в анализаторе масс, для которого изобретено и используется множество разнообразных конструкций. Разделенный по массам сигнал регистрируется, как правило, ионно-электронным умножителем с последующим накоплением сигнала. В качестве примера аналитических возможностей такого прибора на рис. 1 приведен масс-спектр бычьего сывороточного альбумина, включающий помимо молекулярного иона ($M \approx 67$ kDa) еще и следовые количества бимолекулярного иона-ассоциата с удвоенной молекулярной массой $2M$, а также двух- и трехзарядные ионы БСА с кажущимися массами $M/2$ и $M/3$.

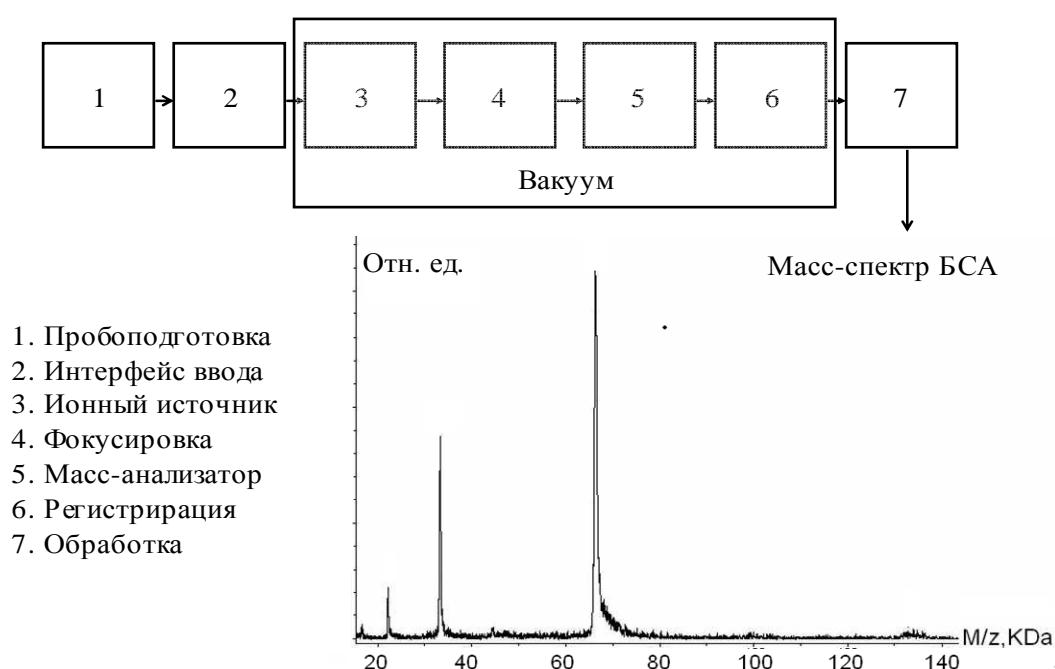


Рис. 1. Современный исследовательский масс-спектрометр. Справа внизу масс-спектр бычьего сывороточного альбумина (БСА).

Таким образом, современное исследовательское МС оборудование включает несколько составных частей, сопоставимых по стоимости, и оценивается дорого (от сотен тысяч до миллионов долларов). Регулярно делаются попытки его радикального удешевления. Но это возможно только за счет уменьшения числа элементов и, соответственно,

функций прибора, т. е. его узкой специализации, что целесообразно лишь при включении в технологические линии и промышленные установки.

Для исследовательских целей такая специализация совершенно неприемлема, так что в аналитическом приборостроении следует ожидать дальнейшего усложнения и удорожания МС установок – тенденция, установившаяся со времен Астона. А для того, чтобы применение столь дорогостоящего оборудования было оправданным, решаемые с его помощью задачи должны носить фундаментальный и общезначимый характер либо occupаться коммерческой выгодой.

Для примера на рис. 2 схематически показано, как с помощью МС техники производится секвенирование пептидов и других биологически важных соединений.

Тандемная масс-спектрометрия (МС/МС техника) в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) и матрично-активированной лазерно-десорбционной ионизацией (МАЛДИ)

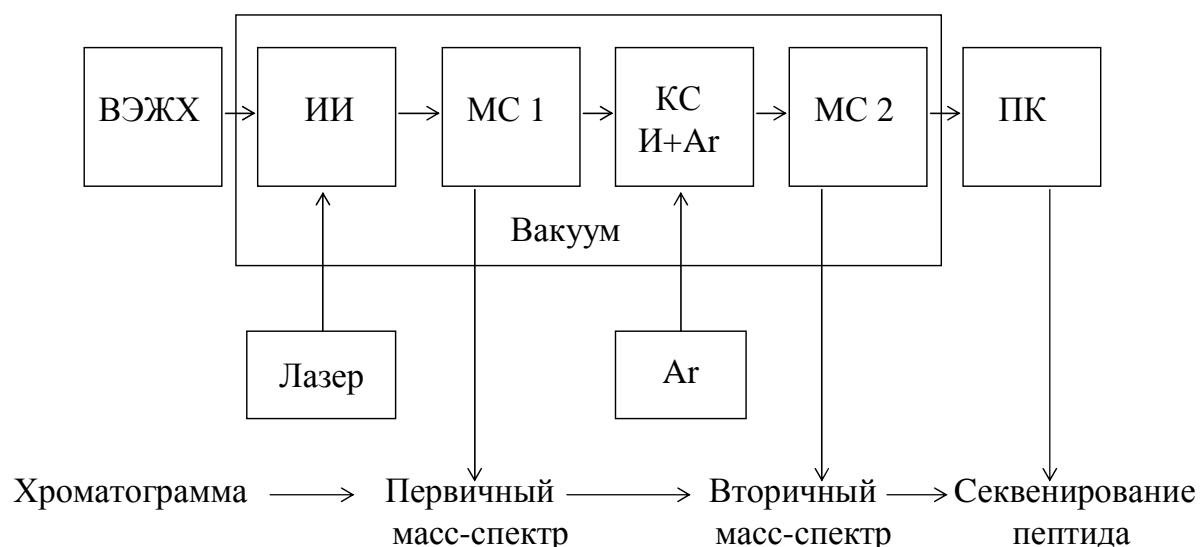


Рис. 2. Устройство прибора для секвенирования пептидов (слева направо): 1- высокоэффективный жидкостный хроматограф, 2-ионный источник, 3-первый масс-спектрометр, 4-камера соударения, 5-второй масс-спектрометр, 6-персональный компьютер и библиотека масс-спектров, 7-напуск аргона.

Смесь биологически активных молекул, например пептидов, предварительно разделяется на компоненты высокоэффективным жидкостным хроматографом. Отдельная фракция смеси, соответствующая индивидуальному пептиду, идентифицируется по пику хроматограммы, и затем через систему ввода пробы поступает в ионный источник вакуумной камеры МС установки на анализ. Под воздействием импульсного лазерного излучения происходит ионизация индивидуального пептида, сопровождаемая его фрагментацией. Первый масс-анализатор позволяет выделить, зарегистрировать и идентифицировать молекулярный ион отобранного для исследования пептида и его стабильные фрагменты. Отобранный для секвенирования компонент масс-спектра, первичный ион-фрагмент, поступает в камеру соударений, где испытывает столкновения с атомами аргона, предварительно введенными в камеру в регулируемом количестве. Проходя через камеру соударений, первичный ион-фрагмент колебательно возбуждается за счет соударений с атомами аргона, причем степень этого возбуждения может регулироваться давлением аргона в камере. В результате колебательных возбуждений первичный ион-фрагмент распадается в свою очередь, а результаты его распада фиксируются вторым масс-анализатором. Во вторичном масс-спектре отсутствуют все линии, не относящиеся

к первичному иону-фрагменту, а содержатся только ионы, соответствующие последовательному отщеплению от него аминокислот. Закономерности фрагментации пептидов в вакуумной камере масс-спектрометра давно и хорошо изучены (см., напр., [1]), что позволяет установить по спектру фрагментов аминокислотную последовательность пептидов значительной длины непосредственно из масс-спектра, без их предварительного модифицирования. Массовое применение этого и подобных ему МС методов позволило провести расшифровку генома человека, что явилось выдающимся достижением масс-спектрометрии и послужило основой многих направлений фундаментальных исследований в таких областях биологии и биохимии, как протеомика, гликомика, метаболомика и многих других.

Одним из наиболее значительных достижений последних лет в развитии техники МС эксперимента явилась разработка принципиально нового вида масс-анализатора – орбитальной ионной ловушки, получившей название «Orbitrap» [2]. Автором этой разработки является наш бывший соотечественник, выпускник МИФИ А.А. Макаров. История создания этого анализатора является классическим примером научно-коммерческого успеха: начав с фундаментальных академических разработок и опытных образцов, Макаров смог добиться внедрения соответствующих приборов в производство на одной из ведущих зарубежных фирм-производителей МС оборудования – «Thermo Fisher Scientific» в 2005 г. В настоящее время он является руководителем научно-исследовательского подразделения этой фирмы, а количество выпускаемых приборов с новым масс-анализатором по состоянию на 2009 г приближается к тысяче.

За свою разработку А.А. Макаров удостоен ряда почетных наград, среди которых медаль К. Бимана Американского МС общества и медаль Всероссийского МС общества «За заслуги в развитии российской масс-спектрометрии». На 18-й Международной МС конференции 2009 г. в Бремене медаль имени К. Брюнне (выдающегося разработчика МС техники фирмы Finnigan) была вручена Макарову самим К. Брюнне. Специальный выпуск журнала Американского МС общества «Journal of the American Society for Mass Spectrometry» посвящен современным исследованиям, в которых используется масс-анализатор, предложенный Макаровым.

В основе действия орбитальной ионной ловушки лежит захват и удержание заряженных частиц электростатическим полем. В масс-анализаторе «Orbitrap» ионы вращаются вокруг электрода специальной сферической формы, осциллируя вдоль оси вращения с частотами, соответствующими отношению их массы к заряду m/z . Масс-спектр получают путем Фурье-преобразования сигналов, поступающих на детектор. Коммерческий успех приборов, сконструированных на этой основе, в молекулярно-биологических исследованиях обусловлен сравнительной простотой, надежностью и высокой производительностью такого анализатора в сочетании с высокой разрешающей способностью, а также возможностью его сопряжения с современными источниками ионов, использующими явление распыления растворов в вакуум (Electrospray ionization, ESI). С этим способом разделения ионов по массам связаны надежды на создание, в конечном итоге, прибора, который совмещал бы возможности, предоставляемые современными высококлассными масс-спектрометрическими установками для биохимических и биомедицинских применений метода, с высокой производительностью и относительной дешевизной получаемых результатов. Это позволило бы вывести масс-спектрометрию биомолекул на качественно новый уровень, облегчить доступ к современным методам исследования и существенно расширить сферу ее применений. Время покажет, оправданы ли эти надежды.

Возвращаясь к первым десятилетиям существования масс-спектрометрии, следует обратить внимание на то, что первоначально именно исследование изотопов в течение длительного времени составляло основной интерес и предмет МС исследований. Этот начальный период завершился в середине прошлого века созданием и применением

ядерного оружия. Когда метод вошел составной частью в технологию промышленной добычи и очистки урана и других радиоактивных элементов, изотопная масс-спектрометрия перестала представлять значительный собственно научный интерес. И хотя в последние десятилетия периодически публикуются работы, призванные реанимировать изотопный анализ в качестве современного эффективного инструмента научных исследований, все же вплоть до настоящего времени эти попытки не принесли заметных результатов.

Таким образом, в конце 50-х годов прошлого века масс-спектрометрия, выполнив свою функцию основного метода для изотопного анализа, оказалась на распутье, и наиболее проницательные исследователи начали размышлять об альтернативных путях ее дальнейшего развития. В Украине решение этой проблемы неразрывно связано с именем А. И. Бродского, директора Института физической химии имени Л.В. Писаржевского НАН Украины. Александр Ильич с довоенных времен был крупнейшим специалистом по тяжелой воде на территории бывшего Советского Союза и в этом качестве участвовал в урановом проекте. Возглавив Институт, он начал активно развивать МС методики для нужд физической химии. В частности, по его инициативе и под его руководством была выполнена серия работ по применению изотопной масс-спектрометрии в органической химии [3] для изучения механизма химических реакций.

Здесь перед ним, как и перед всеми химиками, встала фундаментальная трудность применения метода масс-спектрометрии к органическим, в том числе биологически активным молекулам. Проблема состоит в том, что нейтральная молекула сама по себе не поддается МС анализу, который возможно реализовать только для заряженных частиц, поскольку в эксперименте регистрируется не собственно масса, а ее отношение к заряду. Следовательно, молекулу необходимо предварительно ионизировать, причем таким образом, чтобы минимизировать фрагментацию и получить в масс-спектре мономолекулярный или протонированный ион в количествах, достаточных для последующих исследований. Традиционные «ударные» методы ионизации требуют предварительного перехода молекул в газовую фазу без разложения. Это далеко не всегда возможно для органических молекул, а для биологически активных молекул возможно лишь в редчайших случаях. Но даже и тогда, когда переход в газовую фазу без разложения возможен, находящаяся в газовой фазе молекула в процессе ионизации испытывает электронные и колебательные возбуждения под воздействием ионизирующего агента, например, бомбардирующего электрона. Последствия такого удара приводят к глубокой фрагментации образовавшегося иона и к необратимой потере сведений об его первоначальной структуре.

Эта проблема была решена в дальнейшем применением «мягких» способов десорбции/ионизации. Наиболее эффективными методами такого рода оказались методы полевой ионизации и полевой десорбции (ПИ/ПД), вторично-ионной масс-спектрометрии (ВИМС), бомбардировки быстрыми атомами (ББА) и др. В этом ряду исключительное место заняли ионизация распылением в вакуум (ESI, electrospray ionization) и матрично-активированная лазерная десорбционно-ионизационная масс-спектрометрия (МАЛДИ МС, matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI). За создание этих методов Дж. Фенн и К. Танака были удостоены Нобелевской премии 2002 г по химии с формулировкой «за создание мягких методов десорбционной ионизации для МС анализа биологических макромолекул». Именно с помощью метода МАЛДИ нами был получен масс-спектр БСА, приведенный на рис. 1.

Но 50 лет назад предвидеть подобное развитие событий было невозможно, и следует отдать должное эрудиции и проницательности А. И. Бродского за выбор именно такого пути развития масс-спектрометрии, который впоследствии оказался наиболее продуктивным. Визит в Киев ведущего специалиста по полевой ионной микроскопии Э.Мюллера и основополагающая работа М.Г. Ингрэма и Р. Гомера [4] стимулировали интерес

А. Бродский к разработке и применению методов полевой ионизации и полевой десорбции для нужд физико-химических исследований. Эти работы были проведены в Институте под непосредственным руководством И.В. Гольденфельда [5–7]. Характерный штрих: несмотря на постоянный интерес к работе и участие в обсуждениях, Александр Ильич категорически отказался от соавторства в публикациях по полевой масс-спектрометрии, мотивируя это тем, что не принимал непосредственного участия в экспериментальной работе. Он высоко оценивал первые полученные результаты и настаивал на их опубликовании в ДАН СССР. Не будучи академиком АН СССР, он не мог представить первую статью по полевой масс-спектрометрии [5] в этот журнал и просил об этом академика В.Н. Кондратьева.

Успехи применения полевой ионизации и полевой десорбции в решении химических задач с помощью МС методик были к концу 70-х годов описаны в фундаментальной монографии Беки [8], а основные результаты работы, сделанной в Институте физической химии АН УССР, изложены в монографиях [9,10]. Обзор работ по полевой ионизации и полевой десорбции, выполненных в Институте физической химии им. Л.В. Писаржевского, можно найти также в обобщающей статье [11].

Наряду с работами, проводившимися в Киеве, МС исследования биологически активных молекул в области молекулярной биофизики были развернуты в Харькове по инициативе и под руководством основателя Физико-технического института низких температур НАН Украины академика Б.И. Веркина. В 70-е годы прошлого века Б.И. Веркин поставил задачу создания новых физических методов для молекулярно-биофизических исследований биомолекул, в первую очередь ДНК. По его инициативе академиком И.К. Янсоном и его учениками Л.Ф. Суходубом (чл.-корр. НАН Украины с 2008 г.) и А.Б. Теплицким был разработан метод температурно-зависимой полевой масс-спектрометрии, предназначенный для изучения термодинамических параметров межмолекулярных взаимодействий биомолекул [12]. С помощью этого метода впервые в мире в 1979 г были определены энтальпии взаимодействия азотистых оснований нуклеиновых кислот [13]. Эта работа широко цитируется до настоящего времени. Затем метод температурно-зависимой полевой масс-спектрометрии был успешно применен для решения ряда молекулярно-биофизических задач, таких как изучение образования кластеров воды [14], моделирование белково-нуклеинового узнавания [15] и т.д.

В настоящее время МС направление исследований во ФТИНТ продолжает развиваться под руководством М.В. Косевич. Основными достижениями этой группы является разработка метода низкотемпературной вторично-эмиссионной масс-спектрометрии для криобиофизических, криобиологических и экологических исследований [16, 17], создание графитовых эмиттеров для полевой десорбции [18], установление молекулярных механизмов действия ряда противоопухолевых, антимикробных и антималярийных препаратов, развитие фундаментальных основ десорбционной масс-спектрометрии [19, 20]. В последнее время заведующим отделом молекулярной биофизики ФТИНТ В.А. Карачевцевым инициировано приложение масс-спектрометрии к нанотехнологическим задачам, таким как разработка наноматериалов для использования в биосенсорах и других наноустройствах [21]. Часть этих исследований проводится в творческом содружестве ученых ФТИНТ и ИХП НАН Украины [22].

Температурно-программированная десорбционная масс-спектрометрия

По инициативе А. А. Чуйко, основателя Института химии поверхности НАН Украины, с момента создания Института были начаты работы по температурно-программированной десорбционной масс-спектрометрии (ТПД МС) как оптимального метода для исследования наноструктурированных систем и, в частности, для решения задач химии поверхности [23-25].

ТПД МС. Методика и оборудование

В качестве методики изучения элементарных процессов на поверхности твердых тел термодесорбционный эксперимент подразумевает определение количества десорбируемых продуктов как функции времени при заданном законе изменения температуры образца. Анализ литературы показывает, что наибольшие успехи, достигнутые к настоящему времени с помощью метода ТПД МС, связаны с исследованием взаимодействия поверхности монокристаллов, преимущественно металлов, с простыми молекулами, как правило двухатомными. Системы подобного рода удобны для изучения, но в большинстве случаев практически малоинтересны для задач, решаемых в химии поверхности. Ни монокристаллы, ни металлы вообще не являются технически важными адсорбентами и объектами химического модифицирования. Обычно применяемые в химии поверхности материалы представляют собой диэлектрики или полупроводники в поликристаллическом либо аморфном состоянии, обладающие к тому же наноструктурными особенностями.

Основная трудность, возникающая при интерпретации результатов ТПД эксперимента в отношении систем подобного рода, состоит в недостатке модельных представлений, адекватно отражающих детали десорбционных процессов на их поверхности. В ряде обзоров [26–30], которые посвящены реакциям, происходящим на однородных поверхностях, в частности на гранях монокристаллов, было показано, что даже в простейших случаях адекватное описание кинетики соответствующих процессов требует привлечения к рассмотрению, как минимум, латеральных взаимодействий и процессов переноса энергии в приповерхностном слое.

В еще большей степени ограничены возможности современных теоретических методов изучения явлений на поверхности твердых тел в случае наноструктурированных систем. Ограничения обусловлены сложностью структуры, высокой удельной поверхностью, разнообразием и вариабельностью активных центров и т. д., то есть именно теми свойствами, которые делают такие системы перспективными матрицами при синтезе разнообразных нанокомпозиций, в особенности получаемых путем взаимодействия наносистем с биологически активными молекулами.

И в экспериментальном плане последние десятилетия убедительно продемонстрировали высокую эффективность различных видов десорбционной масс-спектрометрии в изучении адсорбированных биологически активных молекул, но в основном при использовании просто и регулярно организованных подложек, таких как монокристаллы, поверхности жидкостей, пленки Ленгмюра–Блоджетт и т.д. В отношении же систем, составляющих главный интерес для химии поверхности, которая имеет дело в основном с активными центрами поверхности и привитыми группами, расположенными внутри твердых тел, в нанопорах, на границах раздела фаз, на поверхности наночастиц, нанокластеров, нанотрубок и т.д., достижения были гораздо более скромными. Развитие и адаптация методов десорбционной масс-спектрометрии к объектам подобного рода и возможные перспективы развития обсуждалась нами ранее [25]. Все же вплоть до настоящего времени известно крайне немного успешных МС исследований биологически активных молекул, размещенных на поверхности наноструктурированных матриц. Главная причина этого – труднодоступность объектов исследования, включенных в состав наноструктурированных объектов.

В этом аспекте ТПД МС является исключением в ряду других десорбционных МС методов. Стабильные летучие продукты термических превращений молекул адсорбата и привитых групп, раз образовавшись, далее самостоятельно находят путь вовне, и задача сводится к обычному МС анализу летучих продуктов. Возможные случаи реадсорбции и диффузионного торможения летучих продуктов в образце и напускной системе масс-

спектрометра представляют значительную проблему, однако могут быть обнаружены и учтены путем варьирования температурных параметров эксперимента.

Следует также особо отметить фундаментальную аналогию, существующую между методами ТПД МС и термического анализа. Характерной особенностью образцов, изучаемых обычно в химии поверхности, является большая удельная поверхность (сотни квадратных метров на грамм). Адсорбционная емкость образцов подобного рода обеспечивает десорбцию до 10^{-3} его массы. Это дает выигрыш в интенсивности около 10^5 по количеству адсорбата в сравнении с массивными образцами, и общая экспериментальная схема температурно-программированной десорбцией с образцов, обладающих столь высокой удельной поверхностью, становится сходной с термическим анализом, сопровождаемым МС регистрацией летучих компонент распада [31, 32]. Это сходство определяется тем, что в обоих случаях вещество находится в конденсированном состоянии. С одной стороны, процессы на поверхности раздела фаз, в частности термодесорбция, играют определяющую роль в большинстве топахимических моделей, которые используются для интерпретации результатов, получаемых с помощью термического анализа. С другой стороны, типичная картина термического разложения адсорбционного слоя, которое сопровождается многоканальными химическими реакциями, характерными для термического анализа, неоднократно наблюдалась в наших экспериментах по ТПД МС.

Таким образом, термический анализ и температурно-программированная десорбционная масс-спектрометрия в определенном смысле являются взаимно дополняющими методами и их комбинация позволяет сравнивать и перепроверять механизмы термического разложения молекул как внутри твердого тела, так и адсорбированных на поверхности высокодисперсных оксидов [31]. В нашей практике не было случая, чтобы такой сравнительный подход не принес информативных результатов.

Количественное описание термического анализа и ТПД следует основывать на теории переходного состояния. Нам удалось применить теорию переходного состояния к нескольким простым случаям химических реакций в адсорбционном слое, используя модели распада поверхностных комплексов [32, 33].

Подобно другим температурно-программированным методом исследования, в методе ТПД МС образец нагревается обычно по линейному закону. Рост температуры осуществляется достаточно медленно, чтобы избежать заметных температурных градиентов в образце. Обычно скорость нагрева составляет до $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, что обеспечивает надежную идентификацию летучих продуктов, выделяющихся из образца с ростом температуры, а также позволяет отслеживать механизм неизотермического разложения поверхностных комплексов адсорбированных молекул. Идентификация надежна, поскольку масс-спектр индивидуального соединения является его “отпечатком пальца”.

После того, как продукты распада идентифицированы, а неизотермическая кинетика поверхностных реакций измерена, можно строить правдоподобные предположения относительно исходной структуры поверхностных групп, о промежуточных стадиях термического разложения и о конечном результате нагрева образца. Таким образом, порядок реакции, предэкспоненциальный множитель и энергия активации процесса термической десорбции и/или термического разложения – основные параметры, вычисляемые из экспериментальных данных, а теория переходного состояния является основным средством интерпретации характерных особенностей неизотермической кинетики.

Как отмечалось, материалы с высокой удельной поверхностью наиболее удобны для исследований методом ТПД МС, поскольку в процессе эксперимента разлагается относительно большое количество исследуемого вещества. Реакционный объем, в котором происходит нагревание образца, должен быть открыт в направлении ионного источника масс-спектрометра, с тем чтобы диффузионными эффектами можно было пренебречь, а система напуска не должна содержать температурных градиентов, влияющих на кинети-

ку транспорта продуктов десорбции в ионный источник. В целом полагают, что необходимые для правильной интерпретации условия квазистационарности выполнены, если форма и положение десорбционного пика не зависят от температуры вакуумного интерфейса, дисперсности и размера образца.

Прибор для исследования методом ТПД МС включает вакуумную установку, устройство для подогрева образца и его газофазного модифицирования, усовершенствованный ионный источник для исследований методом ТПД МС, напускную систему, вакуумное обеспечение и регистрационную систему, интерфейс ТПД МС/компьютер. Схема ТПД масс-спектрометра на основе монополюсного масс-анализатора 7304А приведена на рис. 3.

В ТПД МС эксплуатация оборудования, регистрация масс-спектров и обработка результатов измерений являются простыми, удобными и эффективными, что составляет его наибольшее преимущество. В результате одного эксперимента могут быть получены около сотни термограмм и пятидесяти масс-спектров. Такое большое количество экспериментального материала является следствием высокой чувствительности МС метода. В совокупности оказывается возможным обеспечить однозначную идентификацию летучих продуктов термического разложения, предложить надежную интерпретацию кинетики разложения и десорбции и сделать обоснованные предположения о структуре поверхностных комплексов.



Рис. 3. Прибор для исследований методом ТПД МС [25]. Диапазон масс: 1–400 Da. Разрешающая способность 1 M на 10 % высоте, обеспечиваемая прибором МХ 7304А (ПО «Селми», Украина). Скорость развертки по температуре: (0.05 - 30) °C/мин. Верхняя граница по температуре 800 °C. Средняя продолжительность эксперимента 1–2 ч.

При всех достоинствах метод ТПД МС имеет также три существенных недостатка.

1. Метод является относительным, что существенно ограничивает его практические аналитические применения. В разное время были предприняты многочисленные попытки сочетания ТПД МС с количественными измерениями или же введения внутреннего стандарта для калибровки интенсивности. Однако все они до сих пор не увенчались успехом, так что количественная трактовка интенсивности МС линий в рамках ТПД эксперимента может привести (и часто приводит) к серьезным ошибкам.

2. Ключевой стадией ТПД МС эксперимента является интерпретация термограмм. Практически важные химически модифицированные наноструктурированные системы обладают интересными и неожиданными свойствами как в термической десорбции, так и в термическом разложении комплексов на поверхности, включая латеральные взаимодействия и даже фазовые переходы в адсорбционном слое. Применение разнообразных известных многопараметрических моделей к сложным системам подобного рода связано с опасностью получения согласия с экспериментальными данными только за счет варьирования параметров и созданием иллюзии понимания процессов независимо от адекватности модели. Так что возможности математических моделей, в том числе и той, которая представлена в работе [24], не следует переоценивать. Как справедливо указал Мензел в основополагающей работе [27], всегда необходима независимая проверка полученных параметров, что является сложной задачей для химически модифицированных наноструктурированных систем. Преимущество предложенного в работах [23–25] простого подхода состоит в том, что результаты получены в аналитической форме. Это облегчает всестороннее выяснение зависимости результатов от параметров модели и компьютерную обработку экспериментальных термограмм, обеспечивая надежность интерпретации.

3. Особое внимание при работе с термограммами следует обращать на поведение летучих продуктов распада. На пути от образца до ионного источника масс-спектрометра молекулы проходят зоны с различной температурой, и если летучесть их недостаточна, происходит неконтролируемая реадсорбция в системе напуска. В результате, исследуется не кинетика термических превращений в образце, а кинетика диффузии и реадсорбции продуктов термолитиза в приборе, т. е. чисто аппаратурный эффект. К сожалению, подобные ситуации имеют место довольно часто, в особенности при работе с биологически активными молекулами.

Применение метода ТПД МС к решению конкретных задач химии поверхности ниже кратко иллюстрируется рядом характерных примеров.

Термолитиз бутоксисилильных групп

Были изучены образцы дисперсного кремнезема (Аэросил А-300 с удельной поверхностью около $300 \text{ м}^2/\text{г}$) с привитыми группами $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, полученными с помощью реакции $\equiv\text{SiOH} + \text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH} \rightarrow \equiv\text{Si-O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$, и с поверхностной концентрацией $0,5 \text{ ммоль/г}$ (бутосил). Изучение разложения таких групп, связанных с поверхностью кремнезема, вследствие нагрева образца или вследствие их взаимодействия с окружением представляет интерес, поскольку подобные материалы широко используются в химической промышленности и их стабильность весьма существенна для многих практических применений.

Исследование газообразных продуктов, выделяющихся при нагревании бутосила, производилось методом ТПД МС на установке, описанной выше (рис. 3). Образцы ($0,5 - 20 \text{ мг}$) помещались в кварц-молибденовую кювету и откачивались до давления 10^{-1} Па . Затем кювета присоединялась к напускной системе масс-спектрометра МХ-7304А. Интерфейс «реактор/масс-спектрометр» включал высоковакуумный вентиль с отверстием диаметром 3 мм и длиной 25 см и трубку напуска пробы, которая поддерживалась при температуре $150 \text{ }^\circ\text{C}$. Реакционное пространство было открыто в направлении источника ионов, так что при использовании скорости температурной развертки $0,1 \text{ }^\circ\text{C/с}$ и менее,

наблюдающуюся интенсивность ионного тока можно было считать пропорциональной скорости десорбции во всем использованном температурном диапазоне [33].

Экспериментальное исследование разложения бутоксисилильных групп показало, что общая картина термической десорбции летучих продуктов с поверхности изученных образцов включала два максимума термической десорбции, как это показано на рис.4. Анализ масс-спектров, полученных при температуре около 70°C, в области первого максимума дает соотношение компонент, характерное для бутанола. Можно предположить, что наличие бутанола на поверхности объясняется остатком модификатора в процессе получения бутосила либо физической адсорбцией молекул бутанола, образовавшихся при гидролизе бутоксигрупп на поверхности. Как бы то ни было, присутствие линии при M/z 31 Da указывает на наличие именно бутанола в качестве основного продукта термической десорбции при этой температуре.

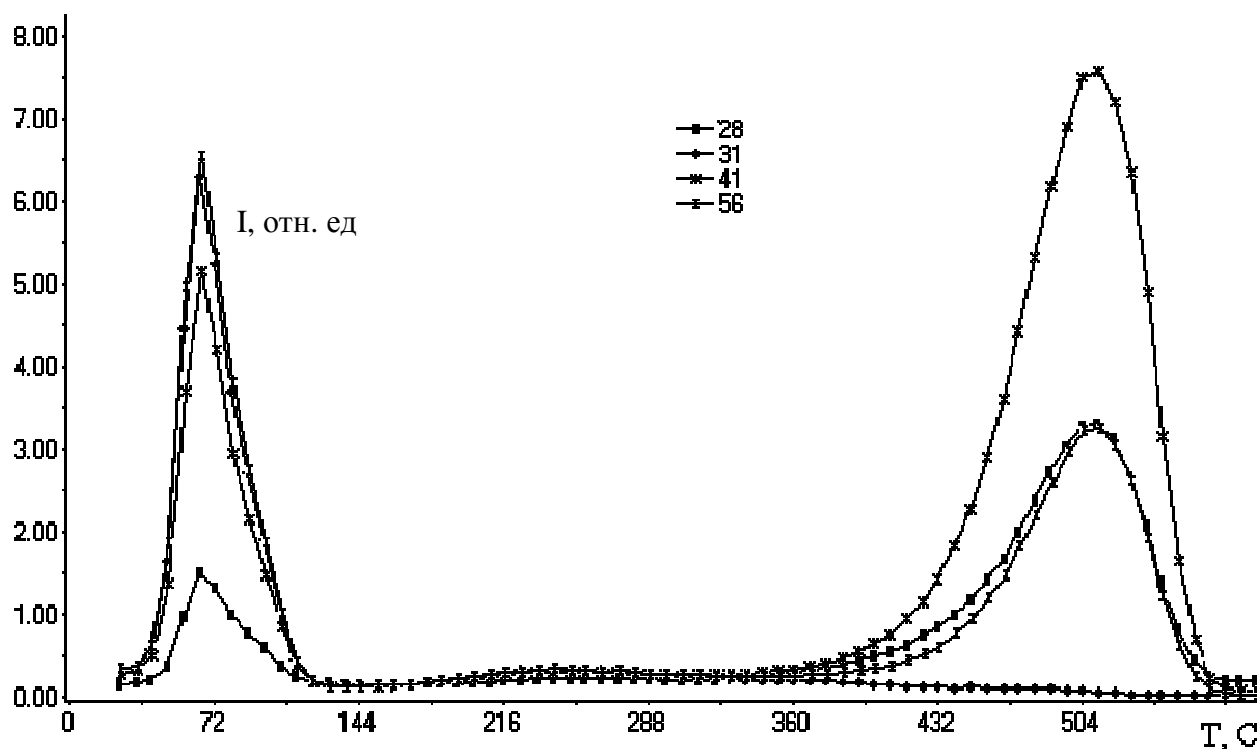


Рис. 4. Термограммы компонент масс-спектра бутосила для M/z 28, 31, 41, 56 в интервале температур от комнатной до 600 °С.

В области около 500 °С характерная линия при M/z 31 Da отсутствует, а оставшийся набор компонент масс-спектра однозначно подтверждает выделение 1-бутена [34]. Поскольку бутен наблюдается в высокотемпературной области в качестве основного продукта, можно уверенно заключить, что он образуется при термической деструкции бутоксигрупп по реакции $\equiv\text{Si-O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 \rightarrow \equiv\text{SiOH} + \text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_3$. Наиболее интенсивным в масс-спектре 1-бутена является пик иона-осколка при M/z = 41, который и был использован для определения кинетических параметров десорбции бутена с по формулам работы [24].

Результаты квантовохимических расчетов на основе теории переходного состояния хорошо согласуются с полученными экспериментальными результатами, как это было показано в работе [35], что подтверждает действенность предложенных моделей, а также иллюстрирует возможности, предоставляемые методом ТПД МС для определения механизмов реакций на поверхности наноструктурированных твердых тел.

На рис. 5 приведены результаты расчетов в сравнении с экспериментальными данными по разложению бутокси групп.

Таким образом, экспериментальное исследование разложения бутокси групп показало, что основным каналом этого процесса является выделение бутена с максимумом скорости этого процесса около 500 °С, что позволяет надежно определить порядок реакции, энергию активации и предэкспоненциальный множитель.

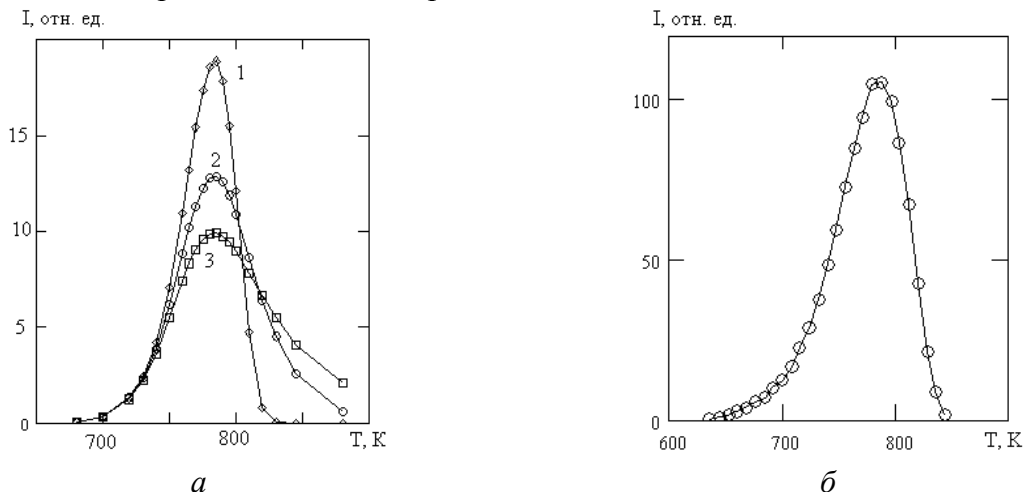


Рис. 5. *а* – скорости десорбции и, соответственно, значения интенсивности ионного тока бутена, рассчитанные по формулам (5) работы [24] для первого, второго и третьего порядков реакции; *б* – экспериментальная температурная зависимость интенсивности пика бутена, определенная по линии M/z 41 Da. Очевидно, что реакция образования бутена идет по первому порядку.

ТПД МС воды с поверхности высокодисперсных оксидов

Содержание различных форм воды, адсорбированной на поверхности нанооксидов и пористых оксидных адсорбентов (исходных и химически или адсорбционно модифицированных), активированных углей и пористых полимеров было изучено методом однопролетной ТПД МС (давление в камере $\sim 10^{-7}$ Па, навеска образца 5–7 мг, скорость нагрева 2 К/с, при расстоянии $\sim 0,5$ см между образцом и детектором) с помощью время-пролетного масс-спектрометра МС-3 (ПО «Сэлми» Сумы, Украина, чувствительность $1,65 \times 10^{-7}$ А/Па, напряжение ускорения 0,5 кВ, частота пульсации 3 кГц,) [36].

Содержание воды, молекулярно и диссоциативно адсорбированной на поверхности адсорбентов, зависит от природы поверхности и температуры подготовки и может изменяться в широких пределах: от нуля до десяти и более процентов. Распределение молекулярно адсорбированной воды по поверхности пористых или непористых частиц зависит как от природы этой поверхности, так и от текстурных характеристик материала.

На поверхности нанокремнезема молекулы воды образуют кластеры вблизи силанольных групп, не формируя сплошного покрытия даже при $C_{H_2O} \approx 20$ % мас., так как их взаимодействие с силоксановыми связями энергетически невыгодно, свидетельствует о гидрофобности мостиков $\equiv Si-O-Si \equiv$. Однако, например, на пирогенном TiO_2 образуется сплошной слой воды уже в обычных условиях, так как концентрация гидроксильных групп на нем значительно выше, чем на нанокремнеземе – на поверхности отсутствуют гидрофобные участки. В случае смешанных оксидов (TiO_2/SiO_2 , Al_2O_3/SiO_2 и особенно TiO_2 , нанесенного методом наслаивания (CVD) на пирогенный SiO_2), адсорбированная в молекулярной форме вода локализуется преимущественно на границах раздела оксидных фаз. Эти особенности распределения адсорбированной воды отражаются в десорбционных термограммах. Ассоциативная десорбция воды с поверхности диоксида титана и

смешанных оксидов происходит в основном при более низкой температуре и с меньшей энергией активации, чем в случае кремнезема. После получасовой регидратации тех же образцов десорбционные пики смещаются в область низких температур, что обусловлено меньшей энергией активации десорбции молекул из больших кластеров воды (молекулярная десорбция) или с участием близко расположенных групп $\equiv\text{MOH}$ и $\equiv\text{MO(H)M}\equiv$ (ассоциативная десорбция), так как на начальной стадии адсорбции образуются островковые структуры на поверхности и молекулы воды не успевают диффундировать в объем наночастиц. Вакуумирование при комнатной температуре приводит к удалению значительного количества адсорбированной воды: – более 60 % с кремнезема, более 80 % с диоксида титана и более 90 % с титанокремнезема [36]. Эти различия обусловлены величинами $S_{\text{H}_2\text{O}}$ и соотношениями молекулярно и диссоциативно адсорбированной воды на разных оксидах (природа поверхности которых и определяет указанные параметры), а также и тем обстоятельством, что при вакуумировании без нагревания удаляется в основном молекулярно адсорбированная вода.

Для анализа ТПД МС данных была разработана специальная компьютерная программа на основе методов регуляризации, сингулярного разложения функций и максимальной энтропии, позволяющая рассчитать функции распределения по энергии активации десорбции с поверхности твердых тел для различных соединений. Была также разработана программа расчета констант скоростей на основании теории РРКМ, исходя из теоретических данных квантовохимических расчетов сечений поверхности потенциальной энергии, статистических сумм в предреакционном и переходном состояниях. Данные, полученные с помощью разработанных программ, хорошо согласуются с константами скоростей, рассчитанными из экспериментальных данных [36]. Поведение различных форм воды на наноструктурированных поверхностях подробно описано в обзоре [37] и монографии [38].

ТПД МС нанокмполитов на основе БСА, глюкозы и фруктозы

Для иллюстрации применения ТПД МС к нанокмполитам на основе высокодисперсного кремнезема, модифицированного БСА, на рис. 6 приведен набор термограмм для термоллиза БСА в кристаллическом и адсорбированном на поверхности кремнезема состояниях [31].

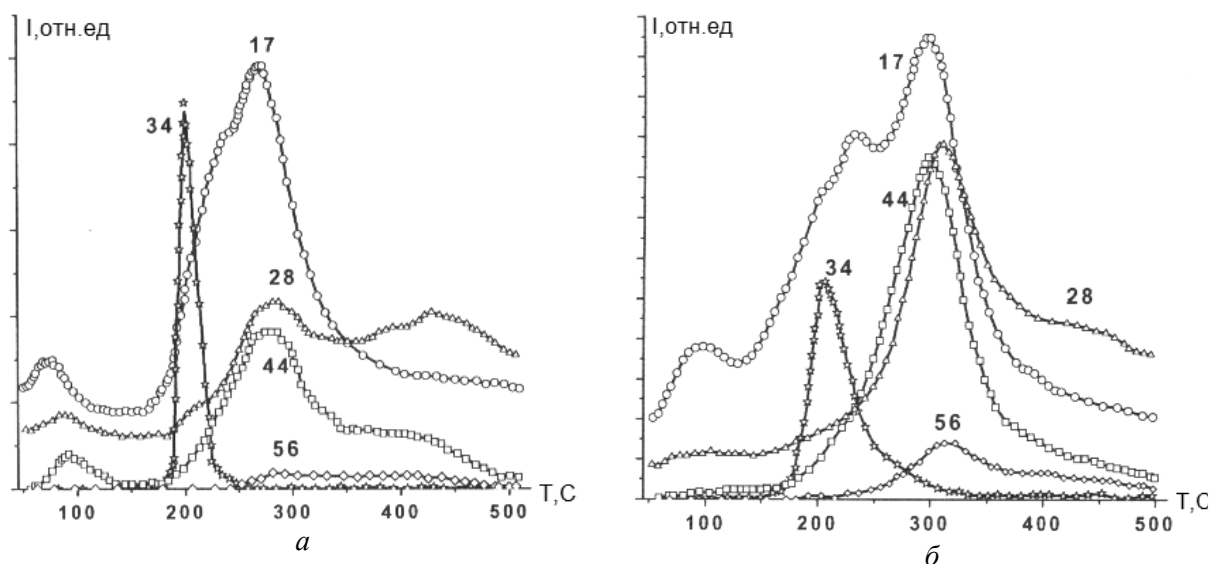


Рис. 6. Набор ТПД МС термограмм БСА в твердой фазе (а) и адсорбированного на поверхности высокодисперсного кремнезема (б) для компонент масс-спектра: M/z 17 (OH^+), 28 (CO^+), 34 (H_2S^+), 56 (C_4H_8^+).

Как можно видеть из сравнения термограмм, после адсорбции общая картина термического разложения адсорбированного на пирогенном кремнеземе БСА изменяется незначительно в сравнении с термолизом БСА в твердой фазе, сохраняя свои характерные особенности. Основные продукты и фазы разложения твердофазного БСА могут быть использованы для понимания и описания неизотермической кинетики превращений белка, входящего в состав нанокомпозитов. Наблюдается, однако, одно исключение – температурная зависимость компоненты M/z 34, соответствующей молекулярному иону сероводорода H_2S^+ , происхождение которого обусловлено термическим разложением входящих в состав белка серусодержащих аминокислот.

Разложение белка начинается в обоих случаях с выделения молекулы сероводорода в газовую фазу при температуре около $180\text{ }^\circ\text{C}$. Узкая форма термограммы для твердофазного состояния (по сравнению с адсорбированным состоянием БСА) указывает на важную роль и кооперативный характер процессов тиол-дисульфидного обмена в термолизе твердой фазы БСА. Эти вопросы обсуждались в работе [39], равно как и роль водородных связей и молекул воды в образовании белковых олигомеров.

Таким образом, на основании данных ТПД МС можно утверждать, что адсорбция на поверхности наноразмерного кремнезема изменяет неизотермическую кинетику образования и выделения H_2S , снижая кооперативные эффекты в межмолекулярных взаимодействиях адсорбированных молекул белка в сравнении с твердофазным образцом, а также позволяет оценить степень этого влияния по форме термограммы.

Методом ТПД МС были также исследованы нанокомпозиты на основе высокодисперсного кремнезема, глюкозы и фруктозы с целью определения и оптимизации их биологической активности, определяемой по воздействию на эритроциты. В состав олигосахаридных цепей поверхности эритроцитов входят глюкоза, галактоза, фукоза и ряд аминокислот, которые являются терминальными углеводами рецепторов клеточной поверхности высших животных и участвуют, таким образом, в процессах распознавания. Фруктоза, в отличие от глюкозы, в их число не входит. Оба исследованных сахара сходны по строению и не адсорбируются на ВДК. Для их закрепления на поверхности был в качестве модификатора использован БСА, предварительно адсорбированный на высокодисперсном кремнеземе. Это дало возможность синтезировать и исследовать композиты состава (ВДК+БСА+глюкоза) и (ВДК+БСА+сахароза). Спектрофотометрические измерения подтвердили присутствие каждого из сахаров в адсорбционном слое обоих синтезированных нанокомпозитов.

Как можно было ожидать, образец, содержащий глюкозу, проявил гораздо большую биологическую активность в сохранении эритроцитов по сравнению с композитом, содержащим фруктозу, а также в сравнении с контрольным образцом ВДК+БСА, вообще не содержащим сахара. При этом никаких следов термического разложения сахаров в масс-спектрах не обнаружилось. Это означает, что, хотя молекулы сахаров и присутствуют в адсорбционном слое, механизмы их термических превращений отличны от твердофазного термолиза, вследствие чего летучие продукты их термического разложения не образуются и не наблюдаются.

При этом картина разложения белка существенно различается для каждого из приведенных нанокомпозитов. В случае адсорбции фруктозы картина разложения БСА по форме и локализации максимумов десорбции совпадает с приведенной на рис. 6, б, т.е. фруктоза не влияет на механизм термического разложения белка. В случае же адсорбции глюкозы картина термодесорбции БСА изменяется радикальным образом. Максимумы искажаются и смещаются в сторону высоких температур. На термограммах наблюдаются лишь размытые пики, соответствующие выделению H_2S , а остальные максимумы, соответствующие термолизу белка, отсутствуют.

Таким образом, установлено, что образование адсорбционных комплексов с БСА изменяет механизм термического разложения сахаров в сравнении с их твердофазным

термолизом. Показано также, что механизмы термолиза адсорбционных комплексов сахар+БСА на поверхности наноразмерного кремнезема различны для биологически активных (содержащих глюкозу) и менее биологически активных (содержащих фруктозу) наноконкомпозитов.

Отсутствие летучих продуктов разложения сахаров в синтезированных образцах не позволяет выяснить в деталях причины наблюдаемых различий, коорелирующих с биологической активностью синтезированных наноконкомпозитов. Здесь сказывается принципиальная ограниченность метода ТПД МС, оперирующего лишь с летучими продуктами разложения, и следует привлекать дополнительные методические возможности, в частности, предоставляемые методами МАЛДИ МС, примеры использования которых приведены в следующем разделе.

Подводя промежуточный итог, можно констатировать, что данные, полученные с помощью ТПД МС, полезны в установлении корреляций между особенностями адсорбции биомолекул на поверхности носителя и биологической активностью синтезированных наноконкомпозитов. Возможности метода не всегда позволяют определить детали структуры адсорбционных комплексов и природу обнаруженных корреляций, но указывают пути их дальнейшего исследования.

Масс-спектрометрия с использованием лазерной десорбции/ионизации

По инициативе и при активной поддержке А.А. Чуйко в Институте химии поверхности НАН Украины, было приобретено необходимое оборудование и начаты работы по решению проблем химии поверхности наноразмерных систем МС методами, использующими матрично-активированную и безматричную лазерно-десорбционную ионизацию (МАЛДИ и ЛДИ). Ниже приведен ряд результатов, полученных этими методами при исследовании наноструктурированных систем различной природы и строения.

Использование монокристаллического, пористого и модифицированного пористого кремния для лазерной десорбции/ионизации

Развитие упоминавшегося выше метода МАЛДИ неожиданно возродило интерес к безматричным подходам в десорбционной масс-спектрометрии, в основе которых лежат методы полевой ионизации и полевой десорбции (ПИ/ПД) [8]. Обращаясь к истории развития МАЛДИ, следует отметить, что первые эксперименты по применению этого метода использовали в качестве матрицы высокодисперсный металлический порошок с размером частиц в несколько десятков нанометров и, следовательно, эффекты полевой ионизации и локальный разогрев подложки безусловно играли большую роль в десорбции/ионизации молекул образца. Затем применение твердотельных органических матриц вытеснило первоначально применявшиеся металлические наноструктурированные подложки, и только через двадцать лет после первых экспериментов Танаки, когда метод МАЛДИ уже получил широкое распространение, использование пористого кремния в качестве поверхности, способствующей ионизации адсорбированных молекул, придало новый импульс методам безматричной десорбционной масс-спектрометрии [40].

С конца 90-х годов безматричные подходы в лазерно-десорбционной масс-спектрометрии претерпели ряд кардинальных изменений. Во-первых, успешное использование наноструктурированных материалов, таких как графит и пористый кремний, определили особенности, которыми должны обладать поверхности подложек, – наличие большого числа поверхностных дефектов, низкая теплопроводность и интенсивное поглощение в УФ-диапазоне. Во-вторых, направленное гидроксидирование поверхности пористого кремния открыло возможность функционализировать его поверхность разнообразными химическими соединениями и получать образцы с заданными свойствами поверхности, способствующими анализу выбранных для анализа веществ.

В частности, использование пористого кремния, модифицированного ионообменными группами, в качестве ионизационной подложки для анализа ионогенных низкомо-

лекулярных веществ показало, что адсорбция соответствующих молекул на модифицированной поверхности пористого кремния значительно уменьшает степень фрагментации ионов исследуемого образца в сравнении со случаем, когда исследуемые молекулы нанесены непосредственно на поверхность немодифицированной подложки. Таким образом, наличие противоиона в адсорбционном состоянии открывает возможность прямой диссоциативной ионизации.

Прежде всего усилия исследователей были сосредоточены на создании унифицированной методики получения пористого кремния, который бы проявлял активность в десорбции/ионизации на своей поверхности (Desorption Ionization On Silicon, DIOS) [41]. В дальнейшем было предложено проводить целенаправленное модифицирование поверхности пористого кремния для получения гидрофобных или гидрофильных поверхностей, что позволило усовершенствовать процесс подготовки пробы, проводя его непосредственно на поверхности ионизирующей подложки [42]. В литературе также широко обсуждались механизмы влияния наноструктурированной поверхности пористого кремния на процессы десорбции/ионизации исследуемых молекул [43, 44]. Безматричные методы десорбционной масс-спектрометрии за последние десять лет многократно расширили и диапазон применения, и спектр наноструктурированных поверхностей, используемых в качестве подложек [45], объединившись теперь под обобщенным названием «поверхностно-активированная лазерная десорбция/ионизация» (Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization, SALDI).

Усилия масс-спектрометрической группы Института химии поверхности НАН Украины им. А.А. Чуйко были направлены на анализ результатов, достигнутых в области применений безматричной масс-спектрометрии с использованием пористого кремния в качестве ионизационной подложки и на решение двух задач: создание наноструктурированной поверхности, которая обладала бы селективностью в отношении определенных классов соединений для качественного извлечения их из смесей, и оптимизацию процессов десорбции/ионизации на такой специфической поверхности под действием лазерного излучения при условии, что исследуемые молекулы не поглощают на частоте используемого лазера (337 нм).

Работы по селективному извлечению исследуемых веществ из растворов поверхностью пористого кремния были начаты нами с создания пористых подложек, модифицированных анион- и катионообменными функциональными группами. Это позволило путем ионнообменной адсорбции закреплять на поверхности ионизационной подложки исследуемые молекулы, которые могут быть переведены в ионную форму в растворе. Как было показано на примере красителя метиленового голубого (МГ), в результате ионнообменного закрепления образца на поверхности пористого кремния (ПК), модифицированного сульфогруппами (ПК-SO₃МВ), полученные масс-спектры почти полностью свободны от осколочных ионов исследуемых молекул, в отличие от непосредственного нанесения красителя на исходную ПК-Н и окисленную ПК-ОХ поверхность пористого кремния (рис. 7).

При использовании функционализованного ПК было также установлено, что модификаторы позволяют создавать ионизирующие подложки, с помощью которых в ходе масс-спектрометрического эксперимента можно контролировать доступность протоно- и электронодонорных центров поверхности. То есть, возможно исследовать процессы переноса заряда (протон, электрон) при анализе исследуемых веществ, которые проявляют окислительно-восстановительные свойства. [46]. Мы полагаем, что в дальнейшем использование ПК для десорбционной масс-спектрометрии позволит расширить количество изучаемых методом DIOS низкомолекулярных веществ, которые могут быть закреплены на поверхности не только методом ионнообменной адсорбции, но и за счет более широкого круга селективных взаимодействий «модификатор–исследуемое вещество».

Изучение природы влияния наноструктурированной поверхности на процессы десорбции/ионизации основывается на том, что во-первых, не все пористые материалы проявляют SALDI-активность, а лишь графит, пористые германий и кремний (среди металлов были исследованы только наночастички золота), а во-вторых, как было установлено в наших экспериментах, обязательным требованием к ПК является не только существование наноразмерных образований на поверхности, но и резкое снижение теплоотвода в подложку при ее лазерном облучении. Кроме того, эффективные подложки должны обладать высокой поглощающей способностью в ультрафиолетовом диапазоне. На примере DIOS пиридоксина на поверхности квантовых точек Si/Ge, ПК и полированного кремния было показано, что элементарные стадии процессов десорбции и ионизации зависят от количества энергии, переданной материалу подложки [47]. Принимая во внимание, что основным фактором, приводящим к ионизации адсорбированной молекулы, является наличие локальных электрических и электромагнитных полей вблизи наноструктурных особенностей поверхности, можно сделать вывод, что именно процесс десорбции зависит от эффективности передачи энергии материалу подложки. Таким образом, процессы десорбции/ионизации исследуемого вещества на наноструктурированной поверхности разделять нецелесообразно, а следует влияние локальных полей и температуры подложки рассматривать как результат совокупного воздействия на десорбируемую молекулу.

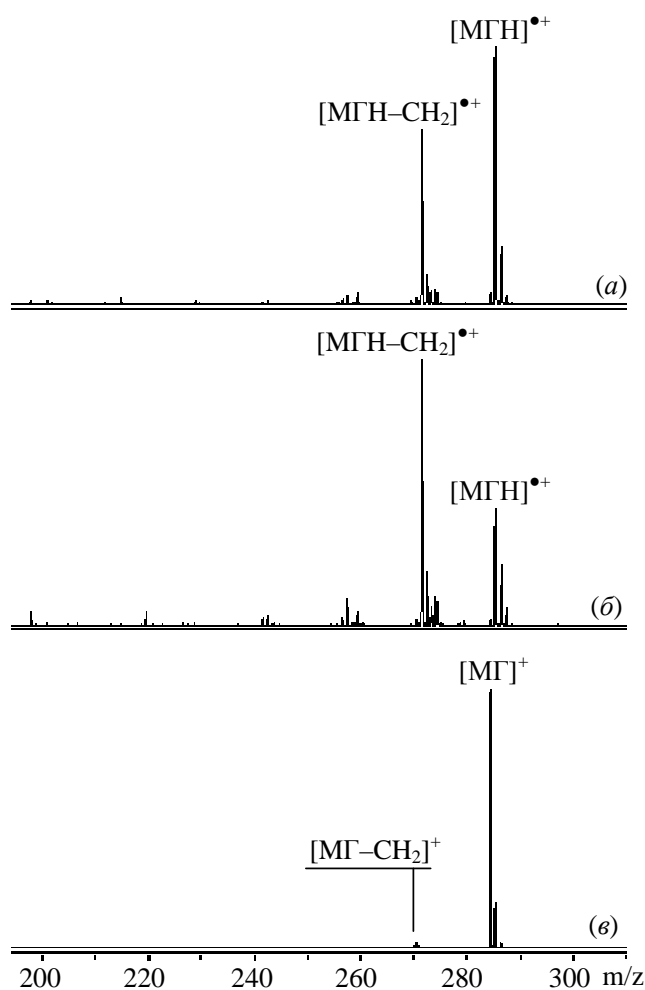


Рис. 7. DIOS масс-спектры красителя МГ на исходном пористом кремнии ПК-Н (а), окисленном пористом кремнии ПК-ОХ (б), модифицированном пористом кремнии ПК-SO₃МГ (в).

В дальнейших экспериментах нами были сделаны попытки соединить ПК с наночастицами золота (ПК-Au) для получения эффективной десорбции/ионизации образца при более низких значениях мощности облучения за счет возникновения поверхностных плазмонов в частицах металла. Было обнаружено снижение порогового значения энергии лазерного облучения, необходимого для получения масс-спектров исследуемых молекул. Было также установлено, что частички золота могут конкурировать за электроны с молекулами образца, подавляя тем самым процесс восстановления редокс-активных веществ, как это было показано на примере МГ (рис. 8).

На основании экспериментальных данных по методам SALDI можно сделать вывод о том, что безматричная лазерно-десорбционная масс-спектрометрия за последние десять лет пополнила свой арсенал по крайней мере двумя перспективными материалами – пористым кремнием и графитом и продолжает развиваться в направлении создания новых наноструктурированных материалов для решения задач химии поверхности.

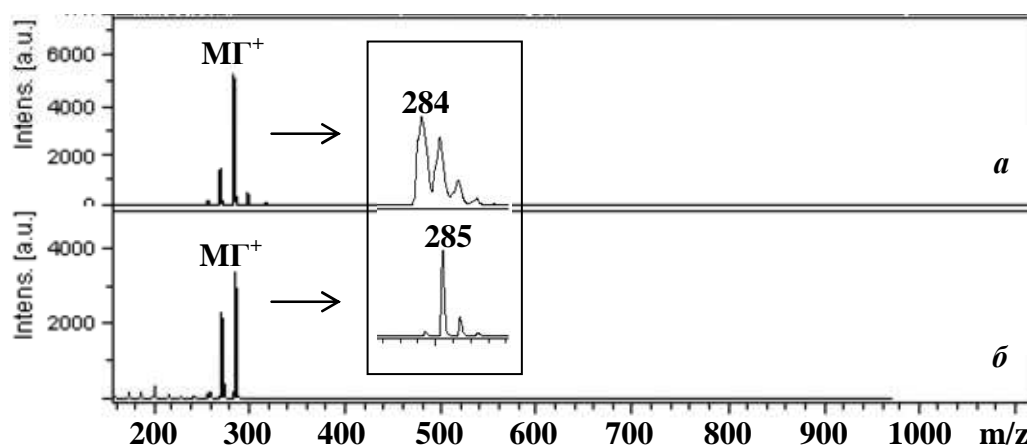


Рис. 8. Масс-спектры метиленового голубого на поверхности ПК-Au (а) и на окисленном пористом кремнии (б).

Изучение адсорбции компонентов желчи методом DIOS

В качестве иллюстрации применения метода DIOS к изучению биологически активных молекул ниже приведены результаты исследования компонент желчи, качественное и количественное определение которых в составе биологических жидкостей может служить показателем для диагностики патологических состояний организма. Это натриевая соль таурохолевой кислоты (ТСNa), которая является поверхностно-активным веществом и отвечает за солюбилизацию в организме нерастворимых соединений, и билирубин, в избыточных количествах проявляющий нейро- и гепатотоксическое действие. Формулы таурохолата натрия и билирубина и структура поверхности ионизационной площадки приведены на рис. 9.

Адсорбцию таурохолевой кислоты и билирубина проводили при комнатной температуре путем помещения модифицированных образцов ПК в раствор исследуемого вещества (аналита). Через 30 мин образцы извлекали, промывали этиловым спиртом и высушивали на воздухе. В качестве ионизационных подложек для измерения методом DIOS были использованы «свободные слои» ПК с различной природой поверхностного слоя, полученные методом анодного травления полированных с обеих сторон пластин кремния. Поверхность свежеполученного ПК (PS-H) покрыта силановыми группами SiH_x (x=1...3). Для получения образцов ПК с гидроксильной поверхностью их окисляли путем обработки смесью H₂O₂ и H₂SO₄ в соотношении 3:7 по объему в течение 15 мин при 90 °С, а затем тщательно промывали водой. Поверхность полученных образцов (PS-OX) не содержит силановых групп, а толщина оксидного слоя, определенная методами

гравиметрии и ИК-интерферометрии, составляет примерно 0,7 нм при удельной поверхности 200 м²/г.

Адсорбцию на поверхности ПК проводили с учетом химических свойств исследуемых веществ. МС анализ образцов ПК показывает, что в случае билирубина в спектре наблюдается интенсивный пик с $m/z = 607,7$, который отвечает однозамещенной натриевой соли $[M+Na]^-$ и малоинтенсивный фрагментный пик с $m/z = 580,5$, отвечающий фрагменту $[M+Na - C_2H_3]^-$. Полученные масс-спектры свидетельствуют о том, что на поверхности модифицированного ПК происходит хемосорбция билирубина и мономера таурохолатата натрия, а десорбция/ионизация проходит по месту химической связи.

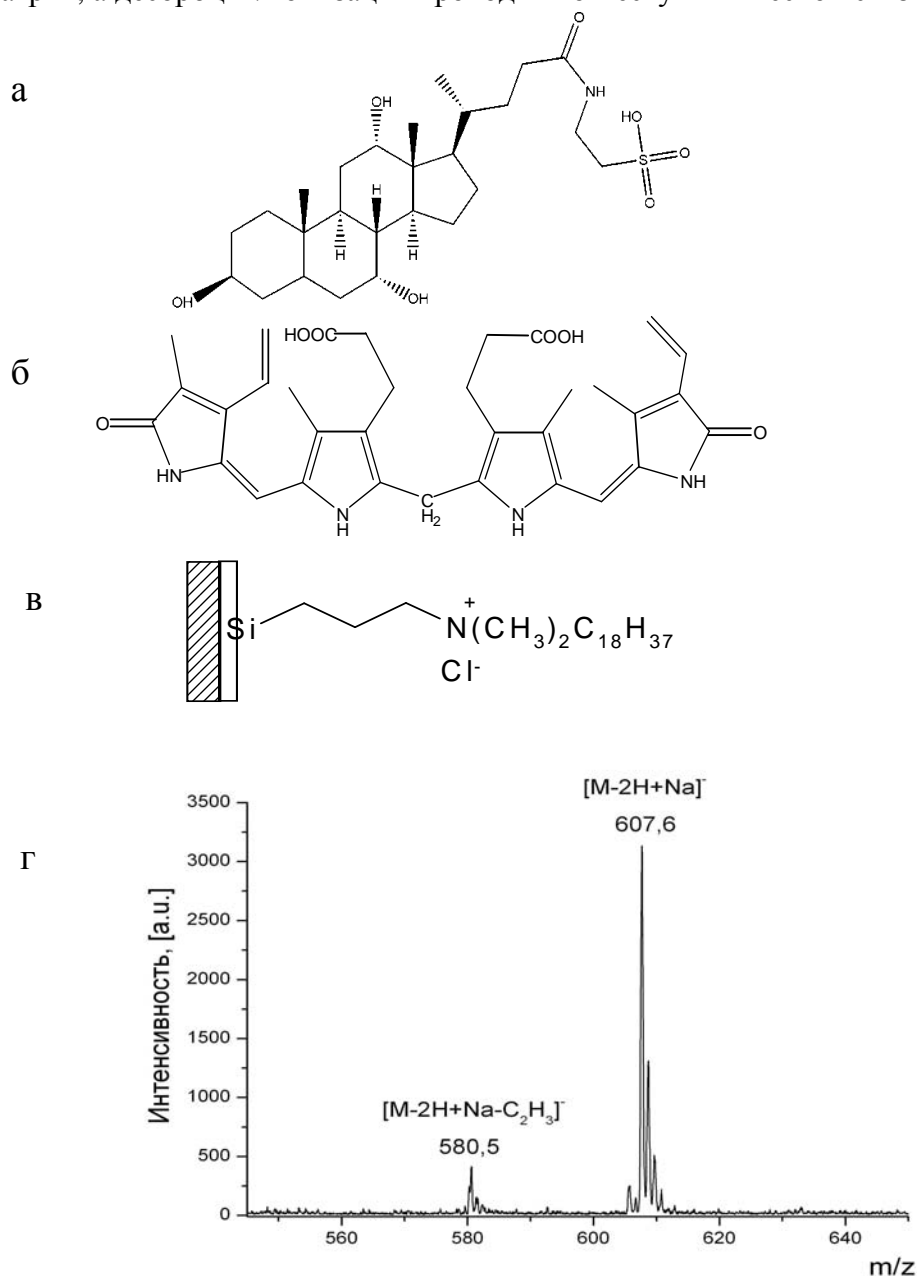
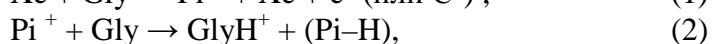
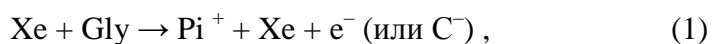


Рис. 9. Компоненты желчи: а – таурохолевая кислота; б – билирубин; в – ионизационная подложка, использованная для масс-спектрометрического исследования и г – DIOS масс-спектр билирубина в режиме детектирования отрицательных ионов с поверхности ПК, модифицированного группами $-(CH_2)_3N(CH_3)_2C_{18}H_{37}^+Cl^-$.

Новые возможности применения пористого кремния к десорбционной масс-спектрометрии растворов

Упомянувшиеся выше методы матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации МАЛДИ (MALDI, Matrix-assisted laser desorption/ionization) и бомбардировки быстрыми атомами ББА (FAB, Fast atom bombardment) относятся к матричным методам десорбции/ионизации в масс-спектрометрии. Их различие состоит в том, что в случае ББА десорбция индуцируется бомбардировкой высокоэнергетическими частицами (нейтральными атомами Ar, Xe) либо ионами (например, Cs⁺, (CsI)_nCs⁺), в случае же МАЛДИ – лазерным излучением (чаще всего это азотный лазер с длиной волны излучения 337 нм и длительностью импульса в несколько наносекунд). Кроме того и это существенно для дальнейшего, эти методы различаются тем, что для них матрицы выбираются в различных агрегатных состояниях. В случае МАЛДИ это, как правило, органические кислоты, находящиеся при комнатной температуре в твердом состоянии, а для ББА – труднолетучие жидкости, которые могут находиться в вакууме без изменения агрегатного состояния. Оба метода используются для анализа веществ, принадлежащих к самым различным классам химических соединений, и особенно эффективны в приложении к биомолекулам.

В методе ББА ионы аналита генерируются из капли раствора объемом в несколько микролитров. Наиболее распространенными матрицами в ББА являются глицерин, тиоглицерин и *m*-нитробензиловый спирт, но используются также и другие. При бомбардировке исследуемого раствора происходит прямая ионизация, т. е. в вакуум перемещаются уже существующие на поверхности ионы молекул (или кластеров). Это характерно для большинства неорганических и органических солей, сильных оснований и кислот. Образующийся при прямой ионизации ион имеет нечетное количество электронов в оболочке, т. е. является нестабильным ион-радикалом. Наоборот, ионы, полученные с помощью «химической ионизации» за счет присоединения протона, более стабильны. Механизм такой ионизации заключается в том, что значительная часть ионов образуется в газовой фазе за счет ион-молекулярных реакций:



где Xe – бомбардирующий атом, Gly – глицериновая матрица, Pi – первичный ион и отрицательно заряженная частица в виде электрона (e⁻) или фрагмента C⁻. За реакциями (1) и (2) следует протонирование анализируемого вещества: GlyH⁺ + An → AnH⁺ + Gly.

В методе МАЛДИ ионизацию молекул, происходящую непосредственно при выбросе материала из конденсированного состояния, принято рассматривать как первичную. В расширяющемся факеле происходят непрерывные соударения между частицами, в том числе возможны ион-молекулярные реакции между заряженными частицами матрицы и молекулами анализируемого вещества, которые приводят к ионизации последнего (вторичная ионизация). Как правило, доминирующим процессом в их образовании являются процессы вторичной ионизации. Иными словами, вторичная ионизация может происходить за счет таких процессов, как перенос протона (H⁺), электрона (e⁻), металл-катионов (Na⁺, Ag⁺ и др.). В качестве матриц для МАЛДИ чаще всего используются слабые органические кислоты (например, синаповая).

При использовании метода МАЛДИ для исследования растворов, особенно многокомпонентных, возникает ряд спорных вопросов, поэтому для масс-спектрометрических исследований растворов чаще применяется метод ионизации распылением в вакуум (ElectroSpray ionization ESI), который с большей достоверностью отображает состояние вещества в растворе. В литературе приводятся масс-спектры соединений, полученные как с помощью методов МАЛДИ, так и полученные с помощью

ESI. Результаты для холевых кислот, например [48, 49], практически совпадают, что не снимает, однако, вопросов к механизму ионизации и к соответствию между структурой раствора и составом масс-спектра.

В литературе также встречается сравнение масс-спектрометрических результатов, полученных с использованием ЛДИ и БА, например для нуклеозидов и красителей [50]. Результаты этих исследований показывают, в основном, что более «мягкий» метод МАЛДИ позволяет получить масс-спектры с меньшим числом фрагментов и большими интенсивностями. Однако использование этого метода вызывает радиационные повреждения молекул исследуемого вещества (аналита) и матрицы, характерные для десорбции с поверхности твердых образцов. Наоборот, в методе БА при облучении образца происходит постоянное пополнение приповерхностного слоя неповрежденными исследуемыми молекулами аналита. Поэтому совмещение этих двух разновидностей масс-спектрометрии – а именно использование в методе МАЛДИ десорбции из жидкой фазы, характерной для БА, в состоянии значительно расширить возможности метода. Такое методическое решение имеет еще несколько положительных особенностей. Поскольку десорбция происходит из раствора, исследуемая молекула аналита переходит в факел в виде иона в сольватной оболочке. Поглощение сольватной оболочкой избыточной энергии предохраняет молекулярный ион аналита от разрушения, что может существенно уменьшить фрагментацию, характерную для БА, и, кроме того, дать возможность получать молекулярные и ассоциативные ионы комплексных соединений.

Чрезвычайный интерес представляет методическая возможность совмещения методов БА и МАЛДИ с методом ДИОС, описанным в предыдущем разделе. Использование в качестве подложки макропористого кремния может увеличить количество образца, пригодного для исследования за счет размещения жидкой матрицы в порах кремния. Можно ожидать также, что сопоставление результатов, получаемых при использовании матричных и безматричных методов ионизации молекул лазерным излучением, позволит прояснить детали происходящих при этом процессов. В случае реализации описанной выше методической возможности (а именно получения МАЛДИ масс-спектров из жидкой фазы) МАЛДИ масс-спектрометрия может существенно приблизиться к решению задачи получения адекватной информации о составе растворов.

Преращения акридинового желтого (АЖ) и акридинового оранжевого (АО) на поверхности мезопористых пленок на основе диоксида титана

Производные акридина и аминокридина привлекают внимание исследователей в связи с широтой и разнообразием областей их практического применения. Способность флуорохрома АО избирательно связываться с нуклеиновыми кислотами обусловила его использование в качестве флуоресцентной метки в молекулярной биологии и биофизике. При взаимодействии в мономерной форме с ДНК этот краситель флуоресцирует зеленым цветом (530 нм), а образуя комплекс в димерной форме с РНК, имеет максимум в красной области (640 нм). На основе акридина синтезируются новые противоопухолевые препараты для химио-, фотодинамической и комбинированной терапии. Акридиновые производные рассматриваются при поиске фотосенсибилизаторов в энергетических проектах, при разработке систем очистки воды, воздуха, самоочищающихся поверхностей, полимеров, пригодных для вторичной переработки.

Мезопористые пленки на основе диоксидов титана и кремния относятся к числу перспективных наноматериалов, обладающих уникальными фотокаталитическими, адсорбционными, сенсорными свойствами, химической стойкостью, низкой токсичностью и биологической совместимостью.

Исследования фотоиндуцированного переноса носителей заряда в сложных системах с участием органических красителей, элементарных реакций окисления/восстановления, процессов ассоциации молекул становятся все более актуальными в

связи с использованием перечисленных явлений в разнообразных областях практического применения акридиновых красителей. Отдельный интерес представляет ситуация, в которой фотособытия развиваются на поверхности облученного полупроводника, который, сам являясь активным поставщиком носителей заряда, может активно влиять на ход перестроек и выполнять роль фотокатализатора.

Ранее нами было показано, что мезопористые пленки TiO_2 и SiO_2 можно успешно использовать в качестве подложек (субстратов) для масс-спектрометрического анализа красителей методом лазерной десорбции/ионизации (ЛДИ) [22,51,52], поскольку ЛДИ масс-спектры красителей, нанесенных на подложки из TiO_2 , SiO_2 и $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$, содержат интенсивные сигналы красителей при минимальной фрагментации. Однако, помимо чисто аналитических задач, условия ЛДИ позволяют получать информацию о некоторых параметрах взаимодействия красителей с наноматериалами и о фотохимических процессах, индуцируемых в системе «фотоактивный краситель–наноматериал» лазерным излучением в УФ-диапазоне.

Прочные оптически прозрачные стабильные пленки кремнезема SiO_2 и диоксида титана TiO_2 на стеклянных субстратах, обладающие развитой пористостью и большой удельной поверхностью, были синтезированы темплатным золь-гель методом, аналогичным описанному в [52]. Термическая обработка кремниевых пленок производилась при 350°C , титановых – при 500°C . Полученные пленки обладают упорядоченной гексагональной пористой структурой. TiO_2 пленки по данным рентгеноструктурного анализа содержат наночастицы анатаза со средним размером 10–15 нм. Удельная поверхность пленок оценивается в $600\text{--}700\text{ м}^2/\text{г}$. Средний размер пор в пленках, рассчитанный из малоуглового рассеяния рентгеновских лучей, составляет 8–20 нм.

Масс-спектры ЛДИ акридиновых красителей получали с помощью масс-спектрометра Autoflex II (Bruker Daltonics Inc, Германия), оборудованного азотным лазером ($\lambda=337\text{ нм}$). Ионизация образцов производилась импульсами длительностью 3 нс с частотой 20 Гц. В опытах использовалось ускоряющее напряжение 20 кВ. Спектры положительных ионов регистрировались в рефлекторном режиме с временной задержкой экстракции ионов 10 нс при мощности лазера 27 мДж для титановых пленок и 37 мДж для кремниевых пленок.

Образцы акридиновых красителей АЖ и АО, исследовавшихся в работе, представляли собой гидрохлориды, структуру которых можно условно обозначить как $(\text{M}\cdot\text{HCl})$, где М – органический хромофор. Соответственно, катионная форма красителей, образующаяся при диссоциации соли (рис. 10), обозначается как $[\text{M}+\text{H}]^+$.

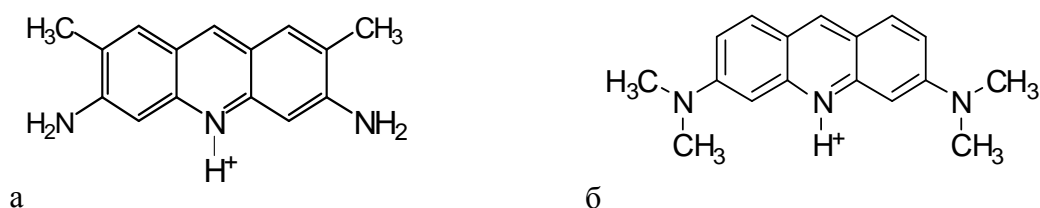


Рис. 10. Структурные формулы катионов $[\text{M}+\text{H}]^+$ красителей акридинового желтого (а) и акридинового оранжевого (б).

Были получены масс-спектры ЛДИ красителей АЖ и АО, нанесенных на стандартную металлическую подложку (рис. 11), адсорбированных на мезопористых пленках диоксида титана TiO_2 и диоксида кремния SiO_2 .

Адсорбция красителей в форме димеров или кластеров, как было показано нами ранее [51], также находит свое отражение в масс-спектрах ЛДИ, в первую очередь, в форме появления двухзарядных ионов. Необходимо отметить особенности выявления двухзарядных димеров катионов в масс-спектрах. Пик со значением $m/z = (2\text{M} + 2\text{H})/2e$

перекрывается с пиком мономера $(M + H)/1e$, однако пик первого изотопомера $(2M + 1 + 2H)$, имеющий нечетную массу, попадает на нецелочисленное значение массы, и ион $(2M + 3)/2e$ регистрируется как $(M + 1,5)$. Именно такие пики присутствуют в ЛДИ масс-спектрах, показанных на рис. 12 а, в, для обоих красителей, адсорбированных на пленке TiO_2 . Согласно расчетам вклад двухзарядных ионов может быть на уровне 50 % от суммарной интенсивности пика, регистрируемого при значении m/z $[M+1]^+$. Можно заключить, что для соответствующих образцов характерна димерная (кластерная) форма адсорбции красителей.

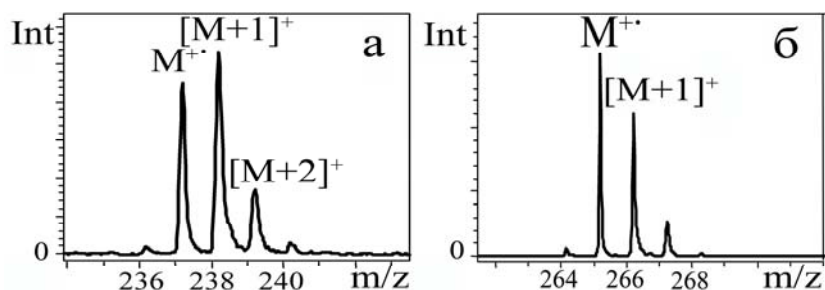


Рис. 11. Фрагменты масс-спектров АЖ (а) и АО (б), полученные в результате ЛДИ со стандартной металлической подложки.

Отсутствие сигналов двухзарядных ионов в масс-спектрах образцов, приведенных на рис. 12 б, г, подтверждает наше предположение о мономерной адсорбции красителей в данных образцах. Соответственно, ионы, отсутствующие в спектрах этих образцов и появляющиеся в спектрах образцов на рис. 12 а, в, можно с уверенностью отнести к ионам, образующимся при ЛДИ за счет взаимодействия в димерах.

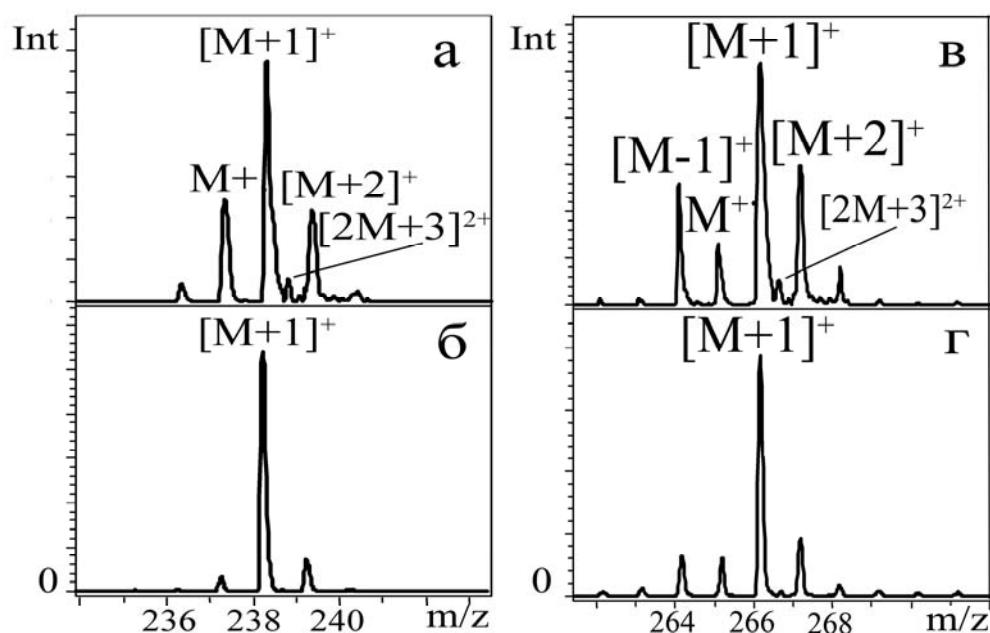


Рис. 12. Варианты распределения интенсивностей в группах пиков в масс-спектрах ЛДИ красителей АЖ (а, б) и АО (в, г), адсорбированных на мезопористых пленках TiO_2 .

Согласно электронным спектрам поглощения АО сорбируется на оксидных пленках преимущественно в виде димеров, стабилизированных стэкинг-взаимодействием ароматических систем его молекул. Об этом свидетельствует сдвиг максимума полосы поглощения в коротковолновую область от 490 нм в растворе до 470

ним для красителя АО, адсорбированного на пленках TiO_2 и SiO_2 . Перемещение максимума поглощения от значения 440 до 430 нм указывает на сходную ситуацию для АЖ в случае его адсорбции на пленке SiO_2 . На пленке TiO_2 адсорбция этого красителя сопровождается смещением положения максимума в длинноволновую область с 440 до 450 нм, что является показателем образования димерных ассоциатов иного пространственного строения, где основную роль играют, по-видимому, водородные связи между протонодонорными центрами красителя, а не дисперсионные взаимодействия хромофоров АЖ.

Склонность акридиновых производных к самоассоциации известна и исследовалась различными методами. Результаты, полученные в наших экспериментах, согласуются с выводами, сделанными в работе [53]. В работах, выполненных с применением методик подсчета одиночных фотонов и анализа спектров поглощения и флуоресценции, показано, что димеризации подвержены именно катионы $[\text{M}+\text{H}]^+$. При этом образуются двухзарядные ионы $[2\text{M}+2\text{H}]^{2+}$. С помощью методики импульсного фотолиза установлен также механизм распада катиона красителя АО, возбужденного в триплетное состояние, а именно образование полувосстановленного и полуокисленного радикалов АО в результате переноса электрона между двумя триплетными молекулами [54]. Отметим, что ион $\text{M}^{+\bullet}$ формально относится к полуокисленной форме красителя, в то время как полувосстановленная форма $[\text{M} + 2\text{H}]^{+\bullet}$ вносит вклад в интенсивность пика $[\text{M}+2]^+$ для АО (рис. 11 в). Отмеченное выше отличие в пространственной организации димеров АЖ может уменьшать выход продуктов восстановления АЖ (рис. 11 в) в сравнении с АО в условиях ЛДИ.

Для сравнения отметим, что в наших предыдущих исследованиях адсорбции катионного красителя метиленового голубого (МГ) на мезопористых пленках SiO_2 и TiO_2 [51] пики, соответствующие димерам и полувосстановленной форме МГ, наблюдались при ЛДИ только лишь с пленок TiO_2 , для пленок SiO_2 они были практически подавлены. Поскольку приведенные выше спектроскопические данные указывают на возможность адсорбции красителей в димерной форме на обоих типах пленок, можно высказать предположение о влиянии на вид спектров не только димерной формы адсорбции, но и электронных донорно-акцепторных свойств материала TiO_2 . Реакции фотовозбуждения и переноса заряда более активно реализуются в системе «краситель- TiO_2 », чем в системе «краситель- SiO_2 ».

Рассматривая собственно процесс адсорбции красителей на мезопористом оксидном материале, необходимо учитывать суммарный результат разнонаправленных реакций. Результатом их протекания может оказаться стабилизация определенной таутомерной формы красителя, а, следовательно, сдвиг равновесия сосуществования амино- и имино-форм в ту или другую сторону, стереоизомеризация, димеризация молекул, протонирование или депротонирование, миграция атомов водорода между экзо- и эндоциклическим азотом, между молекулой адсорбата и поверхностными группами $-\text{OH}$, $-\text{H}$ и др. Нельзя оставить без внимания возможное влияние на характер взаимодействия красителя и подложки количества и состояния сортированных мезопористой пленкой компонент воздуха. Вода и кислород являются активными участниками первичных фотореакций. С химической точки зрения адсорбированная в процессе подготовки образцов вода может считаться эффективным центром рекомбинации электронно-дырочных пар, тогда как адсорбированный кислород – эффективной электронной ловушкой, предотвращающей этот процесс.

Известна зависимость положения равновесия между таутомерными амино- и иминоформами производных акридина от степени электроотрицательности заместителей при экзоциклическом азоте и в целом от локального окружения молекул. Взаимодействие исследуемых молекул с поверхностными группами пленок стимулирует реакции с

переносом заряда от адсорбата к адсорбенту, приводит к сдвигу в соотношениях таутомерных форм акридиновых красителей [55].

Таким образом, с помощью лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии изучены системы, содержащие красители акридиновый желтый и акридиновый оранжевый, адсорбированные на поверхности мезопористых пленок диоксидов титана TiO_2 и кремния SiO_2 . Показано, что использование мезопористых пленок TiO_2 и SiO_2 в качестве подложек для исследуемого вещества позволяет получать интенсивные информативные масс-спектры акридиновых красителей в условиях ЛДИ. Обнаружено, что распределение пиков в масс-спектрах ЛДИ с мезопористых пленок качественно отличается от полученного при ЛДИ с гладкой металлической поверхности. Выделен набор ионов, формирование которых обусловлено специфическими взаимодействиями красителей с наноструктурированными диоксидами в условиях ЛДИ. Показано, что преимущественная десорбция катионной формы красителей $[\text{M}+\text{H}]^+$ осуществляется при ЛДИ с пленок с мономерной формой адсорбции красителей. Адсорбция красителей в форме димеров и кластеров отражается в появлении в ЛДИ масс-спектрах двухзарядных ионов димеров $[2\text{M}+3]^{2+}$, а также продуктов термической ионизации и окислительно-восстановительных процессов M^+ , $[\text{M}-\text{H}]^+$ и $[\text{M}+\text{H}]^+$, стимулированных в агрегатах красителей лазерным облучением в УФ-диапазоне. Фотоэлектронные свойства пленок TiO_2 способствуют более активному протеканию фотостимулированных процессов в адсорбированных красителях в сравнении с SiO_2 . Полученные данные являются основой для дальнейшего масс-спектрометрического изучения процесса и продуктов фотодеградации красителей на мезопористых оксидных пленках.

Тенденции развития современной масс-спектрометрии

В таблице представлены данные по количеству публикаций в марте 2002 и в октябре 2009 года в области масс-спектрометрии по данным журнала *Journal of Mass Spectrometry*, публикуемого издательством John Wiley & Sons и редактируемого Р. Каприоли, одним из ведущих специалистов в области масс-спектрометрии. Этот журнал, по сложившейся традиции, содержит раздел с перечнем ссылок на самые значительные работы, опубликованные за месяц, предшествующий выходу журнала в свет, таким образом, знакомя подписчиков с последними достижениями и тенденциями. Отбор работ и их тематическая классификация носит, естественно, следы личных предпочтений главного редактора, но предоставляет, тем не менее, ценный материал для анализа современного состояния масс-спектрометрии и направлений ее развития.

2002 г интересен для анализа тем, что именно в этом году Нобелевская премия по химии после долгого перерыва и впервые после Астона была присуждена масс-спектрометристам Дж. Ф. и К. Танаке за разработку мягких десорбционных методов ионизации для МС анализа биологических макромолекул, как об этом уже упоминалось выше. Что касается 2009 г, то он является в определенном смысле переломным моментом для науки о поверхности, поскольку накануне, в 2008 году, Г. Эртль получил Нобелевскую премию по химии «за изучение химических процессов на твердых поверхностях». Это явилось следствием повышенного научного и практического интереса к исследованию поверхности нанообъектов и наносистем, и можно было ожидать, что этот факт отразится на тематике экспериментальных исследований в области химии поверхности, выполненных масс-спектрометрическими методами.

Первая колонка таблицы – тематические направления опубликованных работ. Во второй и третьей колонках приведено количество публикаций в апреле 2002 и октябре 2009 г, соответственно. В четвертой колонке подсчитан относительный рост числа публикаций за истекший период, причем данные по тем направлениям, где число публикаций увеличилось более, чем вдвое, выделены жирным шрифтом. В последней строке таблицы приведены результаты, суммированные по всем направлениям, которые пока-

зывают, что общий рост числа реферируемых публикаций за рассмотренный период составил 1,61.

Анализ приведенных в таблице данных позволяет сделать некоторые заключения.

Во-первых, работы биохимического профиля, от биологии/биохимии до нуклеиновых кислот включительно, показали за рассматриваемый период увеличение числа статей в 1,26 раза, что ниже увеличения общего числа статей МС направленности. Таким образом, ожидавшийся бум применений масс-спектрометрии в области биологии, биохимии и сопутствующей тематики в рассматриваемый период не состоялся. Приблизительно на том же относительно низком уровне находится и рост числа статей, относящихся к охране окружающей среды. Более значительный рост числа публикаций наблюдается в приложениях масс-спектрометрии для решения задач фармакологии/токсикологии и в анализе природных продуктов.

Таблица. Тематическое распределение МС публикаций по данным журнала Journal of Mass Spectrometry (Импакт-фактор 3.57) за апрель 2002 и октябрь 2009 года

Тематика наиболее значимых публикаций	2002	2009	Рост
Книги, обзоры и симпозиумы	11	8	0,73
Инструментальная техника и методы	41	110	2,68
Газофазная ионная химия	10	11	1,10
Биология/биохимия	39	69	1,77
Углеводы	9	5	0,56
Липиды	20	14	0,70
Нуклеиновые кислоты	6	3	0,50
Фармакология/токсикология	45	116	2,58
Природные продукты	14	37	2,64
Анализ окружающей среды	40	67	1,68
Анализ органических соединений	17	8	0,47
Неорганические и координационные соединения	10	7	0,70
Исследование поверхности	4	9	2,25
Элементный анализ	36	22	0,67
Всего	302	486	1,61

Во-вторых, среди работ, не относящихся к наукам о жизни, наибольший интерес вызывает значительное увеличение числа публикаций по инструментальной технике и методам масс-спектрометрии. Опыт предыдущих десятилетий показывает, что такого рода повышенный интерес к инструментальным и прикладным аспектам МС техники наблюдается тогда, когда метод стоит перед новой фундаментальной проблемой, для решения которой прежние, апробированные способы решения физико-химических задач оказываются неподходящими, вследствие чего исследователи начинают поиск принципиально новых подходов.

На взгляд автора, такой новой фундаментальной проблемой является адекватное описание наноструктурированных объектов во всех аспектах их создания и применения, в особенности тех из них, которые связаны с иммобилизацией биологически активных молекул на поверхности достаточно сложно организованных носителей. Об этом свидетельствует, в частности, более чем удвоение числа публикаций по направлению «Исследование поверхности», хотя при очевидном возрастании интереса к предмету, в абсолютном выражении число работ в этой области пока что остается небольшим и не соответствует важности проблемы.

Заключение

Современные методы масс-спектрометрических исследований направлены преимущественно на исследование биомолекул в процессе их взаимодействия с наноструктурированными поверхностями. Как всегда в биологической науке о поверхности (Biological surface science, [56]) ключевую роль играют корреляции в ряду: синтез и химическое модифицирование биологически активных наноконструктов → изучение их физико-химических свойств → оценка их биологической активности. Масс-спектрометрия размещается в середине этого ряда – среди методов изучения физико-химических свойств наноструктурированных систем. Можно высказать обоснованное предположение о том, что стратегическая цель современных МС исследований биологически активных молекул – дать понимание деталей механизма биораспознавания как главного свойства живых систем.

Среди физико-химических методов исследования наноструктурированных образцов ТПД МС является одним из наиболее перспективных подходов. В этом методе выделение стабильных летучих продуктов десорбции и деструкции происходит в квазистационарных условиях, обеспечивая получение надежной информации о порядках реакций, активационных энергиях и предэкспоненциальных множителях реакций органических, а особенно биологически активных молекул, происходящих на поверхности. Это определяет ТПД МС как оптимальный метод исследования в химии поверхности наноструктурированных систем.

Метод ТПД МС особенно эффективен в сочетании с ЛДИ МС. Первый из них, медленный, квазистационарный, имеет дело со стабильными продуктами химических превращений. Второй отображает события, происходящие в наносекундной шкале времени, предоставляя тем самым возможность получать ассоциативные, молекулярные и слабо фрагментированные ионы биомолекул, а также фиксировать короткоживущие интермедиаты, получая тем самым информацию о деталях механизмов десорбции/ионизации и ион-молекулярных реакций. В сочетании обоих методов достигается всестороннее понимание процессов, происходящих в адсорбционном слое.

Среди наноструктурированных поверхностей, используемых в методах ЛДИ и ТПД масс-спектрометрии, наиболее перспективными представляются системы на основе кремния, которым, в основном, посвящен настоящий обзор, а также углерода (карбонизованные поверхности, терморасширенный графит, нанотрубки, фуллерены, нанодIAMазы и т.д.). По масс-спектрометрии наноструктурированных углеродсодержащих систем уже накоплен обширный материал, требующий отдельного рассмотрения.

Прогресс масс-спектрометрии, определяемый публикациями в ведущих журналах, происходит в настоящее время преимущественно в следующих направлениях: инструментальная техника и методы, фармакология, токсикология, изучение природных продуктов.

Современная масс-спектрометрия пока еще не слишком активно используется для решения проблем химии поверхности наноструктурированных систем, хотя количество публикаций в этой области быстро растет. Это следует объяснить новизной предмета и методологическими трудностями, для преодоления которых, собственно, и ведутся интенсивные работы по развитию инструментальной техники и новых методов исследования.

Автор благодарит сотрудников Института химии поверхности им. А.А. Чуйко Н.П. Галаган, Б.Г. Мисчанчука, О.В. Севериновскую, Н.П. Смирнову, С.В. Снегиря, Н.И. Суровцеву, Т.В. Фесенко, И.В. Шмыголь за участие в совместных работах, профессора В.М. Гунько и сотрудницу Физико-технического института низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины д. ф.-м. н. М.В. Косевич за полезное обсуждение вопросов, затронутых в обзоре.

Работы по лазерной десорбции/ионизации наносистем на основе оксидов кремния проводились при финансовой поддержке Украинского Научно-технологического Центра рамках проекта №4378.

Литература

1. Покровский В.А., Мосин В.В. Бомбардировка быстрыми атомами в масс-спектрометрии: метод и его применения // Теорет. и эксперим. химия. – 1987. – Т. 24, № 1. – С. 62–78.
2. Makarov A.A. Electrostatic axially harmonic orbital trapping: a high-performing technique of mass analysis // *Anal. Chem.* – 2000. – V. 72. – P. 1156–1162.
3. Бродский А.И. . Химия изотопов. Москва: Изд-во АН СССР, 1952. – 352 с.
4. Inghram M.G., Gomer R. Mass spectrometric analysis of ions from the field ion microscope // *J.Chem. Phys.* – 1954. – V. 22, N 7. – P. 1279–1280.
5. Гольденфельд И.В., Назаренко В.А., Покровский В.А. Масс-спектры воды при ионизации ее сильным электрическим полем // Докл. АН СССР. – 1965. – Т. 161. – С. 61–864.
6. Goldenfeld I.V., Nazarenko V.A., Pokrovskiy V.A. Field ionization theory // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* – 1970. – N 5. – P. 337–348.
7. Pokrovsky V.A., Goldenfeld I.V., Korol E.N. Temperature dependencies in field ionization // *Int. J. Mass Spectrom. Ion. Phys.* – 1973. – N 1. – P. 1–9.
8. Beeky H.D. Principles of field ionization and field desorption mass spectrometry. London: Pergamon, 1977. – 324 p.
9. Каталог полевых масс-спектров органических соединений / М.М. Алексанкин, И.П. Самченко, И.З. Коростышевский, Л.И. Филилеева, П.С. Диброва, В.А. Назаренко, Б.Г. Мисчанчук // Київ: Наук. думка, 1976. – 114. с.
10. Физические основы полевой масс-спектрометрии / Э.Н. Король, В.В. Лобанов, В.А. Назаренко, В.А. Покровский // Київ: Наук. думка, 1978. – 196 с.
11. Покровский В.А. Полевая масс-спектрометрия. // В кн. «Автоионная и автоэлектронная микроскопия и спектроскопия». Под ред. А.Л. Суворова. – Москва: Академпринт, 2003. – С. 117–143.
12. Веркин Б.И., Янсон И.К., Суходуб Л.Ф., Теплицкий А.Б. Взаимодействия биомолекул. Новые экспериментальные подходы и методы. – Киев: Наук. думка, 1985. – 164 с.
13. Yanson I.K., Teplitsky A.B., Sukhodub L.F. Experimental studies of molecular interactions between nitrogen bases of nucleic acids // *Biopolymers.* – 1979. – V. 18, N 5. – P. 1149 – 1179.
14. Суходуб Л.Ф., Веркин Б.И., Шелковский В.С., Янсон И.К. Масс-спектрометрическое исследование термодинамических характеристик автоассоциатов воды // Докл. АН СССР.– 1981.– Т. 258, N 6. – С. 1414–1417.
15. Shelkovsky V.S., Stepanian S.G., Galetich I.K., Kosevich M.V., Adamowicz L. Modeling of recognition sites of nucleic acid bases and amide side chains of amino acids. Combination of experimental and theoretical approaches // *Europ. Phys. J. D.* – 2002. – V. 20, N 3. – P. 421–431.
16. Kosevich M.V. Low temperature secondary emission mass spectrometry. Cryobiological applications // *European Mass Spectrometry.* – 1998. – V. 4, N 4. – P. 251–264.
17. Благой Ю.П., Шеина Г.Г., Иванов А.Ю., Радченко Е.Д., Косевич М.В., Шелковский В.С., Боряк О.А., Рубин Ю.В. Низкотемпературные экспериментальные исследования в молекулярной биофизике (обзор) // *Физика низк. температур.*– 1999.– Т. 25, N 10.– С. 1003–1020.

18. Kosevich M.V., Shelkovsky V.S. A new type of graphite emitters for field ionization/field desorption mass spectrometry // *Rapid Commun. in Mass Spectrometry.*– 1993.– V. 7, N 9. – P. 805–811.
19. Kosevich M.V., Shelkovsky V.S., Boryak O.A., Orlov V.V. ‘Bubble chamber model’ of fast atom bombardment induced processes // *Rapid Commun. in Mass Spectrometry.*– 2003.– V. 17, N 15.– P. 1781–1792.
20. Kosevich M.V., Chagovets V.V., Shelkovsky V.S., Boryak O.A., Orlov V.V., Gomory A., Vegh P. Is there a “matrix suppression effect” under fast atom bombardment liquid secondary ion mass spectrometry of ionic surfactants in glycerol // *Rapid Commun. in Mass Spectrometry.*– 2007.– V. 21, N 4.– P. 466–478.
21. Боряк О.А., Косевич М.В., Чаговец В.В., Шелковский В.С., Орлов В.В., Карачевцев В.А., Горбенко Г.П., Доманов Е.А., Товстяк В.В. Возможности метода вторично-ионной масс-спектрометрии для контроля иммобилизации красителей в липидных слоях и липосомах // *Биофиз. вестн.*– 2005. – V. 716, N 2(16).– С. 97–105.
22. Kosevich M.V., Chagovets V.V., Shmigol I.V., Snegir S.V., Boryak O.A., Orlov V.V., Shelkovsky V.S., Pokrovskiy V.A., Gomory A. Sensitivity of redox reactions of dyes to variations of conditions created in mass spectrometric experiments // *J. Mass Spectrometry.*– 2008.– V. 43, N 10.– P. 1402–1412.
23. Чуйко А.А., Назаренко В.А., Покровский В.А. Десорбционная масс-спектрометрия и ее применения в химии поверхности // *Вестн. АН УССР.* – 1989. – Т. 10. – С. 31–41.
24. Pokrovskiy V.A. / Temperature-programmed mass spectrometry of biomolecules in surface chemistry studies // *Rapid Commun. Mass Spectrometry.* – 1995. – V. 9. – P. 588–591.
25. Покровский В.А., Чуйко А.А.. Температурно-программированная десорбционная масс-спектрометрия и особенности неизотермических реакций на поверхности дисперсных твердых тел. – В кн. *Химия поверхности кремнезема / Под ред. А.А. Чуйко,* – Київ. – 2001. – С. 79–116.
26. Tully J. C. Theory of the dynamics of inelastic and reactive processes at surfaces // *Ann. Rev. Phys. Chem.*– 1980.– N 31.– P. 319–343.
27. Menzel D. Thermal desorption // In: *Chemistry and physics of Solid Surfaces IV.*– Berlin: Springer, 1982.– P. 389–403.
28. Эйнштейн Т., Герц Дж., Шриффер Дж. Теория хемосорбции – Москва: Мир, 1983.– 260 с.
29. Агеев В.Н., Зандберг Э.Я. Адсорбционно-десорбционные процессы на поверхности твердого тела // *Вестн. АН СССР.*– 1985.– № 12. – С. 17–29.
30. Чуйко А.А., Покровский В.А., Устюжанин П.Ф. Термодесорбционный эксперимент и особенности кинетики химических реакций на поверхности дисперсных твердых тел. // *Деп. ВИНТИ.*– №1326–В80 от 02.1989.
31. Pokrovskiy V.A., Galagan N.P., Chuiko A.A. Interaction of cells with nanoparticles // In: *Surface chemistry in biomedical and environmental studies. (Eds.) J.P. Blitz and V. Gunko* 2006.– II – V. 228.– P. 277–286.
32. Масс-спектрометрическое изучение деоксигенации аминокислотно-имидазольных комплексов кобальта / В.А. Покровский, Ю.И. Братушко, Б.Г. Мисчанчук, Э.Н. Король, К.Б. Яцимирский // *Теорет. и эксперим. Химия* – 1977. – Т. 14, № 6. – С. 764–781
33. Масс-спектрометрическое исследование термолиза цианкобаламина / В.А. Покровский, К.Б. Яцимирский, В.А. Назаренко, Г.Н. Мельниченко // *Там же.*– 1987.– Т. 23, № 3.– С. 377–380.
34. Покровский В.А., Устюжанин П.Ф. Модель активированного комплекса в реакции разложения цианкобаламина // *Там же.*– 1988.– Т. 24, № 6. – С. 751–754.

35. Gun'ko V.M., Pokrovsky V.A. Temperature-programmed desorption mass spectrometry of butoxysilyl groups on silica surfaces // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes.*– 1994. – 148. – P. 45–54.
36. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Chuikov B.A., Dudnik V.V., Ptushinskii Yu.G., Voronin E.F., Pakhlov E.M., Chuiko A.A. Temperature-programmed desorption of water from fumed silica, titania, silica/titania, and silica/alumina, // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes.* – 1998. –V. 172. – P. 161–179.
37. Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev V.M., Zarko V.I., Leboda R., Goncharuk E.V., Novza A.A., Turov A.V., Chuiko A.A., Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic Interfaces. // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2005. – V. 118. – P.125–172.
38. В.М. Гунько, В.В. Туrow, П.П. Горбик. Вода на межфазной границе, – Киев – Наук. думка, 2009. – 694 с.
39. В.К. Погорелый, В.М. Барвинченко, В.В.Туrow. Влияние растворителя на радиолиз сывороточного альбумина человека в присутствии диметилсульфоксида // *Теорет. и эксперим. химия.*– 1990.– Т. 26, № 1.– С. 107–111.
40. Wei J., Buriak J.M., Siuzdak G. Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon // *Nature.*– 1999.– V. 399. – P. 243–246.
41. Desorption/ionization on silicon (DIOS) mass spectrometry: background and application / G. Warren, Z. Shen, M. G. Finn et al. // *Intern. J. Mass Spectrometry.*– 2003.– V. 226.– P. 107–116.
42. High sensitivity and analyte capture with desorption/ionization mass spectrometry on silylated porous silicon / S. A. Trauger, E. P. Go, Z. Shen et al. // *Anal. Chem.*– 2004.– V. 76. – P. 4484–4489.
43. Surface modification and laser pulse length on internal energy transfer in DIOS / L. Guanghong, Y. Chen, G. Siuzdak et al // *J. Phys.Chem. B.*– 2005.– V. 109.– P. 24450 – 24456.
44. On the mechanism of laser-induced desorption-ionization of organic compounds from etched silicon and carbon surfaces / S. Alimpiev, S. Nikiforov, M. Karavanskii // *J. Appl. Phys.* – 2001. – V. 115. – P. 1891–1901.
45. Laser desorption/ionization from nanostructured surfaces: nanowires, nanoparticle films and silicon microcolumn arrays / Y. Chen, G. Luo, J. Diao et al. // *J.Phys.: Conf. Ser.* – 2007. – V. 59. – P. 548–554.
46. Shmigol I.V., Alekseev S.A., Lavrynenko O.Yu., Vasylieva N.S., Zaitsev V.N., Barbier D., Pokrovsky V.A. Chemically modified porous silicon for laser desorption/ionization mass spectrometry of ionic dyes // *J. Mass Spectrom.*– 2009.– V. 44. – N 8. – P. 1234–1240.
47. Лазерно-стимулированная ионизация биомолекул на поверхности нанопористого кремния и с квантовых точек Si/Ge / И. В. Шмыголь, В. А. Покровский, А.И. Водяницкий, Ю.Н. Козырев // *Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур.* – 2007. – Т. 1. – С. 300–313.
48. Rodriguez M.A. Yost R.A. Interpretation of electrospray/ion trap mass spectra of bile acids and other surfactants. // *Rapid Commun. Mass Spectrometry.* – 2000. – V. 14. – P. 1398–1403.
49. Севериновская О.В., Покровский В.А., Власова Н.Н., Снегир С.В. Исследование состава ассоциатов таурохолатата натрия методом масс-спектрометрии с матрично-активированной десорбцией/ионизацией // *Масс-спектрометрия.*– 2007. – №4. – С. 99–102.
50. Burgess K., Russell D.H, Shitangkoon A., Zhang A. J. MALDI and FAB mass spectrometry of nucleoside triphosphates: a comparative study // *Nucleosides, nucleotides and nucleic acids.* – 1996. – V. 15. – P. 1719–1723
51. Фесенко Т.В., Косевич М.В., Суrowцева Н.И., Покровский В.А., Еременко А.М. Масс-спектрометрия с лазерной десорбцией/ионизацией красителя метиленового голубого с поверхности мезопористых тонких пленок TiO₂, TiO₂/SiO₂ и SiO₂ // *Масс-спектрометрия.* – 2007. – Т. 4, N4. – С. 289–296.

52. Лазерная десорбционная масс-спектрометрия акридиновых красителей, адсорбированных на поверхности пленок TiO_2 и SiO_2 / Т.В. Фесенко, В.А. Покровский, Н.И. Суровцева, А.М. Еременко, Н.П. Смирнова, О.А. Борjak, В.С. Шелковский, М.В. Косевич // Физика, химия и технология поверхности. – 2010. – Вып. 16. – С. 125–135.
53. Ferguson J., Mau A.W. Spontaneous and stimulated emission from dyes. Spectroscopy of the neutral molecules of acridine orange, proflavine, and rhodamine B // Austral. J. Chem. – 1973. – V. 26, N 8. – P. 1617–1624.
54. Kellmann A. Primary photochemical processes of cationic acridine orange in aqueous solution studied by flash photolysis // Photochem. and Photobiol. – 1974. – V. 20, N 2. – P. 103–108.
55. Linsebigler A.L., Guangquan L., Yates J.T., Jr. Photocatalysis on TiO_2 surfaces: principles mechanisms and selected results // Chem.Rev. – 1995. – V. 95, N 3. – P. 735–758.
56. Kasemo B. Biological surface science // Surface Sci.- 2002. – V. 500, N 1. – P. 656–677.

МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ НАНОСТРУКТУРОВАНІХ СИСТЕМ

В.О. Покровський

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна*

Обговорені специфічні технічні та наукові проблеми мас-спектрометрії, що виникають та вирішуються при дослідженні наноструктурованих систем. Під цим кутом зору проведено короткий аналіз тенденцій розвитку методу і його застосувань в світі та в Україні. Обговорені найважливіші результати, оприлюднені в цій галузі протягом останніх десятиріч. Наведений короткий огляд результатів, одержаних українськими дослідниками, які активно застосовують різні варіанти мас-спектрометрії для вирішення проблем хімії поверхні, каталізу, супрамолекулярної хімії, біології та охорони навколишнього середовища. Особливу увагу приділено методам температурно-програмованої десорбційної та лазерної десорбційно-іонізаційної мас-спектрометрії наноматеріалів на основі кремнію.

MASS SPECTROMETRY OF NANOSTRUCTURED SYSTEMS

V.A. Pokrovskiy

*Chuiiko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
17 General Naumov Str. Kyiv, 03164, Ukraine*

Specific technical and scientific problems of mass spectrometry are discussed appeared and are being solved in the course of studies on nanostructured systems. From this point of view, a brief analysis is presented of progress trends in methods and applications of mass spectrometry in the world and in Ukraine. Most impressive results in this area published during last decades are discussed. A brief survey is presented of the results obtained by Ukrainian researchers actively using various kinds of mass spectrometry for solution of the problems on surface chemistry, catalysis, supramolecular chemistry, biology, and environment protection. Special attention is drawn to temperature-programmed desorption and laser desorption ionization mass spectrometry of silicon-based nanomaterials.