

На правах рукописи



Гречников Александр Анатольевич

**МЕТОД ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИИ/ИОНИЗАЦИИ НА ПОВЕРХНОСТИ
КРЕМНИЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ
СОЕДИНЕНИЙ**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
доктора химических наук

Москва - 2019

Работа выполнена в лаборатории инструментальных методов и органических реагентов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН).

Официальные оппоненты: Шпигун Олег Алексеевич, чл.-корр. РАН, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова (МГУ)

Буряк Алексей Константинович, доктор химических наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина Российской академии наук (ИФХЭ РАН).

Ищенко Анатолий Александрович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии имени И.П.Алимарина Института тонких химических технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "МИРЭА-Российский технологический университет".

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л.Тальрозе Российской академии наук (ИНЭПХФ РАН им. В.Л.Тальрозе).

Защита состоится « » 2019 г. на заседании Диссертационного совета Д.002.109.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институте геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН) по адресу: 119991, Москва, ул. Косыгина 19.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГЕОХИ РАН и на сайте Института: http://intranet.geokhi.ru/Thesis/2019/Докторские/Гречников/диссертация_Гречников_AA.pdf Текст автореферата размещен на сайте ВАК России <http://vak.ed.gov.ru/>

Автореферат разослан « » 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



Елена Александровна Захарченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Масс-спектрометрические методы, основанные на ионизации атомов или химических соединений и детектировании образующихся ионов, относятся к числу наиболее информативных методов анализа, позволяющих решать самые сложные задачи в различных областях науки и техники. Важное место в современной масс-спектрометрии органических соединений занимают методы лазерной десорбции/ионизации, разработка которых началась в 70-е годы прошлого века и интенсивно продолжается в настоящее время. В ходе развития лазерной десорбционной масс-спектрометрии выделилось два подхода к ионизации определяемых соединений. Первый из них, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI), основан на использовании матриц – нелетучих низкомолекулярных органических соединений, хорошо поглощающих лазерное излучение. MALDI сыграл особую роль в развитии масс-спектрометрии высокомолекулярных соединений и остается одним из основных методов определения таких аналитов.

Второй подход – лазерная десорбция/ионизация, активированная поверхностью (SALDI), базируется на использовании наночастиц или специально приготовленных подложек, хорошо поглощающих лазерное излучение, в качестве средства для ионизации органических соединений. В рамках метода анализируемую пробу наносят на поверхность наночастиц или специально приготовленной подложки, после чего воздействуют излучением импульсного лазера. Ионы, образующиеся в результате лазерной десорбции/ионизации, детектируются в масс-анализаторе. Важный стимул развития метода заключался в решении задачи определения органических и биоорганических соединений с относительно низкими молекулярными массами.

Отдельным вариантом SALDI является лазерная десорбция/ионизация на поверхности кремниевых материалов и, в частности, пористого кремния. Высокая чувствительность при определении различных классов органических соединений, «мягкая» ионизация с низкой степенью фрагментации ионов, простота исполнения характеризуют его как исключительно перспективный вариант лазерной масс-спектрометрии, который может быть использован для решения широкого круга актуальных задач аналитической химии, медицины, экологии, обеспечения безопасности и многих других. Однако, несмотря на достигнутые успехи метода, существует ряд проблем на пути его дальнейшего развития.

Уже с начальных этапов развитие SALDI базировалось, в основном, на применении серийных лазерных масс-спектрометров, оборудованных ионным источником MALDI. Широкое распространение MALDI масс-спектрометров, с одной стороны, способствовало развитию метода SALDI, но, с другой стороны, во многом предопределило основное направление этого развития – определение

нелетучих органических и биоорганических соединений с относительно низкими молекулярными массами. К числу низкомолекулярных относится большое количество важных на практике соединений, которые характеризуются относительно высокой летучестью или могут быть сравнительно легко переведены в газовую фазу путем нагрева. Традиционные варианты SALDI мало пригодны для их определения. Введение таких соединений в сферу аналитических задач, решаемых с помощью лазерной десорбции/ионизации, является важным и актуальным направлением развития метода SALDI.

Одной из наиболее сложных проблем в методе SALDI является проблема низкой воспроизводимости результатов анализа. Трудность количественного анализа связана, в первую очередь, с тем, что эффективность ионизации в SALDI критическим образом зависит от физико-химического состава поверхности эмиттера ионов. Разработка новых подходов, позволяющих проводить количественный анализ образцов сложного состава методом SALDI, представляет большой практический интерес.

Актуальной является также задача разработки новых теоретических представлений о механизме лазерной десорбции/ионизации органических соединений на поверхности кремниевых материалов. Известные из литературы модели SALDI, в которых существенная роль в процессе образования ионов отводится растворителю и особенностям структуры кремниевой подложки, предложены для описания процессов, протекающих при анализе растворов аналитов, и не согласуются с данными, полученными при определении летучих соединений.

Разработка новых теоретических и экспериментальных подходов к определению летучих соединений открывает перспективы дальнейшего развития традиционного для метода SALDI направления - анализа растворов нелетучих аналитов. В рамках этого развития можно выделить такие актуальные задачи, как создание новых, более эффективных вариантов аппаратного обеспечения метода; улучшение метрологических характеристик метода; увеличение количества классов химических соединений, которые можно детектировать с высокой чувствительностью методом SALDI.

Цели и задачи работы

Разработка новых подходов и научных основ метода лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов для высокочувствительного количественного определения летучих органических соединений и дальнейшее развитие метода для определения нелетучих органических соединений в пробах сложного состава.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- Теоретическое и экспериментальное исследование основных факторов, определяющих эффективность лазерной десорбции/ионизации, активированной

поверхностью: физико-химических свойств материала подложки – эмиттера ионов, параметров лазерного излучения и химических свойств определяемых соединений.

- Разработка модели, описывающей процессы лазерно-индуцируемой ионизации и десорбции химических соединений на поверхности кремниевых материалов.

- Разработка новых способов формирования активного поверхностного слоя кремниевых подложек, обеспечивающих высокую воспроизводимость ионизационных свойств эмиттеров ионов и высокую чувствительность анализа.

- Создание новых вариантов приборной реализации метода, основанных на сочетании времяпролетного масс-анализатора, оборудованного ионным источником SALDI, с термодесорбционным методом и газовой хроматографией.

- Разработка методов высокочувствительного количественного определения летучих органических соединений и оценка основных аналитических характеристик методов – эффективности ионизации, предела обнаружения, чувствительности, воспроизводимости и динамического диапазона.

- Исследование системы ввода пробы, позволяющей согласовать импульсный режим лазерной десорбции/ионизации с непрерывным отбором пробы из газовой фазы и разработка на этой основе метода on-line анализа газовых сред, и в частности, атмосферного воздуха.

- Развитие новых методологических подходов и инструментальных вариантов метода SALDI для количественного определения нелетучих химических соединений.

- Обоснование и исследование путей дальнейшего развития лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов, позволяющих улучшить метрологические характеристики метода и увеличить количество классов химических соединений, которые можно детектировать с высокой чувствительностью.

Научная новизна

В работе развивается новое направление лазерной масс-спектрометрии – лазерная десорбция/ионизация, активированная кремниевой поверхностью, для определения летучих органических соединений. Развитие направления состоит в разработке теоретических представлений о механизме лазерной десорбции/ионизации на кремниевых поверхностях; создании новых приборов и устройств для инструментальной реализации метода; разработке методов количественного анализа органических соединений в различных пробах.

В результате исследований получены следующие новые результаты.

Установлены зависимости эффективности ионизации органических соединений в условиях лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов от плотности энергии лазерного излучения, давления паров воды в ионном источнике масс-спектрометра, молекулярной массы и величины

основности аналитов в газовой фазе. Найдены оптимальные значения этих параметров для определения летучих органических соединений.

Определена роль факторов, влияющих на протекание процессов лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов: морфологии поверхности и структуры приповерхностного слоя, химического состава поверхности, лазерного излучения, паров воды, химических свойств аналита. Предложена модель, которая описывает процессы ионизации с переносом протона и десорбции ионов.

Предложены новые эмиттеры ионов и разработаны простые способы их формирования, обеспечивающие однородность и высокую воспроизводимость ионизационных свойств, а также высокую чувствительность анализа.

Разработаны методы количественного определения органических соединений, основанные на сочетании лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов с термодесорбционным методом и газовой хроматографией. Определены основные аналитические параметры разработанных методов на примере определения ряда лекарственных соединений и фенилалкиламинов, изучены закономерности фрагментации аналитов. Методы апробированы для анализа биологических жидкостей.

Разработан метод определения органических соединений в атмосферном воздухе, позволяющий осуществлять непрерывный контроль химического состава атмосферы. Создан генератор микропотока паров химических соединений на основе массочувствительных кварцевых пьезорезонаторов. Формируемый микропоток паров веществ используется в условиях on-line анализа воздуха и других газовых сред.

Разработан способ количественного анализа растворов нелетучих органических соединений. Найдены его основные аналитические характеристики при определении ряда лекарственных веществ.

Исследованы новые варианты приборной реализации лазерной десорбции/ионизации, активированной поверхностью, для определения нелетучих органических соединений, основанные на сочетании ионного источника SALDI с масс-анализаторами типа Q-TOF и «Orbitrap» с прямым вводом ионов.

Предложены подходы к увеличению числа классов органических соединений, которые можно ионизовать в условиях SALDI: химическая модификация молекул аналита с целью их перевода в форму, удобную для лазерной десорбции/ионизации, и использование других механизмов лазерно-индуцированной ионизации на поверхности эмиттера ионов. Показано, что метод SALDI может быть использован для высокочувствительного определения нитроароматических соединений в режиме регистрации отрицательных ионов. Предложен новый вариант лазерной десорбции/ионизации, активированной поверхностью, - инициированная лазерным излучением ионизация с переносом

электрона. Получены результаты по применению нового варианта метода для детектирования и идентификации комплексных соединений металлов.

Практическая значимость

На основе исследования и оптимизации факторов, определяющих эффективность ионизации органических соединений, предложены новые материалы в качестве эмиттеров ионов и найдены условия, обеспечивающие высокую воспроизводимость, чувствительность и селективность анализа методом лазерной десорбции/ионизации, активированной поверхностью.

Разработанные масс-спектрометрические методы, основанные на лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов, применимы для высокочувствительного определения и идентификации широкого круга химических соединений, которые могут быть переведены в газовую фазу без разложения путем нагрева. Методы апробированы для определения лекарственных соединений в биологических пробах. Продемонстрирована возможность прямого определения содержания лекарств в моче без предварительной пробоподготовки с использованием сочетания SALDI с термодесорбционным вводом проб. Предложена методика определения соединений в плазме крови на основе сочетания SALDI с газовой хроматографией. Достигнутые пределы обнаружения варьируются для различных исследованных соединений от 2 до 400 пг/мл, что до трех порядков величины ниже, чем при использовании стандартных масс-спектрометрических методов с электронной и химической ионизацией.

Разработан метод определения органических соединений в атмосферном воздухе, позволяющий осуществлять непрерывный контроль химического состава атмосферы и проводить определение высокоосновных загрязнителей в воздухе с концентрациями на уровне 100 ppt и ниже.

Предложенный способ определения нелетучих соединений, основанный на сочетании ионного источника SALDI с масс-анализатором Q-TOF и системой ввода пробы с вращающимся шаром, позволяет проводить количественный анализ лекарственных соединений в биологических образцах на уровне 1 пг вещества, введенного в прибор.

Показано, что SALDI является высокочувствительным методом определения нитроароматических соединений с пределами обнаружения аналитов до трех порядков величины ниже, чем при использовании традиционных масс-спектрометрических методов.

Разработанный метод лазерно-индуцированной десорбции/ионизации с переносом электрона (LETDI) применим для высокочувствительного масс-спектрометрического определения металлов и комплексных соединений металлов, в том числе, лекарственных препаратов с противоопухолевой активностью, комплексов с органическими реагентами и комплексов с биолигандами. По эффективности ионизации исследованных комплексных соединений металлов

метод LETDI превосходит стандартные масс-спектрометрические методы MALDI и электрораспылительной ионизации более чем на три порядка величины.

Спектр потенциальных областей применения результатов работы весьма широк. Разработанные методы и подходы могут применяться в медицинской практике для терапевтического лекарственного мониторинга, для решения задач фармакокинетики, для развития методов экологического контроля, в системах безопасности, в аналитической практике для определения следовых количеств органических соединений в природных и промышленных объектах.

На защиту выносятся:

1. Подход к обнаружению органических соединений методом SALDI, основанный на адсорбции из газовой фазы молекул аналита на поверхности специально приготовленной кремниевой подложки, воздействию на подложку импульсным лазерным излучением и детектировании ионов.

2. Результаты исследования факторов, определяющих процессы лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов. Зависимости эффективности ионизации от плотности энергии излучения для различных длин волн, давления паров воды в ионном источнике, основности органических соединений в газовой фазе.

3. Модель лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов.

4. Способы формирования активной поверхности кремниевых материалов для лазерной десорбции/ионизации органических соединений. Новые кремниевые материалы для использования в качестве эмиттеров ионов в процессе SALDI.

5. Методы масс-спектрометрического определения органических соединений, основанные на сочетании лазерной десорбции/ионизации, активированной поверхностью, с термодесорбционным методом с газовой хроматографией. Основанные на этих методах способы определения лекарственных соединений в моче и плазме крови. Закономерности фрагментации определяемых соединений на примере фенилалкиламинов.

6. Метод определения органических соединений в атмосферном воздухе и других газовых средах, основанный на сочетании ионного источника SALDI и системы ввода пробы с вращающимся шаром. Применение метода для непрерывного контроля химического состава атмосферы.

7. Генератор микропотока на основе массочувствительных кварцевых пьезорезонаторов и его использование в масс-спектрометрическом анализе атмосферного воздуха методом SALDI.

8. Способ определения нелетучих соединений, включающий нанесение аналита на подложку путем электрораспыления анализируемого раствора, перемещение подложки с нанесенной пробой в вакуумную камеру масс-анализатора с использованием шарового интерфейса и лазерную

десорбцию/ионизацию определяемых соединений. Результаты исследования новых вариантов инструментальной реализации метода, основанные на сочетании SALDI с масс-анализаторами типа Q-TOF и Orbitrap для определения нелетучих соединений.

9. Подходы к определению органических соединений с низкой величиной основности методом SALDI: дериватизация молекул соединений с низкой величиной основности и дериватизация образующихся в процессе SALDI ионов; лазерная десорбция/ионизация, активированная поверхностью, в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов; инициированная лазерным излучением ионизация путем переноса электрона. Результаты применения этих подходов для определения соединений с амидной группой, нитроароматических соединений и комплексных соединений металлов.

Апробация работы

Результаты диссертационной работы были представлены на следующих конференциях, съездах и семинарах: Всероссийская конференция «Аналитика России» (Москва, РФ, 2004 г.), II-ая международная семинар-школа «Масс-спектрометрия в химической физике, биофизике и экологии» (Звенигород, РФ, 2004 г.), International conference «Analytical chemistry and chemical analysis» (Kiev, Ukraine, 2005 г.), Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, РФ, 2005 г.), International Congress on Analytical Sciences ICAS-2006, Moscow, RF, 2006 г.), 40. Diskussionstagung der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie (Bremen, Germany, 2007 г.), International conference on laser applications in life sciences LALS-2007 (Moscow, RF, 2007 г.), II Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, РФ, 2007 г.), XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Москва, РФ, 2007 г.), 15-th International School on Condensed Matter Physics «Interfaces, thin films and Biomolecular layers» (Varna, Bulgaria, 2008 г.), III Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, РФ, 2009 г.), 57-th ASMS Conference on Mass Spectrometry (Philadelphia, USA, 2009 г.), 7-th BPU General Conference (Alexandroupolis, Greece, 2009 г.), 16-th International Summer School on Vacuum, Electron and Ion Technologies (Sunny Beach, Bulgaria, 2009 г.), Съезд аналитиков России «Аналитическая химия – новые методы и возможности» (Москва, РФ, 2010 г.), 16-th International School on Condensed Matter Physics «Progress in Solid State and Molecular Electronics Ionics and Photonics» (Varna, Bulgaria, 2010 г.), VIII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2011» (Архангельск, РФ, 2011 г.), 7-th International Symposium on Technetium and Rhenium Science and Utilization (ISTR-2011) (Moscow, RF, 2011 г.), IV Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, РФ, 2009 г.),

III Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, РФ, 2011 г.), Desorption-2012 (Rauischholzhausen, Germany, 2012 г.), 10-th International Seminar on Mathematical Models and Modeling in Laser-Plasma Processes (Petrovac, Montenegro, 2012 г.), 17-th International School on Condensed Matter Physics (Varna, Bulgaria, 2012 г.), Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, РФ, 2012 г.), XXXVIII Colloquium Spectroscopicum Internationale (Tromsø, Norway, 2013 г.), Innovations in Mass Spectrometry Instrumentation Conference (Saint-Petersburg, RF, 2013 г.), Второй съезд аналитиков России (Москва, РФ, 2013 г.), VI Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, РФ, 2013 г.), 18-th International School on Condensed Matter Physics (Varna, Bulgaria, 2014 г.), II Всероссийская конференция с международным участием по аналитической спектроскопии (Краснодар, РФ, 2012 г.), 19-th International Summer School on Vacuum, Electron and Ion Technologies (Sozopol, Bulgaria, 2015 г.), I Всероссийская конференция с международным участием «Химический анализ и медицина» (Москва, РФ, 2015 г.), Третий съезд аналитиков России (Москва, РФ, 2017 г.) и ряд других.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 44 работы, в том числе 33 статьи и 11 патентов.

Вклад автора

Личный вклад автора в работы, выполненные в соавторстве и включённые в диссертацию, состоит в формировании направления и общей постановке задач, разработке подходов к их решению, руководстве или непосредственном участии в экспериментальных исследованиях, разработке теоретических решений, анализе, интерпретации, обобщении и оформлении полученных результатов.

Структура и объём работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 318 страницах текста, содержит 99 рисунков и 14 таблиц.

Во введении сформулирована актуальность темы диссертационной работы, поставлены цели и задачи исследования, показана научная новизна и практическая значимость, а также представлены положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор литературы, посвященной применению методов лазерной десорбции/ионизации в масс-спектрометрическом анализе, рассмотрены аналитические возможности и ограничения известных методов. Особое внимание уделено методу лазерной десорбции/ионизации, активированной поверхностью (SALDI). Рассмотрены направления дальнейшего развития метода.

Во второй главе приведены результаты исследования основных факторов,

определяющих процессы лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов: морфологии поверхности и структуры приповерхностного слоя, химического состава поверхности, лазерного излучения, давления паров воды в ионном источнике, основности аналитов. Установлены закономерности, определяющие эффективность ионизации, найдены оптимальные значения параметров для определения летучих органических соединений.

В третьей главе представлены результаты теоретических и экспериментальных исследований механизма лазерной десорбции/ионизации. Проведено численное моделирование температуры поверхности эмиттеров ионов при воздействии импульсного лазерного излучения, выполнены квантово-механические расчёты, моделирующие процессы переноса протона к молекуле, адсорбированной на кремниевой поверхности и последующей десорбции образующихся ионов. Предложена модель лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов.

Четвертая глава посвящена разработке методов количественного определения летучих органических соединений. Рассмотрены новые способы формирования активной поверхности кремниевых эмиттеров ионов, обеспечивающие высокую воспроизводимость ионизационных свойств и высокую чувствительность анализа. Предложены новые варианты инструментальной реализации метода SALDI, основанные на сочетании лазерной десорбции/ионизации с термодесорбционным методом и газовой хроматографией. Определены основные аналитические параметры разработанных методов при определении фенилалкиламинов и ряда лекарственных соединений: эффективность ионизации, чувствительность, предел обнаружения, динамический диапазон. Изучены закономерности фрагментации ионов аналитов.

Пятая глава посвящена развитию новых методологических подходов и инструментальных вариантов лазерной десорбции/ионизации для анализа атмосферы и для определения нелетучих соединений. Представлен метод определения органических соединений в атмосферном воздухе, позволяющий осуществлять непрерывный контроль химического состава атмосферы. Рассмотрен генератор микропотока паров химических соединений на основе массочувствительных кварцевых пьезорезонаторов. Разработан способ анализа растворов нелетучих соединений и приведены его основные аналитические параметры при определении ряда лекарственных веществ.

В шестой главе рассмотрены некоторые перспективные направления дальнейшего развития метода SALDI: дериватизация молекул соединений с низкой величиной основности и дериватизация образующихся в процессе SALDI ионов; лазерная десорбция/ионизация, активированная кремниевой поверхностью, в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов; инициированная лазерным излучением ионизация с переносом электрона.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Факторы, определяющие эффективность лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов

Практически все известные из литературы результаты исследований характеристик метода SALDI получены в условиях нанесения жидких проб при атмосферном давлении, когда крайне сложно обеспечить неизменность параметров, влияющих на ионный сигнал, и следовательно, высокую воспроизводимость результатов анализа при многократном нанесении пробы на поверхность эмиттера ионов.

В диссертационной работе исследования основных факторов, определяющих эффективность лазерной десорбции/ионизации с переносом протона (отношение числа ионов соединения, десорбированных с облучаемой лазером поверхности, к числу молекул соединения, нанесенных на эту поверхность), проводили в условиях газофазного ввода пробы. При таком подходе эмиттер ионов постоянно находится в вакууме под воздействием десорбирующего лазерного излучения, а проба наносится путем адсорбции молекул аналита из газовой фазы, что позволяет обеспечить постоянство условий анализа при многократном нанесении пробы на одну и ту же поверхность эмиттера ионов и нивелировать воздействие дополнительных факторов, влияющих на результаты измерений.

1.1. Экспериментальная установка

Схема экспериментальной установки приведена на рис. 1. Установка включает времяпролётный масс-спектрометр, оптическую систему с лазерным блоком и систему регистрации и обработки масс-спектрометрических данных. В качестве масс-спектрометра используется времяпролётный масс-анализатор, собранный по линейной схеме, с длиной свободного пролёта 650 мм и ускоряющим промежутком 14 мм. Детектором ионов (2) служит сборка двух микроканальных пластин. Сигнал с детектора ионов усиливается и подается для обработки на плату сбора данных (3) на основе высокоскоростного суммирующего аналого-цифрового преобразователя с частотой дискретизации 1 ГГц и полосой пропускания 500 МГц, установленную в персональном компьютере (4). Для временного согласования начала отсчётов используются синхроимпульсы от лавинного фотодиода (11) с временным разрешением примерно 1 нс. Система регистрации обеспечивает надёжное обнаружение сигнала единичного иона амплитудой 2 мВ.

Масс-спектрометр оборудован шлюзовой камерой (5) для быстрой замены подложки – эмиттера ионов (8), позволяющей устанавливать подложку в ионном источнике без развакуумирования системы. Установка оборудована системой регулируемой подачи паров жидкостей (7), позволяющей создавать ненаправленный поток соединений в ионный источник прибора.

Источником лазерного излучения является Nd:YAG-лазер с диодной накачкой

и генератором гармоник (9) с длительностью импульса 0.37 нс и частотой повторения импульсов 300 Гц. Лазер генерирует излучение на трёх длинах волн: 1064 нм, 532 нм и 355 нм. Оптическая схема установки обеспечивает прохождение излучения в ионный источник и фокусировку на рабочей поверхности подложки с помощью линзы (15). Излучение нужной длины волны выделяется с помощью призмы (10). Для регулировки плотности лазерной энергии используется аттенюатор (12), для контроля плотности энергии излучения в процессе измерений используется фотодиод ФД-7 (13). Для увеличения площади облучаемой поверхности реализовано сканирование поверхности лазерным лучом с помощью двузеркального электромеханического устройства (14). Длительность одного цикла сканирования в большинстве экспериментов составляла 1 с, что при частоте следования лазерных импульсов 300 Гц обеспечивало увеличение облучаемой площади в 300 раз. Пространственное распределение плотности лазерной энергии определяли с помощью ПЗС-матрицы (16).

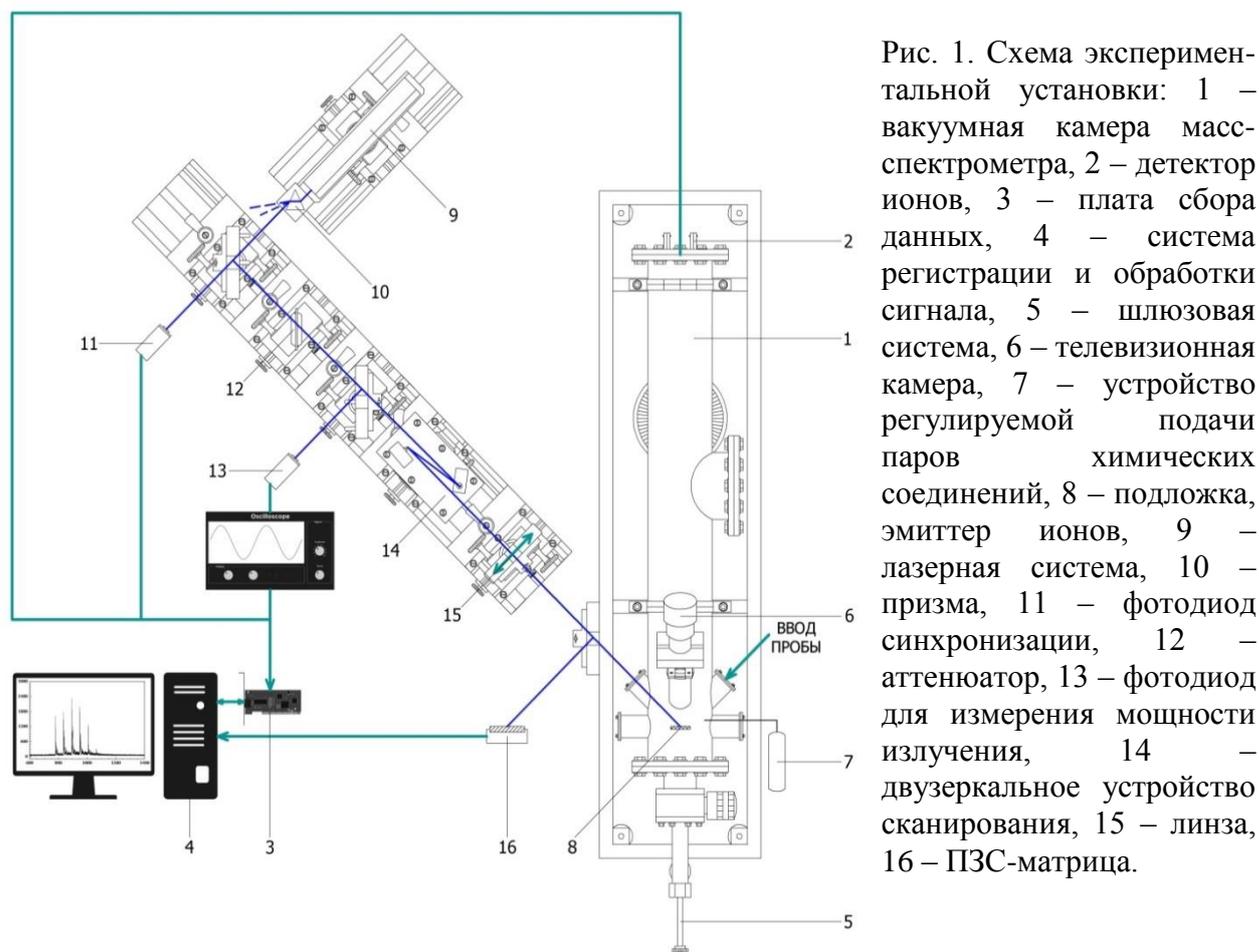


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: 1 – вакуумная камера масс-спектрометра, 2 – детектор ионов, 3 – плата сбора данных, 4 – система регистрации и обработки сигнала, 5 – шлюзовая система, 6 – телевизионная камера, 7 – устройство регулируемой подачи паров химических соединений, 8 – подложка, эмиттер ионов, 9 – лазерная система, 10 – призма, 11 – фотодиод синхронизации, 12 – аттенюатор, 13 – фотодиод для измерения мощности излучения, 14 – двузеркальное устройство сканирования, 15 – линза, 16 – ПЗС-матрица.

1.2. Исследование роли структуры и химического состава поверхности кремниевых эмиттеров ионов

В качестве эмиттеров ионов на первом этапе исследований были изучены: пористый кремний; непористый «шероховатый» кремний, полученный путем

ультразвуковой обработки кремниевых пластин алмазными шлифовальными порошками со средними размерами 0.1, 1 и 5 мкм, и монокристаллический кремний различной ориентации ((111) или (100)), с различным типом проводимости, с различным удельным сопротивлением ($0.01 \div 5 \Omega \times \text{см}$).

Физико-химические свойства кремниевых поверхностей изучали методами атомно-силовой микроскопии (Solver P47, NT-MDT), Оже-спектроскопии с высоким пространственным разрешением (PHI-680, Physical Electronics Industries Inc.), ИК-Фурье спектроскопии (IFS-66v/S, Bruker), сканирующей электронной микроскопии (Supra 50VP, LEO, Karl Zeiss Group, и PHI-680, Physical Electronics Industries Inc.), а также SALDI масс-спектрометрии.

Найдено, что химический состав поверхности кремния является важным фактором, определяющим эффективность ионизации. Показателен в этом отношении процесс лазерно-индуцированной активации свежеприготовленного пористого кремния в присутствии паров воды. Такой процесс иллюстрируется на рис. 2, где представлена зависимость величины ионного сигнала кофеина от количества циклов сканирования лазерным излучением при постоянном потоке аналита на поверхность подложки. Видно, что ионный сигнал при лазерной обработке свежеприготовленной поверхности возрастает на два порядка величины, после чего выходит на насыщение. Рост сигнала наблюдался только в присутствии паров воды и только для соединений, которые ионизируются с образованием протонированных молекул.

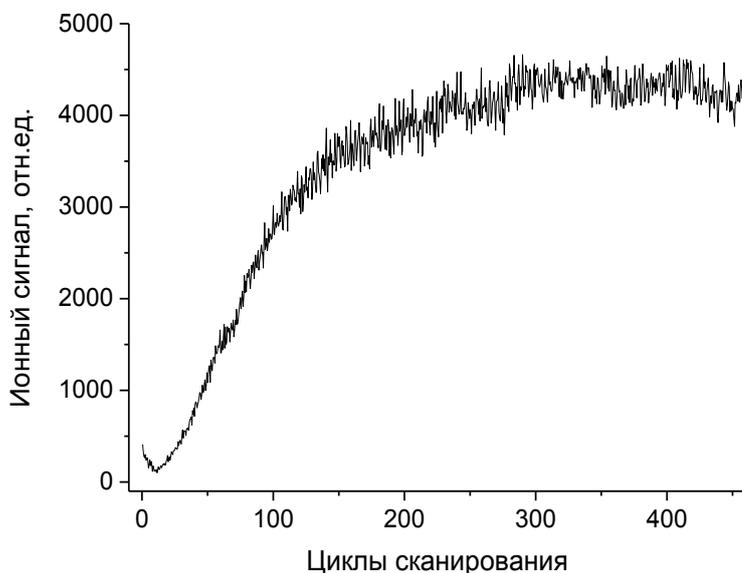


Рис. 2. Зависимость ионного тока протонированных молекул кофеина (m/z 195) от времени воздействия лазерным излучением на свежеприготовленную подложку пористого кремния

Учет этого эффекта важен как в практическом плане – при разработке методик количественного анализа проб, так и в теоретическом – для выяснения механизма ионизации. Результаты физико-химических исследований поверхности подложек до и после лазерного воздействия показали, что процесс активации не приводит к каким-либо структурным изменениям, а обусловлен изменением

химического состава и заключается в формировании на поверхности силанольных SiOH-групп.

Не менее важным фактором является структура поверхностного слоя кремниевой подложки. Как показали эксперименты, эффективность лазерной десорбции/ионизации на поверхности монокристаллического кремния в условиях газофазного ввода пробы близка к нулю. Для того чтобы подложка кремниевого материала приобрела свойства эмиттера ионов органических соединений в процессе SALDI, необходимо сформировать активный слой на ее поверхности. Отмечено, что морфология активного слоя может быть самой разнообразной, но общим свойством является высокая плотность структурных дефектов. Выдвинуто предположение, что именно дефекты структуры, которым соответствуют глубокие энергетические уровни, делают кремниевые подложки эффективными эмиттерами ионов. На основе этого предположения предложен принципиально новый эмиттер ионов для SALDI, представляющий собой пленку аморфного кремния α -Si с высокой плотностью структурных дефектов типа оборванных связей. Показано, что по эффективности ионизации летучих органических соединений аморфный кремний не уступает пористому кремнию.

Представляло особый интерес сравнить ионизационные свойства двух видов аморфного кремния: α -Si и гидрогенизированного α -Si:H. Оба материала характеризуются высокой степенью структурной разупорядоченности, их оптические и теплофизические свойства близки. Основное отличие заключается в плотности электрически активных электронных состояний, образованных оборванными связями: у α -Si:H оборванные связи пассивированы водородом. На рис. 3 на примере определения триэтиламина приведены результаты сравнения подложек α -Si и α -Si:H. Видно, что пассивация оборванных связей в аморфном кремнии приводит практически к полной потере чувствительности.

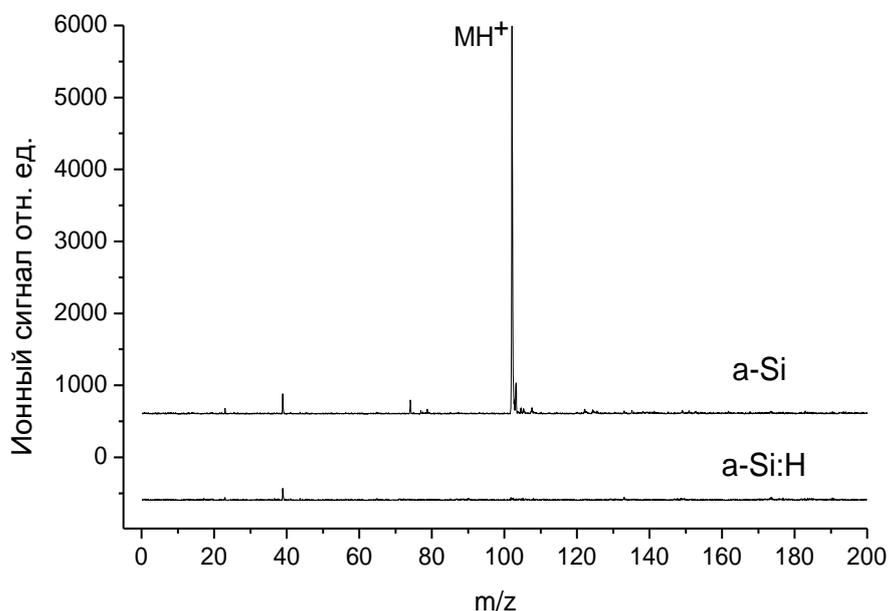


Рис. 3. Масс-спектры триэтиламина, полученные в одинаковых условиях при использовании в качестве эмиттеров ионов аморфного кремния α -Si и гидрогенизированного аморфного кремния α -Si:H.

Кардинальное различие величин эффективности ионизации на поверхности α -Si и α -Si:H подтверждает предположение о важной роли электронной структуры кремниевого материала. Сравнительные исследования подложек из пористого кремния, полученных электрохимическим травлением кремниевых пластин с различным уровнем легирования и типом проводимости, показали, что концентрация мелкоуровневых дефектов в кремнии и их тип не влияют на эффективность лазерной десорбции/ионизации.

Аморфный кремний получали путем напыления тонких пленок. Технология распыления отличается универсальностью и может быть использована для формирования пленок различных полупроводниковых материалов. Этот факт использован для получения эмиттеров ионов из различных материалов и последующего сравнения их ионизационных свойств в процессе лазерной десорбции/ионизации с переносом протона. Получены и исследованы пленки следующих материалов: германия α -Ge, оксида цинка ZnO и гидrogenизированного оксида цинка ZnO:H, оксида титана TiO₂, оксида вольфрама WO₃, оксида молибдена MoO₃, оксида тантала Ta₂O₅ и оксида ниобия Nb₂O₅. Также изучены вольфрам, серебро, нержавеющая сталь и графит. Большинство из исследованных материалов предложены в литературе для анализа растворов нелетучих соединений методом SALDI. В табл. 1 на примере определения кофеина приведены значения относительной эффективности лазерной десорбции/ионизации на поверхности тех материалов, для которых удалось зарегистрировать ионный сигнал. Результаты сравнения показывают, что α -Si обладает лучшими ионизационными свойствами.

Таблица 1. Сравнение ионизационных свойств поверхностей эмиттеров ионов при определении кофеина.

Материал подложки – эмиттера ионов	Относительная эффективность ионизации
пиролитический графит	1
аморфный германий α -Ge	3
гидrogenизированный оксид цинка ZnO:H	12
оксид вольфрама WO ₃	30
оксид титана TiO ₂	10 ²
оксид цинка ZnO	2×10 ²
аморфный кремний α -Si	5×10 ⁴

1.2. Зависимость эффективности ионизации от плотности энергии и длины волны лазерного излучения

На рис. 4 представлены типичные для исследованных кремниевых эмиттеров ионов зависимости величины ионного сигнала от плотности энергии лазерного

излучения (длина волны 355 нм) на примере детектирования морфолина, β -аланина и триоксиламина. Начальные участки характеризуются экспоненциальным ростом величины выхода ионов при увеличении плотности энергии лазерного излучения, после чего регистрируется насыщение ионного тока, обусловленное десорбцией с поверхности определяемых соединений. Дальнейшее увеличение плотности энергии излучения приводит к разрушению активного слоя и снижению ионного сигнала.

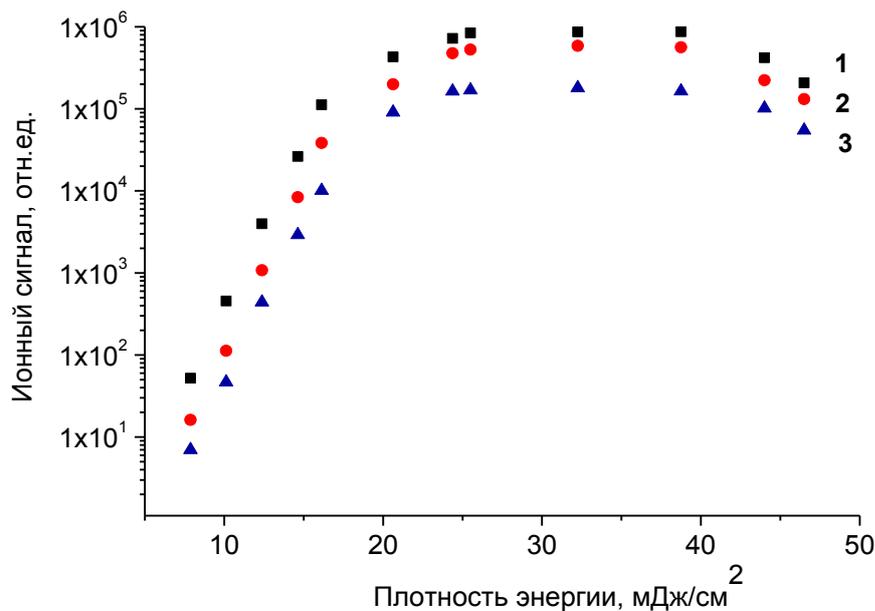


Рис. 4. Зависимости ионного сигнала с аморфного кремния α -Si от плотности энергии лазерного излучения, полученные для: 1 – морфолина, 2 – β -аланина, 3 – триоксиламина. Длина волны излучения 355 нм.

Очевидно, что детектирование химических соединений методом SALDI при газофазном вводе пробы следует проводить на втором участке зависимостей. При таких интенсивностях лазерного воздействия обеспечивается полная десорбция ионов и максимально высокая чувствительность анализа, а ионный сигнал остается стабильным при флуктуациях плотности лазерной энергии. Не менее важно, что многократное облучение поверхности не меняет ее ионизационных свойств, что создает предпосылки для проведения количественного анализа.

SALDI масс-спектры большинства исследованных аналитов содержат наряду с пиками протонированных молекул также один или несколько пиков фрагментных ионов, образующихся в результате распада протонированных молекул соединения. Найдено, что степень фрагментации можно непрерывно изменять в широком диапазоне путем изменения плотности энергии лазерного излучения, воздействующего на эмиттер ионов. Возможность контроля степени фрагментации представляет интерес на практике масс-спектрометрического анализа, особенно при использовании относительно простых масс-анализаторов. Применение низкой интенсивности излучения, при которой в масс-спектре присутствуют преимущественно протонированные молекулы, значительно упрощает анализ сложных многокомпонентных проб. Использование высоких значений плотности

лазерной энергии, при которых высока относительная доля диагностически значимых фрагментных ионов в общем ионном сигнале, позволяет получить информацию о структуре молекул аналитов.

В экспериментах по исследованию влияния длины волны лазерного излучения на эффективность ионизации использовали первые три гармоники излучения Nd:YAG лазера с длинами волн 1064 нм, 532 нм и 355 нм. Сравнение величин выхода ионов на примере определения пиридина при воздействии УФ- и видимого излучения представлено на рис. 5 (приведены начальные участки зависимостей). Видно, что при равных значениях плотности энергии величины ионных сигналов при одинаковых количествах введенного в прибор аналита отличаются более чем в 30 раз. Найденное значение эффективности ионизации при использовании ИК-излучения более чем на четыре порядка величины ниже, чем для УФ-излучения.

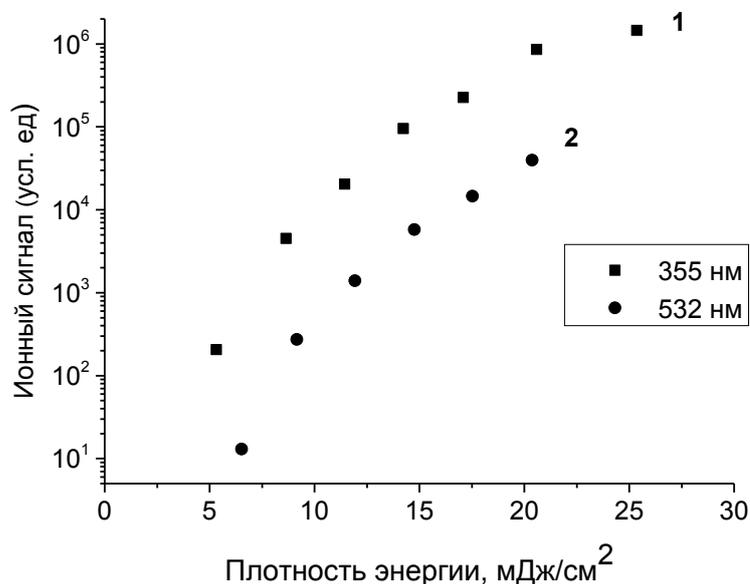


Рис. 5. Зависимости величины выхода протонированных молекул пиридина с поверхности α -Si от плотности энергии лазерного излучения для двух длин волн: 1 – 355 нм, 2 – 532 нм.

1.3. Влияние давления паров воды на эффективность лазерной десорбции/ионизации

Важным фактором, определяющим эффективность ионизации в условиях газофазного ввода пробы, является давление паров воды в вакуумной камере (ионном источнике) масс-спектрометра. Типичная зависимость ионного сигнала определяемых соединений с поверхности α -Si от давления паров воды приведена на рис. 6. Зависимость состоит из двух участков. На начальном участке зависимости (в диапазоне 10^{-7} – 10^{-6} мм.рт.ст.) выход ионов прямо пропорционален концентрации паров воды, а при значениях давления, превышающих 10^{-6} мм.рт.ст., ионный сигнал выходит на насыщение.

Полученный результат доказывает, что для реализации процесса SALDI при газофазном вводе пробы необходимо подавать в ионный источник масс-спектрометра молекулы воды. Оптимальная величина давления составляет

примерно 10^{-6} мм.рт.ст. Поскольку длительность одного цикла сканирования в экспериментах составляла 1 с, это значение соответствует дозе паров воды за время между двумя последовательными лазерными импульсами, приходящимися на один и тот же участок поверхности, равной 1 Ленгмюру. При меньших значениях давления снижается эффективность ионизации. При больших значениях растет шум и ухудшается разрешение, в то время как значение самого ионного сигнала уже слабо зависит от давления.

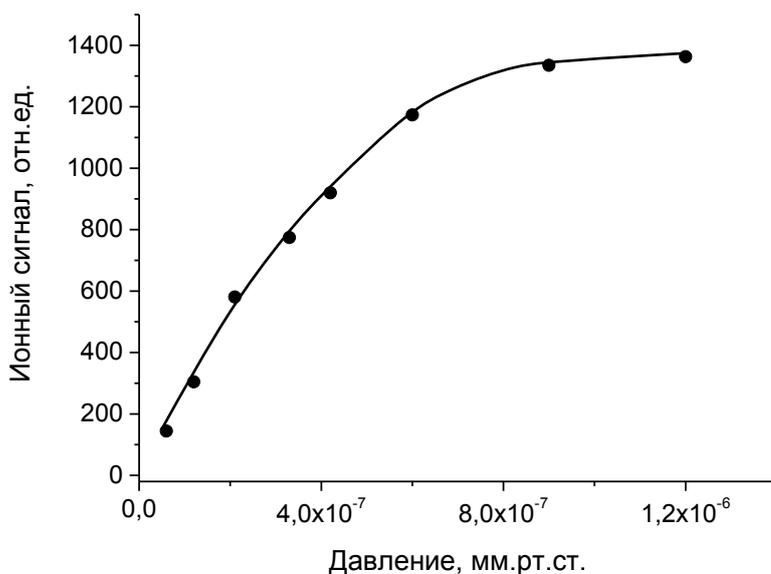


Рис. 6. Зависимость величины выхода протонированных молекул кофеина с поверхности α -Si от давления паров воды в камере масс-спектрометра.

1.4. Зависимость эффективности ионизации от свойств определяемых соединений

Ионизация с переносом протона предполагает зависимость вероятности ионизации от величин энергии сродства к протону (РА) и основности в газовой фазе (GB) определяемых соединений. Для выяснения характера зависимости проведены исследования, включающие квантово-химические расчеты этих термодинамических параметров и определение зависимости чувствительности от рассчитанных величин РА и GB. Расчеты проводили методом дифференцированного функционала плотности в модели B3LYP с базисом 6-311++G(3df,3pd) с использованием программного пакета Firefly. В качестве аналитов исследованы 25 соединений, значения GB которых лежат в диапазоне от 845 до 977 кДж/моль. На рис. 7 приведена зависимость относительной эффективности ионизации исследованных соединений от рассчитанных величин GB. Полученные результаты показывают, что при определении летучих соединений эффективность SALDI экспоненциально возрастает с увеличением основности в газовой фазе определяемого соединения в исследованном диапазоне величин GB. При этом на кремниевых поверхностях эффективно ионизируются только соединения со значениями основности, превышающими 820 кДж/моль.

Этот факт, с одной стороны, ограничивает круг определяемых соединений, но с другой стороны, позволяет реализовать высокую селективность ионизации и низкий уровень фонового сигнала. В частности, большинство используемых в аналитической практике растворителей имеют величину GB ниже 820 кДж/моль, поэтому, даже взятые в избытке, растворители не дают вклада в ионный сигнал.

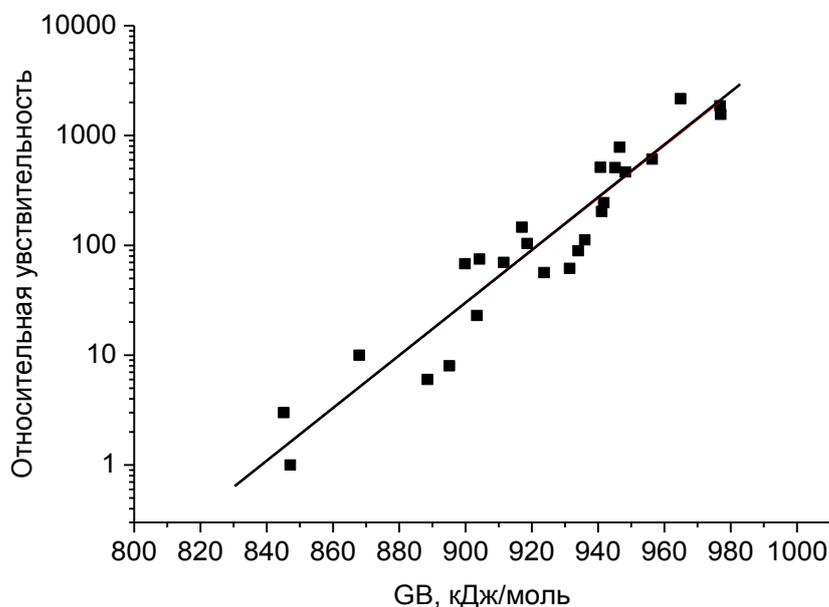


Рис. 7. Зависимость относительной эффективности ионизации от величины основности в газовой фазе (GB) определяемых соединений.

При детектировании нелетучих соединений важным становится ограничение на молекулярную массу аналита, обусловленное тем, что величина выхода ионов лимитируется не стадией ионизации, а стадией десорбции. В экспериментах с определением различных пептидов найдено, что это ограничение начинает сказываться на величине выхода ионов с кремниевых поверхностей при молекулярных массах соединений, превышающих 700 г/моль. При молекулярных массах, больших 1500 г/моль, эффективность лазерной десорбции/ионизации быстро падает, а ионный сигнал соединений с молекулярными массами, превышающими 4000 г/моль, зарегистрировать не удалось.

2. Исследование механизма лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов

Анализ полученных при определении летучих соединений результатов позволяет сделать вывод, что традиционные подходы к описанию механизма лазерной десорбции/ионизации с переносом протона не согласуются с экспериментальными данными. Сама возможность эффективной ионизации молекул соединений, адсорбированных на поверхности в условиях газо-фазного ввода пробы, не предусмотрена в известных моделях, в которых существенная роль в процессе образования ионов отводится растворителю и морфологии поверхности (в частности, пористости или шероховатости). Для корректного описания механизма SALDI нужно использовать другие подходы.

2.1. Расчет температуры поверхности эмиттеров ионов при воздействии импульсным лазерным излучением

Важной информацией для понимания процессов, происходящих на поверхности эмиттера ионов под действием импульсного лазерного излучения, является динамика изменения температуры поверхности во времени. Для определения величины изменения температуры в результате лазерного воздействия проведены численные расчёты с использованием программного пакета SLIM. Моделирование проводили для значений длины волны излучения 355 нм и 532 нм. Все исследованные подложки хорошо поглощают лазерное излучение, причем глубина поглощения много меньше, чем линейные поперечные размеры пятна излучения, сфокусированного на поверхности. Поэтому в расчётах температуры поверхности использовали приближение одномерной задачи тепловых потоков. Математической моделью такого процесса служит одномерная нестационарная задача теплопроводности с распределенным в толщине подложки источником тепла, который определяется длительностью лазерного импульса и предварительно измеренным распределением плотности энергии излучения по поверхности.

На рис. 8 представлены зависимости температуры поверхности от времени при различных значениях плотности энергии лазерного излучения с длинами волн 355 нм и 532 нм, рассчитанные для кремниевой подложки с напыленным слоем α -Si толщиной 200 нм. Видно, что температура достигает своего максимума примерно к концу лазерного импульса, за время, равное $0.4 \div 0.5$ нс. Высокая температура поверхности поддерживается в течение промежутка времени, сравнимого с длительностью лазерного импульса. Сравнение двух длин волн показывает, что при равных значениях плотности лазерной энергии максимальная температура, достигаемая при нагреве материала, выше для УФ-излучения.

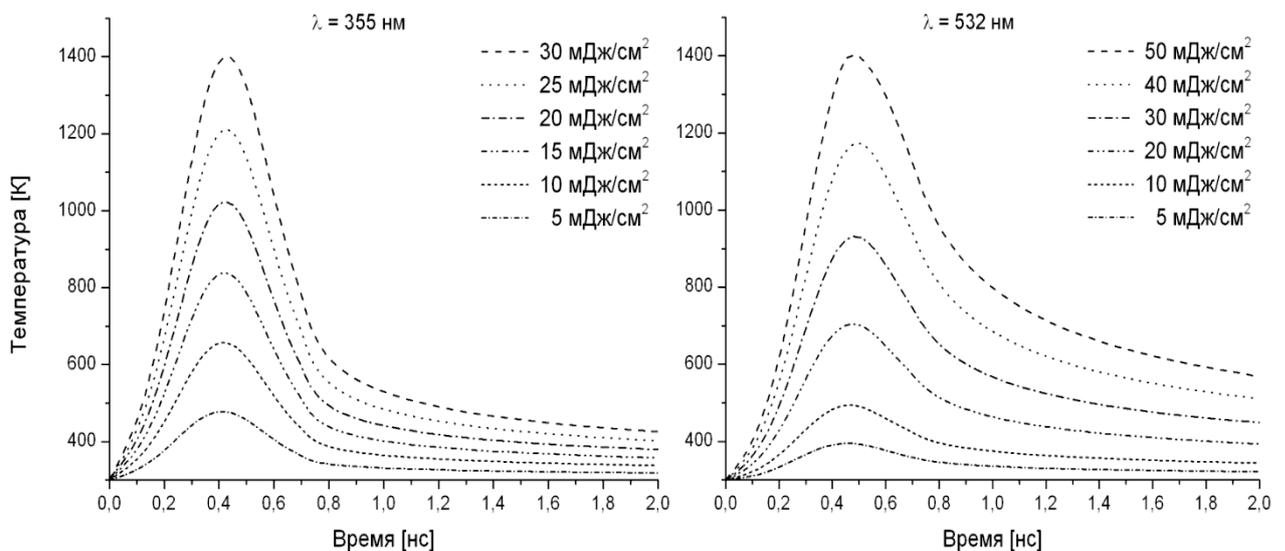


Рис. 8. Зависимости температуры поверхности α -Si от времени при воздействии лазерным излучением различной плотности энергии с длинами волн $\lambda=355$ нм и $\lambda=532$ нм.

Аналогичные расчеты проведены для графита, оксида цинка и монокристаллического кремния. Показано, что эти материалы также позволяют эффективно и быстро преобразовать энергию излучения в тепловую энергию материала. Однако при равных значениях максимальной температуры поверхности графита, ZnO и α -Si эффективности ионизации отличаются более чем на четыре порядка величины. Большинство известных по литературным данным моделей SALDI рассматривают быстрый локальный нагрев поверхности материала эмиттера ионов как необходимое условие лазерной десорбции/ионизации. Полученные результаты показывают, что это условие не является достаточным при определении летучих соединений. Для того чтобы подложка являлась эффективным эмиттером ионов органических соединений, материал подложки должен удовлетворять дополнительным специфическим требованиям.

2.2. Лазерно-индуцированная ионизация

Важным для понимания механизма ионизации является вопрос о химической природе донора и источника протонов для реакции протонирования. Анализ масс-спектров, зарегистрированных при определении органических соединений в режиме задержанной экстракции ионов, позволяет сделать вывод, что реакция ионизации молекул аналита протекает на поверхности кремниевой подложки, а функциональная группа, являющаяся донором протонов, прочно связана с поверхностью. С другой стороны, эксперименты с подачей в масс-спектрометр паров дейтерированной воды D₂O показывают, что источником протонов являются введенные в прибор молекулы воды. На основе этих и ряда других данных предположено, что центрами адсорбции молекул аналита и их последующей ионизации с переносом протона в процессе SALDI являются силанольные SiOH-группы, которые образуются в результате диссоциативной адсорбции молекул воды на очищенных лазером кремниевых поверхностях.

SiOH-группа является слабой кислотой в газовой фазе. На первый взгляд, более эффективное протонирование молекул аналитов можно осуществить, используя более сильные кислоты, например, содержащие карбоксильную группу. Для проверки этого предположения проведены эксперименты по модификации поверхности пористого кремния сорбционными покрытиями на основе полимерных карбоновых кислот. Исследования с использованием пьезорезонансных сенсоров показали, что такие покрытия являются эффективными сорбентами высокоосновных соединений и, в частности, аммиака, гидразинов и аминов. Однако модификация кремниевой поверхности путем нанесения тонких слоев полимерных карбоновых кислот приводит к кардинальному снижению эффективности ионизации.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях лазерной десорбции/ионизации с переносом протона реализуется механизм, который

существенно увеличивает кислотность протонодонорных групп на поверхности кремниевых материалов с высокой плотностью электрически активных структурных дефектов. Для объяснения процесса ионизации предположено, что при лазерном воздействии в условиях высокой плотности глубоководных центров происходит разделение генерированных излучением зарядов с последующим захватом неравновесных дырок ловушками вблизи или на поверхностном SiOH-центре, являющимся донором протона. Такая локализация положительного заряда значительно снижает энергию депротонирования силанольной группы, превращая ее в сильную кислоту.

Для оценки величины эффекта локализации положительного заряда на протекание реакции протонирования проведены квантово-химические расчеты, моделирующие процесс переноса протона от кислорода SiOH-группы к азоту адсорбированной молекулы аналита. Поверхностный адсорбционный центр моделировали нейтральным или положительно заряженным кластером состава $\text{Si}_{31}\text{H}_{34}\text{OH}$. Для моделирования локализации положительного заряда в системе на соседнем с SiOH-группой поверхностном атоме кремния создавали оборванную связь и удаляли с нее электрон. Тестовыми соединениями являлись пиридин и анилин, адсорбированные на кластере. Расчёты проводили методом Хартри-Фока с использованием поляризационного базисного набора 6-31G** функций. В ходе расчетов варьировали с шагом 0.1 Å два параметра – расстояние между атомами кислорода и азота и расстояние между атомом азота и протоном. На рис. 9а приведена полученная в результате моделирования поверхность потенциальной энергии реакции протонирования анилина на нейтральном кластере и отмечен путь реакции. За нулевой уровень выбрано значение энергии комплекса при нулевом значении величины смещения ядер от положения оптимальной геометрической конфигурации. Видно, что энергия системы монотонно увеличивается (до 250 кДж/моль при расстоянии между атомами O и N, равном 3.6 Å). На рис. 9б приведены результаты расчетов поверхности потенциальной энергии реакции протонирования анилина на заряженном кластере, из которых следует, что локализация положительного заряда кардинальным образом влияет на процесс переноса протона. В отличие от нейтрального кластера, поверхность потенциальной энергии реакции для заряженной системы содержит два локальных минимума. Первый из них соответствует состоянию с адсорбированной нейтральной молекулой, а второй, с меньшей энергией – состоянию с адсорбированной протонированной молекулой. Эти два состояния разделены относительно невысоким, менее 10 кДж/моль, энергетическим барьером.

Приведённые результаты свидетельствуют о том, что локализация положительного заряда вблизи поверхностной SiOH-группы является необходимым условием формирования протонированных молекул соединения, адсорбированных на кремниевом кластере. Для нейтрального комплекса состояние,

в котором протон локализован возле атома азота адсорбированной молекулы, является неустойчивым, и реакция переноса протона от силанольной группы к молекуле аналита почти целиком смещена влево.

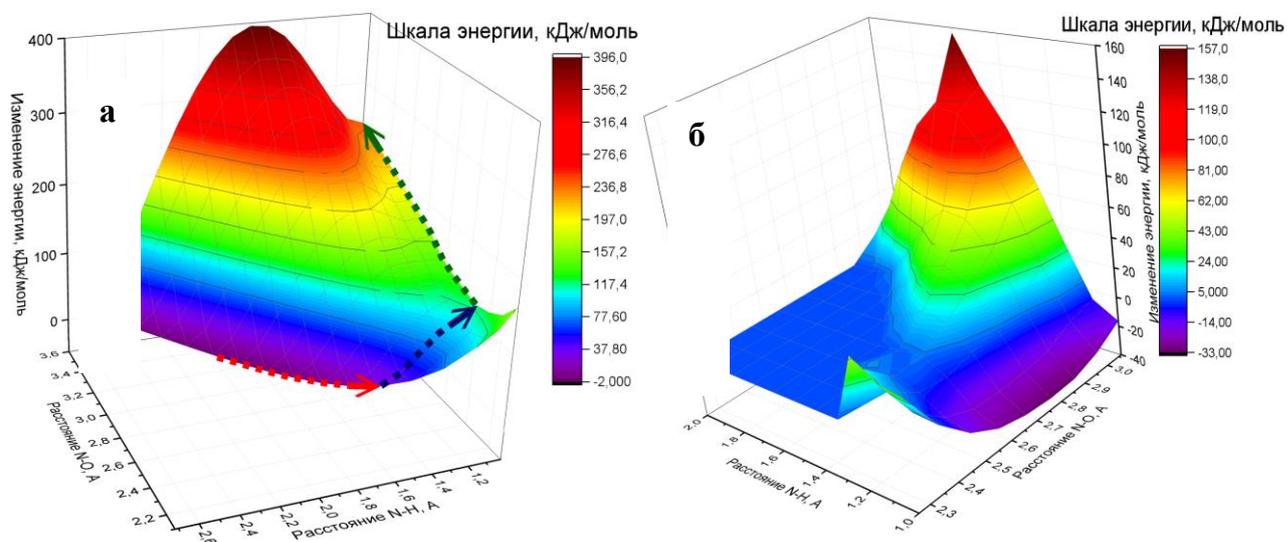


Рис. 9. Поверхности потенциальной энергии реакции протонирования анилина, рассчитанные: (а) - для нейтрального кремниевого кластера (путь реакции отмечен точками на поверхности), (б) - для заряженного кремниевого кластера.

2.3. Лазерно-индуцированная десорбция ионов

На рис. 10 приведены зависимости ионного сигнала протонированных молекул пиридина от величины, обратной максимальной температуре поверхности аморфного кремния. Зависимости получены для двух различных длин волн на основе экспериментальных кривых на рис. 5 и результатов расчета температуры поверхности на рис. 8. Приведенные данные свидетельствуют о том, что различие в длине волны лазерного излучения проявляется только в термическом воздействии излучения на материал эмиттера ионов.

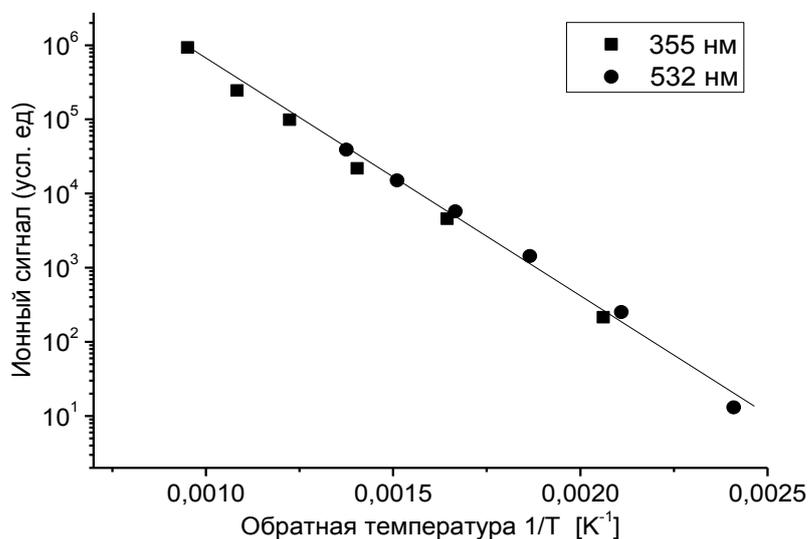


Рис. 10. Зависимости величины выхода протонированных молекул пиридина с поверхности α -Si от величины, обратной максимальной температуре поверхности, для двух длин волн: 355 нм и 532 нм.

Экспоненциальный вид зависимости выхода ионов от температуры свидетельствует в пользу модели термической десорбции ионов, предварительно образующихся на поверхности эмиттера ионов. Из приведенной на рис. 10 зависимости легко определить величину энергии активации десорбции по тангенсу угла наклона прямой. Для пиридина эта величина составляет 62 кДж/моль. Полученное значение хорошо согласуется с результатами квантово-химических расчетов ионизации пиридина на заряженном кластере и последующей десорбции протонированных молекул.

На основе экспериментальных и теоретических исследований предложена модель лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых эмиттеров ионов, согласно которой основными стадиями процесса SALDI являются:

- лазерная очистка подложки, обеспечивающая десорбцию органических загрязнений с ее поверхности;
- формирование поверхностных протонодонорных групп, например, путем диссоциативной адсорбции молекул воды с образованием на поверхности силанольных SiOH-групп;
- адсорбция молекул определяемых химических соединений на поверхностных протонодонорных группах;
- генерация неравновесных носителей заряда при лазерном воздействии, их разделение в условиях высокой плотности структурных дефектов и локализация дырок вблизи поверхностных протонодонорных групп;
- протонирование адсорбированных молекул. Локализация положительного заряда снижает энергетический барьер реакции передачи протона от поверхностных SiOH-групп на величину более 10^2 кДж/моль, тем самым обеспечивая эффективный перенос протона к адсорбированным на них молекулам;
- десорбция ионов, которая протекает по тепловому механизму при температурах, существенно меньших, чем температура плавления материала подложки и обусловлена быстрым локальным нагревом поверхности под действием лазерного излучения.

3. Лазерная десорбция/ионизация для количественного определения летучих соединений

Для реализации высокого потенциала метода SALDI при определении летучих соединений необходимо решить проблему низкой воспроизводимости результатов анализа, а также разработать принципиально новые варианты инструментальной реализации метода. Трудность количественного анализа связана, в первую очередь, с тем, что эффективность ионизации в SALDI критическим образом зависит от физико-химического состава поверхности эмиттера ионов. Неоднородность ионизационных свойств эмиттеров ионов, полученных традиционными способами, «от точки к точке» и «от подложки к подложке», изменение химического состава

поверхности эмиттера ионов при хранении, отсутствие контроля состава поверхности при нанесении пробы и проведении ее анализа делают проблему воспроизводимости результатов анализа одной из наиболее сложных в методе SALDI. Проблема приборной реализации метода обусловлена тем, что традиционные подходы к SALDI базируются на применении серийных масс-спектрометров, оборудованных ионным источником MALDI. Обычно анализ проб методом SALDI включает нанесение раствора, содержащего определяемые соединения, на активную поверхность эмиттера ионов, установку эмиттера ионов в ионный источник масс-спектрометра (после испарения растворителя), воздействие на поверхность лазерным излучением и регистрацию масс-спектров. Очевидно, такой способ ввода пробы мало пригоден для определения летучих соединений.

3.1. Разработка способов формирования активной поверхности кремниевых эмиттеров ионов

При разработке новых способов формирования эмиттера ионов для SALDI предполагалось, что способ должен обеспечить такие характеристики, как:

- высокую эффективность ионизации с переносом протона;
- однородность ионизационных свойств эмиттера ионов на площади, не меньшей, чем площадь сканирования поверхности лазерным лучом;
- быть сравнительно простым и доступным,
- иметь возможность многократного использования эмиттера ионов.

Разработано три способа создания активного слоя, которые базируются на трех различных методах воздействия на кремниевые подложки: химическом травлении, распылении и лазерной обработке.

Первый способ основан на газофазном травлении подложки монокристаллического кремния в парах йода и фтористоводородной кислоты. Разработанный способ отличается простотой реализации, и позволяет получать пористый кремний с высокой степенью однородности физико-химических свойств поверхности, сохраняющий стабильность этих свойств при длительном хранении в естественных условиях. Как показали исследования, йод пассивирует поверхность пористого слоя и препятствует его окислению. При использовании такого пористого кремния в качестве эмиттера ионов необходимо предварительно провести лазерно-индуцированную активацию его поверхности, которая приводит к удалению йода и последующему образованию протонодонорных групп. К достоинствам пористого кремния относится высокая сорбционная емкость. Применительно к анализу газовой фазы это свойство может быть использовано для накопления аналита на поверхности в условиях постоянного потока аналита на эмиттер ионов. Разработанный способ позволяет получать пористые слои с высокой степенью однородности ионизационных свойств «от точки к точке» на поверхности, однако характеризуется относительно низкой воспроизводимостью

ионизационных свойств «от подложки к подложке». Недостатком газофазного травления также является относительно высокая длительность процесса: для формирования эффективного эмиттера ионов требуется не менее 10 часов.

Второй способ основан на использовании стандартного метода радиочастотного распыления кремния для формирования тонких (200÷500 нм) пленок аморфного кремния α -Si. К преимуществам способа следует отнести однородность ионизационных свойств эмиттера ионов на большой площади, высокую воспроизводимость ионизационных свойств эмиттера ионов «от подложки к подложке» и возможность нанесения пленок аморфного кремния на различные конструкционные материалы. α -Si предпочтительнее пористого кремния в условиях импульсного ввода пробы, например при сочетании масс-спектрометрии SALDI с хроматографией, когда важно обеспечить полную десорбцию одного компонента до выхода из хроматографической колонки следующего компонента пробы. Кроме того, образцы свежеприготовленного α -Si не требуют предварительной лазерно-индуцированной активации. Основным недостатком аморфного кремния как эмиттера ионов для SALDI – это относительно быстрая деградация его ионизационных свойств при хранении и эксплуатации.

Третий способ основан на лазерной обработке монокристаллического кремния и базируется на сочетании лазерной модификации с лазерно-индуцированной активацией кремния. Воздействие излучением проводят в два этапа. На первом этапе подложку обрабатывают излучением с интенсивностью, большей порога плавления кремния для формирования слоя с высокой степенью разупорядочения. На втором этапе в ионный источник масс-спектрометра подают пары воды, после чего кремниевую подложку подвергают повторному воздействию излучением с интенсивностью, меньшей порога плавления кремния. Способ отличается высокой воспроизводимостью. Этот факт иллюстрирует рис. 11, на котором показано, как

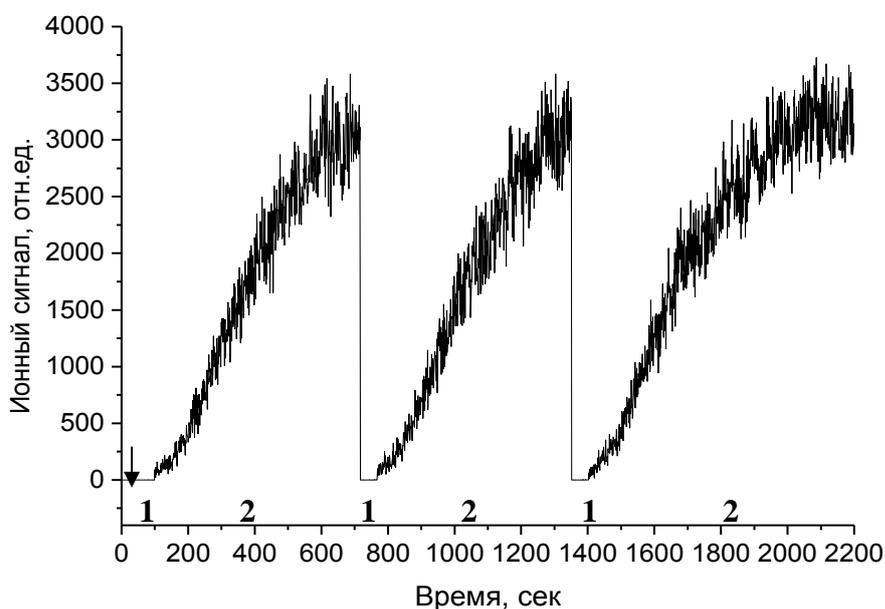


Рис. 11. Зависимости ионного сигнала b -аланина в трех последовательных процедурах формирования активного слоя на кремниевой подложке. Начальный участок (1) соответствует первой стадии, участок (2) – второй стадии лазерной обработки.

изменяется ионный ток протонированных молекул б-аланина в трех последовательных процедурах формирования активного слоя при постоянной величине потока аналита. Важно также отметить, что при деградации активного слоя разработанный способ позволяет полностью восстановить ионизационные свойства подложки, причем позволяет это делать многократно.

3.2. Сочетание лазерной десорбции/ионизации с термодесорбционным методом

Для проведения количественного анализа летучих соединений разработаны новые варианты инструментальной реализации метода SALDI. Первый вариант основан на сочетании времяпролетного масс-анализатора, оборудованного ионным источником SALDI, с термодесорбционным методом. При анализе методом SALDI термодесорбционный ввод пробы используется для нанесения молекул аналита на поверхность эмиттера ионов.

Разработанный узел термодесорбционного ввода пробы основан на применении эффузионной ячейки, оборудованной датчиком температуры и резистивным нагревателем, позволяющим нагревать ее в соответствии с заданной программой до температуры 200°C. Поток молекул аналита, попадающих на облучаемую лазером поверхность, однозначно определяется геометрическим фактором и давлением насыщенного пара соединения при заданной температуре. Этот факт использован для оценки величин эффективности ионизации различных соединений. Найдено, что для соединений с величинами $GB\ 845 \div 977$ кДж/моль эффективность ионизации варьируется в диапазоне от 10^{-6} до 2×10^{-2} . Полученные результаты означают, что метод SALDI позволяет обеспечить детектирование соединений с относительно высокой основностью на уровне аттомоль (10^{-18} моль) вещества, попадающего на облучаемую лазером поверхность.

Способность эффузионной ячейки создавать постоянный и хорошо контролируемый поток химического соединения, величину которого легко менять в широких пределах путем нагрева, имеет важное значение для решения проблемы низкой воспроизводимости результатов анализа методом SALDI. Формируя малый поток характеристического соединения, свойства которого хорошо известны, и регистрируя его масс-спектр, можно непрерывно контролировать ионизационные свойства эмиттера ионов. При этом само характеристическое соединение может быть использовано в качестве внешнего стандарта при определении содержания летучих целевых компонентов.

При анализе образцов с использованием программируемой термодесорбции в микрокювету, выполненную на основе эффузионной ячейки, помещают саму пробу в виде порошка или раствора. После испарения растворителя микрокювету вводят в масс-анализатор и нагревают в соответствии с заданной программой. Летучие соединения попадают на поверхность эмиттера ионов, на которой они ионизируются

в процессе SALDI, а образующиеся ионы детектируются в масс-анализаторе. Программируемая термодесорбция позволяет не только наносить на поверхность подложки определяемые соединения, но также их предварительно разделять в соответствии с летучестью. На примере определения лекарственных соединений показано, что такой подход позволяет детектировать широкий круг химических соединений со средней и низкой летучестью, которые могут быть переведены в газовую фазу без разложения путем нагрева.

На рис. 12 на примере определения лидокаина и атенолола представлены градуировочные зависимости в виде величины ионного тока как функции от количества введенного в микроювету соединения. Концентрационные характеристики остаются линейными в диапазоне до четырех порядков величины, после чего выходят на насыщение. Для лидокаина коэффициент чувствительности на линейном участке зависимостей составляет примерно 1.2×10^3 ионов/фемтомоль, для атенолола – в 2 раза меньше. Линейность градуировочной кривой предполагает возможность использования стандартного метода добавок для количественного определения содержания лекарственных соединений. Следует отметить, что выход на насыщение градуировочных зависимостей регистрируется при значениях степени заполнения аналитом поверхности, не превышающей сотой доли монослоя, и обусловлен особенностями системы регистрации ионов.

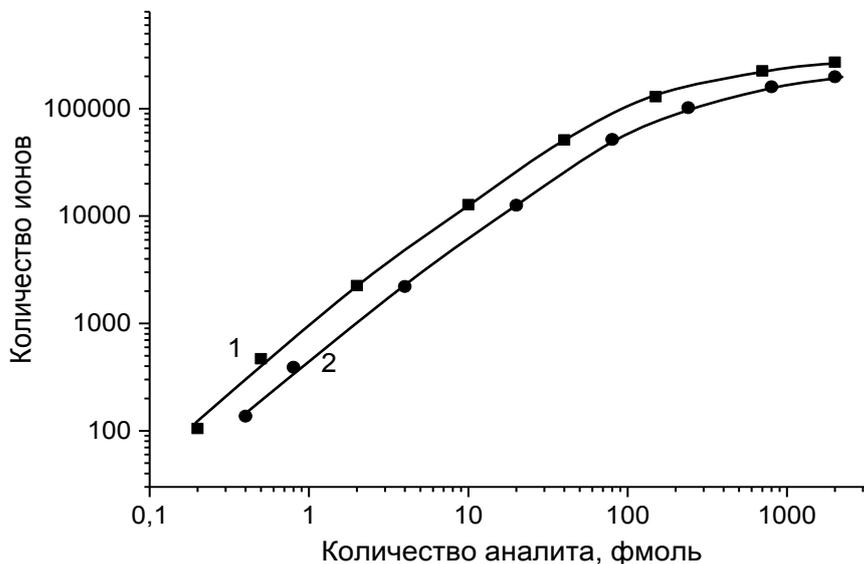


Рис. 12. Градуировочные зависимости при определении содержания лидокаина (1) и атенолола (2) в условиях термодесорбционного ввода пробы.

Найденные при анализе чистых растворов значения относительного стандартного отклонения величины аналитического сигнала (отношения ионного сигнала аналита к ионному сигналу кофеина, выбранному в качестве внешнего стандарта) для всех исследованных соединений не превышает 0.042 (N=7).

Разработанный метод апробирован для определения лекарственных препаратов в биологических жидкостях. Эксперименты проводили с использованием времяпролётного масс-анализатора, выполненного по схеме

«рефлектор». Показано, что высокая селективность метода ионизации в сочетании с возможностью разделения компонентов с разной летучестью обеспечивают возможность количественного анализа образцов мочи без предварительной пробоподготовки. В качестве иллюстрации на рис. 13 приведен масс-спектр образца мочи, содержащей атенолол с концентрацией 1 нг/мл. Видно, что в масс-спектре регистрируется пик протонированного атенолола с m/z 267.

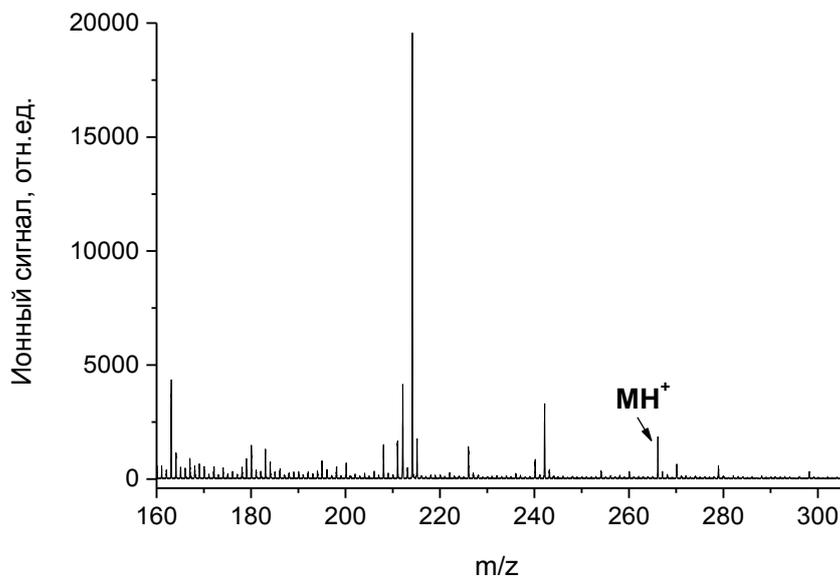


Рис. 13. Масс-спектр образца мочи, содержащей атенолол с концентрацией 1 нг/мл.

В табл. 2 представлены пределы обнаружения ряда лекарственных соединений в моче, определенные по наиболее интенсивным пикам в их масс-спектрах. Пределы обнаружения варьируются в зависимости от величины газофазной основности соединения от 0.12 нг/мл для кофеина до 0.015 нг/мл для лидокаина.

Для количественного определения содержания лекарственных соединений в плазме крови требуется провести предварительную пробоподготовку. Показано, что для этой цели могут быть использованы стандартные методики, основанные на жидкостной экстракции аналитов.

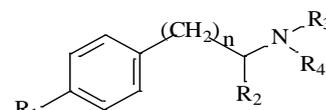
Таблица 2. Пределы обнаружения некоторых лекарственных соединений в образцах мочи в условиях анализа без пробоподготовки.

Соединение	Молекулярная масса, а.е.м.	m/z наиболее интенсивного пика	Предел обнаружения, нг/мл
Атенолол	266	267	0.02
Лидокаин	234	86	0.015
Кофеин	194	195	0.12
Димедрол	255	166	0.02

3.3. Сочетание лазерной десорбции/ионизации с газовой хроматографией

Второй вариант инструментальной реализации метода SALDI, разработанный для количественного определения соединений с высокой и средней летучестью, основан на сочетании времяпролетного масс-анализатора, оборудованного ионным источником SALDI, с газовой хроматографией (ГХ/SALDI). Интерфейс сопряжения масс-спектрометра и газового хроматографа разработан таким образом, чтобы, с одной стороны, обеспечить прямой поток выходящего из хроматографа газа на поверхность эмиттера ионов, а с другой стороны – не влиять на качество получаемых масс-спектров.

С использованием ГХ/SALDI масс-спектрометра был исследован широкий круг химических соединений. Наиболее показательны результаты, полученные при определении фенилалкиламинов и их производных. Эти соединения имеют большое практическое значение, обладают близкими химическими свойствами и поэтому могут служить хорошими индикаторами применимости метода ГХ/SALDI масс-спектрометрии для высокочувствительного и селективного анализа растворов сложного состава.



$R_1 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{CH}_3\text{O}$
 $R_2 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$
 $R_3, R_4 = \text{H, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{C}_3\text{H}_7,$
 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2, \text{CH}_2\text{Ph}$
 $n = 0 \div 2$

На рис. 14 приведена типичная масс-хроматограмма по полному ионному току, зарегистрированная при вводе в прибор 1 мкл раствора, содержащего 12 фенилакиламинов. Количество инжектированного в хроматограф анализа варьировалось от 0.03 до 0.4 пмоль, в зависимости от величины GB соединения. Видно, что использованный интерфейс сопряжения масс-спектрометра и газового хроматографа при найденных температурных режимах хроматографа обеспечивает эффективное разделение близких по химическим свойствам компонентов анализируемой смеси.

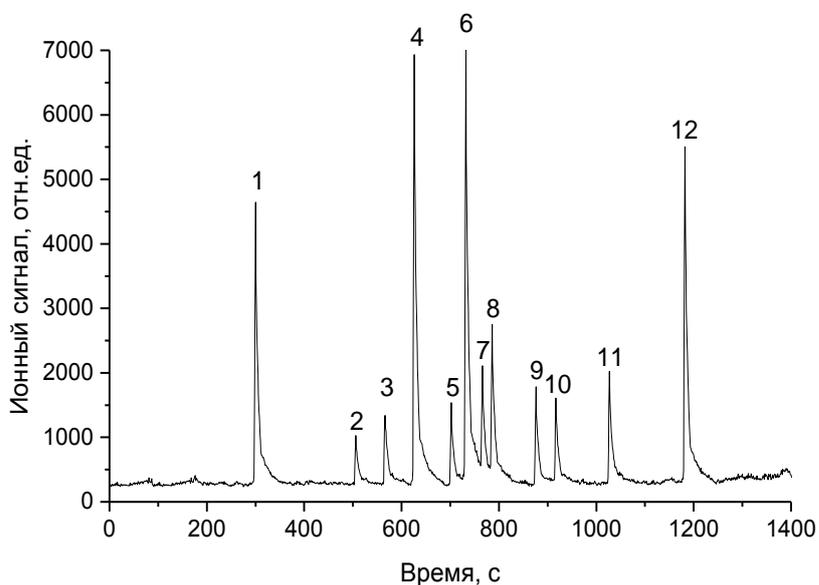


Рис. 14. Масс-хроматограмма раствора, содержащего: 1) N,N-диметилбензиламин, 2) 1-фенилэтиламин, 3) N-метил-1-фенилэтиламин, 4) N,N-диметил-1-фенилэтиламин, 5) 1-фенилпропиламин, 6) N-изопропил-1-фенилэтиламин, 7) N-метил-4-метилбензиламин, 8) N-метил-1-(4-метилфенил)этиламин, 9) 1-бензилпропиламин, 10) 1-(4-этилфенил)этиламин, 11) 1-(4-метоксифенил)этиламин, 12) N,N-дипропил-1-фенилэтиламин.

В табл. 3 приведены пределы обнаружения некоторых фенилалкиламинов, рассчитанные по наиболее интенсивному пику в масс-спектре. Выбор единственного пика для оценки предела обнаружения обусловлен возможностью полного хроматографического разделения фенилалкиламинов. Вследствие различия величины газовой фазной основности (которая в значительной степени определяется природой заместителей при атоме азота) пределы обнаружения исследованных соединений варьируются в достаточно широких пределах. Однако даже для фенилалкиламинов с относительно низкими значениями GB предел обнаружения не превышает 0.4 нг/мл, что позволяет проводить определение аналитов на уровне единиц фмоль вещества, введенного в прибор, и ниже.

Таблица 3. Основные масс-спектрометрические пики и пределы обнаружения фенилалкиламинов. Номер соединения соответствует порядку его выхода на рис. 14.

№	Молекулярная масса, а.е.м.	m/z основных пиков	m/z самого интенсивного пика	Предел обнаружения, нг/мл
1	135	136, 91, 44	91	0.03
2	121	122, 120, 105, 18	105	0.39
3	135	136, 134, 105, 32	105	0.12
4	149	150, 148, 105, 46	105	0.02
5	135	136, 134, 119, 91, 18	91	0.25
6	163	164, 105, 60	105	0.07
7	135	136, 134, 105, 30	105	0.15
8	149	150, 148, 119, 32	119	0.04
9	149	148, 119, 105, 91, 18	91	0.14
10	149	150, 148, 133, 18	133	0.14
11	151	152, 150, 135, 18	135	0.06
12	205	206, 105, 102	105	0.01

Найденные в условиях эксперимента на рис. 14 величины относительного стандартного отклонения сигнала аналитов лежат в диапазоне 0.048÷0.056.

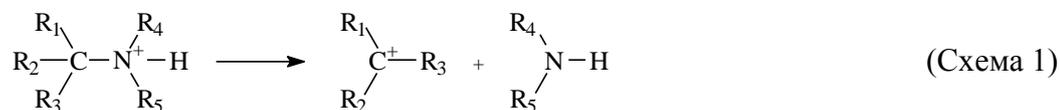
Разработанный метод ГХ/SALDI апробирован при определении фенилалкиламинов и лекарственных соединений в плазме крови. В исследованиях использовали известную методику пробоподготовки для масс-спектрометрического определения аминов, основанную на жидкость-жидкостной экстракции аналитов в систему хлороформ:гептан:изопропанол (60:26:14) с добавлением 10% по объему насыщенного раствора NH₄Cl. После проведения процедуры экстракции органическую фракцию вводили в ГХ/SALDI масс-

спектрометр. Определение аналитов проводили с использованием постоянного малого потока кофеина, создаваемого с помощью эффузионной ячейки. При таком способе пределы обнаружения исследованных соединений в плазме крови составляют $0.05 \div 2.5$ нг/мл. Предел обнаружения можно снизить до десяти раз, добавив стадию концентрирования путем испарения растворителя в токе сухого воздуха. При этом увеличивается длительность пробоподготовки, а относительное стандартное отклонение сигнала возрастает до 0.10. Сравнение полученных результатов с метрологическими параметрами стандартных методов ГХ/МС с электронной и химической ионизацией показывает, что достигнутые пределы обнаружения ниже, по крайней мере, на два порядка величины.

3.4. Исследование закономерностей фрагментации ионов

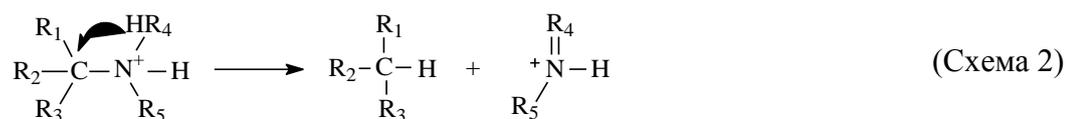
SALDI относится к методам «мягкой» ионизации с низкой степенью фрагментации образующихся протонированных молекул. Тем не менее, масс-спектры большинства исследованных соединений содержат один или несколько пиков фрагментных ионов. Поскольку набор регистрируемых в спектре фрагментных ионов напрямую связан со структурой химического соединения, то для правильной интерпретации масс-спектров важно знать основные направления фрагментации протонированных молекул. Фенилалкиламины и их производные являются удобным объектом для такого рода исследований.

Выделено четыре наиболее часто встречающихся направления фрагментации.



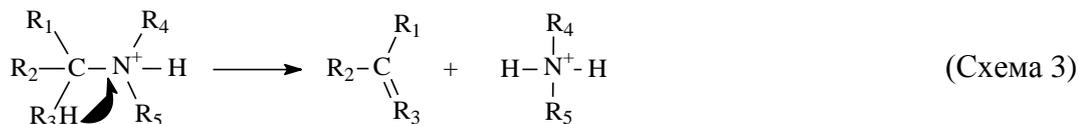
Фрагментация по схеме 1 наблюдалась для всех исследованных фенилалкиламинов и их производных и обусловлена α -разрывом C–N связи с образованием карбокатиона и нейтральной молекулы амина. Образующиеся при такой фрагментации ионы характеризуют состав углеводородной группы в исследованных соединениях.

Другой канал фрагментации включает внутримолекулярный перенос атома водорода от заряженного центра и приводит к образованию перестроенного иона, отличительной особенностью которого является наличие двойной C=N связи. Это направление иллюстрируется схемой 2.



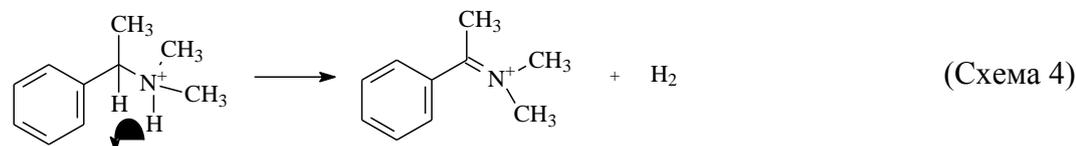
Среди исследованных фенилалкиламинов такой процесс характерен для бензиламинов, содержащих вторичную или третичную аминогруппу. Фрагментация сопровождается элиминированием молекулы ароматического углеводорода, а образующийся ион характеризует состав аминогруппы.

Внутримолекулярный перенос атома водорода возможен и в обратном направлении – к заряженному центру. Такое направление фрагментации описывается схемой 3:



Среди исследованных фенилалкиламинов фрагментация по схеме 3 характерна для соединений, имеющих разветвленный углеводородный скелет между ароматическим кольцом и аминогруппой.

При относительно высоких значениях плотности энергии лазерного излучения в масс-спектрах фенилалкиламинов регистрируются пики $[\text{M}-\text{H}]^+$, образование которых можно описать схемой 4:



Для подтверждения предложенных схем фрагментации были проведены эксперименты с подачей в ионный источник паров тяжелой воды D_2O . В качестве примера на рис. 15 приведены два масс-спектра β -аланина, полученные при подаче в вакуумную камеру паров обычной и тяжелой воды.

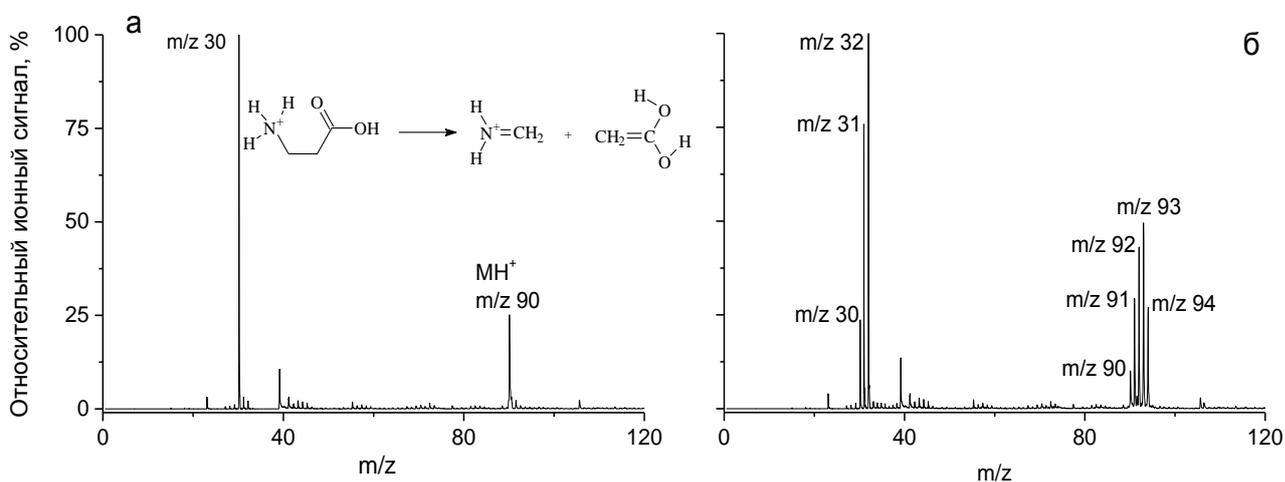


Рис. 15. Масс-спектры β -аланина, зарегистрированные при подаче в ионный источник масс-спектрометра обычной (а) и тяжелой (б) воды. На вставке представлена схема фрагментации, приводящей к образованию фрагментного пика с m/z 30.

В протонированной молекуле β -аланина содержится четыре атома водорода, способных вступить в реакцию изотопного обмена: три из них связаны с атомом азота (в том числе и полученный в результате реакции ионизации), а четвертый – с атомом кислорода. Поэтому при подаче паров тяжелой воды в масс-спектре

должны регистрироваться пики с m/z от 90 до 94. Именно такая картина и наблюдается на рис. 15б. Пик с m/z 30 расщепляется на три пика с m/z от 30 до 32, что свидетельствует о том, что образовавшийся фрагментный ион содержит только два атома водорода, способных вступать в изотопный обмен. Это возможно только в результате внутримолекулярного переноса атома водорода от протонированной аминогруппы к другой функциональной группе с последующим образованием фрагментного иона $(\text{CH}_2\text{NH}_2)^+$. Этот факт подтверждает образование иона с m/z 30 по схеме 2.

4. Лазерная десорбция/ионизация для анализа атмосферы

Важная особенность метода SALDI при определении летучих соединений заключается в том, что молекулы аналита сорбируются на активной поверхности подложки, и в случае соединений, имеющих значительную энергию связи с поверхностью, могут находиться на ней длительное время. Это позволяет разделить процессы сорбции и лазерной десорбции/ионизации в пространстве, обеспечив перемещение подложки с нанесенным на ее поверхность аналитом, из области атмосферного давления в ионный источник масс-спектрометра. Такая особенность лазерной десорбции/ионизации легла в основу нового подхода к определению органических соединений, который применим для анализа атмосферного воздуха и других газовых сред в реальном времени. Схема установки, реализующей новый подход, приведена на рис. 16. Установка разработана в лаборатории лазерной диагностики ИОФ РАН.

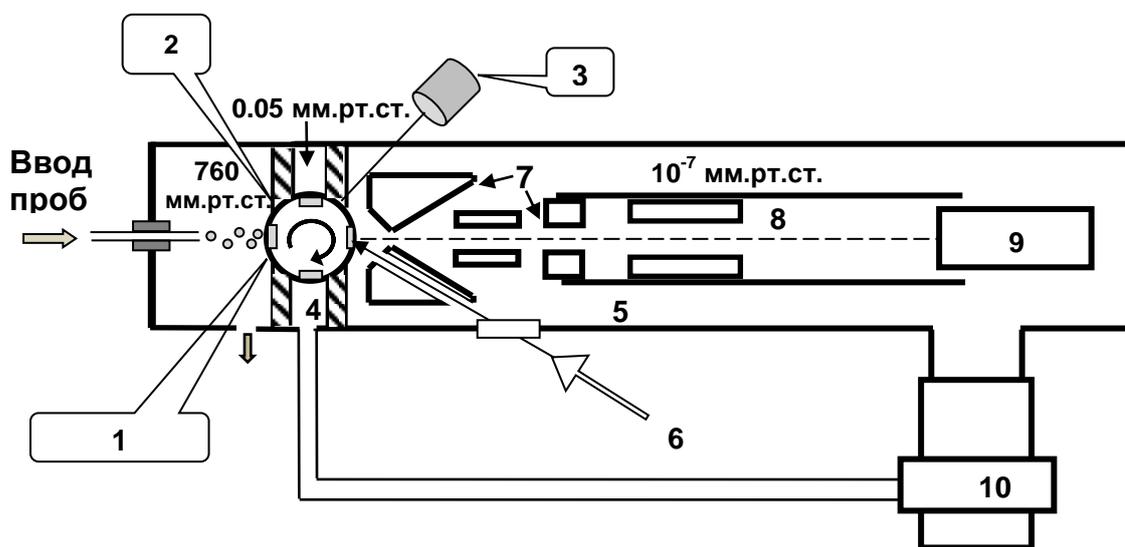


Рис. 16. Схема масс-спектрометрической установки для анализа газовых сред: 1 - шар с установленными в его углублениях подложками, 2 - вакуумные уплотнения, 3 - шаговый двигатель, приводящий в движение шар, 4 - камера промежуточной откачки, 5 - камера масс-анализатора, 6 - лазерное излучение, 7 - линзы ионного источника, 8 - лайнер, 9 - детектор ионов, 10 - турбомолекулярный насос.

Подход базируется на использовании системы ввода пробы на основе вращающегося шара. Несколько подложек устанавливают симметрично на вакуумно плотном узле вращения, выполненном в виде шара. Одна из подложек находится вне масс-спектрометра, и на нее наносят пробу. В это же время противоположная ей подложка находится в ионном источнике и облучается лазерным излучением, а десорбированные ионы детектируются. Затем шар поворачивается (на 90° при использовании четырех подложек), и процесс повторяется. Такой подход позволяет согласовать импульсный режим лазерной десорбции/ионизации с непрерывным отбором пробы из газовой фазы без существенной потери чувствительности и быстродействия.

Работу масс-спектрометрической установки на примере определения триэтиламина в воздухе иллюстрирует рис. 17, на котором приведена зависимость ионного сигнала в области масс-спектра, соответствующей протонированным молекулам триэтиламина, от времени при последовательном проведении нескольких циклов вращения шара. Первые семь циклов соответствуют экспозиции в потоке воздуха, не содержащего аналит, следующие семь циклов – воздействию потока воздуха с концентрацией триэтиламина 0.2 мкг/м^3 (80 ppt), и последние пять циклов – вновь воздействию потока воздуха лаборатории. Видно, что добавление в пробу воздуха паров триэтиламина сразу приводит к появлению в масс-спектрах интенсивного пика протонированных молекул соединения, а в холостом опыте, проведенном сразу после ввода пробы с аналитом, ионный сигнал отсутствует. Это

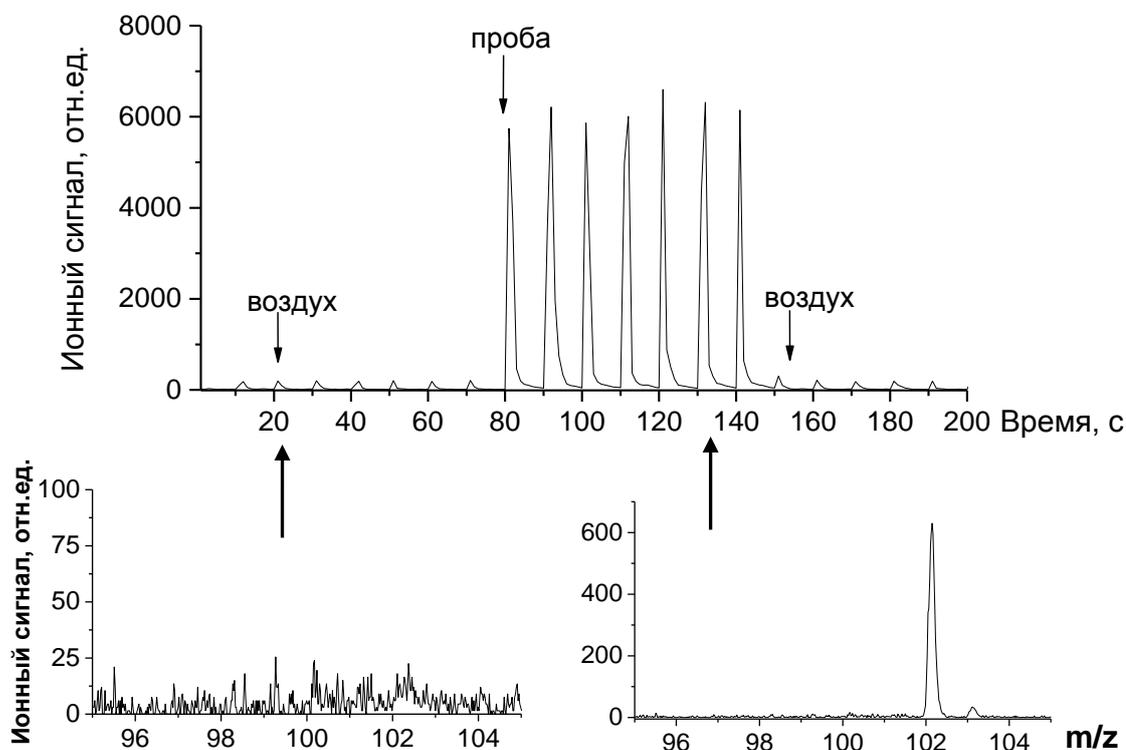


Рис. 17. Зависимость ионного тока в области протонированных молекул триэтиламина (m/z 102) от времени в процессе анализа воздуха.

свидетельствует о том, что разработанный подход позволяет отслеживать изменение концентрации определяемых соединений в воздухе. Относительное стандартное отклонение ионного сигнала триэтиламина в эксперименте на рис. 17 составило примерно 0.04 (N=7).

Исследования аналитических параметров показали, что в условиях нанесения пробы при атмосферном давлении на результаты определения аналитов могут оказывать влияние «матричные эффекты». Рассмотрены особенности проявления «матричных эффектов» и предложены способы, позволяющие уменьшить или учесть их влияние на результаты анализа методом SALDI.

Важной задачей являлось создание способа и устройства, позволяющего формировать и регулировать малые потоки паров органических соединений известной концентрации и состава. Для ее решения разработан генератор микропотока паров веществ, основанный на массочувствительных пьезоэлектрических резонаторах объемных акустических волн с нанесенным на их рабочую поверхность источником микропотока вещества. Использовали два вида кварцевых (АТ-срез) резонаторов с рабочими частотами 14 МГц и 16.5 МГц. Резонатор на 14 МГц оборудован пленочными металлическими нагревателями, позволяющими изменять температуру поверхности резонаторов и стабилизировать ее на заданном уровне. Источником потока вещества является пленочное покрытие на электродах резонатора. В частном случае, при создании потока паров твердых соединений с низкой летучестью, на резонатор наносили раствор самого вещества, и величина потока определялась скоростью его сублимации при заданной температуре. Для создания малых потоков паров высоколетучих соединений предложено использовать в качестве источника микропотока композиционный материал, представляющий собой инертную нелетучую полимерную матрицу с введенным в нее веществом, поток паров которого требуется создать. В результате исследования различных сорбционных материалов найдены матрицы на основе поликарбонатовых кислот для формирования малых потоков высокоосновных летучих соединений. Величина создаваемого потока контролируется путем изменения температуры рабочей поверхности резонатора и находится по скорости изменения частоты резонанса. Непрерывное измерение скорости изменения частоты позволяет определять в каждый момент времени величину создаваемого потока и регулировать его в нужных пределах. Разработанный генератор позволяет создавать поток веществ с величиной до 0.01 нг/с.

При проведении анализа газовых сред с нанесением пробы при атмосферном давлении разработанный генератор микропотока паров вещества выполняет функцию, аналогичную эффузионной ячейке при нанесении пробы в вакууме. Формируя малый поток известного соединения и регистрируя его масс-спектр, можно непрерывно контролировать ионизационные свойства эмиттера ионов, что является важным условием проведения количественного анализа методом SALDI.

5. Лазерная десорбция/ионизация для количественного определения нелетучих соединений

Использование системы вращающегося шара в сочетании с времяпролетным масс-анализатором открывает перспективы для разработки новых подходов к определению нелетучих аналитов методом SALDI.

Для нанесения определяемых соединений на поверхность кремниевой подложки исследован стандартный метод электрораспыления растворов аналитов при атмосферном давлении. Преимуществами метода являются равномерность, стабильность и более высокая воспроизводимость нанесения пробы. Изучены факторы, определяющие процесс электрораспыления: расход пробы, напряжение на игле электрораспылителя, состав растворителя, и найдены оптимальные условия нанесения аналита. Показано, что при постоянной величине расхода ионный сигнал линейно возрастает с увеличением длительности процесса распыления пробы в диапазоне времени 3÷30 с. Отмечено, что природа растворителя не влияет на эффективность ионизации.

На основе системы с вращающимся шаром для ввода пробы в масс-спектрометр, а также электрораспыления для нанесения пробы разработан способ количественного анализа растворов нелетучих органических соединений. Способ апробирован для определения лекарственных и других биологически активных веществ. Показано, что «мягкие» условия ионизации сохраняются в SALDI и при нанесении растворов электрораспылением. При этом основные направления фрагментации соответствуют схемам, предложенным для описания фрагментации близких по химическим свойствам летучих соединений с меньшими молекулярными массами. В качестве примера на рис. 18 приведен масс-спектр верапамила. Масс-спектр содержит три основных пика, которые соответствуют протонированным молекулам верапамила с m/z 455, а также фрагментным ионам с m/z 165 и m/z 303. Формирование иона с m/z 165 описывается схемой 1, а ионы с m/z 303 образуются при фрагментации по схеме 2.

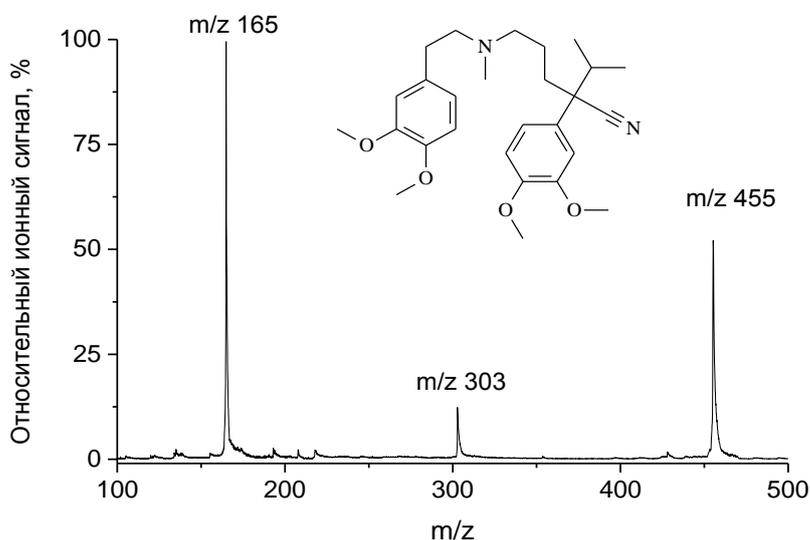


Рис. 18. Масс-спектр верапамила, зарегистрированный при анализе раствора соединения в смеси метанол:вода (1:1). Подложка – кремний, полученный лазерной обработкой.

Определены основные аналитические параметры разработанного способа. Для каждого соединения найдены градуировочные зависимости. Диапазон линейности зависимостей составляет до трех порядков величины, после чего сигнал выходит на насыщение. Как и для других вариантов SALDI, показано, что коэффициент чувствительности на линейном участке определяется основностью аналита, и в зависимости от величины GB меняется в широких пределах. Для высокоосновных соединений, например, верапамила, резерпина, тофизопама, хлоропирамина и ряда других, коэффициенты чувствительности превышают 10^3 ион/фмоль, что позволяет надежно детектировать эти соединения на субфемтомольном уровне. Электрораспыление широко используется для ионизации химических соединений, поэтому при определении эффективности ионизации и чувствительности метода представлялось важным оценить возможный вклад в ионный сигнал SALDI процесса электрораспыления. Показательны в этом отношении эксперименты с изменением полярности напряжения на игле электрораспылителя. Изменение положительного потенциала на противоположный приводит к изменению режима регистрации ионов в методе электрораспыления с положительного на отрицательный. Сравнение ионных сигналов SALDI показало, что для всех исследованных аналитов не наблюдается существенных различий в величинах выхода протонированных молекул при изменении полярности потенциала при электрораспылении. Этот факт свидетельствует о том, что практически все ионы, регистрируемые в масс-спектрах, образуются в процессе SALDI.

При оценке пределов обнаружения необходимо учитывать, что стандартное отклонение холостого опыта, а также коэффициенты чувствительности соединений могут варьироваться в достаточно широких пределах вследствие влияния «матричных эффектов». На практике лучшие результаты получены при анализе чистых растворов аналита с применением способов уменьшения и учета «матричных эффектов». При этом достигается низкий предел обнаружения, а относительное стандартное отклонение не превышает 0.10 ($N = 5$). Например, предел обнаружения хлоропирамина составляет примерно 10 фг аналита, нанесенного на подложку. Для проведения количественного анализа образцов сложного состава важное значение приобретает пробоподготовка, которая должна обеспечить селективное выделение определяемого компонента.

Исследованы новые варианты инструментальной реализации метода SALDI. Первый из них основан на использовании времяпролётных масс-анализаторов типа «рефлектрон» с ортогональным вводом ионов через транспортный квадруполь (Q-TOF) и представляет собой сочетание ионного источника SALDI с Q-TOF и системой ввода пробы с вращающимся шаром. Изучена возможность определения и исследования фармакокинетики лекарственных соединений группы производных бензодиазепина, блокаторов кальциевых каналов, антиаритмических препаратов и ряда других в пробах плазмы крови, мочи и слюны. На стадии пробоподготовки

применяли известную методику, основанную на жидкость-жидкостной экстракции аналита. Установлено, что по чувствительности масс-анализатор Q-TOF с ионным источником SALDI уступает линейному времяпролетному масс-анализатору с тем же ионным источником. Коэффициенты чувствительности при анализе одних и тех же растворов на двух различных приборах отличаются более чем на порядок величины. Однако Q-TOF обеспечивает существенно более высокое качество масс-спектров при нанесении на подложку растворов, полученных после экстракции лекарственных соединений.

С использованием одного и того же масс-анализатора проведены сравнительные исследования аналитических параметров методов SALDI и электрораспыления. Найдено, что по чувствительности метод SALDI не уступает, а для большинства исследованных аналитов – превосходит метод ионизации электрораспылением. Отмечено еще одно преимущество SALDI – возможность накопления молекул аналита на поверхности эмиттера ионов. Концентрирование аналита на подложке позволяет снизить предел обнаружения за счет увеличения времени нанесения пробы.

Интерфейс на основе вращающегося шара в сочетании с масс-анализатором Q-TOF совместим с различными способами ввода пробы. Кроме электрораспыления был также разработан и исследован способ, основанный на программируемой термодесорбции.

Второй вариант инструментальной реализации метода SALDI, исследованный для определения нелетучих соединений, основан на применении в качестве масс-анализатора орбитальной ионной ловушки – Orbitrap. Для сочетания с импульсным ионным источником SALDI использована конструкция прибора с прямым вводом ионов в Orbitrap. Преимуществом конструкции является простота ионного тракта и, как следствие, высокий коэффициент пропускания ионной оптики. Показано, что такое сочетание характеризуется исключительно высоким разрешением и точностью определения масс, а его дальнейшее развитие является перспективным направлением для улучшения аналитических параметров SALDI.

6. Лазерная десорбция/ионизация для определения химических соединений с низкой величиной основности

Основной вариант, базирующийся на использовании реакции протонирования молекул на поверхности кремниевых эмиттеров ионов, ограничивает область применения метода SALDI определением соединений с относительно высокой величиной основности. Одно из наиболее важных направлений дальнейшего развития метода заключается в расширении круга химических соединений, которые можно ионизовать путем лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов. Предложены и исследованы подходы к определению органических соединений с низкой величиной основности методом SALDI.

6.1. Дериватизация определяемых соединений для улучшения метрологических характеристик лазерной десорбции/ионизации

Первый подход базируется на химической модификации (дериватизации) молекул аналита на стадии пробоподготовки с целью увеличения его основности в газовой фазе. Возможность использования дериватизации для увеличения эффективности лазерной десорбции/ионизации продемонстрирована на примере применения известной реакции восстановления амидной группы до аминогруппы под действием алюмогидрида лития LiAlH_4 в тетрагидрофуране. Амидная группа входит в состав многих биомолекул, лекарственных препаратов и других биологически активных соединений. В работе использовали лекарственные соединения фенobarбитал и карбамазепин. Показано, что восстановление имидной группы этих соединений позволяет снизить пределы обнаружения на два порядка величины. Очевидный недостаток подхода, основанного на дериватизации - это значительное увеличение продолжительности и сложности пробоподготовки. Однако в целом, дериватизация определяемых соединений с целью увеличения их основности является эффективным инструментом, который позволяет ввести в сферу задач, решаемых методом SALDI, самый широкий круг соединений с низкой величиной основности.

Более простым, но менее универсальным способом является предложенный в работе способ дериватизации протонированных молекул в ионном источнике масс-спектрометра, основанный на взаимодействии десорбированных ионов аналита с молекулами введенных в ионный источник реагентов. Для дериватизации ионов могут быть использованы различные реакции и различные реагенты. Как показали эксперименты, весьма эффективно использование реакции метилирования, протекающей при взаимодействии протонированных молекул определяемых соединений $[\text{MH}]^+$ с молекулами метанола: $[\text{MH}]^+ + \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow [\text{M}+\text{CH}_3]^+ + \text{H}_2\text{O}$.

В результате дериватизации в масс-анализатор вводятся ионы, характеризующие аналит, но имеющие другую массу, чем протонированные молекулы, и обладающие другими химическими свойствами. Этот эффект использован для улучшения метрологических характеристик метода SALDI. Продемонстрировано на примере определения пирролидина с нанесением пробы при атмосферном давлении, что предложенный способ позволяет избежать интерференции пиков ионов аналита с пиками ионов мешающих компонентов или ионов подложки. Варьируя реагент в ряду спиртов, а также используя изотопно обогащенные реагенты, можно выбирать для детектирования аналита участок в масс-спектре, свободный от интерференционных наложений. Другим примером является проведение анализа в условиях сильной фрагментации протонированных молекул аналита. Показано, что предложенный способ позволяет увеличить стабильность ионов, характеризующих молекулярную массу соединения.

6.2. Режим регистрации отрицательно заряженных ионов

Второй подход базируется на детектировании соединений в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов. Ионизация в этом режиме чаще всего основана на депротонировании молекул аналита.

Проведены исследования аналитических возможностей метода SALDI при определении аминокислот и нитроароматических соединений. В экспериментах использовали эффузионную ячейку для создания постоянного потока аналитов и оценки эффективности ионизации. В качестве эмиттеров ионов использовали подложки из пористого кремния и кремния, полученного лазерной обработкой. Для аминокислот найденные значения эффективности ионизации путем депротонирования составляют $(4\div 7)\times 10^{-7}$.

Значительно более высокая чувствительность SALDI обнаружена при изучении 2,4,6-тринитротолуола, 2,4,6-тринитрофенола (пикриновой кислоты) и 2,4,6-тринитрофенил,N-метилнитрамина (тетрила). В масс-спектрах 2,4,6-тринитротолуола, 2,4,6-тринитрофенола регистрируются интенсивные пики, соответствующие пикам депротонированных молекул $[M-H]^-$, а также фрагментным ионам $[M-OH]^-$ и $[NO_2]^-$ (масс-спектр 2,4,6-тринитрофенола представлен на рис. 19). В масс-спектре тетрила доминируют фрагментные пики, которые можно соотнести с ионами состава $[M-H_2NO_4]^-$ и $[NO_2]^-$.

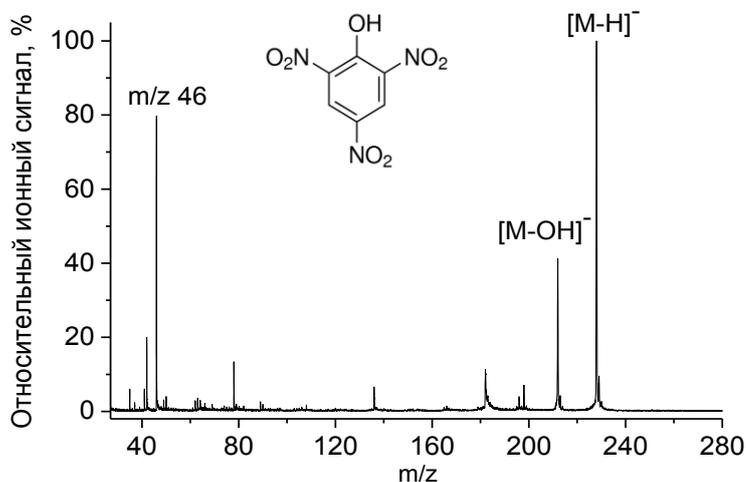


Рис. 19. Масс-спектр 2,4,6-тринитрофенола. Подложка – пористый кремний.

Найденные значения эффективности ионизации нитроароматических соединений составили: 4×10^{-4} , 5×10^{-3} и 10^{-3} для 2,4,6-тринитротолуола, 2,4,6-тринитрофенола и тетрила, соответственно. Предполагается, что высокая чувствительность определения нитроароматических соединений обусловлена «орто-эффектом» - специфичным влиянием заместителей, находящихся в орто-положении, на кислотные свойства аренов. При использовании термодесорбционного ввода проб пределы обнаружения составили: 0.07 нг/мл 2,4,6-тринитротолуола, 0.005 нг/мл 2,4,6-тринитрофенола и 0.02 нг/мл тетрила. Сравнение этих результатов с известными данными, полученными при

использовании других методов ионизации (термораспыления, химической ионизации, электронного захвата, DART) показывает, что достигнутые пределы обнаружения до трех порядков величины ниже.

Пример определения нитроароматических соединений демонстрирует, что режим регистрации отрицательных ионов может быть эффективным инструментом для детектирования некоторых органических соединений с низкой основностью.

6.3. Лазерная десорбция/ионизация с переносом электрона

Третий подход основан на использовании другого механизма ионизации органических соединений на поверхности полупроводниковых материалов, который можно обозначить как лазерно-индуцированную десорбцию/ионизацию с переносом электрона (Laser-induced Electron Transfer Desorption/Ionization - LETDI). Эффективность LETDI не зависит от величины основности определяемых соединений, что открывает новые возможности для определения химических соединений с низкой величиной основности методом SALDI.

Рассмотрены результаты применения LETDI для детектирования и идентификации комплексных соединений металлов, в том числе, комплексов с органическими реагентами, лекарственных препаратов с противоопухолевой активностью, и комплексов с биолигандами. На предварительном этапе исследований были найдены оптимальные параметры излучения. Показано, что зависимости выхода ионов от плотности энергии лазерного излучения в условиях ионизации с переносом электрона аналогичны приведенным на рис. 4.

Все исследованные комплексные соединения металлов дают в режиме регистрации положительных ионов простые масс-спектры, состоящие, главным образом, из пиков молекулярных ионов. Дополнительные возможности по идентификации комплексных соединений многих металлов дает наблюдение изотопного состава пиков. Примером типичного масс-спектра LETDI является приведенный на рис. 20а масс-спектр комплекса рения с 8-меркаптохинолином, зарегистрированный в области молекулярных ионов на масс-анализаторе Orbitrap. На рис. 20б представлено рассчитанное изотопное распределение для соединения $\text{ReO}(\text{C}_9\text{NSH}_6)_2$. Видно, что наблюдаемое изотопное распределение с хорошей точностью совпадает с рассчитанным, из чего следует, что состав комплекса описывается формулой ReOL_2 , где L – 8-меркаптохинолин без водорода. Совпадение расчетного и экспериментального масс-спектров показывает, что поток десорбированных с поверхности ионов аналита не содержит протонированных молекул, поэтому основной и единственный канал ионизации обусловлен процессом переноса электрона с определяемой молекулы.

Показано, что ряд комплексных соединений металлов ионизируется в режиме регистрации отрицательных ионов. Масс-спектры таких соединений содержат пик молекулярных ионов, а также обычно один или несколько фрагментных ионов.

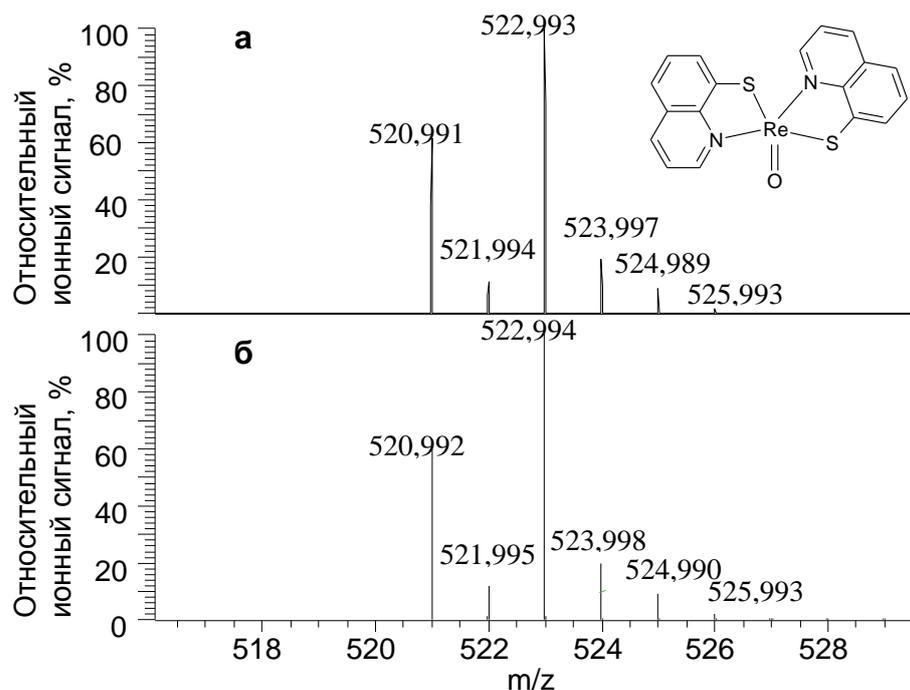


Рис. 20. (а) – Масс-спектр комплекса рения с 8-меркаптохинолином, зарегистрированный на масс-анализаторе Orbitrap с прямым вводом ионов, (б) – рассчитанное изотопное распределение для соединения $\text{ReO}(\text{C}_9\text{NSH}_6)_2$

Найденные значения эффективности ионизации исследованных комплексных соединений варьируются в зависимости от природы металла и лиганда в диапазоне величин $10^{-5} \div 10^{-8}$, что значительно меньше эффективности ионизации высокоосновных соединений с переносом протона. Для того чтобы более ясно представлять аналитические возможности LETDI проведено сравнение чувствительности четырех методов – LDI, MALDI, LETDI и электрораспыления, при анализе одних и тех же растворов комплексных соединений металлов. Для детектирования комплексов методом MALDI использовали матрицы DHB и α -HCCA. Исследовано более 20 соединений, включая комплексы различных металлов с дитизоном, меркаптохинолином, азосоединениями, тиокарбаматами, а также хлорофилл. Найдено, что для всех аналитов чувствительность LETDI выше от одного до трех порядков величины по сравнению с MALDI. В свою очередь, эффективность ионизации комплексов методом MALDI в несколько раз выше, чем методом LDI.

Большинство исследованных комплексных соединений характеризуются относительно низкими значениями коэффициентов поглощения лазерного излучения на длине волны 355 нм. Сравнение методов лазерной десорбции/ионизации при определении соединений с высоким коэффициентом поглощения лазерного излучения показало, что такие соединения детектируются методами MALDI, LETDI и LDI с близкими значениями эффективности ионизации.

Полученные данные позволяют предположить, что ионизация комплексных соединений с низкой величиной сродства к протону обусловлена двумя различными процессами. Для соединений с высоким коэффициентом поглощения лазерного излучения преобладает процесс фотоионизации, эффективность

которого определяется взаимодействием адсорбированных молекул аналита с излучением. Для соединений с низким коэффициентом поглощения преобладает ионизация, обусловленная процессами переноса электронов между подложкой и адсорбированными на ее поверхности молекулами аналитов.

Сравнение характеристик методов LETDI и электрораспыления показало, что по чувствительности LETDI превосходит метод электрораспыления от 3×10^2 до 2×10^4 раз.

ВЫВОДЫ

1. Определена роль факторов, влияющих на протекание процессов лазерной десорбции/ионизации на поверхности кремниевых материалов: морфологии и структуры поверхностного слоя, химического состава поверхности, лазерного излучения, давления паров воды, основности аналита. Установлены зависимости эффективности ионизации от параметров этих факторов и найдены оптимальные значения параметров для определения летучих органических соединений. Показано, что общим свойством эффективных кремниевых эмиттеров ионов является высокая плотность структурных дефектов, которым соответствуют глубокие энергетические уровни. Найдено, что эффективность ионизации экспоненциально зависит от основности определяемых соединений в газовой фазе.

2. Предложена модель лазерной десорбции/ионизации с переносом протона на поверхности кремниевых материалов. На основе полученных экспериментальных данных, численного моделирования температуры поверхности при лазерном воздействии и квантово-химических расчётов показано, что реакция протонирования протекает на поверхности и инициируется локализацией фотоиндуцированных носителей положительного заряда вблизи протонодонорного центра. Десорбция ионов протекает по тепловому механизму при температурах, существенно меньших, чем температура плавления материала подложки и обусловлена быстрым локальным нагревом поверхности под действием лазерного излучения.

3. Предложены новые кремниевые материалы для использования в качестве эмиттеров ионов в условиях лазерной десорбции/ионизации органических соединений. Разработаны простые способы формирования активной поверхности эмиттеров ионов, обеспечивающие высокую воспроизводимость ионизационных свойств материала, а также высокую чувствительность анализа.

4. Разработана технология и созданы методы масс-спектрометрического определения летучих органических соединений, основанные на сочетании SALDI с термодесорбционным методом и газовой хроматографией. Найдены значения эффективности ионизации органических соединений. На примере фенилалкиламинов изучены закономерности фрагментации ионов. Показано, что

фрагментация однозначно определяется структурой молекул аналитов, что позволяет достоверно идентифицировать определяемые соединения при анализе проб сложного состава.

5. Разработаны способы определения лекарственных соединений в моче и плазме крови. Продемонстрирована возможность прямого определения содержания лекарств в моче без предварительной пробоподготовки при использовании сочетания SALDI с термодесорбционным вводом проб. Предложена методика определения соединений в плазме крови на основе сочетания SALDI с газовой хроматографией. Определены основные аналитические параметры разработанных методов при определении фенилалкиламинов и лекарственных соединений – чувствительность, воспроизводимость, предел обнаружения, динамический диапазон. Достигнутые пределы обнаружения варьируются для различных соединений от 2 до 400 пг/мл, что до трех порядков величины ниже, чем при использовании стандартных масс-спектрометрических методов с электронной и химической ионизацией.

6. Предложен подход к on-line анализу газовых сред, основанный на сочетании ионного источника SALDI и системы ввода проб с вращающимся шаром. Разработан метод определения органических соединений в атмосферном воздухе, позволяющий проводить детектирование высокоосновных соединений в воздухе на уровне 100 ppt и ниже, а также осуществлять непрерывный контроль химического состава атмосферы. Создан генератор микропотока на основе массочувствительных кварцевых пьезорезонаторов для непрерывного контроля ионизационных свойств эмиттера ионов и в качестве внешнего стандарта при анализе воздуха.

7. Расширены возможности метода SALDI для анализа растворов нелетучих органических соединений. Разработан способ определения нелетучих соединений, основанный на использовании электрораспыления при атмосферном давлении для нанесения пробы на кремниевый эмиттер ионов и системы с вращающимся шаром для ввода пробы в масс-спектрометр. Оптимизированы условия нанесения и анализа пробы, найдены основные аналитические характеристики при определении ряда лекарственных веществ. Установлено, что по чувствительности анализа разработанный способ не уступает, а для большинства исследованных соединений – превосходит стандартный метод ионизации электрораспылением. Показано, что метод SALDI совместим с масс-анализатором сверхвысокого разрешения «Orbitrap» с прямым вводом ионов.

8. Предложены подходы к дальнейшему развитию SALDI, позволяющие улучшить метрологические характеристики метода и расширить число классов химических соединений, которые можно детектировать с высокой чувствительностью: дериватизация молекул соединений с низкой величиной

основности и дериватизация образующихся в процессе SALDI ионов; лазерная десорбция/ионизация в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов; инициированная лазерным излучением ионизация путем переноса электрона.

9. Установлено, что в режиме регистрации отрицательных ионов SALDI является высокочувствительным методом определения нитроароматических соединений с пределами обнаружения аналитов до трех порядков величины ниже, чем при использовании традиционных масс-спектрометрических методов. На примере использования реакции восстановления амидной группы до аминогруппы показано, что дериватизация позволяет снизить предел обнаружения соединений с амидной группой на два порядка величины. Показано, что разработанный вариант SALDI – лазерно-индуцированная десорбция/ионизация с переносом электрона (LETDI), применим для масс-спектрометрического определения комплексных соединений металлов, в том числе, комплексов с органическими реагентами, лекарственных препаратов с противоопухолевой активностью и комплексов с биополимерами. Показано, что по эффективности ионизации комплексных соединений металлов метод LETDI превосходит стандартные масс-спектрометрические методы MALDI и электрораспыления от одного до трех порядков величины.

Публикации по теме диссертации

1. Лебедева Т.Л., Алиева Е.Д., Трухманова Н.И., Ледина Л.Е., Гречников А.А., Перченко В.Н., Платэ Н.А. Взаимодействие твердых полимерных карбоновых кислот с парами N,N-диметилгидразина // Высокомолек. соед. А. — 1998. — Т. 40, № 10. — С. 1554-1563.
2. Могилевский А.Н., Гречников А.А., Калашникова И.С., Перченко В.Н. Измерение концентраций паров несимметричного диметилгидразина в воздухе с использованием массочувствительных пьезорезонансных сенсоров // Журн. аналит. химии. — 1999. — Т. 54, № 9. — С. 985-990.
3. Гречников А.А., Могилевский А.Н., Галкина И.П., Мясоедов Б.Ф., Алиева Е.Д., Трухманова Н.И., Лебедева Т.Л., Платэ Н.А. Пьезорезонансный сенсор аммиака с полималеиновой кислотой в качестве чувствительного покрытия // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, № 6. — С. 664-671.
4. Калашникова И.С., Лебедева Т.Л., Гречников А.А., Платэ Н.А., Мясоедов Б.Ф. Механизм взаимодействия паров несимметричного диметилгидразина с комплексами поли-(N-2-алкоксикарбонилэтил)-этилениминов с хлоридами меди(II) и палладия(II) // Журн. аналит. химии. — 2002. — Т. 57, № 5. — С. 482-489.
5. Alimpiev S.S., Nikiforov S.M., Karavansky V.A, Grechnikov A.A, Sunner J.A. Laser desorption of ions from microscopically rough surfaces. Novel technique for ultrahigh sensitivity detection of organic and bioorganic compounds // Proc. SPIE. — 2004. — V. 5506. — P. 95-106.
6. Alimpiev S.S., Nikiforov S.M., Grechnikov A.A., Sunner J.A. Novel technique for ultra sensitive detection of organic compounds // Kluwer Academic Publishers, Series II: Mathematics, Physics and Chemistry – V.157 “Vapour and Trace Detection of Explosives for Anti-Terrorism Purposes”. 2004. P.101-112.

7. Alimpiev S.S., Grechnikov A.A., Sunner J., Karavanskii V.A., Simanovsky Ya.O., Zhabin S.N., Nikiforov S.M. On the role of defects and surface chemistry for surface-assisted laser desorption ionization from silicon // *J. Chem. Phys.* — 2008. — V. 128, № 1. — P. 014711(19).
8. Alimpiev S.S., Grechnikov A.A., Sunner J., Borodkov A.S., Karavanskii V.A., Simanovsky Ya.O., Nikiforov S.M. Gas Chromatography/Surface-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry of Amphetamine-like Compounds // *Anal. Chem.* — 2009. — V. 81, № 3. — P. 1255-1261.
9. Гречников А.А., Бородков А.С., Алимбиев С.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О., Караванский В.А. Определение соединений группы фенилалкиламинов методом поверхностно активированной лазерной десорбции-ионизации с аморфного кремния // *Масс-спектрометрия.* — 2010. — Т. 7, № 1. — С. 53-59.
10. Grechnikov A.A., Georgieva V.B., Alimpiev S.S., Borodkov A.S., Nikiforov S.M., Simanovsky Ya.O., Dimova-Malinovska D., Angelov O.I. Investigation of thin ZnO layers in view of laser desorption-ionization layers in view of laser desorption-ionization // *J. Phys. Conf. Ser.* — 2010. — V. 223, № 1. — P. 012038-012042.
11. Alimpiev S.S., Grechnikov A.A., Sunner J., Karavanskii V.A., Simanovsky Ya.O., Nikiforov S.M. Surface-assisted laser desorption ionization (SALDI) mass spectrometry with a rotating ball interface // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* — 2011. — V. 25, № 1. — P. 140–146.
12. Жабин С.Н., Пенто А.В., Гречников А.А., Никифоров С.М., Алимбиев С.С. Исследование процесса лазерной десорбции ионов б-аланина с поверхности аморфного кремния методом задержанной экстракции // *Электромагнитные волны и электронные системы.* — 2011. — Т. 16, №4. — С. 56-60.
13. Жабин С.Н., Пенто А.В., Гречников А.А., Бородков А.С., Сартаков С.Б. Никифоров С.М., Алимбиев С.С. О роли лазерного излучения в процессах лазерной десорбции-ионизации с кремниевых поверхностей // *Квант. электрон.* — 2011. — Т. 41, № 9. — С. 835-842.
14. Никифоров С.М., Симановский Я.О., Гречников А.А., Пенто А.В., Алимбиев С.С. Лазерный масс-спектрометр для анализа биологических жидкостей // *Электромагнитные волны и электронные системы.* — 2012. — Т. 17, № 4. — С. 39-44.
15. Кубасов А.Е., Бородков А.С., Гречников А.А., Алимбиев С.С. Исследование процессов фрагментации биогенных аминов при лазерной десорбции-ионизации с поверхности // *Электромагнитные волны и электронные системы.* — 2012. — Т. 17, № 10. — С. 60-65.
16. Grechnikov A.A., Kubasov A.E., Georgieva V.B., Borodkov A.S., Nikiforov S.M., Simanovsky Ya.O., Alimpiev S.S. Rapid screening of pharmaceutical drugs using thermal desorption – SALDI mass spectrometry // *J. Phys.: Conf. Ser.* — 2012. — V. 398, № 1. — P. 012033(6).
17. Georgieva V., Donkov N., Stefanov P., Sendova-Vassileva M., Grechnikov A., Gadjanova V. NO₂ sensing properties of amorphous silicon films // *J. Phys.: Conf. Ser.* — 2012. — V. 356, № 1. — P. 012027(4).
18. Гречников А.А., Бородков А.С., Алимбиев С.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О. Основность в газовой фазе - параметр, определяющий эффективность лазерной десорбции-ионизации с кремниевых поверхностей // *Журн. аналит. химии.* — 2013. — Т. 68, № 1. — С. 22-30.

19. Никифоров С.М., Симановский Я.О., Гречников А.А., Пенто А.В., Алимпиев С.С. Экспресс-анализ лекарственных препаратов методом лазерной масс-спектрометрии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2013. — Т. 11, № 2. — С. 21-25.

20. Макаров А.А., Гречников А.А., Никифоров С.М., Тютюнник О.А., Денисов Э.В. Масс анализатор Orbitrap с прямым вводом ионов в сочетании с лазерной десорбцией/ионизацией // Масс-спектрометрия. — 2013. — Т. 10, № 2. — С. 77-82.

21. Борисова Л.В., Бородков А.С., Гречников А.А., Уголкова Е.А., Минин В.В. Состав и строение комплексов Re(VI) по данным ЭПР и лазерной масс-спектрометрии // Журн. неорган. химии. — 2013. — Т. 58, № 8. — С. 1056-1060.

22. Grechnikov A., Nikiforov S., Strupat K., Makarov A. Determination of rhenium and osmium complexes by surface-assisted laser desorption/ionization coupled to Orbitrap mass analyzer // Anal. Bioanal. Chem. — 2014. — V. 406, № 13. — P. 3019-3023.

23. Гречников А.А., Бородков А.С., Жабин С.Н., Алимпиев С.С. О механизме десорбции ионов в условиях лазерной десорбции/ионизации с кремниевых поверхностей // Масс-спектрометрия. — 2014. — Т. 11, № 2. — С. 71-76.

24. Grechnikov A.A., Georgieva V., Borodkov A. S., Nikiforov S.M., Raicheva Z., Lazarov J., Donkov N. Laser-induced electron transfer desorption/ionization of metal complexes on TiO₂ films // J. Phys.: Conf. Ser. — 2014. — V. 558, № 1. — P. 012035(6).

25. Алимпиев С.С., Гречников А.А., Никифоров С.М. Новые подходы в лазерной масс-спектрометрии органических объектов // Успехи физ. наук. — 2015. — Т. 185, № 2. — С. 207-212.

26. Гречников А.А. Аналитические возможности метода лазерной десорбции-ионизации, активируемой поверхностью, при определении низкомолекулярных летучих соединений // Журн. аналит. химии. — 2015. — Т. 70, № 9. — С. 916-924.

27. Grechnikov A.A., Georgieva V., Donkov N., Borodkov A.S., Pento A.V., Raicheva Z., Yordanov Tс.A. Comparison of different substrates for laser-induced electron transfer desorption/ionization of metal complexes // J. Phys.: Conf. Ser. — 2016. — V. 700, № 1. — P. 012025(6).

28. Гречников А.А., Бородков А.С., Никифоров С.М., Кузьмин И.И. Лазерная десорбция/ионизация с переносом электрона для высокочувствительного масс-спектрометрического определения комплексных соединений металлов // Технология живых систем. — 2016. — Т. 13, № 3. — С. 66-74.

29. Гречников А.А., Бородков А.С., Симакина Я.И., Арапова З.М., Михайлова А.В., Кузьмин И.И., Дедков Ю.М., Минин В.В. Комплексообразование гетероциклических азосоединений с ионами переходных металлов по данным метода лазерно-индуцированной десорбции/ионизации // Известия РАН. Сер. хим. — 2016. — № 12. — С. 2789-2794.

30. Бородков А.С., Кузьмин И.И., Гречников А.А., Симановский Я.О. Определение комплексных соединений металлов методом лазерной десорбции/ионизации с переносом электрона в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2016. — № 10. — С. 53-59.

31. Grechnikov A.A., Borodkov A.S., Pento A.V., Polyakov N.B., Kuzmin I.I. New approaches to laser desorption/ionization of chemical compounds for geochemical studies // Geochemistry International. — 2017. — V. 55, № 1. — P. 19-26.

32. Borodkov A.S., Kuz'min I.I., Polyakov N.B., Grechnikov A.A., Alimpiev S.S. Comparison of the laser desorption/ionization methods for detecting complex metal compounds // *Phys. Wave Phenom.* — 2017. — V. 25, № 4. — P. 243-248.

33. Гречников А.А., Бородков А.С., Никифоров С.М. Дериватизация ионов в условиях лазерной десорбции/ионизации, активируемой поверхностью // *Журн. аналит. химии.* — 2019. — Т. 73, № 3. (в печати).

34. Могилевский А.Н., Гречников А.А., Строганова Н.С., Галкина И.П., Мясоедов Б.Ф., Перченко В.Н., Калашникова И.С., Ледина Л.Е., Баранов В.В., Платэ Н.А. Сенсор паров аммиака. Патент РФ № 2110061. Заявка 97106354/25 от 28.04.1997, опубл. 27.04.1998.

35. Алимпов С.С., Никифоров С.М., Гречников А.А., Караванский В.А., Саннер Ж. Способ формирования шероховатой поверхности кремниевых подложек и электролит для анодного травления кремниевых подложек. Патент РФ № 2217840. Заявка 2003101425/28 от 21.01.2003, опубл. 27.11.2003, бюл. № 33.

36. Гречников А.А., Могилевский А.Н., Алимпов С.С., Никифоров С.М. Генератор микропотока паров веществ. Патент РФ № 2280501. Заявка 2005113964/15 от 12.05.2005, опубл. 27.07.2006, бюл. № 21.

37. Алимпов С.С., Никифоров С.М., Гречников А.А., Караванский В.А., Симановский Я.О. Способ десорбции-ионизации химических соединений. Патент РФ № 2285253. Заявка 2005141027/28 от 28.12.2005, опубл. 10.10.2006, бюл. № 28.

38. Алимпов С.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О., Гречников А.А. Способ доставки анализируемого вещества в систему регистрации и устройство для его осуществления. Патент РФ № 2327244. Заявка 2006131356/28 от 31.08.2006, опубл. 20.06.2008, бюл. № 17.

39. Гречников А.А., Алимпов С.С., Караванский В.А., Никифоров С.М., Симановский Я.О. Способ получения наноструктурированных кремниевых подложек. Патент РФ № 2364983. Заявка 2007144944/28 от 05.12.2007, опубл. 20.08.2009, бюл. № 23.

40. Гречников А.А., Алимпов С.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О. Способ формирования эмиттера ионов для лазерной десорбции-ионизации химических соединений. Патент РФ № 2426191. Заявка 2010121208/28 от 26.05.2010, опубл. 10.08.2011, бюл. № 22.

41. Grechnikov A., Alimpiev S., Nikiforov S., Simanovskiy Ya. Method for designing ion emitters for laser desorption and ionisation of chemical compounds. European Patent Application EP2395537 A1. 14.12.2011.

42. Гречников А.А., Алимпов С.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О., Бородков А.С. Способ определения металлов и комплексных соединений металлов. Патент РФ № 2531762. Заявка 2013122031/28 от 14.05.2013, опубл. 27.10.2014, бюл. № 30.

43. Гречников А.А., Бородков А.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О., Алимпов С.С. Способ масс-спектрометрического определения химических соединений. Патент РФ № 2599330. Заявка 2015120408/28 от 29.05.2015, опубл. 10.10.2016, бюл. № 28.

44. Гречников А.А., Бородков А.С., Никифоров С.М., Симановский Я.О., Алимпов С.С. Установка для масс-спектрометрического определения химических соединений. Патент РФ на полезную модель № 160431. Заявка 2015120409/28 от 29.05.2015, опубл. 20.03.2016, бюл. №8.