
**ПРИБОРОСТРОЕНИЕ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ**

УДК 543.51

© А. Ю. Горбунов, И. М. Зорин, С. К. Ильюшонок, А. А. Бардин,
О. А. Кельцева, Н. В. Краснов, В. Н. Бабаков, Е. П. Подольская, 2020

**ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ
TiO₂ МАЛДИ-МИШЕНИ ДЛЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ
С ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ
ДЕСОРБЦИЕЙ-ИОНИЗАЦИЕЙ**

Оптимизированы параметры электрофоретического осаждения TiO₂ на подложку из нержавеющей стали. Полученное покрытие было использовано в качестве эмиттера ионов при поверхностно-активированной лазерной десорбции-ионизации (ПАЛДИ). Продемонстрирована высокая эффективность полученных покрытий для ПАЛДИ амиодарона с последующим анализом путем масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье. Дополнительная модификация покрытий полидиметилсилоксаном значительно повышает чувствительность ПАЛДИ-МС-анализа.

Кл. сл.: ПАЛДИ-масс-спектрометрия, TiO₂, электрофоретическое осаждение, амиодарон

ВВЕДЕНИЕ

Масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией-ионизацией (МАЛДИ-МС) широко используется для анализа полимеров природного происхождения (пептиды, олигосахариды, белки), а также синтетических полимеров [1, 2]. Существенным ограничением метода МАЛДИ-МС является присутствие в масс-спектрах в области низких масс сигналов ионов матрицы, перекрывающих пики ионов аналитов, что делает затруднительным применение данного метода для исследования низкомолекулярных органических соединений, таких как многие биологически активные соединения и их метаболиты [3].

Масс-спектрометрия с поверхностно-активированной лазерной десорбцией-ионизацией (ПАЛДИ-МС) может рассматриваться как альтернатива МАЛДИ-МС при анализе низкомолекулярных соединений, что, прежде всего, связано с незначительным уровнем фона в диапазоне низких масс и высокой эффективностью ионизации при использовании неорганических матриц (в виде наночастиц или структурированных поверхностей) [4, 5]. TiO₂ является одним из наиболее распространенных и эффективных эмиттеров ионов для ПАЛДИ-МС, что, прежде всего, обусловлено его фотокаталитическими свойствами [6].

Широко используемым способом формирования покрытия — эмиттера ионов является метод "сухих капель". Данный метод предполагает нанесение раствора аналита в суспензии наночастиц на

подложку (МАЛДИ-мишень) с последующим ПАЛДИ-МС-анализом [7–9]. Однако в этом случае ПАЛДИ-МС-анализ органических веществ может быть неэффективным в связи с низкой воспроизводимостью сигнала в пределах каждой ячейки нанесения образца (sample spot), что, прежде всего, связано с неравномерным распределением неорганической матрицы при высыхании (эффект "кофейного кольца") [10].

Также в качестве эмиттера ионов могут быть использованы нанотрубки TiO₂ [11]. Существенным ограничением данного подхода является невозможность формирования нанотрубок TiO₂ на стандартных МАЛДИ-мишенях, изготавливаемых из нержавеющей стали. Соответственно, титановую фольгу, на которой получают покрытие из нанотрубок, необходимо затем надежно прикрепить к мишени, что значительно усложняет и без того достаточно трудоемкий процесс формирования и характеристики покрытия [12].

Наряду с перечисленными методами модификации поверхности широко распространено плазменное напыление наночастиц, ключевой проблемой которого является фазовая трансформация TiO₂ из анатаза в рутил при повышенных температурах, что приводит к снижению его фотокаталитической активности и делает подобные покрытия малоэффективными для ПАЛДИ-МС [13].

Среди известных методов формирования покрытий наиболее технологически гибким и перспективным может считаться электрофоретическое осаждение (ЭФО) благодаря простоте инст-

рументальной реализации, дешевизне и возможности получения однородных покрытий с контролируемой толщиной [14]. В процессе ЭФО происходит направленное движение заряженных частиц дисперсной фазы суспензии в электрическом поле, их агрегирование в приэлектродном пространстве, нейтрализация и образование покрытия на поверхности электрода. Несмотря на рост числа публикаций, посвященных применению технологии ЭФО в различных приложениях, метод практически не используется при получении покрытий для ПАЛДИ-МС. Одним из немногих исключений является работа [15], в которой ПАЛДИ-покрытия были изготовлены путем ЭФО наночастиц золота, полученных с помощью лазерной абляции в жидкости, и использованы для анализа олигопептидного гормона ангиотензина. Применимость ЭФО для получения покрытий на основе функциональных материалов с различными свойствами позволяет рассматривать его как эффективный способ формирования покрытий — эмиттеров ионов для ПАЛДИ-МС-анализа различных низкомолекулярных аналитов, включая биологически активные соединения и их метаболиты. В качестве модельного соединения для оценки эффективности ПАЛДИ-покрытий на основе TiO_2 было выбрано широко используемое антиаритмическое лекарственное средство амиодарон, разработка высокопроизводительных методов детектирования которого является актуальной задачей [16]. Таким образом, данная работа посвящена возможности применения подложек из нержавеющей стали, электрофоретически модифицированных наночастицами TiO_2 , для ПАЛДИ-МС-анализа амиодарона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка подложек из нержавеющей стали, электрофоретически модифицированных TiO_2

Катодное ЭФО TiO_2 проводили в потенциостатическом режиме с использованием источника постоянного тока "Эльф-4" ("НПО ДНК-Технология", Россия). Напряжение на электродах варьировали от 20 до 50 В. ЭФО проводили в ячейке, представляющей собой стеклянный стакан, расстояние между катодом и анодом составляло 10 мм. В качестве электродов использовали пластины, изготовленные из нержавеющей стали 316L. В дальнейшем ЭФО было выполнено при выбранных оптимальных условиях на МАЛДИ-мишени МТР 384 (Bruker Daltonics, Германия). Электроды последовательно обрабатывали ультразвуком в ацетоне, спирте и деионизованной воде для удаления загрязнений и обезжиривания, а затем проводили их сушку в токе азота. В качестве основы

электролита использовали ацетилацетон, который содержал TiO_2 ("Sigma-Aldrich", США) (2 г/л) и йод (0.08 г/л). Суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 60 мин, после чего перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин. После электрофоретического осаждения пластины высушивали при комнатной температуре в течение 30 мин, после чего прокаливали в сушильном шкафу при 250 °С в течение 3 ч. В случае дополнительной ПДМС-модификации, подложку с электрофоретически осажденным TiO_2 покрывали тонким слоем силиконового масла ПМС-100 (REXANT, Китай) и помещали под УФ-лампы (9 Вт, 365 нм) на 60 мин, после чего последовательно промывали хлороформом и метанолом.

Характеризация полученных покрытий

Форму и размер частиц определяли по микрофотографиям, полученным с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi S-3400N. Элементный состав образца определяли методом рентгеновской энергодисперсионной спектроскопии с помощью аналитической приставки Oxford Instruments X-Max 20, входящей в состав прибора Hitachi S-3400N. АСМ-изображения были получены с помощью атомно-силового микроскопа VEECO DiNanoscope V (США) в полуконтактном режиме (Tapping Mode) с использованием зондов NSG03, NT-MDT (Россия). Для обработки изображений использовали программное обеспечение Nanoscope Analysis.

Подготовка образца

При формировании поверхности — эмиттера ионов методом "сухих капель" готовили водную суспензию TiO_2 (1 мг/мл). На МАЛДИ-мишень МТР 384 (Bruker Daltonics) наносили 1 мкл суспензии с содержанием TiO_2 50–1000 нг/мл и 1 мкл раствора амиодарона (10 нг/мл) в 50 % водном ацетонитриле и после высыхания капли проводили ПАЛДИ-МС-анализ.

При использовании в качестве эмиттера ионов слоя электрофоретически осажденного TiO_2 , на покрытие наносили 1 мкл раствора амиодарона (10 нг/мл) в 50 % водном ацетонитриле и после высыхания капли проводили ПАЛДИ-МС-анализ.

ПАЛДИ-масс-спектрометрический анализ

ПАЛДИ-масс-спектры были получены с помощью масс-спектрометра ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье Solarix XR (Bruker Daltonics, Германия) с активно-экранированным сверхпроводящим магнитом индукцией 7 Тл, оснащенного лазером Smartbeam II (длина волны 355 нм). Регистрацию масс-спектров

осуществляли в режиме положительных ионов в диапазоне m/z 150–1000. Для калибровки был использован источник ионов электроспрей, которым также оснащена данная модель масс-спектрометра. Калибровку проводили с использованием раствора трифторацетата натрия, образующего кластерные ионы в интересующей нас области масс с m/z от 430.91 до 974.81 с интервалом 135.97 Да. Масс-спектры обрабатывали с помощью программного обеспечения Data Analysis 5.0 (Bruker Daltonics, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ЭФО TiO_2

Известно, что толщина покрытия прямо пропорциональна продолжительности ЭФО и приложенному напряжению [17]. Был проведен ряд экспериментов для оптимизации данных параметров ЭФО. Качество получаемых покрытий оценивали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Время проведения ЭФО

В ходе серии экспериментов продолжительность осаждения наночастиц TiO_2 варьировали от 30 до 180 с при напряжении 35 В. График, представленный на рис. 1, демонстрирует, что масса осажденного TiO_2 линейно увеличивается со временем. Полученные данные согласуются с линейной моделью Хамакера [18], которая устанавливает связь между осажденной массой на единицу площади и временем осаждения. Было показано, что увеличение времени ЭФО свыше 180 с приводит к образованию покрытия TiO_2 с низкой адгезией к подложке, при прокаливании которой образуются трещины. Соответственно, изменение времени осаждения в диапазоне от 30

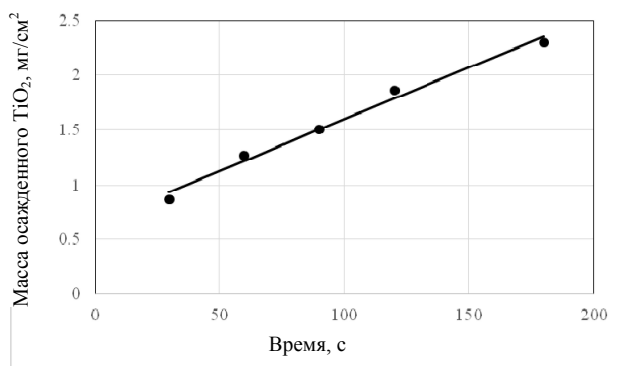
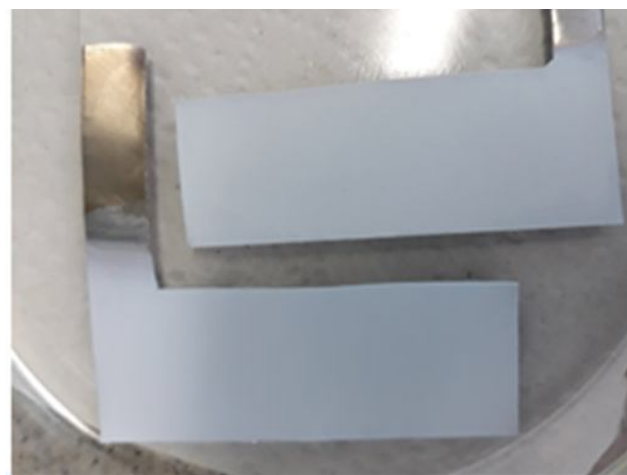


Рис. 1. Зависимость массы электрофоретически осажденного TiO_2 от времени при потенциале 35 В

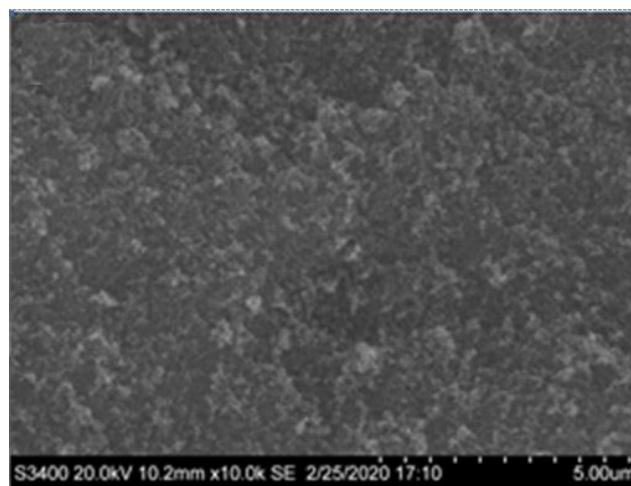
до 180 с позволяет контролировать толщину получаемого покрытия с сохранением высокой адгезии к подложке.

Влияние приложенного напряжения

Для определения влияния напряжения его значения варьировали от 15 до 60 В. Было выявлено, что при напряжении 35 В формируются наиболее однородные и равномерные покрытия (рис. 2). При более низких значениях напряжения наблюдалось неравномерное распределение частиц TiO_2 на подложке, и полученные покрытия имели низкую адгезию. При повышении напряжения свыше 40 В наблюдалась агломерация частиц, что также снижало качество покрытия и приводило к растрескиванию поверхности после прокаливания. При еще более высоком приложенном напряжении



а



б

Рис. 2. Внешний вид электрофоретически нанесенного покрытия TiO_2 (а) и его СЭМ-изображение (б) (увеличение в 10 000 раз)

масса осажденного TiO₂ возрастала, что, по всей видимости, было связано с увеличением подвижности частиц. Кроме того, более высокий приложенный потенциал мог стать причиной турбулентного движения частиц в суспензии и, как следствие, получения неоднородных покрытий.

Влияние состава растворителя

Также было оценено влияние состава растворителя на эффективность ЭФО. Были использованы суспензии TiO₂ на основе изопропилового спирта и ацетилацетона. При использовании ацетилацетона в суспензию добавляли йод для образования свободных протонов, которые в дальнейшем могут адсорбироваться на поверхности наночастиц TiO₂, придавая им положительный заряд [19]. Покрытия, полученные при использовании суспензий на основе ацетилацетона, были более однородными, что объясняется более низкой вязкостью и более высокой диэлектрической проницаемостью ацетилацетона, приводящими к повышенной подвижности заряженных частиц в растворе [20].

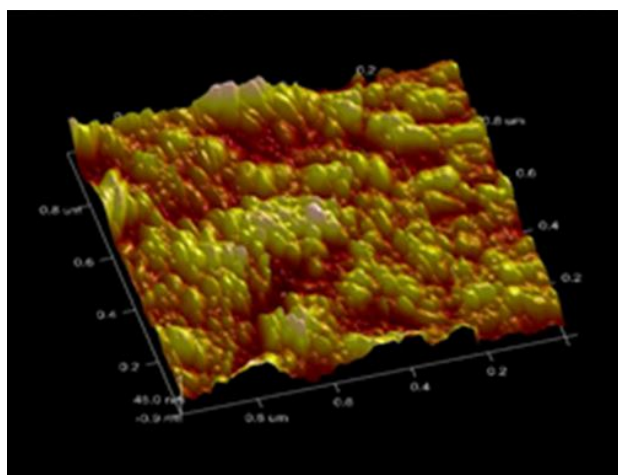
Характеризация полученных покрытий

На рис. 3, а, представлено АСМ-изображение покрытия TiO₂, полученного при напряжении 35 В и времени ЭФО 90 с. Значение *Rz* составило 13.7 нм, средняя толщина покрытия 45 нм. Химический состав образцов был подтвержден с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (рис. 3, б). Содержание титана и кислорода в образце составило 56.2 % и 42.8 % соответственно.

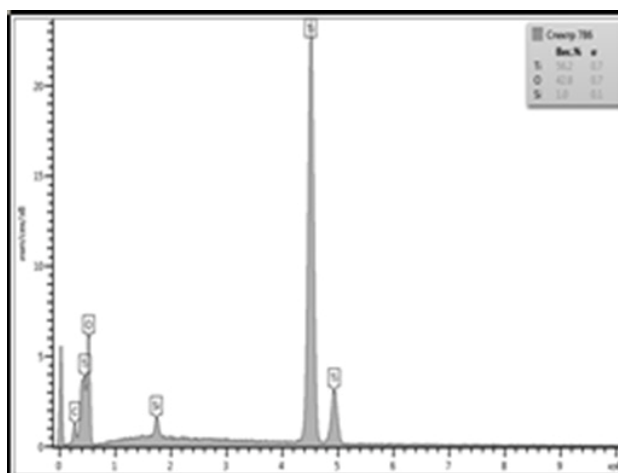
Покрытия, полученные с использованием напряжения 35 В при времени осаждения 90 с, были наиболее однородными и механически стабильными, что позволило считать данные параметры оптимальными. Таким образом, ЭФО TiO₂ дает возможность получать высококачественные покрытия на подложках из нержавеющей стали, включая стандартные МАЛДИ-мишени.

Модификация ПАЛДИ-покрытия ПДМС

ПАЛДИ-покрытие, полученное путем ЭФО наночастиц TiO₂, характеризуется высокой гидрофильностью, что приводит к растеканию капли раствора аналита. В связи с этим возникает необходимость выбора подходящего способа модификации покрытия TiO₂ для придания ему гидрофобных свойств. При этом модифицированное покрытие должно быть совместимо с ПАЛДИ-МС и удовлетворять следующим требованиям: низкий уровень фона при ПАЛДИ-МС, стабильность при воздействии лазерного излучения и сохранение фотокаталитических свойств покрытия. Модификацию покрытия проводили путем ковалентного связывания TiO₂ с полидиметилсилоксаном (ПДМС) под воздействием УФ-излучения, соглас-



а



б

Рис. 3. АСМ-изображение электрофоретически нанесенного покрытия TiO₂ (а) и рентгеновский энергодисперсионный спектр (б)

но способу, описанному в работе [21]. При действии электромагнитного излучения на фотокатализатор генерируются электрон-дырочные пары, которые при выходе на поверхность частицы TiO₂ вступают в окислительно-восстановительные реакции, что приводит к расщеплению силоксановых связей. Сегментированные силоксановые цепи ковалентно связываются с фотокатализатором путем образования связи Me – O – Si. Полученное таким образом модифицированное покрытие имеет сверхгидрофобную поверхность. При нанесении образца на ПДМС-модифицированное ПАЛДИ-покрытие наблюдалось незначительное взаимодействие поверхности с жидкостью (краевой угол смачивания >150 град), благодаря чему капля раствора аналита принимала сферическую форму в центре ячейки (sample spot) и сжималась во время

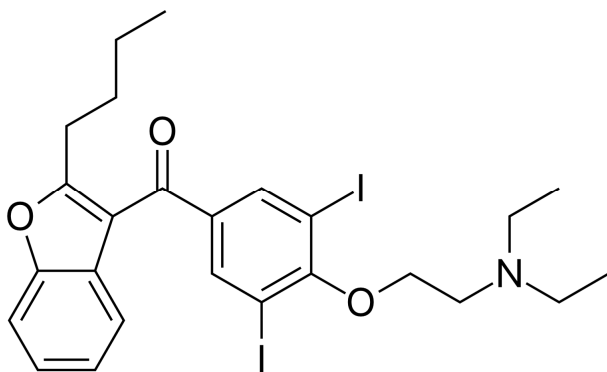


Рис. 4. Структурная формула амиодарона

испарения. Использование сверхгидрофобных поверхностей обеспечивает увеличение эффективности ПАЛДИ-МС-анализа за счет концентрирования образца и снижения времени поиска точек в области нанесения, облучение которых лазерным импульсом обеспечивает получение максимального соотношения сигнал/шум.

ПАЛДИ-МС-анализ амиодарона

Воздействие лазерного импульса на поверхность TiO_2 сопровождается тепловыми, термоуп-

ругими, термопластическими, электрическими и фотоэлектрическими эффектами [22]. Поглощение мощного излучения из области собственного поглощения полупроводника приводит к созданию высокой концентрации свободных носителей заряда и внутренних электрических полей в приповерхностной области, быстрому и локальному нагреву этой области, что способствует эффективной десорбции и ионизации молекул аналита.

Основным механизмом образования заряженных ионов в ПАЛДИ является протонирование, что предполагает зависимость вероятности ионизации от сродства к протону (основности) изучаемых соединений [23]. В качестве модельного соединения для оценки эффективности полученных покрытий TiO_2 для ПАЛДИ-МС-анализа был выбран амиодарон (рис. 4), имеющий высокий показатель константы основности ($pK_b = 10.5$).

Первоначально была оценена возможность применения наночастиц TiO_2 для ПАЛДИ-МС-анализа амиодарона. Для формирования ПАЛДИ-покрытия был использован метод "сухих капель", при котором анализируемый образец добавляли к суспензии наночастиц, и 1 мкл смеси депонировали на подложку с последующим ПАЛДИ-МС-анализом. На полученном ПАЛДИ-масс-спектре (рис. 5, а) сигнал $[M - H]^+$ на $m/z = 646.03096$ соответствует протонированной молекуле амиодарона

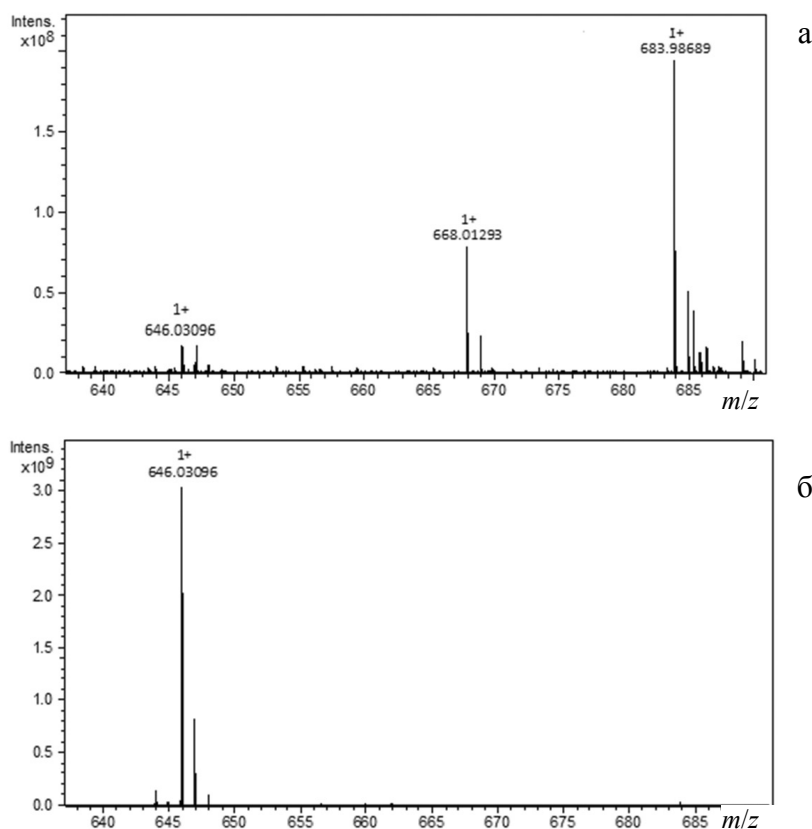


Рис. 5. ПАЛДИ-масс-спектр амиодарона (10 нг/мл). а — TiO_2 нанесен методом "сухих капель"; б — ЭФО-покрытие TiO_2 модифицировано ПДМС

(расчетное значение m/z 646.030964), а доминирующие сигналы с m/z 668.0129 и 683.9868 являются следствием образования аддуктов $[M + Na]^+$ и $[M + K]^+$ соответственно.

Источником следовых количеств ионов натрия и калия предположительно является деионизованная вода. В процессе ЭФО также происходит контаминация слоя наночастиц TiO₂ следовыми количествами катионов натрия и калия, источником которых предположительно служит стекло, из которого изготовлена ячейка. Ионизация катионами натрия и калия в обоих этих случаях является основным механизмом передачи заряда молекулам аналита. При этом масс-спектр, полученный с применением ПДМС-модифицированного ПАЛДИ-покрытия (рис. 5, б), содержит только один интенсивный сигнал, соответствующий протонированной молекуле амиодарона с m/z 646.02874 $[M + H]^+$, при практически полном отсутствии сигналов калиевых и натриевых аддуктов, что, по-видимому, объясняется экранирующим эффектом ПДМС [24]. В случае протонированной молекулы амиодарона соотношение сигнал/шум при использовании ПДМС-модифицированного ПАЛДИ-покрытия увеличилось более чем в 10 раз по сравнению с покрытием, полученным методом "сухих капель".

Таким образом, модификация ПАЛДИ-по-

крытия ПДМС не препятствует десорбции / ионизации аналита и повышает чувствительность анализа благодаря концентрированию образца в центре лунки МАЛДИ-мишени.

При использовании метода "сухих капель" наблюдается зависимость эффективности ионизации амиодарона от количества TiO₂, нанесенного на МАЛДИ-мишень (рис. 6). Максимальная интенсивность сигнала амиодарона наблюдается при нанесении TiO₂ в количестве 50 нг на ячейку. Снижение эффективности ионизации при дальнейшем увеличении количества наносимого TiO₂ может быть объяснено тем, что амиодарон адсорбирован на поверхности наночастиц по всей толщине слоя, в то время как глубина эффективного действия УФ-лазера ограничена (~100 нм) [25].

Примечательно, что при использовании ПАЛДИ-покрытия, полученного путем ЭФО с последующей обработкой ПДМС, интенсивность сигнала практически не зависит от толщины покрытия. Можно предположить, что взаимодействие молекул амиодарона с метильными группами (-CH₃) на поверхности ПДМС значительно слабее, чем с гидроксильными группами (-OH) на поверхности TiO₂ [26].

Для оценки чувствительности предложенного подхода на полученное ПАЛДИ-покрытие наносили по 1 мкл растворов амиодарона в диапазоне

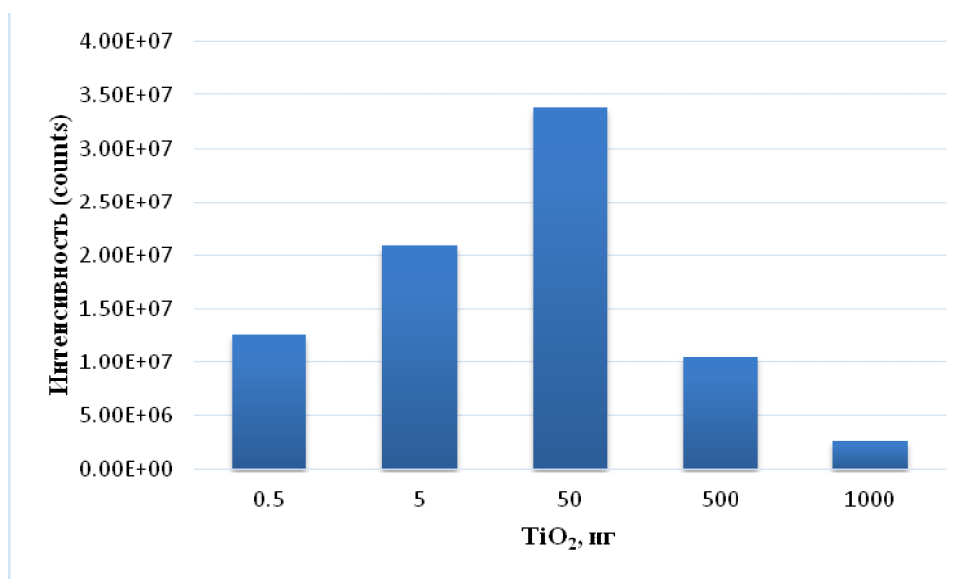


Рис. 6. Зависимость интенсивности сигнала амиодарона от количества TiO₂, нанесенного на МАЛДИ-мишень с помощью метода "сухих капель"

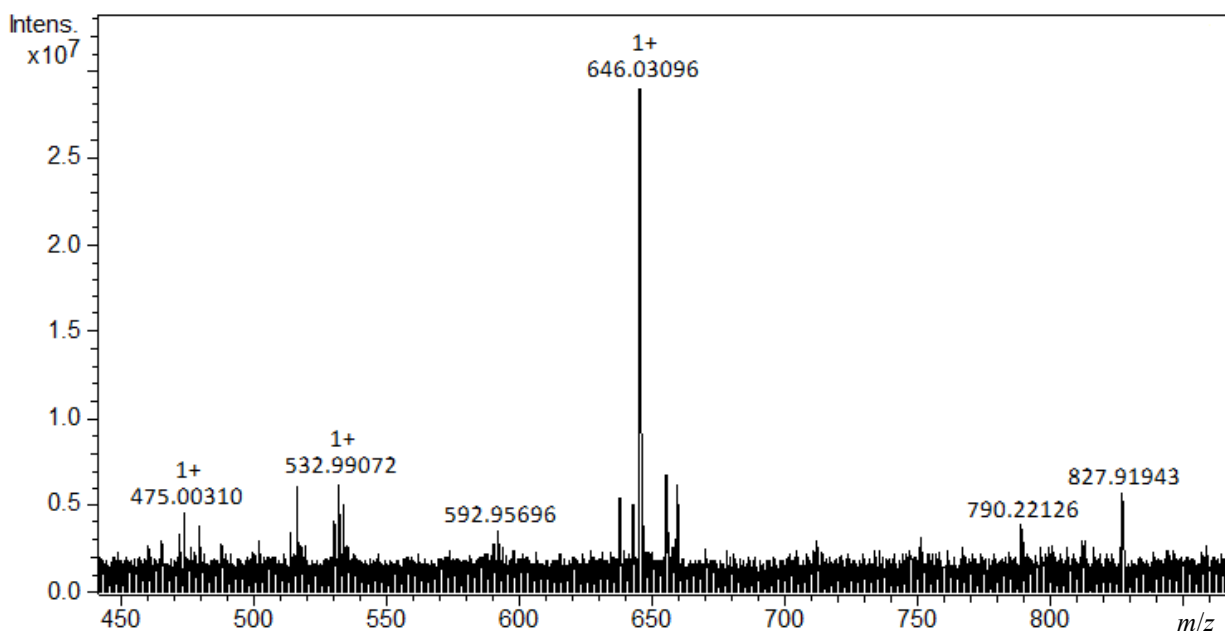


Рис. 7. ПАЛДИ-масс-спектр амиодарона (1 фг/ячейку), полученный с использованием ЭФО-покрытия TiO_2 , модифицированного ПДМС

концентраций 1–100 фг/мкл. При минимальном количестве амиодарона (1 фг на ячейку) был зарегистрирован сигнал с соотношением сигнал/шум более 10 : 1 (рис. 7), что свидетельствует о высокой эффективности полученного ПАЛДИ-покрытия. Для сравнения, предел детектирования амиодарона при проведении десорбции/ионизации на коммерчески доступных чипах с кремниевыми наностолбиками (nanopost arrays, NAPA) составляет 1 пг на ячейку [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами показано, что электрофоретическое осаждение наночастиц TiO_2 на подложку из нержавеющей стали с последующей модификацией осажденного слоя ПДМС позволяет получать высококачественное покрытие с воспроизводимыми характеристиками, которое может быть успешно использовано как эмиттер ионов для ПАЛДИ-МС-анализа. Осаждение наночастиц TiO_2 из ацетилацетона с добавлением йода при напряжении 35 В в течение 90 с приводит к формированию равномерного, однородного и механически стабильного слоя наночастиц, прочно связанного с поверхностью подложки. Дополнительное силосилирование придает покрытию сверхгидрофобные свойства и тем самым значительно увеличивает эффективность ПАЛДИ-МС-анализа

низкомолекулярных соединений, что было продемонстрировано на примере амиодарона.

Работа выполнена в рамках НИР 0074-2019-0009 (номер гос. регистрации АААА-А19-119053190069-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bonk T., Humeny A. MALDI-TOF-MS Analysis of Protein and DNA // *The Neuroscientist*. 2001. Vol. 7, no. 1. P. 6–12. DOI: 10.1177/107385840100700104
2. Drzewdzon J., Jacewicz D., Sielicka A., Chmurzynski L. MALDI-MS for polymer characterization-Recent developments and future prospects // *Trends in Analytical Chemistry*. 2019. Vol. 115. P. 121–128. DOI: 10.1016/j.trac.2019.04.004
3. Calvano C.D., Monopoli A., Cataldi T.R.I., Palmisano F. MALDI matrices for low molecular weight compounds: an endless story? // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018. Vol. 410, no. 17. P. 4015–4038. DOI: 10.1007/s00216-018-1014-x
4. Wu C.-Y., Lee K.-C., Kuo Y.-L., Chen Y.-C. Revisiting the quantitative features of surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 2016. Vol. 374, no. 2079. DOI: 10.1098/rsta.2015.0379
5. Aminlashgari N., Hakkarainen M. Surface Assisted Laser Desorption Ionization-Mass Spectrometry (SALDI-MS) for Analysis of Polyester Degradation Products // *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*. 2012.

- Vol. 23, no. 6. P. 1071–1076. DOI: 10.1007/s13361-012-0360-8
6. Gao C., Zhen D., He N., An Z., Zhou Q., Li C., Grimes C., Cai Q. Two-dimensional TiO₂ Nanoflakes Enable Rapid SALDI-TOF-MS Detection of Toxic Small Molecules (dyes and their metabolites) in Complex Environments // *Talanta*. 2019. Vol. 196. P. 1–8. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.11.104
 7. Chenyi L., Hongchao G., Xingqi Z., Chan G., Ning J., Yan Q., Qingyun C. Self-assembly TiO₂ nanosheets as a SALDI-TOF-MS matrix for high-throughput identification of polyfluorinated compounds in water samples // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 152. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.microc.2019.104294
 8. Popovic I., Nestic M., Vranjes M., Saponjic Z., Petkovic M. TiO₂ nanocrystals – assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of steroid hormones, amino acids and saccharides. Validation and comparison of methods // *RSC Advances*. 2016. Vol. 6, no. 2. P. 1027–1036. DOI: 10.1039/c5ra20042c
 9. Gorbunov A.Y., Krasnov K.A., Bardin A.A., Keltsieva O.A., Babakov V.N., Podolskaya E.P. TiO₂-modified MALDI target for in vitro modeling of the oxidative biotransformation of diclofenac // *Mendeleev Commun.* 2020. Vol. 30. P. 220–222. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.03.030
 10. Hu J.-B., Chen Y.-C., Urban P. L. Coffee-ring effects in laser desorption/ionization mass spectrometry // *Analytica Chimica Acta*. 2013. Vol. 766. P. 77–82. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.044
 11. Piret G., Kim D., Drobecq H., Coffinier Y., Melnyk O., Schmuki P., Boukherroub R. Surface-assisted laser desorption–ionization mass spectrometry on titanium dioxide (TiO₂) nanotube layers // *The Analyst*. 2012. Vol. 137, no. 13. P. 3058–3063. DOI: 10.1039/c2an35207a
 12. Lo C., Lin J., Chen W., Chen C., Chen Y. Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry on Titania Nanotube Arrays // *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2008. Vol. 19, no. 7. P. 1014–1020. DOI: 10.1016/j.jasms.2008.04.025
 13. Bozorgtabar M., Rahimpour M., Salehi M., Jafarpour M. Structure and photocatalytic activity of TiO₂ coatings deposited by atmospheric plasma spraying // *Surface and Coatings Technology*. 2011. Vol. 205. P. 229–231. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2011.03.045
 14. Obregon S., Amor G., Vazquez A. Electrophoretic deposition of photocatalytic materials // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2019. Vol. 269. P. 236–255. DOI: 10.1016/j.cis.2019.05.003
 15. Tsuji T., Mizuki T., Yasutomo M., Tsuji M., Kawasaki H., Yonezawa T., Mafuné F. Efficient fabrication of substrates for surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using laser ablation in liquids // *Applied Surface Science*. 2011. Vol. 257, no. 6. P. 2046–2050. DOI: 10.1016/j.apsusc.2010.08.128
 16. Juenke J.M., Brown P.I., McMillin G.A., Urry F.M. A Rapid Procedure for the Monitoring of Amiodarone and N-Desethylamiodarone by HPLC-UV Detection // *Journal of Analytical Toxicology*. 2004. Vol. 28, no 1. P. 63–66. DOI: 10.1093/jat/28.1.63
 17. Dor S., Ruhle S., Ofir A., Adler M., Grinis L., Zaban A. The influence of suspension composition and deposition mode on the electrophoretic deposition of TiO₂ nanoparticle agglomerates // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009. Vol. 342, no. 1–3. P. 70–75. DOI:10.1016/j.colsurfa.2009.04.009
 18. Hamaker H.C. Formation of a deposit by electrophoresis // *Transactions of the Faraday Society*. 1940. Vol. 35. P. 279–287. DOI: 10.1039/tf9403500279
 19. Workie B., McCandless B.E., Gebeyehu Z. Electrophoretic Deposition of Aluminum Nitride from Its Suspension in Acetylacetone Using Iodine as an Additive // *Journal of Chemistry*. 2013. P. 1–7. DOI: 10.1155/2013/489734
 20. Nuno M., Ball R.J., Bowen C.R., Kurchania R., Sharma G.D. Photocatalytic activity of electrophoretically deposited (EPD) TiO₂ coatings // *Journal of Materials Science*. 2015. Vol. 50, no 14. P. 4822–4835. DOI: 10.1007/s10853-015-9022-0
 21. Wooh S., Encinas N., Vollmer D., Butt H.-J. Stable Hydrophobic Metal-Oxide Photocatalysts via Grafting Polydimethylsiloxane Brush // *Advanced Materials*. 2017. Vol. 29, no. 16. P. 1604637. DOI:10.1002/adma.201604637
 22. Вейко В.П., Метев С.М. Лазерные технологии в микроэлектронике. София: Издание БАН, 1991. 487 с.
 23. Пенто А.В. Развитие лазерных методов ионизации в масс-спектрометрии органических соединений. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. М., 2015. 127 с.
 24. Liu J., Ye L., Wooh S., Kappl M., Steffen W., Butt H.-J. Optimizing Hydrophobicity and Photocatalytic Activity of PDMS-Coated Titanium Dioxide // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019. Vol. 11. P. 27422–2742. DOI: 10.1021/acsami.9b07490
 25. Mills A., Hunte S.L. An overview of semiconductor photocatalysis // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 1997. Vol. 108, no. 1. P. 1–35.
 26. Park E.J., Han S.W., Jeong B., Park S.H., Kim Y.-G., Kim Y.H., Kim Y.D. Effect of polydimethylsiloxane (PDMS) coating on TiO₂-based MALDI matrix for dimethyl methylphosphonate (DMMP) analysis // *Applied Surface Science*. 2015. Vol. 353. P. 342–349. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.06.122
 27. Morris N.J., Anderson H., Thibeault B., Vertes A., Powell M.J., Razunguzwa T.T. Laser desorption ionization (LDI) silicon nanopost array chips fabricated using deep UV projection lithography and deep reactive ion etching // *RSC Advances*. 2015. Vol. 5, no. 88. P. 72051–72057. DOI: 10.1039/c5ra11875a

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Санкт-Петербург (Горбунов А.Ю., Бабаков В.Н., Бардин А.А.)

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург (Зорин И.М.)

Институт биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург (Ильюшонок С.К.)

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Горбунов А.Ю., Краснов Н.В., Кельцеева О.А., Подольская Е.П.)

Институт токсикологии ФМБА России, Санкт-Петербург (Подольская Е.П., Ильюшонок С.К., Кельцеева О.А.)

Контакты: Горбунов Александр Юрьевич,
gorbunov-a@inbox.ru

Материал поступил в редакцию 27.11.2020

APPLICATION OF MALDI TARGET ELECTROPHORETICALLY MODIFIED WITH TiO₂ FOR MASS SPECTROMETRY WITH SURFACE-ASSISTED LASER DESORPTION / IONIZATION

A. Yu. Gorbunov^{1,4}, I. M. Zorin², S. K. Ilyushonok^{3,5}, A. A. Bardin¹,
O. A. Keltsieva^{4,5}, N. V. Krasnov⁴, V. N. Babakov¹, E. P. Podolskaya^{4,5}

¹Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, FMBA, Saint Petersburg, Russia

²Saint Petersburg University, Russia

³Institute of Biomedical Systems and Biotechnology, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia

⁴Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint Petersburg, Russia

⁵Institute of Toxicology FMBA, Saint Petersburg, Russia

In this investigation, parameters of electrophoretic deposition (EPO) of TiO₂ nanoparticles on stainless steel substrate have been optimized. The obtained coating was used as ion emitter during surface-assisted laser desorption/ionization (SALDI). Herein, we demonstrate the high efficiency of obtained coatings for SALDI of amiodarone with subsequent Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Additional modification of coatings with polydimethylsiloxane (PDMS) allowed to significantly improve the sensitivity of SALDI-MS analysis.

Keywords: SALDI-MS, TiO₂, electrophoretic deposition, amiodarone

INTRODUCTION

Matrix-activated laser desorption-ionization mass spectrometry (MALDI-MS) is widely used for the analysis of naturally occurring polymers (peptides, oligosaccharides, proteins), as well as synthetic polymers [1, 2]. A significant limitation of the MALDI-MS method is the presence of matrix ions in mass spectra in the low-mass region of signals. These matrix ions overlap the peaks of analyte ions, which makes it difficult to use this method to study low-molecular organic compounds, such as many biologically active compounds and their metabolites. [3].

Mass spectrometry with surface-activated laser desorption-ionization (SALDI-MS) can be considered as an alternative to MALDI-MS in the analysis of low-molecular-weight compounds, which is primarily associated with a low background level in the low-mass range and a high ionization efficiency when using inorganic matrices (in the form of nanoparticles or structured surfaces) [4, 5]. TiO₂ is one of the most widespread and efficient ion emitters for SALDI-MS, which is primarily due to its photocatalytic properties [6].

A widely used method of forming an ion emitter coating is the dry drop method. This method involves the application of an analyte solution in a suspension of nanoparticles on a substrate (MALDI target) with subsequent SALDI-MS analysis [7–9]. However, in this case, the SALDI-MS analysis of organic substances can be ineffective due to the low reproducibility of the signal within each sample spot, which is

primarily due to the uneven distribution of the inorganic matrix during drying (the effect of "coffee ring") [10].

Also, TiO₂ nanotubes can be used as an ion emitter [11]. A significant limitation of this approach is the impossibility of forming TiO₂ nanotubes on standard MALDI targets made of stainless steel. Accordingly, the titanium foil, on which the nanotube coating is produced, must then be securely attached to the target, which greatly complicates the already rather laborious process of formation and characterization of the coating [12].

Along with the above methods of surface modification, plasma spraying of nanoparticles is widely used, the key problem of which is the phase transformation of TiO₂ from anatase to rutile at elevated temperatures, which leads to a decrease in its photocatalytic activity and makes such coatings ineffective for SALDI-MS [13].

Among the known methods of forming coatings, electrophoretic deposition (EPD) can be considered the most technologically flexible and promising due to the simplicity of instrumental implementation, cheapness and the possibility of obtaining uniform coatings with a controlled thickness [14]. In the process of EPD there is a directed movement of charged particles of the dispersed phase of the suspension in an electric field, their aggregation in the near-electrode space, neutralization and formation of a coating on the electrode surface. Despite an increase in the number of publications devoted to the application of EPD technology, the method is practically not used in the prep-

ation of coatings for SALDI-MS. One of the few exceptions is work [15], in which SALDI coatings were prepared by EPD of gold nanoparticles obtained by laser ablation in a liquid and used to analyze the oligopeptide hormone angiotensin. The applicability of EPD for obtaining coatings based on functional materials with different properties allows to consider it as an effective way of forming coatings - ion emitters for SALDI-MS analysis of various low-molecular-weight analytes, including biologically active compounds and their metabolites. The widely used antiarrhythmic drug amiodarone was chosen as a model compound for evaluating the efficiency of SALDI coatings based on TiO_2 . The development of high-performance detection methods for amiodarone is an urgent task [16]. Thus, this work is devoted to the possibility of using stainless steel substrates electrophoretically modified with TiO_2 nanoparticles for SALDI-MS analysis of amiodarone.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of stainless steel substrates electrophoretically modified with TiO_2

Cathodic EPD of TiO_2 was carried out in a potentiostatic mode using an Elf-4 direct current source (DNK-Tekhnologiya SPA, Russia). The voltage across the electrodes was varied from 20 to 50 V. EPD was carried out in a cell, which was a glass beaker; the distance between the cathode and anode was 10 mm. Plates made of 316L stainless steel were used as electrodes. Subsequently, EPD was performed under the selected optimal conditions on a MALDI target MTP 384 (Bruker Daltonics, Germany). The electrodes were sequentially sonicated in acetone, alcohol and deionized water to remove impurities and degrease, and then they were dried in a stream of nitrogen. Acetylacetone containing TiO_2 (Sigma-Aldrich, USA) (2 g/L) and iodine (0.08 g/L) were used as the base of the electrolyte.

The suspension was sonicated for 60 min and then stirred in a magnetic mixer for 30 min. After electrophoretic deposition, the plates were dried at room temperature for 30 min, after they were calcined in an oven at 250 °C for 3 h. In the case of an additional PDMS modification, the substrate with electrophoretically deposited TiO_2 was coated with a thin layer of PMS-100 silicone oil (REXANT, China) and placed under UV lamps (9 W, 365 nm) for 60 min, after which they were sequentially washed with chloroform and methanol.

Characterization of the obtained coatings

The shape and size of the particles were determined from micrographs with the use of the scanning electron microscope Hitachi S-3400N. The elemental

composition of the sample was determined by X-ray energy-dispersive spectroscopy using an Oxford Instruments X-Max 20 that are the analysis instruments included in the Hitachi S-3400N. AFM images were obtained using the atomic force microscope VEECO DiNanoscope V (USA) in tapping mode using probes NSG03, NT-MDT (Russia). Nanoscope Analysis software was used for image processing.

Sample preparation

During the formation of the surface—the ion emitter by the "dry drops" method, an aqueous suspension of TiO_2 (1 mg / ml) was prepared. A MALDI target MTP 384 (Bruker Daltonics) was loaded with 1 μL of a suspension with a TiO_2 content of 50–1000 ng / ml and 1 μL of a solution of amiodarone (10 ng / ml) in 50 % aqueous acetonitrile, and after the droplet dried, SALDI-MS analysis was performed.

When a layer of electrophoretically deposited TiO_2 was used as an ion emitter, 1 μL of amiodarone solution was applied to the coating (10 ng / ml) in 50 % aqueous acetonitrile and after the drop dried, SALDI-MS analysis was performed.

SALDI mass spectrometric analysis

SALDI mass spectra were obtained using a Solarix XR Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany) equipped with an active-shielded superconducting magnet of 7 T induction and a Smartbeam II laser (wavelength 355 nm). Mass spectra were recorded in the positive ion mode in the range of m/z 150–1000. For calibration, an electrospray ion source was used, which is also provided in this model of mass spectrometer. The calibration was carried out using a sodium trifluoroacetate solution, which forms cluster ions in the mass range of interest to us with m/z from 430.91 to 974.81 and interval of 135.97 Da. Mass spectra were processed using Data Analysis 5.0 software (Bruker Daltonics, Germany).

RESULTS AND DISCUSSION

EPD of TiO_2

It is known that the thickness of the coating is directly proportional to the duration of the EPD and the applied voltage [17]. A number of experiments have been carried out to optimize these EPD parameters. The quality of the obtained coatings was assessed using scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM).

EPD duration

In the course of a series of experiments, the duration

Fig. 1. Dependence of the mass of electrophoretically deposited TiO₂ on time at a potential of 35 V

Fig. 2. Appearance of an electrophoretically deposited TiO₂ coating (a) and its SEM image (б) (magnification 10,000 times)

of deposition of TiO₂ nanoparticles was varied from 30 to 180 s at a voltage of 35 V. The graph shown in Fig. 1 demonstrates that the mass of deposited TiO₂ increases linearly over time. The findings are consistent with the linear Hamaker model [18], which establishes a relationship between the deposited mass per unit area and the deposition time. It was found that an increase in EPD time over 180 s leads to the formation of a TiO₂ coating with low adhesion to the substrate, when calcined, cracks are formed. Accordingly, changing the deposition time in the range from 30 to 180 s allows to control the thickness of the resulting coating while maintaining high adhesion to the substrate.

Effect of applied voltage

To determine the effect of voltage, its values was varied from 15 to 60 V. It was found that the most homogeneous and uniform coatings are formed at a voltage of 35 V (Fig. 2). At lower stress values, an uneven distribution of TiO₂ particles on the substrate was observed, and the resulting coatings had low ad-

hesion. With an increase in voltage over 40 V, agglomeration of particles was observed, which also reduced the quality of the coating and led to cracking of the surface after annealing. At an even higher applied voltage, the mass of deposited TiO₂ increased, which, most likely, was associated with an increase in the particle mobility. In addition, a higher applied potential could cause turbulent motion of particles in suspension and, as a consequence, obtain inhomogeneous coatings.

Influence of solvent composition

The effect of solvent composition on EPD efficiency was also assessed. We used TiO₂ suspensions based on isopropyl alcohol and acetylacetone. When acetylacetone was used, iodine was added to the suspension to form free protons, which can then be adsorbed on the surface of TiO₂ nanoparticles, imparting a positive charge to them [19]. Coatings obtained with the use of suspension based on acetylacetone, were more homogeneous, which is explained by the lower viscosity and higher dielectric constant of acetylacetone

Fig. 3. AFM image of an electrophoretically applied TiO₂ coating (a) and an X-ray energy-dispersive spectrum (б)

leading to increased mobility of charged particles in solution [20].

Characterization of the resulting coatings

In Fig. 3, a, an AFM image of a TiO₂ coating obtained at a voltage of 35 V and an EPD time of 90 s is presented. The Rz value was 13.7 nm, the average coating thickness was 45 nm. The chemical composition of the samples was confirmed using energy-dispersive X-ray spectroscopy (Fig. 3, б). Titanium and oxygen content in the sample was 56.2 % and 42.8 %, respectively.

The coatings obtained using a voltage of 35 V with a deposition time of 90 s were the most uniform and mechanically stable, which made it possible to consider these parameters to be optimal. Thus, EPD of TiO₂ makes it possible to obtain high-quality coatings on stainless steel substrates, including standard MALDI targets.

Modification of SALDI-coating with PDMS

SALDI coating obtained by EPD of TiO₂ nanoparticles is characterized by high hydrophilicity, which leads to spreading of a droplet of analyte solution. In this regard, it becomes necessary to select a suitable method for modifying the TiO₂ coating to impart hydrophobic properties to it. In this case, the modified coating must be compatible with SALDI-MS and meet the following requirements: low background level during SALDI-MS, stability when exposed to laser radiation and preservation of the photocatalytic properties of the coating. The coating was modified by covalent binding TiO₂ with polydimethylsiloxane (PDMS) under the influence of UV radiation, according to the method described in [21]. Under the impact of electromagnetic radiation on the photocatalyst, electron-hole pairs are generated, which, upon reach-

ing the surface of the TiO_2 particle, enter into redox reactions, which leads to the cleavage of siloxane bonds. The segmented siloxane chains are covalently bound to the photocatalyst through the formation of a $\text{Me} - \text{O} - \text{Si}$ bond. The resulting modified coating has a superhydrophobic surface. When the sample was applied to the PDMS-modified SALDI coating, a slight interaction of the surface with the liquid was observed (contact angle > 150 degrees), due to which the drop of the analyte solution took a spherical shape in the center of the sample spot and shrank during evaporation. The use of superhydrophobic surfaces increases the efficiency of SALDI-MS analysis by concentrating the sample and reducing the search time for points in the application area, irradiation of which with a laser pulse ensures the maximum signal-to-noise ratio.

SALDI-MS analysis of amiodarone

Fig. 4. Structural formula of amiodarone

to evaluate the efficiency of the obtained TiO_2 coatings for SALDI-MS analysis.

Initially, the possibility of using TiO_2 nanoparticles for SALDI-MS analysis of amiodarone was evaluated. To form a SALDI coating, the dry drop method was used, in which the analyzed sample was added to a suspension of nanoparticles, and 1 μL of the mixture was deposited on a substrate with subsequent SALDI-MS analysis. On the obtained SALDI mass spectrum (Fig. 5, a), the $[\text{M} - \text{H}]^+$ signal at $m/z = 646.0309$ corresponds to the protonated amiodarone molecule (calculated value of $m/z = 646.030964$), and the dominant signals at $m/z = 668.0129$ and 683.9868 are a consequence of the formation of adducts $[\text{M} + \text{Na}]^+$ and $[\text{M} + \text{K}]^+$ respectively.

Deionized water is believed to be the source of trace amounts of sodium and potassium ions. During EPD, the layer of TiO_2 nanoparticles is also contaminated with trace amounts of sodium and potassium cations, the source of them is presumably the glass from which the cell is made. Ionization by sodium and potassium cations in both of these cases is the main mechanism of charge transfer to analyte molecules.

Fig. 6. Dependence of the amiodarone signal intensity on the amount of TiO_2 applied to the MALDI target using the "dry drop" method

Fig. 7. SALDI mass spectrum of amiodarone (1 fg / cell) obtained using an EPD of TiO_2 coating modified with PDMS

The impact of a laser pulse on the TiO_2 surface is accompanied by thermal, thermoelastic, thermoplastic, electrical and photoelectric effects [22]. The absorption of powerful radiation from the semiconductor's intrinsic absorption region leads to the creation of a high concentration of free charge carriers and internal electric fields in the near-surface region, rapid and local heating of this region, which contributes to the effective desorption and ionization of analyte molecules.

The main mechanism for the formation of charged ions in SALDI is protonation, which implies the dependence of the ionization probability on the proton affinity (basicity) of the compounds under study [23]. Amiodarone (Fig. 4), which has a high basicity constant ($\text{pKb} = 10.5$), was chosen as a model compound

Fig. 5. SALDI mass spectrum of amiodarone (10 ng / ml). a — TiO_2 was applied by the "dry drops" method; б — EPD-coating of TiO_2 is modified by PDMS

The mass spectrum obtained with the use of PDMS-modified SALDI-coating (Fig. 5, б) contains only one intense signal corresponding to the protonated amiodarone molecule at $m/z = 646.02874$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, with almost complete absence of signals from potassium and sodium adducts, which, apparently, is explained by the screening effect of PDMS [24]. In the case of the protonated amiodarone molecule, the signal-to-noise ratio when using the PDMS-modified SALDI coating increased more than 10 times in comparison with the coating obtained by the "dry drop" method.

Thus, the SALDI coating modification with PDMS does not prevent the desorption / ionization of the analyte and increases the sensitivity of the analysis due to the concentration of the sample in the center of the well of the MALDI target.

When using the dry drop method, the dependence of the amiodarone ionization efficiency on the amount of TiO_2 applied on the MALDI target (Fig. 6). The maximum signal intensity of amiodarone is observed when TiO_2 is applied in an amount of 50 ng per cell. A decrease in the ionization efficiency with a further increase in the amount of applied TiO_2 can be

explained by the fact that amiodarone is adsorbed on the surface of nanoparticles throughout the entire layer thickness, while the depth of effective action of the UV laser is limited (~ 100 nm) [25].

It is noteworthy that when using a SALDI coating obtained by EPD followed by PDMS processing, the signal intensity is practically independent of the coating thickness. It can be assumed that the interaction of amiodarone molecules with methyl groups (–CH₃) on the PDMS surface is much weaker than with hydroxyl groups (–OH) on the TiO₂ surface [26].

To assess the sensitivity of the proposed approach, 1 μl of amiodarone solutions in the range of concentrations 1–100 fg / μl. With the minimum amount of amiodarone (1 fg per cell), a signal with a signal-to-noise ratio of more than 10 : 1 was recorded (Fig. 7), which indicates a high efficiency of the obtained SALDI coating. For comparison, the limit of detection of amiodarone during desorption / ionization on commercial-off-the-shelf chips with silicon nanopillars (nanopost arrays, NAPA) is 1 pg per cell [28].

CONCLUSION

Thus, we have shown that the electrophoretic deposition of TiO₂ nanoparticles on a stainless steel substrate with subsequent modification of the deposited layer with PDMS makes it possible to obtain a high-quality coating with reproducible characteristics, which can be successfully used as an ion emitter for SALDI-MS analysis. The deposition of TiO₂ nanoparticles from acetylacetone with the addition of iodine at a voltage of 35 V for 90 s leads to the formation of a uniform, homogeneous and mechanically stable layer of nanoparticles firmly bound to the substrate surface. Additional siloxylation imparts superhydrophobic properties to the coating and thereby significantly increases the efficiency of SALDI-MS analysis of low-molecular-weight compounds, which was demonstrated by the example of amiodarone.

The work was carried out within the framework of research work 0074-2019-0009 (state registration number AAAA-A19-119053190069-2).

REFERENCES

1. Bonk T., Humeny A. MALDI-TOF-MS Analysis of Protein and DNA. *The Neuroscientist*, 2001, vol. 7, no. 1, pp. 6–12. DOI: 10.1177/107385840100700104
2. Drzezdzon J., Jacewicz D., Sielicka A., Chmurzynski L. MALDI-MS for polymer characterization-Recent developments and future prospects. *Trends in Analytical Chemistry*, 2019, vol. 115, pp. 121–128. DOI: 10.1016/j.trac.2019.04.004
3. Calvano C.D., Monopoli A., Cataldi T.R.I., Palmisano F. MALDI matrices for low molecular weight compounds: an endless story? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, vol. 410, no. 17, pp. 4015–4038. DOI: 10.1007/s00216-018-1014-x
4. Wu C.-Y., Lee K.-C., Kuo Y.-L., Chen Y.-C. Revisiting the quantitative features of surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2016, vol. 374, no. 2079. DOI: 10.1098/rsta.2015.0379
5. Aminlashgari N., Hakkarainen M. Surface Assisted Laser Desorption Ionization-Mass Spectrometry (SALDI-MS) for Analysis of Polyester Degradation Products. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 2012, vol. 23, no. 6, pp. 1071–1076. DOI: 10.1007/s13361-012-0360-8
6. Gao C., Zhen D., He N., An Z., Zhou Q., Li C., Grimes C., Cai Q. Two-dimensional TiO₂ Nanoflakes Enable Rapid SALDI-TOF-MS Detection of Toxic Small Molecules (dyes and their metabolites) in Complex Environments. *Talanta*, 2019, vol. 196, pp. 1–8. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.11.104
7. Chenyi L., Hongchao G., Xingqi Z., Chan G., Ning J., Yan Q., Qingyun C. Self-assembly TiO₂ nanosheets as a SALDI-TOF-MS matrix for high-throughput identification of polyfluorinated compounds in water samples. *Microchemical Journal*, 2020, vol. 152, pp. 1–10. DOI: 10.1016/j.microc.2019.104294
8. Popovic I., Nesic M., Vranjes M., Saponjic Z., Petkovic M. TiO₂ nanocrystals – assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of steroid hormones, amino acids and saccharides. Validation and comparison of methods. *RSC Advances*, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 1027–1036. DOI: 10.1039/c5ra20042c
9. Gorbunov A.Y., Krasnov K.A., Bardin A.A., Keltseva O.A., Babakov V.N., Podolskaya E.P. TiO₂-modified MALDI target for in vitro modeling of the oxidative biotransformation of diclofenac. *Mendeleev Commun.*, 2020, vol. 30, pp. 220–222. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.03.030
10. Hu J.-B., Chen Y.-C., Urban P. L. Coffee-ring effects in laser desorption/ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2013, vol. 766, pp. 77–82. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.044
11. Piret G., Kim D., Drobecq H., Coffinier Y., Melnyk O., Schmuki P., Boukherroub R. Surface-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry on titanium dioxide (TiO₂) nanotube layers. *The Analyst*, 2012, vol. 137, no. 13, pp. 3058–3063. DOI: 10.1039/c2an35207a
12. Lo C., Lin J., Chen W., Chen C., Chen Y. Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry on Titania Nanotube Arrays. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2008, vol. 19, no. 7, pp. 1014–1020. DOI: 10.1016/j.jasms.2008.04.025
13. Bozorgtabar M., Rahimpour M., Salehi M., Jafarpour M. Structure and photocatalytic activity of TiO₂ coatings deposited by atmospheric plasma spraying. *Surface and*

- Coatings Technology*, 2011, vol. 205, pp. 229–231. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2011.03.045
14. Obregon S., Amor G., Vazquez A. Electrophoretic deposition of photocatalytic materials. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, vol. 269, pp. 236–255. DOI: 10.1016/j.cis.2019.05.003
 15. Tsuji T., Mizuki T., Yasutomo M., Tsuji M., Kawasaki H., Yonezawa T., Mafuné F. Efficient fabrication of substrates for surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using laser ablation in liquids. *Applied Surface Science*, 2011, vol. 257, no. 6, pp. 2046–2050. DOI: 10.1016/j.apsusc.2010.08.128
 16. Juenke J.M., Brown P.I., McMillin G.A., Urry F.M. A Rapid Procedure for the Monitoring of Amiodarone and N-Desethylamiodarone by HPLC-UV Detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 2004, vol. 28, no 1, pp. 63–66. DOI: 10.1093/jat/28.1.63
 17. Dor S., Ruhle S., Ofir A., Adler M., Grinis L., Zaban A. The influence of suspension composition and deposition mode on the electrophoretic deposition of TiO₂ nanoparticle agglomerates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2009, vol. 342, no. 1–3, pp. 70–75. DOI:10.1016/j.colsurfa.2009.04.009
 18. Hamaker H.C. Formation of a deposit by electrophoresis. *Transactions of the Faraday Society*, 1940, vol. 35, pp. 279–287. DOI: 10.1039/tf9403500279
 19. Workie B., McCandless B.E., Gebeyehu Z. Electrophoretic Deposition of Aluminum Nitride from Its Suspension in Acetylacetone Using Iodine as an Additive. *Journal of Chemistry*, 2013, pp. 1–7. DOI: 10.1155/2013/489734
 20. Nuno M., Ball R.J., Bowen C.R., Kurchania R., Sharma G.D. Photocatalytic activity of electrophoretically deposited (EPD) TiO₂ coatings. *Journal of Materials Science*, 2015, vol. 50, no 14, pp. 4822–4835. DOI: 10.1007/s10853-015-9022-0
 21. Wooh S., Encinas N., Vollmer D., Butt H.-J. Stable Hydrophobic Metal-Oxide Photocatalysts via Grafting Polydimethylsiloxane Brush. *Advanced Materials*, 2017, vol. 29, no. 16, 1604637. DOI:10.1002/adma.201604637
 22. Veyko V.P., Metev S.M. *Lazernye tekhnologii v mikroelektronike* [Laser technologies in microelectronics]. Sofia, Izdanie BAN, 1991. 487 p. (In Russ.).
 23. Pento A.V. *Razvitie lazernyh metodov ionizatsii v mass-spektrometrii organicheskikh soedinenij. Dis. ... kand. fiz.-mat. nauk* [Development of laser ionization methods in mass spectrometry of organic compounds. cand. of phys.-math. sci. diss.]. Moscow, 2015. 127 p. (In Russ.).
 24. Liu J., Ye L., Wooh S., Kappl M., Steffen W., Butt H.-J. Optimizing Hydrophobicity and Photocatalytic Activity of PDMS-Coated Titanium Dioxide. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, vol. 11, pp. 27422–2742. DOI: 10.1021/acsami.9b07490
 25. Mills A., Hunte S.L. An overview of semiconductor photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 1997, vol. 108, no. 1, pp. 1–35.
 26. Park E.J., Han S.W., Jeong B., Park S.H., Kim Y.-G., Kim Y.H., Kim Y.D. Effect of polydimethylsiloxane (PDMS) coating on TiO₂-based MALDI matrix for dimethyl methylphosphonate (DMMP) analysis. *Applied Surface Science*, 2015, vol. 353, pp. 342–349. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.06.122
 27. Morris N.J., Anderson H., Thibeault B., Vertes A., Powell M.J., Razunguzwa T.T. Laser desorption ionization (LDI) silicon nanopost array chips fabricated using deep UV projection lithography and deep reactive ion etching. *RSC Advances*, 2015, vol. 5, no. 88, pp. 72051–72057. DOI: 10.1039/c5ra11875a

Contacts: Gorbunov Alexander Yurievich,
gorbunov-a@inbox.ru

Article received by the editorial office on 27.11.2020