

02;10

Масс-спектрометрическое исследование термической и ударной фрагментации молекулы глицина

© В.С. Вукстич, А.И. Имре, А.В. Снегурский

Институт электронной физики НАН Украины, Ужгород

E-mail: sneg@mail.uzhgorod.ua

В окончательной редакции 30 июня 2009 г.

С использованием техники пересекающихся электронного и молекулярного пучков и масс-спектрометрического анализа изучен процесс фрагментации молекулы глицина ($C_2H_5NO_2$), относящейся к группе аминокислот. Основное внимание уделено образованию ионных фрагментов исходной молекулы вследствие как ударного механизма взаимодействия с медленными электронами (диссоциативной ионизации), так и термической деградации рабочего вещества при его нагреве с последующей ионизацией электронным ударом. В качестве анализирующего прибора применен стандартный промышленный магнитный масс-спектрометр типа МИ-1201, подвергшийся существенной конструктивной модернизации.

PACS: 34.80.Gs

Известно, что взаимодействие ионизирующего излучения с тканями живых организмов в большинстве своем приводит к необратимым процессам на генетическом уровне [1]. Механизмы разрушения клеточного материала связаны как с прямым воздействием высокоэнергетических частиц, так и с вторичными эффектами, обусловленными изменением химической структуры клеток под действием низкоэнергетических электронов, возникающих при ионизации молекул живой ткани первичными

частицами. Само по себе первичное излучение обуславливает примерно треть мутагенных изменений в клетках [2], а существенно более значительная часть таких изменений связана именно с образующимися в процессе взаимодействия вторичными электронами и свободными молекулярными радикалами. Они могут вызывать повреждение структурных элементов нуклеиновых кислот, аминокислот и основ ДНК и РНК, в частности разрыв одинарных и двойных связей, диссоциацию молекул клеток и т.д. Поэтому общепризнано, что именно медленные вторичные электроны представляют основной интерес с точки зрения отслеживания последствий как разрушительных изменений живых клеток под действием ионизирующего излучения, так и полезных эффектов прирадиационной терапии злокачественных образований в живой материи [3].

Аминокислоты известны как конструктивные элементы тканей живых организмов. Кроме того, нельзя упускать из виду и тот факт, что именно они, согласно современным теориям, причастны к зарождению и последующему развитию жизни на Земле. Данные последних исследований свидетельствуют, что молекулы различных аминокислот присутствуют в широком классе космических объектов (скажем, метеоритов и комет), что, в принципе, может служить косвенным подтверждением идеи „импорта“ жизни на нашу планету [4].

Все это и обуславливает интерес к исследованию процессов взаимодействия медленных электронов с молекулами аминокислот, в частности, к механизмам и продуктам разрушения структуры первичных молекул под действием различных факторов, что и стало ключевой целью при выполнении данной работы.

В работе приводятся первые результаты экспериментального исследования фрагментации одной из молекул аминокислотного ряда — молекулы глицина ($C_2H_5NO_2$) — при ее взаимодействии с моноэнергетическими электронами низких энергий. В качестве аналитического метода нами применена техника масс-спектрометрии, позволяющая надежно и однозначно отождествлять продукты взаимодействия и изучать динамику их образования. Идентификация ионных продуктов взаимодействия осуществлялась с помощью серийного магнитного масс-спектрометра МИ-1201, подвергнувшегося в ходе выполнения работы существенной модернизации.

Несмотря на указанную выше важность подобных исследований, данные по основным механизмам структурных изменений в молекулах,

вызванных действием низкоэнергетических электронов, далеки от целостности и полноты. Согласно известной базе данных Американского Национального института стандартов (NIST) [5], имеющиеся данные по образованию фрагментов исходной молекулы в значительной степени немногочисленны и противоречивы. Основной причиной этого является тот факт, что молекулы биологического происхождения, к которым относится и глицин, испытывают сильную фрагментацию как вследствие собственно взаимодействия с налетающей ионизирующей частицей (в процессе диссоциативной ионизации), так и в результате термической деградации исследуемого вещества при нагревании, необходимом для перевода его в свободную (газообразную) форму.

Использованный нами в качестве анализатора масс фрагментов магнитный масс-спектрометр в своем стандартном исполнении предназначен для анализа состава веществ в широком диапазоне масс от 1 до 720 а.е.м. Его высокая чувствительность и разрешающая способность ($m/\Delta m = 1100$, паспортная величина) позволяют надежно разделять и отождествлять компоненты с близкими массами даже при невысоких интенсивностях ионных потоков на детектор. Однако из-за сильной зависимости геометрии электронного пучка в стандартном источнике ионов от энергии и индукции фокусирующего магнитного поля он не допускает варьирования энергии ионизирующих электронов, позволяя работать лишь при ее фиксированном значении. В то же время, в особенности при работе со сложными многоатомными молекулами, зачастую возникает необходимость перестройки ионного источника путем подбора энергии электронов с целью обеспечения максимальных потоков ионов различной массы на детектор.

Для того чтобы преодолеть указанные недостатки масс-анализатора, нами была проведена его существенная модернизация. Она коснулась, в первую очередь, конструкции источника электронов и системы регистрации ионов. Кроме того, нами был сконструирован принципиально новый источник пучков молекул эффузионного типа с омическим нагревом рабочего вещества, обеспечивавший концентрации молекул в ионном источнике на уровне 10^{10} см^{-3} . Температура источника могла изменяться от комнатной до 150°C , контроль температуры рабочего вещества осуществлялся с помощью градуированной хромель-алюмелевой термопары. Специально разработанная миниатюрная трех-электродная электронная пушка обеспечивала токи электронов в обла-

сти взаимодействия с молекулярным пучком на уровне $30\text{--}50\ \mu\text{A}$ при энергетическом разбросе порядка $0.2\text{--}0.5\ \text{eV}$ в широком диапазоне энергий ионизирующих электронов от 10 до 150 eV, что позволяло измерять энергетические зависимости выхода ионных фрагментов. Образующиеся в источнике ионы вытягивались и фокусировались электростатическим полем, после чего поступали на вход магнитного анализатора. Ионы, прошедшие анализатор, детектировались высокочувствительным полупроводниковым электрометром. Система сбора, накопления, обработки и визуализации данных управлялась от персонального компьютера и позволяла работать в циклическом режиме с накоплением полезного сигнала в реальном времени. Учитывая, что модернизация экспериментальной установки находится в процессе завершения, далее мы не будем подробно останавливаться на ее описании (этому вопросу будет посвящена наша отдельная публикация).

Экспериментальная процедура состояла в следующем. Прежде всего, вводились в рабочие режимы источники электронного и молекулярного пучков и, после достижения оптимальных условий формирования пучков, записывались масс-спектры молекулы глицина при различных энергиях ионизации. Поскольку, как указывалось выше, молекулы глицина при нагреве испытывают термический развал, указанные спектры масс измерялись также и при различных температурах молекул в источнике. Так, в качестве примера на рис. 1 приведен линейный участок (в полулогарифмической шкале) зависимости интенсивности (I_i) одного из фрагментов молекулы глицина $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$ от температуры в источнике (T) при энергии ионизации 66 eV. Линейность этой зависимости позволяет утверждать, что вкладом термической фрагментации исходной молекулы в данном диапазоне температур можно пренебречь. Видно, что диапазон температур исходной молекулы $70\text{--}85^\circ\text{C}$ является оптимальным для генерации пучка молекул. При меньших значениях температуры интенсивность образующихся ионов оказывается слишком малой для обеспечения уверенной регистрации полезного сигнала. В то же время при более высоких температурах нами было зарегистрировано отклонение от линейного характера указанной зависимости, что свидетельствует о возрастании вклада термического развала исходной молекулы. Таким образом, можно заключить, что в наших экспериментах в указанном диапазоне температур образование данного фрагмента (а равно и остальных, изученных в работе) связано именно с процессом диссоциативной ионизации.

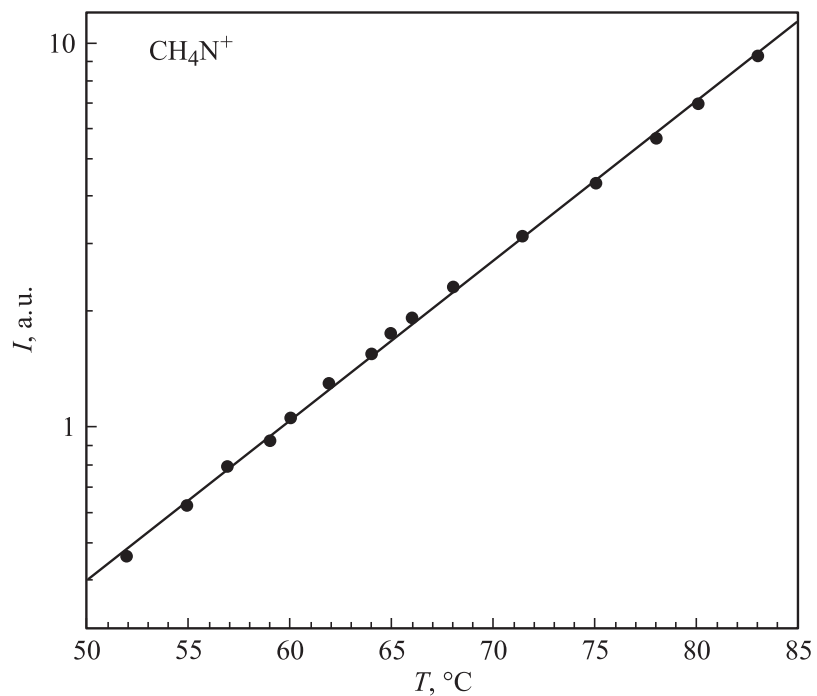


Рис. 1. Температурная зависимость выхода ионов CH_4N^+ при энергии 66 eV.

Перейдем к анализу результатов исследования фрагментации молекул глицина под действием электронного удара вследствие реакции диссоциативной ионизации. На рис. 2 приведен участок масс-спектра молекулы $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$, измеренный при энергии ионизации 66 eV и температуре источника 80°C . Заметим, что в масс-спектре практически отсутствовал ионный пик $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$, соответствующий прямой ионизации исходной молекулы глицина. Такая картина характерна для значительного числа сложных молекул (см., например, наши более ранние измерения ионизации и диссоциативной ионизации молекулы гексафторида серы [6]) и свидетельствует о нестабильности „материнского“ молекулярного иона, испытывающего значительный развал практически за время однократного соударения.

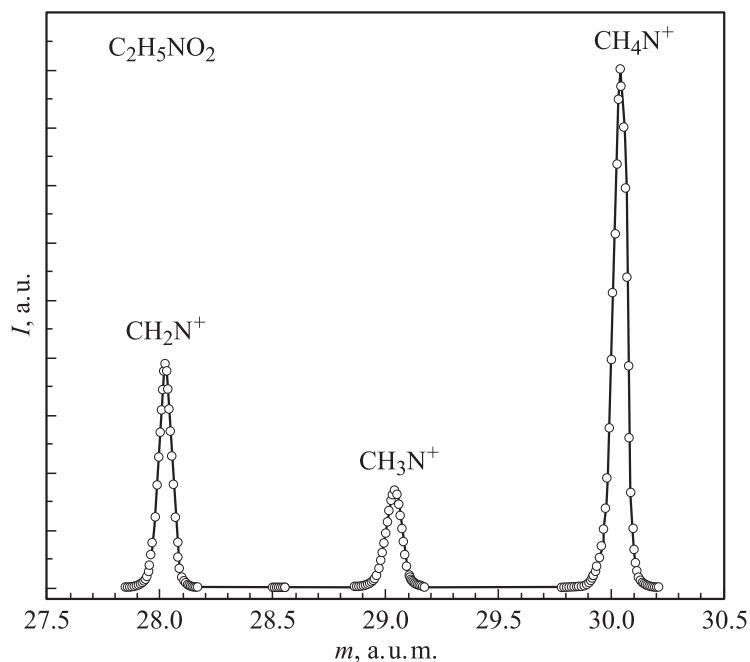


Рис. 2. Участок масс-спектра фрагментов молекулы глицина при энергии 66 eV.

Как видно из рис. 2, наиболее выраженный пик в масс-спектре глицина связан с образованием фрагмента исходной молекулы с массой $m = 30$ a.u.m. Поскольку в нашем эксперименте выход ионов с зарядом 2 не зарегистрирован, здесь и далее мы будем считать, что образующиеся ионы являются однозарядными, что позволяет при дальнейшем анализе полученных результатов оперировать понятием массы фрагментов (а не ее отношения к заряду иона). Анализ природы появления данного пика показал, что наиболее вероятными фрагментами, дающими вклад в измеряемый сигнал, являются ионы CH_4N^+ и CH_2O^+ . Заметим, что по данным исследований фотоионизации глицина [7] первый из указанных фрагментов может образовываться в виде двух изомерных компонент — NH_2CH_2^+ и CH_3NH^+ . Однако в той же работе высказано предположение, что выход иона CH_3NH^+ имеет меньшую вероятность,

поскольку такая молекула практически нестабильна и ее образование требует существенного перегруппирования исходного молекулярного иона. То же касается и вероятности выхода иона CH_2O^+ , что позволило нам однозначно интерпретировать указанный пик как соответствующий развалу молекулы глицина с образованием ионного фрагмента NH_2CH_2^+ и нейтрального радикала CHO_2 вследствие простого разрыва соответствующей связи в „материнском“ ионе $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$.

Второй по интенсивности пик на указанном участке масс-спектра имеет массу $m = 28$ a.u.m. и может быть однозначно связан с образованием ионного фрагмента молекулы глицина CH_2N^+ . И вновь, согласно оценкам на основании данных фотоионизации [7], можно заключить, что основной вклад в данный канал фрагментации вносит изомер HCNH^+ . И наконец, третий пик в исследованном масс-спектре с массой $m = 29$ a.u.m. может быть отождествлен с ионным фрагментом CH_3N^+ . На данном этапе анализа результатов наших исследований мы не будем останавливаться на детальном рассмотрении этого и последующих фрагментов молекулы глицина с более высокими массами (на рис. 2 не показаны), однако отметим, что общая картина полного масс-спектра продуктов фрагментации глицина довольно обширна ввиду сложности исходной молекулы и значительного числа каналов ее развала.

Таким образом, можно заключить, что нами с использованием экспериментальной установки с модернизированным промышленным масс-спектрометром МИ-1201 измерены выходы ионных фрагментов молекулы глицина при ее взаимодействии с электронами контролируемой энергии. Отождествлены основные продукты фрагментации указанной молекулы, дана интерпретация возможных каналов ее протекания, оценен вклад термической деградации в изучаемый процесс.

Авторы признательны проф. Я. Боярскому (Ягеллонский университет, Краков, Польша) за методическую помощь в выполнении данной работы.

Список литературы

- [1] *Cristoni S., Bernardi L.R.* // *Mass. Spectr. Rev.* 2003. V. 22. P. 369–406.
- [2] *Michael B.D., O'Neill P.A.* // *Science.* 2000. V. 287. P. 1603–1604.
- [3] *Denifl S., Sonnweber B., Hanel G., Scheier P., Maerk T.D.* // *Int. J. Mass. Spectrom.* 2004. V. 238. P. 47–53.

- [4] *The Molecular Origins of Life. Assembling Pieces of the Puzzle* / Ed. A. Brack. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1998. 428 p.
- [5] *NIST Standard Reference Database: Chemistry Webbook*, <http://webbook.nist.gov>.
- [6] *Snegursky A.V., Chipev F.F., Zvilopulo A.N., Shpenik O.B.* // *Radiat. Phys. Chem.* 2007. V. 76. P. 604–606.
- [7] *Jochims H.-W., Schwell M., Chotin J.-L.* // *Chem. Phys.* 2004. V. 298. P. 279–296.