

УДК 541.183.

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ПАЛДИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО ШУНГИТА¹

Гончарова И.С., Полунина И.А., Ульянов А.В., Полунин К.Е., Буряк А.К.

ИФХЭ РАН, Москва 119071, Ленинский пр., д.31, корп. 4,

e-mail: polunina@phycbe.ac.ru

Методом поверхностно-активированной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией (ПАЛДИ) исследовано взаимодействие различных биологически активных соединений с поверхностью модифицированного шунгита III (Карелия, РФ). Показано, что содержание углерода в образцах шунгита, подвергнутых механохимической обработке и термоактивации водяным паром, практически не влияет на ионизацию адсорбированных фенольных соединений, карбоновых и аминокислот. Предполагается, что сорбция биоактивных соединений преимущественно осуществляется на поверхностных центрах оксидов металлов и кремния, проявляющих протоно- и электроноакцепторные свойства.

Введение

Масс-спектрометрия является наиболее информативным методом анализа состава вещества, который широко применяется при анализе органических соединений. При этом требуется с максимальной эффективностью и минимальной фрагментацией получить ионы анализируемого вещества в газовой фазе и ввести их в масс-анализатор. Однако стандартные методы ионизации в ряде случаев оказываются неэффективными, т.к. большое количество фрагментов при анализе смесей делает идентификацию индивидуальных соединений чрезвычайно сложной, а подчас и невозможной. Применение лазерного излучения для отбора пробы (путём абляции) и ионизации молекул вещества исследуемого объекта является перспективным направлением в решении этой задачи. Благодаря появлению методов масс-спектрометрии с «мягкой» лазерной ионизацией, не приводящих к разрушению сложных молекул и их значительной фрагментации, исследование биоактивных соединений и их поверхностных кластеров получили новый импульс в своем развитии. В настоящее время среди методов лазерной десорбции/ионизации, в соответствии с рекомендациями IUPAC, выделяют два основных направления: МАЛДИ и ПАЛДИ (матрично- и поверх-

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты №№ 15-08-08006 и 14-08-00780

ностно-активированная масс-спектрометрия с лазерной десорбцией/ионизацией) [1].

Метод МАЛДИ дал мощный толчок к развитию наук о жизни, однако из-за сильного фона матрицы он непригоден для анализа низкомолекулярных соединений, летучих веществ и газов. Поиски универсальной матрицы с низким уровнем фона в диапазоне малых масс привели к появлению метода ПАЛДИ (surface assisted laser desorption/ ionization, SALDI), где органические соединения предварительно наносятся из раствора или адсорбируются из газовой фазы на поверхности специально приготовленной подложки – эмиттера ионов. Воздействие лазерного излучения приводит к очистке и активации поверхностного слоя, генерации фотоиндуцированных носителей в этом слое и его разогрев-разогреву, обеспечивающему десорбцию протонированных ионов анализируемых соединений. В качестве подложки и посредника в передаче энергии лазерного излучения веществу предлагается использовать кремниевые материалы, наночастицы оксидов титана, вольфрама, цинка, а также активированный уголь и графит.

Несмотря на успешное применение метода ПАЛДИ для высокочувствительного определения различных низкомолекулярных органических соединений, механизм образования ионов все ещё остается предметом дискуссий. В ПАЛДИ, ввиду существенно более низкой плотности облака десорбции, чем в МАЛДИ, взаимодействие вещества с поверхностью подложки-эмиттера может оказывать более осязаемое влияние. Режим разлёта в ПАЛДИ ближе к лазерной абляции нескольких монослоёв адсорбированного на поверхности подложки вещества [1, 2]. Возможность воспроизводимого приготовления твердотельной подложки-эмиттера ионов позволяет многократно наносить пробу и проводить количественные измерения.

Таким образом, метод ПАЛДИ является эффективным методом ионизации низкомолекулярных органических соединений, адсорбированных на поверхности, обладает чрезвычайно высокой чувствительностью, благодаря накоплению

адсорбированного анализируемого вещества на поверхности эмиттера, и позволяет анализировать летучие и газообразные вещества.

Интересным объектом для исследования методом ПАЛДИ являются биологически активные соединения, адсорбированные на шунгите, который активно используется в народной медицине в качестве носителя лекарственных соединений и адсорбента ядов [3]. Шунгитовые породы Карелии [3, 4] содержат шунгитовый углерод (от 99 до 5%), оксиды кремния и металлов, а также примеси каталитически активных соединений. В зависимости от содержания углерода различают пять разновидностей шунгитовых пород, из которых наиболее ярко выраженной адсорбционной способностью обладает шунгит третьей разновидности (шунгит-III), содержащий 20–40% углерода [3]. Особенности этого минерального сырья являются дешевизна и большие природные запасы, возможность использования в процессах сорбции, очистки и обезвреживания жидких и газообразных продуктов, химическая и каталитическая активность [4]. Необработанные шунгиты имеют низкую удельную поверхность, слаборазвитую пористость и, соответственно, низкую адсорбционную емкость. Для повышения эффективности использования минерального шунгита в качестве сорбента целесообразно проводить модифицирование его поверхности различными физико-химическими методами. Наличие комплекса гидрофильных и гидрофобных сорбентов в составе шунгита позволяет модифицировать его в водных и органических растворах, изменять его физико-химические свойства и получать новые экологически безопасные продукты и материалы [4].

Цель работы – исследование методом ПАЛДИ биологически активных соединений, адсорбированных на поверхности шунгита, модифицированного различными физико-химическими методами.

Экспериментальная часть

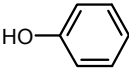
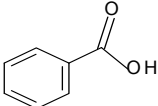
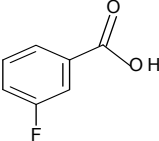
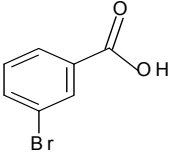
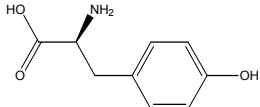
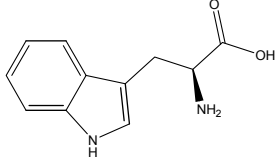
В качестве объекта исследования был выбран минеральный шунгит-III из месторождения «Загогино» (Карелия, РФ), содержащий 35% углерода и 65% неорганических соединений кремния и металлов. Для повышения дисперсности шунгит подвергался механохимическому модифицированию в планетарной шаровой размольной мономельнице Pulverisette 6 (Fritsch, ФРГ), бисерном диспергаторе Dyno-Mill (Multi Lab, Испания), ультразвуковом диспергаторе Ultrasonic Homogenizers (Hielscher Ultrasonics, ФРГ) по технологии мокрого размола и последующей дегидратации дисперсии при 100°C. В результате механохимического модифицирования шунгита удалось получить образец № 1 – пористый шунгит с преимущественным размером частиц 20-40 нм [5, 6]. Образец модифицированного шунгита № 2 был получен путем обработки образца № 1 водяным паром при 800°C. Исследование модифицированных образцов методом рентгеновского микроанализа с помощью растрового электронного микроскопа Quanta 650 FEG с полевым катодом и энергодисперсионным датчиком рентгеновского излучения (FEI, Нидерланды) позволил установить, что состав образцов отличается только количеством углерода – в образце № 1 $C_C = 75\%$ (масс.), а в образце № 2 $C_C = 0\%$ [5]. Образец № 3 получили путем модифицирования шунгита № 1 ионами серебра. Для этого шунгит выдерживался 12 ч в 0,001М растворе нитрата серебра при 25°C с добавлением формальдегида в качестве восстановителя. Методом локализованного поверхностного плазмонного резонанса установили образование наночастиц серебра в составе шунгита [7].

Модифицированные образцы шунгита были исследованы методом ПАЛДИ на времяпролётном масс-спектрометре Bruker Daltonics Ultraflex II (Bruker, Германия). Масс-спектрометр был оборудован азотным лазером ($\lambda=337$ нм). Энергия лазера – 110 мкДж. Частота импульсов составляла 20 и 50 Гц, количество импульсов варьировалась от 1 до 100. Количество выстрелов лазера для получения суммарного спектра 25 – 50. Время между выстрелами, дающими суммарный спектр, – 1 мкс. Максимальная чувствительность прибора находится на уровне $1 \cdot 10^{-10}$ моль. Исследования проводились в диапазоне масс 20–2000

дальтон (Да). Использовался режим работы прибора для регистрации положительных ионов.

Для проведения анализа исследуемый образец шунгита наносили на мишень из полированной нержавеющей стали, после чего на поверхность шунгита по каплям добавляли растворы адсорбтивов. В качестве растворителей использовали: ацетон, метанол, 2-пропанол и дихлорметан. Полученные образцы высушивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч до испарения растворителя. Для проведения масс-спектрометрических исследований использовались гелий и азот марки «осч». В качестве стандартов использовались: бензол, 1,2,4,5-тетрахлорбензол, дейтеронафталин. В качестве адсорбтивов были выбраны биологически активные вещества, приведенные в табл. 1.

Таблица 1. Структура адсорбированных биологически активных соединений

Название	Структура	Брутто-формула	Молекулярная масса, г/моль
Фенол		C ₆ H ₅ OH	94,11
Бензойная кислота		C ₇ H ₆ O ₂	122,12
м-Фторбензойная кислота		C ₇ H ₅ O ₂ F	140,03
м-Бромбензойная кислота		C ₇ H ₅ O ₂ Br	201,03
Тирозин		C ₉ H ₁₁ NO ₃	181,19
Триптофан		C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204,23

Обсуждение результатов

При облучении короткими лазерными лучами биоактивного соединения, нанесённого на поверхность шунгита, над поверхностью образца создается плотная высокотемпературная плазма, в которой, наряду с молекулами и ионами подложки, оказываются и молекулы адсорбированного соединения. Их ионизация происходит путем поглощения энергии фотонов или в результате ионно-молекулярных реакций. Для эффективной ионизации проводится предварительная активация поверхностного слоя путём обработки лазерным излучением в присутствии паров воды. Специфика метода ПАЛДИ в том, что он позволяет получать преимущественно молекулярные протонированные ионы исследуемых соединений ($M+H$).

В табл. 2 представлены основные продукты ионизации, полученные методом ПАЛДИ, при исследовании двух образцов нанодисперсного пористого шунгита, модифицированных биологически активными соединениями. По данным рентгеновского микроанализа [5], образец № 1 преимущественно содержит органический компонент (углерод), а образец № 2 – преимущественно содержит неорганический компонент (оксид кремния). Кроме того, в составе обоих образцов содержится одинаковое небольшое количество химически активных компонентов: оксидов алюминия (3,7%), железа (1,1%), титана (0,22%), кальция (0,18%), магния (0,48%), натрия, калия и переходных металлов (W, Cr, V, Mo, Co, Ga, Mn).

Адсорбируемые соединения обладают довольно сильными протоно- и электронодонорными свойствами – это фенольные соединения с электроноакцепторными заместителями в *мета*-положении, усиливающими кислотность фенолов, а также карбоновые кислоты с аминогруппами, ароматическими и гетероциклическими заместителями. Аналогичные функционализированные заместители фрагментарно входят в состав многих лекарственных препаратов [8].

Согласно результатам, приведенным в табл. 2, основной механизм передачи заряда молекулам аналита в условиях ПАЛДИ, – их ионизация катионами натрия и калия. Для всех исследованных веществ было зарегистрировано обра-

зование молекулярных ионов, их димеров и тримера (в случае тирозина), а также аддуктов с калием и натрием. Присутствие других ионов в масс-спектре объясняется наличием в образце примесей исходных соединений, использованных в процессе синтеза, побочных продуктов реакции.

Сопоставление данных, приведенных в табл. 2, позволяет заключить, что качественного различия по составу образующихся ионов в образцах №№ 1 и 2 не выявлено, т.е. отсутствие углерода в составе шунгита практически никак не влияет на ионизацию адсорбированных соединений. Такой результат может свидетельствовать о том, что данные биоактивные вещества сорбируются на неорганических компонентах шунгита. Поскольку все адсорбаты проявляют кислотность по Бренстеду и Льюису, можно предположить, что адсорбция осуществляется на неорганических компонентах шунгита, проявляющих основные или амфотерные свойства.

Практический интерес (с точки зрения очистки питьевой воды от фенола) представляло исследование взаимодействия фенола с поверхностью шунгита, модифицированного серебром (образец № 3), т.к. обработка серебром – традиционный способ придания сорбентам бактерицидных свойств.

Таблица 2. Основные продукты ионизации биоактивных соединений, адсорбированных на образцах шунгита с различным содержанием углерода

Адсорбтив	Продукты ионизации адсорбатов на шунгите	
	Образец № 1 (75% углерода)	Образец № 2 (0% углерода)
Фенол	$(C_6H_6O)H^+$ $(C_6H_6O)Na^+$ $(C_6H_6O)K^+$ $(C_6H_5ONa)Na^+$ $(C_6H_5ONa)K^+$ $(C_6H_5OK)K^+$ $2(C_6H_6O)H^+$	$(C_6H_6O)H^+$ $(C_6H_6O)Na^+$ $(C_6H_6O)K^+$ $(C_6H_5ONa)Na^+$ $(C_6H_5ONa)K^+$ $(C_6H_5OK)K^+$ $2(C_6H_6O)H^+$
Бензойная кислота	$(C_7H_6O_2)H^+$ $(C_7H_5O_2Na)K^+$ $(C_7H_5O_2K)Na^+$	$(C_7H_6O_2)H^+$ $(C_7H_5O_2Na)K^+$ $(C_7H_5O_2K)Na^+$ $(C_7H_5O_2K)K^+$ $(C_{14}H_8O_4K_2)Na^+$

Адсорбтив	Продукты ионизации адсорбатов на шунгите	
	Образец № 1 (75% углерода)	Образец № 2 (0% углерода)
Фторбензойная кислота	$(C_{14}H_9O_4FK)Na^+$ $(C_7H_5O_2)^+$ $(C_7H_5O_2F)H^+$ $(C_7H_5O_2F)K^+$ $(C_7H_4O_2FK)K^+$	$(C_{14}H_9O_4FK)Na^+$ $(C_7H_5O_2)^+$ $(C_7H_5O_2F)H^+$ $(C_7H_5O_2F)K^+$ $(C_7H_4O_2FK)K^+$
Бромбензойная кислота	$(C_7H_5O_2Br)H^+$ $(C_7H_5O_2Br)Na^+$ $(C_7H_5O_2Br)K^+$ $(C_7H_4O_2BrK)Na^+$ или $(C_7H_4O_2BrNa)K^+$ $(C_7H_4O_2BrK)K^+$ $2(C_7H_5O_2Br)K^+$ $(C_{14}H_9O_4Br_2Na)K^+$	$(C_7H_5O_2Br)K^+$ $(C_7H_4O_2BrK)Na^+$ или $(C_7H_4O_2BrNa)K^+$ $(C_7H_4O_2BrK)K^+$
Тирозин	$(TyroK)K^+$ $(TyroK_2)K^+$ $3(Tyro)H^+$	$(TyroK)K^+$ $TyroH^+$ $(TyroNaK)H^+$
Триптофан	$(Trupto)H^+$ $(Trupto)Na^+$ $(Trupto)K^+$ $(TruptoNa)K^+$ и/или $(TruptoK)Na^+$ $(TruptoK)K^+$	$(Trupto)Na^+$ $(Trupto)K^+$ $(TruptoNa)K^+$ и/или $(TruptoK)Na^+$ $2(Trupto)K^+$ $(TruptoK-Trupto)K^+$

На рис. 1 приведен спектр ПАЛДИ, полученный с модифицированных фенолом образцов шунгита № 1 (б) и № 3 (а). Было обнаружено, что ионизация наночастиц серебра на модифицированном шунгите затруднена, по сравнению с инертной подложкой. Это свидетельствует о малой десорбции серебра с поверхности носителя. Основными продуктами ионизации фенола на поверхности как исходного шунгита, так и модифицированного серебром, являются молекулярный ион, заряженные аддукты фенола с натрием и калием, протонированная молекула димера фенола. Тенденции образования аддуктов с щелочными металлами у димера не наблюдается. Кластеров состава $(nM \cdot Ag^+)$, содержащих молекулы фенола и серебра, также обнаружено не было.

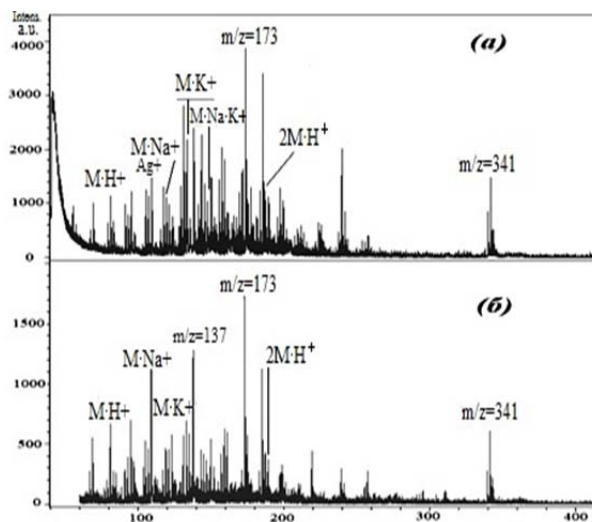


Рис.1. Спектр ПАЛДИ, полученный с поверхности шунгита, модифицированного фенолом: *a* – шунгит № 3, выдержанный в растворе соли серебра, *b* – исходный шунгит № 1. *M*– молекула фенола.

Таким образом, ионы серебра практически не влияют на ионизацию сорбированных молекул фенола и не взаимодействуют с ними, а значит, модифицирование шунгита серебром никак не может повлиять на процессы деструкции фенолов и дезактивации загрязненной ими воды. Вместе с тем обнаружено, что шунгит, модифицированный наночастицами серебра, может быть с успехом использован в качестве дешевого носителя серебра при получении лекарственных материалов бактерицидного действия. К тому же низкая десорбция серебра с поверхности шунгита позволит избежать потерь металла во время регенерации шунгита.

Литература

1. Алимпиев С.С., Гречников А.А., Никифоров С.М. Новые подходы в лазерной масс-спектрометрии органических объектов // Успехи физических наук. 2015. Т. 185. № 2. С.207-212.
2. Гончарова И.С., Пыцкий И.С., Буряк А.К. Применение масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией для исследования кластеров свинца на поверхностях различного типа // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т.50. № 6. С. 591-601.
3. Шунгиты – новое углеродистое сырье / Под ред. В. А. Соколова, Ю. К. Калинина, Е. Ф. Дюккиева. Петрозаводск: Карелия, 1984, 182 с.

4. Шунгиты Карелии и пути их комплексного использования / Под ред. В. А. Соколова, Ю. К. Калинина. Петрозаводск: Карелия, 1975, 246 с.
5. Полунина И.А., Гончарова И.С., Высоцкий В.В., Петухова Г.А., Полунин К.Е., Ульянов А.В., Буряк А.К. Модифицирование шунгитового материала для применения в сорбции и мембранной технологии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2016. Т.16. № 2. С. 234-240.
6. Полунина И.А., Гончарова И.С., Высоцкий В.В., Петухова Г.А., Полунин К.Е., Буряк А.К. Новый сорбционный материал для применения в сорбции и мембранной технологии // Материаловедение. 2016. № 9. С. 124-127.
7. Сергеев Г.Б. Нанохимия. М: МГУ, 2003, 288 с.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х томах. Изд-е 14-е. М.: ООО «Новая волна», 2002.