

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
ПОВЕРХНОСТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК: 544.7

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ ПОВЕРХНОСТЕЙ:
ВЛИЯНИЕ СПОСОБА НАНЕСЕНИЯ ВЕЩЕСТВА-МАРКЕРА НА
КАЧЕСТВО ПОЛУЧАЕМЫХ ДАННЫХ

© 2022 г. И. С. Пыцкий^{a,*}, Е. С. Кузнецова^a, А. К. Буряк^a

^aФедеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина, Москва, Россия

*e-mail: ivanpic4586@gmail.com

Поступила в редакцию 05.11.2021 г.

После доработки 08.11.2021 г.

Принята к публикации 10.11.2021 г.

Исследованы возможности масс-спектрометрического имиджинга поверхностей конструкционных материалов методом ПАЛДИ. Описано исследование по поиску оптимального вещества-маркера. Показано, что соли никеля и меди не подходят для решения поставленной задачи. Хорошую воспроизводимость сигнала по поверхности показали хлорид, бромид и иодид серебра, масс-спектры которых состоят из большого набора пиков кластерных ионов. Кроме этого, галогениды серебра обладают высоким сечением ионизации. При этом лучшая воспроизводимость обнаружена у нитробензойных кислот, что обусловлено устойчивым ароматическим циклом в молекуле и мягкостью ионизации используемым методом. Также показано, что наиболее равномерное распределение вещества-маркера по поверхности достигается методом погружения образца в его раствор. Методы одной капли и распыления тоже могут быть применены при некоторой их модификации.

Ключевые слова: имиджинг, масс-спектрометрия, поверхностное распределение, диаграмма поверхности

DOI: 10.31857/S0044453722050260

Масс-спектрометрический имиджинг поверхности — одно из важных направлений масс-спектрометрических исследований, позволяющее получать уникальные данные о составе поверхности и распределении соединений в тонких пленках. Имиджинг используют как для высокомолекулярных соединений, так и для соединений низких молекулярных масс. Последние достижения в области масс-спектрометрического имиджинга рассмотрены в работе [1]. Широкое использование имиджинга МАЛДИ обусловлено, прежде всего, универсальностью масс-спектрометрии по отношению к определяемым соединениям и возможностью МАЛДИ-ионизации получать масс-спектры из каждой точки поверхности. Наиболее распространены работы по анализу содержания различных соединений в животных тканях для гистологии [2], поиска патологий [3] и других исследований клинической направленности [3, 4].

Масс-спектрометрия МАЛДИ обладает всеми достоинствами масс-спектрометрических методов, такими как высокая чувствительность (на уровне фемтограмм вещества [6, 7]), широкий диапазон определяемых соединений, начиная от

низкомолекулярной органики [8, 9] и вплоть до самых высокомолекулярных белков и промышленных полимеров [10–12]. В то же время методы масс-спектрометрии поверхности обладают рядом характерных недостатков, большая часть которой связана с проблемами равномерного нанесения образца на поверхность, что затрудняет количественный анализ и требует особых способов пробоподготовки и модификации оборудования [13–15].

Одна из мало исследованных областей применения метода МАЛДИ — исследование состояния поверхностей большой толщины и поиск поверхностных загрязнений. В научной литературе по исследованию поверхностей описаны только методы исследования тонких пленок [16, 17]. Авторами предложен вариант исследования морфологии поверхности с использованием вещества-маркера [18, 19]. В указанных работах показано, что вещество-маркер может быть использовано в качестве детектора химической однородности поверхности. При этом необходимым условием для получения верного отображения является нивелирование неравномерностей распределения

Таблица 1. Используемый режим лазерного излучения для исследования распределения различных веществ-маркеров на поверхности

Вещество-маркер	E , мкДж/импульс	F , Гц
Хлорид серебра	30–35	20
Бромид серебра	30–35	20
Иодид серебра	30–35	20
Нитробензойная кислота	50–55	20
Динитробензойная кислота	45–50	20
Хлорид никеля	70–80	20
Хлорид меди	70–80	20

Обозначения: E – энергия лазерного излучения, F – частота импульсов

вещества не связанных с морфологией поверхности. К таким эффектам может приводить неравномерная кристаллизация вещества. Эффект связан прежде всего с неправильным выбором растворителя, а также способом нанесения. Помимо этого важную роль играет само вещество-маркер. В работе проведено систематическое исследование по выявлению влияния указанных факторов и разработке методов их нивелирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для проведения масс-спектрометрической визуализации в работе использовали масс-спектрометр лазерной десорбции/ионизации Bruker Daltonics Ultraflex с времяпролетным масс-анализатором. Ионизацию проводили импульсным азотным лазером с рабочей длиной волны 337 нм. Энергия одного импульса варьировалась от 20 до 110 мкДж. Количество импульсов – от 1 до 100. Частота импульсов – от 20 до 150 Гц. Подбор режима для визуализации конкретного соединения проводился отдельно в каждом эксперименте.

Для выполнения пробоподготовки использовали различные вещества-маркеры: галогениды серебра (сухие соли, Реахим, Россия), нитробензойная и динитробензойная кислоты (99.9%, Sigma-Aldrich, Германия), хлорид никеля (Реахим, Россия), хлорид меди (Реахим, Россия).

В качестве растворителей использовали воду (деионизированная класса Milli-Q, не менее 18 МОм), дихлорметан (Panreac, Испания), ацетонитрил (JT Baker, США), спирт этиловый (96% Ферейн), ацетон (Реахим, Россия).

Растворители выбирали как наиболее распространенные и легко доступные для лаборатории.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Подбор частоты и энергии лазерного излучения

В начале исследования для каждого соединения-маркера подбирали условия наблюдения в масс-спектре. Требовалась относительно высокая чувствительность к соединению-маркеру и к изменениям его концентрации на поверхности. Таким образом, задача сводилась к определению максимума производной $\Delta I/\Delta c$, где I – интенсивность пика соединения маркера в масс-спектре, c – концентрация вещества-маркера на поверхности материала в пересчете на единицу площади. Результаты исследования и математической обработки полученных результатов показаны в табл. 1. Из табл. 1 видно, что наиболее эффективно ионизация проходит для галогенидов серебра, так как для их ионизации требуется наименьшая энергия. В то же время динамический диапазон очень мал, так как при энергиях выше 60 мкДж происходит зашкаливание сигнала. При этом галогениды серебра генерируют широкий набор пиков кластерных ионов в масс-спектре с различным сечением ионизации (рис. 1). При этом любой из них можно использовать для определения изменений концентрации на поверхности.

Нитробензойные кислоты показывают несколько меньшую эффективность ионизации, что позволяет использовать их в более широком динамическом диапазоне концентраций. Также масс-спектры нитробензойных кислот состоят лишь из пика молекулярного иона и нескольких малоинтенсивных ионов-фрагментов.

Хлориды никеля и меди показывают наименьшую эффективность ионизации и при этом большой набор кластерных ионов-аддуктов с водой и щелочными металлами. Варьирование концентраций на поверхности этих солей показало, что интенсивность ионов-аддуктов мало зависит от концентрации вещества-маркера, что крайне ограничивает область применения указанных соединений.

Из табл. 1 также можно видеть, что частота лазерных импульсов выбрана одинаковой для всех исследуемых соединений в связи с тем, что эффективность ионизации мало зависит от частоты и максимальная при 20 Гц вне зависимости от исследуемого соединения-маркера.

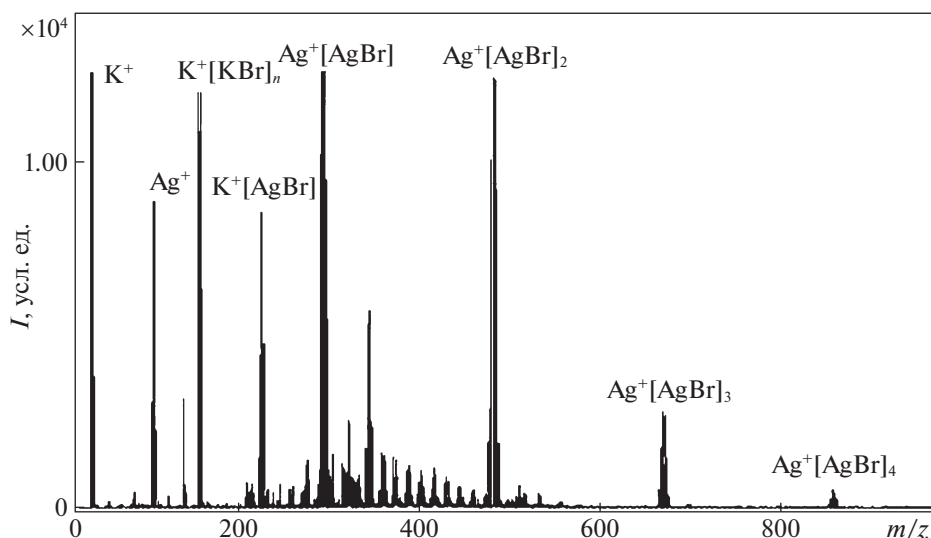


Рис. 1. Масс-спектр ПАЛДИ бромида серебра зарегистрированный с поверхности нержавеющей стали в режиме положительных ионов.

По настоящему разделу можно сделать вывод, что галогениды серебра можно использовать с наименьшими рабочими концентрациями, в то время как для использования метода с нитробензойными кислотами потребуются концентрации на несколько порядков больше.

Выбор оптимальной концентрации вещества-маркера

Подбор оптимальной концентрации вещества-маркера является важным параметром при построении диаграмм поверхности. Концентрация определяет интенсивность и качество пиков, используемых для количественного анализа. При этом требования к таким пикам следующие:

- пик должен иметь интенсивность на середине рабочей шкалы масс-спектрометра;
- пик должен адекватно отражать изменение концентрации вещества на поверхности в данной точке;
- ширина пика должна быть такой, чтобы не перекрывать соседние изотопные пики;
- область в районе пика не должна иметь значимого химического шума.

Для создания диаграмм поверхности были выбраны характеристические пики для каждого вещества-маркера. Эти пики указаны в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что в качестве вещества-маркера наиболее перспективно использование одного из галогенидов серебра, так как эти соединения образуют широкий набор кластерных ионов, имеющих большую молекулярную массу. В этом случае гарантируется отсутствие значимого химического шума. Кроме того, в случае невозмож-

ности использования одного основного пика всегда можно использовать дополнительный (правый столбец табл. 2). Галогениды серебра также имеют высокое сечение ионизации и чувствительность к изменению поверхностной концентрации [20].

Нитробензойные кислоты широко используются для отмывки топливных баков ракетопостроителей от токсичных компонентов ракетного топлива и могут быть легко обнаружены на алюми-

Таблица 2. Характеристические пики для исследуемых веществ-маркеров (в скобках указан режим регистрации масс-спектров “+” – положительный, “–” – отрицательный)

Вещество-маркер	Основной пик, Да	Вспомогательный пик, Да
Хлорид серебра	394.67 (+)	538.55 (+)
	322.74 (–)	464.61 (–)
Бромид серебра	482.55 (+)	670.37 (+)
	454.56 (–)	642.38 (–)
Иодид серебра	576.52 (+)	812.33 (+)
	596.52 (–)	830.33 (–)
Нитробензойная кислота	166.01 (–)	–
Динитробензойная кислота	211.00 (–)	–
Хлорид никеля	–	–
Хлорид меди	–	–

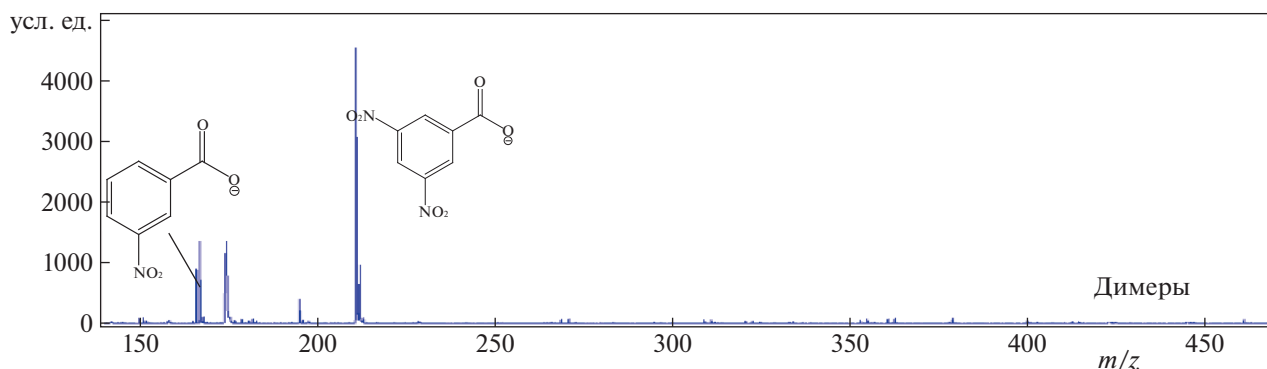


Рис. 2. Масс-спектр смеси нитробензойных кислот на поверхности алюминиевого сплава АМг-6 в режиме регистрации отрицательных ионов.

ниевых поверхностях топливных баков [21]. Было показано, что помимо молекулярных ионов в масс-спектрах нитробензойных кислот обнаруживаются фрагментные ионы $M-COOH$, $M-H_2O$, а также кластерные ионы молекулярных димеров (рис. 2). Такие ионы являются характерными для органических кислот и в ряде случаев могут использоваться как вспомогательные для исследования поверхности. В нашем исследовании при изменении концентраций нитробензойных кислот менялось соотношение фрагментных ионов. Этот факт показывает, что фрагментные ионы не могут адекватно отражать изменение количества вещества на поверхности.

Хлорид никеля как и другие неорганические соли склонен к кластерообразованию в условиях ионизации методом ПАЛДИ, как и многие другие неорганические соли.

Из рис. 3 видно, что кластерные ионы представляют собой ассоциаты друг с другом и с хлоридом калия, который попадает в область ионизации из используемой воды. Несмотря на степень чистоты воды (Mili-Q grade), в ней содержится несколько пикограмм на литр солей калия и натрия. Эти примеси активно ассоциируются с молекулами растворенной соли. Эксперименты показали, что относительные интенсивности пиков таких кластеров меняются не только с концентрацией, но и зависят от свойств поверхности в конкретной точке. При этом ни один пик не отражает количественное содержание на поверхности. Данный факт связан с влиянием количества соли и типа поверхности на степень фрагментации. С одной стороны эту соль можно использовать для поиска поврежденных участков поверхности, однако при этом трудно найти количественную характеристику, которая будет отражать изменение фрагментации. Хлорид никеля является перспективным веществом и может

быть использован, как маркер состояния поверхности, но в контексте данной работы для исследования не подходит, так как на этом этапе требуется точная количественная характеристика концентрации вещества на поверхности.

Как показали исследования, использование хлорида меди в качестве вещества-маркера представляется малоперспективным. Обнаружено, что хлорид меди образует кластерные ионы в диапазоне до 100 Да, т.е. в области наибольшего химического шума. Кластерные ионы образуют ассоциаты с молекулами воды и плохо отражают количественные характеристики. Кроме этого, ионы хлорида меди имеют низкое сечение ионизации, а следовательно плохо отражают малое изменение количества вещества на поверхности.

По итогам исследования в качестве веществ-маркеров выбраны все галогениды серебра, нитробензойная кислота и динитробензойная кислота.

Имиджинг металлических поверхностей

Главным недостатком использования метода масс-спектрометрического имиджинга для исследования однородности морфологии поверхности является неравномерное нанесение вещества-маркера связанное с неравномерной кристаллизацией его из раствора на поверхности. При таком нанесении становится невозможным различение перепадов концентрации связанных с кристаллизацией и с морфологией поверхности. Необходимо использование метода нанесения на поверхность, гарантирующего равномерное нанесение. В данном случае встает вопрос о способе контроля равномерности. Авторам представляется наиболее целесообразным использование для этого масс-спектрометрического имиджинга на модельной инертной поверхности. В качестве такой поверхности возможно использование плашки для образца

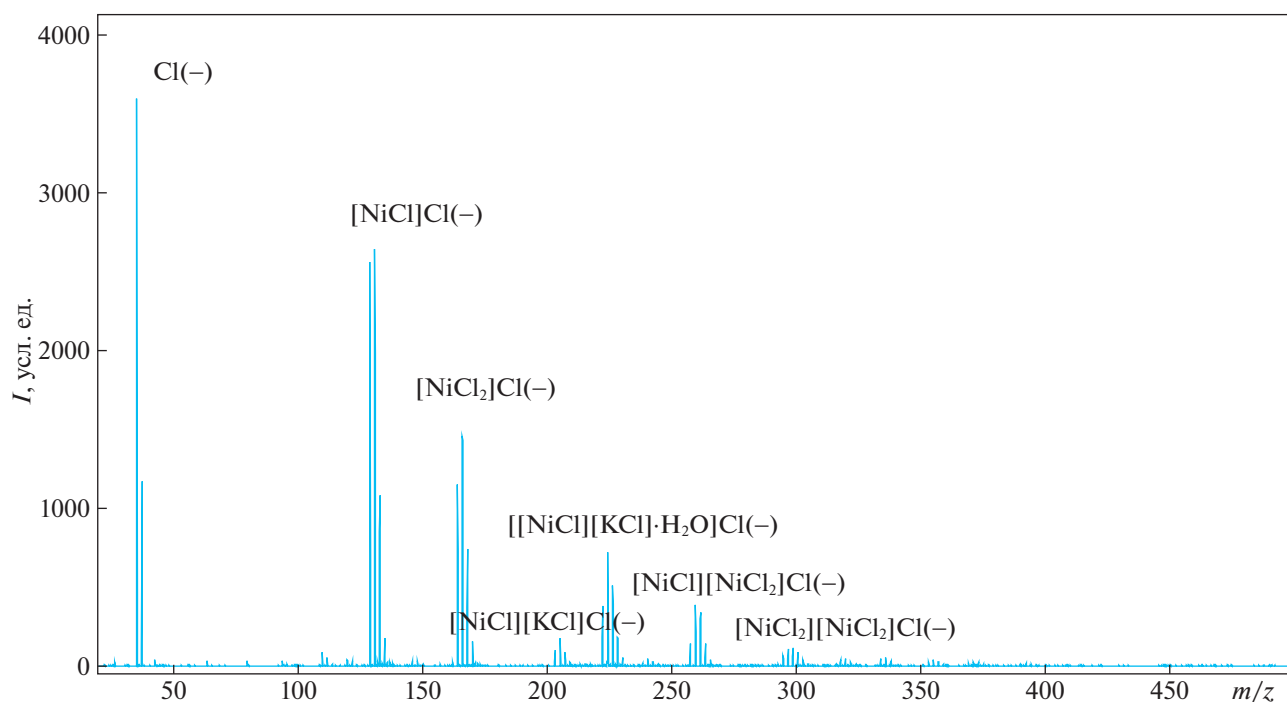


Рис. 3. Масс-спектр хлорида никеля на поверхности алюминиевого сплава АМг-6 в режиме регистрации отрицательных ионов.

используемой в ПАЛДИ-масс-спектрометре. Поверхность этой плашки подготовлена для наиболее равномерного нанесения образца и имеет однородную морфологию по всей площади поверхности. При нанесении разными методами вещества-маркера имиджинг на такой поверхности покажет степень равномерности нанесения и исключит все отклонения сигналов, связанные с неравномерной морфологией поверхности.

Проводили тестирование нескольких методов нанесения веществ-маркеров: распыление раствора вещества маркера в виде аэрозоля на поверхность, нанесение одной субмикродропной капли, погружение поверхности в раствор вещества-маркера.

Из трех изученных методов сразу исключили метод одной капли, так как по данным имиджинга кристаллизация активно шла у краев капли, что значительно нарушало равномерность распределения.

Из рис. 4 видно, что кристаллизация активно идет по краям капли и локально в ее центре. Разброс интенсивности молекулярного пика от точки к точке составляет 30–35%.

Значительно лучшие результаты для всех веществ-маркеров показал метод распыления раствора по поверхности.

На рис. 5 показан результат имиджинга поверхности при нанесении суспензии иодида серебра путем распыления на поверхность. Видно, что распределение крайне неравномерно и концентрация уменьшается от центра к периферии.

По итогам исследования полученные данные сведены в табл. 3.

Из табл. 3 можно видеть, что стандартное отклонение сигнала по поверхности наименьшее при использовании метода погружения образца. При этом другими методами тоже можно добиться более равномерного нанесения. Например, при использовании метода капли можно увеличить ее размер и проводить имиджинг внутри капли на расстоянии от краев. При таком подходе удается улучшить стандартное отклонение сигнала до 10–12%. В то же время добиться наилучшей воспроизводимости методом распыления можно при многократном распылении на одну область поверхности. Здесь, однако, важным фактором является количество наносимой пробы и число распылений. При увеличении числа распылений можно добиться большей равномерности распределения. Также при увеличении количества распыляемого вещества-маркера происходит перегрузка поверхности и, как следствие, снижение эффективности ионизации при проведении масс-спектрометрического имиджинга.

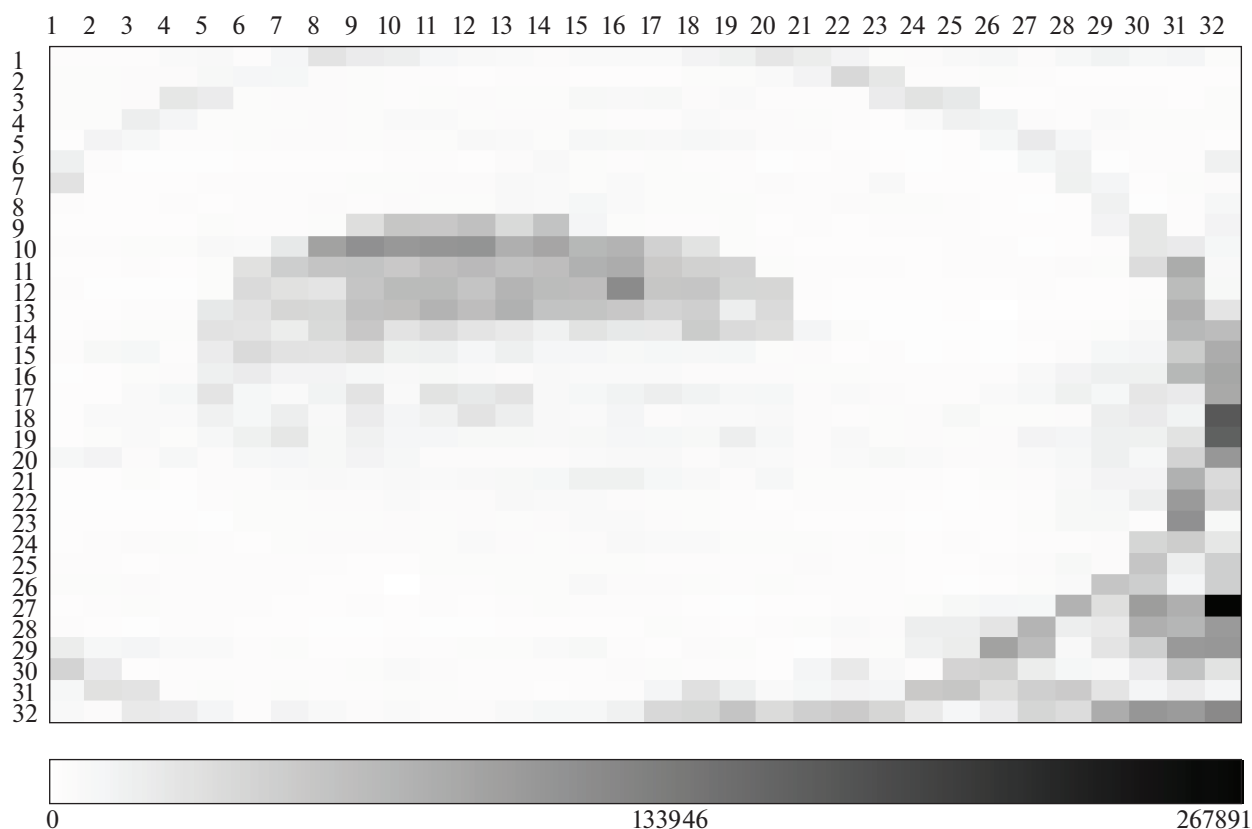


Рис. 4. Имиджинг нитробензойной кислоты на поверхности инертной нержавеющей стали, нанесенной методом одной капли. Визуализация по молекулярному иону 166 Да. Отрицательная полярность.

Следует отметить, что при использовании неорганических солей общий разброс значений интенсивности пика в среднем больше, чем для нитробензойных кислот. Это связано с многостадийной фрагментацией кластерных ионов галогенидов серебра при ионизации. Замечено, что при импульсной ионизации фрагментация ионов подстегива-

ется каждым последующим импульсом и продолжается не только в процессе импульсной ионизации, но и в масс-анализаторе при разделении ионов [22]. Ионизация нитробензойных кислот дает гораздо меньшую фрагментацию, как и другие ароматические соединения в “мягких” условиях. Соответственно, фрагментация более

Таблица 3. Воспроизводимость сигнала при имиджинге поверхности с использованием различных методов нанесения

Вещество-маркер	Нанесение капли	Распыление	Погружение
	S, %		
Хлорид серебра	30–35	20–25	10–15
Бромид серебра	25–30	25–30	10–15
Иодид серебра	30–35	20–25	10–15
Нитробензойная кислота	25–30	15–20	5–10
Динитробензойная кислота	25–30	15–20	5–10

Обозначения: S – стандартное отклонение.

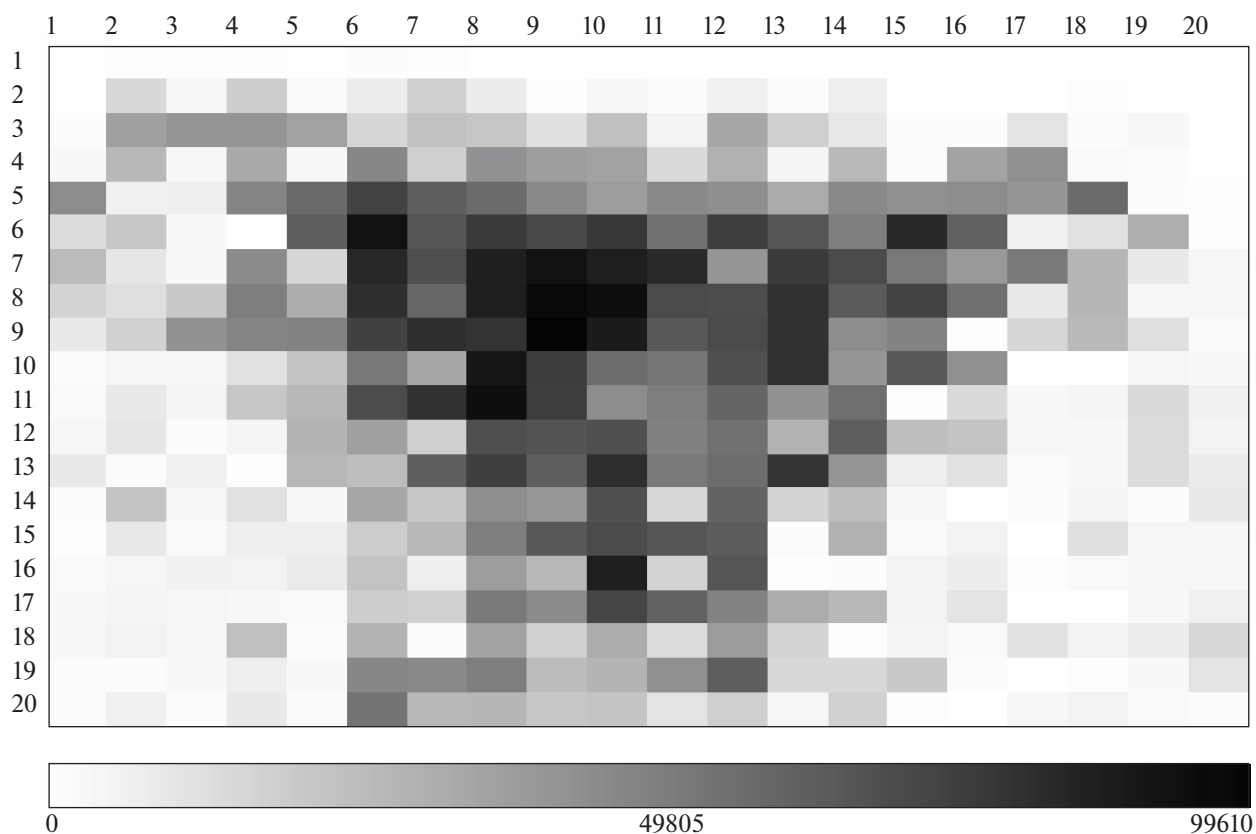


Рис. 5. Имиджинг иодида серебра на поверхности инертной нержавеющей стали, нанесенной методом распыления. Визуализация по молекулярному иону 576.5 Да. Положительная полярность.

воспроизводима. Благодаря правильно подобранному методу нанесения с использованием нитробензойных кислот возможно получение наилучшей воспроизводимости для применения метода к имиджингу конструкционных материалов.

Таким образом, в настоящем исследовании были изучены различные способы нанесения вещества-маркера на поверхность металлического материала для проведения имиджинга и оценки однородности морфологии. Метод уже востребован для исследования повреждения алюминиевых поверхностей топливных баков российских ракетносителей после слива высокотоксичных компонентов ракетного топлива. Показано, что наиболее равномерного нанесения без усложнения пробоподготовки можно добиться методом полного погружения фрагмента материала в раствор или суспензию вещества-маркера. В качестве веществ-маркеров использовали три галогенида серебра, нитробензойную кислоту, динитробензойную кислоту. Наилучшие результаты были получены при использовании нитробензойных кислот с нанесением их на поверхность погружением в раствор.

По итогам этой работы разработан метод нанесения вещества-маркера на поверхность конструкционных материалов для исследования морфологии поверхности в режиме масс-спектрометрического имиджинга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rzagalinski I., Volmer D.A.* // *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics*. 2017. V. 1865. № 3. P. 726.
2. *Klein O., Kanter F., Kulbe H., Jank P. et al.* // *Proteomics Clin. Appl.* 2019. V. 13. № 1. P. 170.
3. *Angel P.M., Schwaborn K., Comte-Walters S. et al.* // *Proteomics Clin. Appl.* 2019. V. 13. № 2. P. 152.
4. *Bednařík A., Preisler J., Bezdeková D. et al.* // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. № 8. P. 6245.
5. *Thomas A., Chaurand P.* // *Bioanal.* 2014. V. 6. № 12. P. 967.
6. *Mikšík I.* // *J. Sep. Sci.* 2019. V. 42. № 4. P. 385.
7. *Berthod A., Ruiz-Ángel M.J., Carda-Broch S.* // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1559. № 2. P. 1522.
8. *Calvano C.D., Monopoli A., Cataldi T.R., Palmisano F.* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. V. 410. № 6. P. 4015.
9. *Wang P., Giese R.W.* // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1486. № 1. P. 35.

10. Hou T.Y., Chiang-Ni C., Teng S.H. // J. Food Drug Anal. 2019. V. 27. № 8. P. 404.
11. Ryan D.J., Spraggins J.M., Caprioli R.M. // Curr. Opin. Chem. Biol. 2019. V. 48. № 3. P. 64.
12. Leopold J., Popkova Y., Engel K.M., Schiller J. // Bio-molecules. 2018. V.8. № 7. P. 173.
13. Darebna P., Spicka J., Kucera R. et al. // Clin. Chem. 2018. V. 64. № 6. P. 1319.
14. Diesner M., Neupert S. // Anal. Chem. 2018. V. 90. № 9. P. 8035.
15. Liu Z., Zhang P., Kästner L., Volmer D.A. // J. Mass Spectrom. 2019. V. 54. № 4. P. 878.
16. Saigusa D., Saito R., Kawamoto K. et al. // Anal. Chem. 2019. V. 91. № 11. P. 8979.
17. Endres K.J., Hill J.A., Lu K. et al. // Anal. Chem. 2018. V. 90. № 5. P. 13427.
18. Iartsev S.D., Matyushin D.D., Pytskii I.S. et al. // Surf. Innov. 2018. V. 6. № 4. P. 244.
19. Pytskii I.S., Minenkova I.V., Kuznetsova E.S. et al. // Pure Appl. Chem. 2020. V. 92. № 8. P. 1227.
20. Пыцкий И.С., Кузнецова Е.С., Буряк А.К. // Коллоидн. журн. 2018. Т. 80. № 4. С. 445.
21. Ярцев С.Д., Пыцкий И.С., Белова А.К., Буряк А.К. // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 1. С. 46.
22. Пыцкий И.С., Буряк А.К. // Физикохим. поверх. и заш. матер. 2014. Т. 50. № 1. С. 94.