

УДК 602.42

© С. К. Ильюшонок, А. С. Гладчук, А. Н. Арсеньев, Н. В. Томилин,
М. Н. Краснов, Е. П. Подольская, Н. В. Краснов, 2023

ПРОСТЕЙШИЙ КОМПЛЕКТ ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ НАНЕСЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ НА МАЛДИ-МИШЕНЬ ПРИ БЕСКАПЕЛЬНОМ ЭЛЕКТРОРАСПЫЛЕНИИ В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

В настоящей работе представлена схема упрощенной лабораторной установки для нанесения сорбентов — наночастиц оксидов различных металлов на металлическую подложку. Установка позволяет реализовать методику "лаборатория на мишени" для металл-аффинных сорбентов на металлической подложке для МАЛДИ масс-спектрометрического анализа. На примере сорбента TiO_2 показано, что формат "лаборатория на мишени" может быть использован для экстракции галогенсодержащих белковых аддуктов.

Кл. сл.: сорбенты, электрораспыление, МАЛДИ масс-спектрометрия, диоксид титана, наночастицы

ВВЕДЕНИЕ

Значительные усилия исследователей в области металл-аффинной хроматографии направлены на уменьшение количества образца, требуемого для анализа, и снижение потерь на сорбенте при проведении металл-аффинной хроматографии. Появились работы, в которых манипулируют очень малыми объемами образца, а пробоподготовка сведена к нескольким простым этапам — так называемая "лаборатория на мишени" [1]. Покрытая или модифицированная слоем сорбента — наночастицами оксидов различных металлов — мишень может использоваться для прямого обогащения образца *in situ* с последующим анализом методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС).

Для нанесения слоя сорбента на мишень разработаны и апробированы несколько методик модификации мишени, использующих набор приборов и устройств для нанесения сорбентов. Методики реализуются с использованием электрораспыления суспензии металл-аффинного сорбента на основе оксидов металлов в водно-метанольном растворе. Отличаются методики способами подготовки поверхности МАЛДИ-мишени, условиями процесса напыления, температурным режимом и многоэтапностью процесса [2–5]. Разработанные и реализованные методики модификации мишени основаны на использовании лабораторных установок, которые зачастую довольно сложны и дорогостоящи.

ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Относительно простой лабораторной установкой можно было бы считать описанную и испытанную в [6], которая состоит из 20 элементов и устройств. Результаты исследований бескапельного электрораспыления растворов и суспензий при нормальных условиях [7] позволили не только упростить лабораторную установку [6], но и сделать ее значительно дешевле без потери качества результатов.

ПРЕДЛАГАЕМОЕ РЕШЕНИЕ

Описание конструкции

На рис. 1 представлена схема упрощенной лабораторной установки для нанесения сорбентов — наночастиц оксидов различных металлов — на металлическую подложку. Лабораторная установка состоит из трех основных узлов: инфузионной системы (капельницы); узла бескапельного электрораспыления растворов при атмосферном давлении и системы обеспечения, включающей в себя управляемые элементы: высоковольтный блок питания, механический воздушный насос с блоком питания, а также МАЛДИ-мишени для нанесения на ее поверхность механически устойчивого пятна сорбента. Инфузионная система состоит из: камеры капельницы 1, регулятора скорости инфузии 2 — подвижного колеса-зажима внутри каретки, и пластиковых трубок 3.

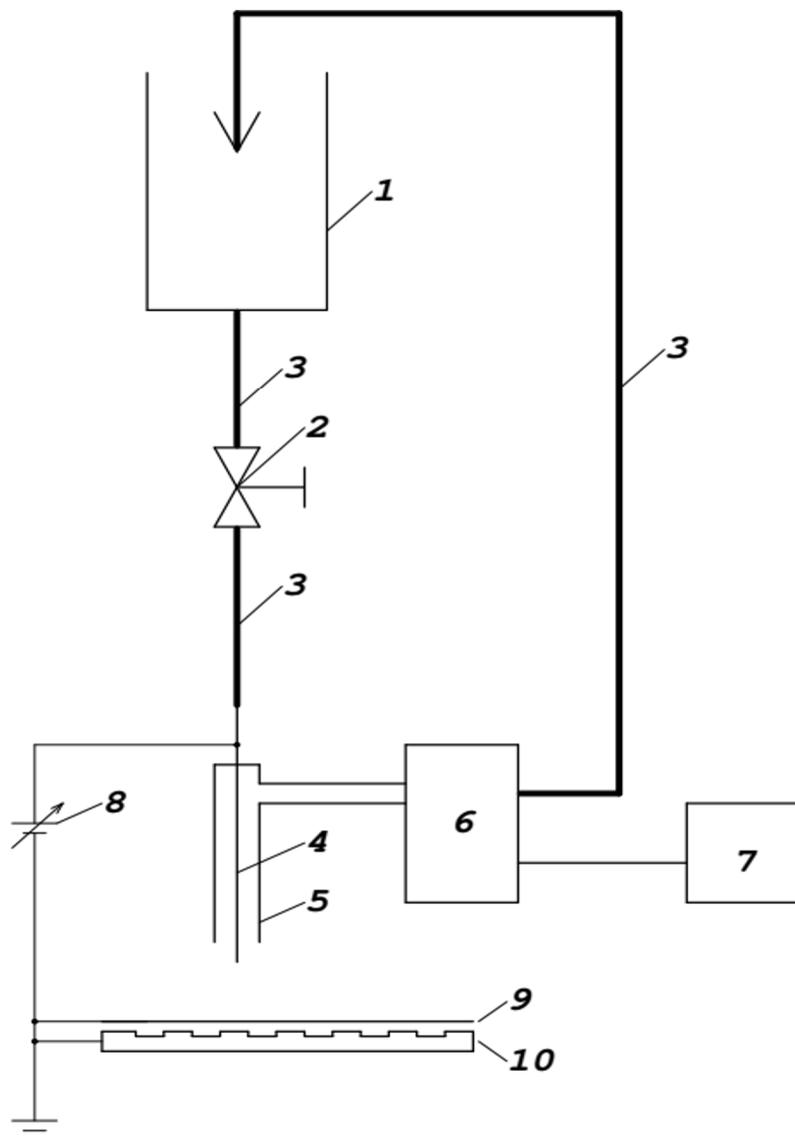


Рис. 1. Схема упрощенной лабораторной установки для нанесения сорбентов — наночастиц оксидов различных металлов на металлическую подложку.

Здесь: камера капельницы 1, регулятор скорости инфузии 2, пластиковые трубки 3, металлический капилляр 4 диаметром 0.8 мм, внешний диэлектрический капилляр 5, воздушный насос 6 — R385 6-12V DC, блок питания воздушного насоса 7, регулируемый высоковольтный блок питания 8 Applied Kilovolts, заземленная гладкая металлическая съемная пластина 9, МАЛДИ-мишень 10

Суспензия наночастиц оксида металла в водном растворе метанола заливается в капельницу и по пластиковой трубке поступает к регулятору скорости инфузии — объемной скорости подачи суспензии в систему. Выбранный поток суспензии от регулятора скорости потока по пластиковой трубке поступает в металлический капилляр 4 диаметром 0.8 мм узла бескапельного распыления раствора при атмосферном давлении при нормальных условиях, который подробно описан в работах [6–10].

Коаксиально к капилляру 4 расположен внешний диэлектрический капилляр 5 с внутренним диаметром, большим внешнего диаметра капилляра 4. Излишки нераспыленного раствора, смачи-

вающие внешнюю стенку капилляра 4, вместе с лабораторным воздухом откачиваются воздушным насосом 6 R385 6-12V DC через зазор между капиллярами 4 и 5. Механический воздушный насос управляется блоком питания 7.

Откачанная по коаксиальному каналу излишняя парогазовая смесь из механического насоса поступает в камеру капельницы, где происходит барботирование исходной суспензии, что не позволяет сорбенту оседать на дно. Металлический капилляр узла распыления подключается к регулируемому высоковольтному блоку питания 8 Applied Kilovolts. Для реализации режима электрораспыления в качестве противозэлектрода используется заземленная металлическая пластина,

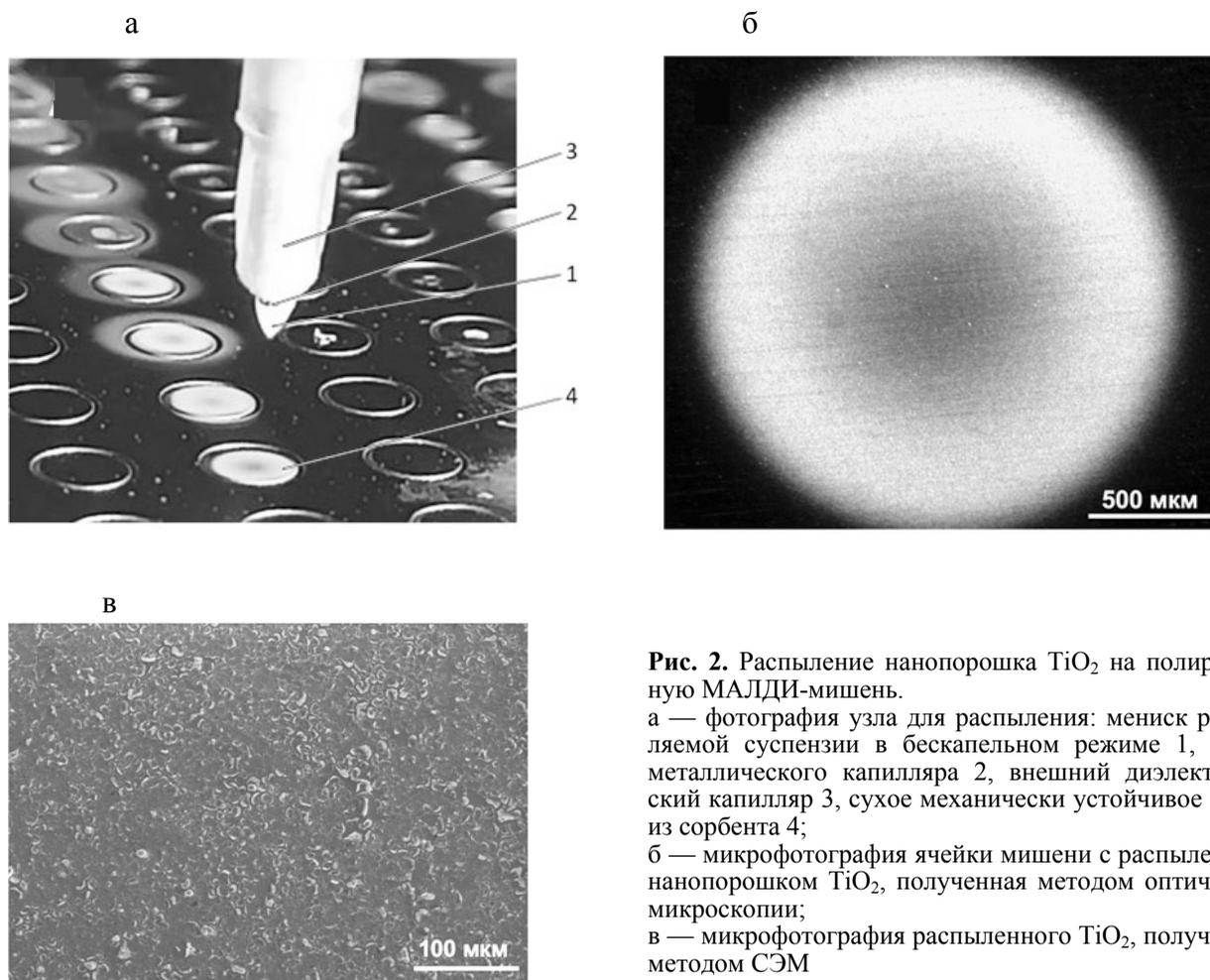


Рис. 2. Распыление нанопорошка TiO_2 на полированную МАЛДИ-мишень.

а — фотография узла для распыления: мениск распыляемой суспензии в бескапельном режиме 1, торец металлического капилляра 2, внешний диэлектрический капилляр 3, сухое механически устойчивое пятно из сорбента 4;

б — микрофотография ячейки мишени с распыленным нанопорошком TiO_2 , полученная методом оптической микроскопии;

в — микрофотография распыленного TiO_2 , полученная методом СЭМ

которой может быть либо гладкая съемная пластина 9 для настройки режима напыления сорбента, либо МАЛДИ-мишень 10 для получения необходимого пятна сорбента и реализации методики "лаборатория на мишени". Расстояние между торцом металлического капилляра и противоэлектродом составляет порядка 10 мм.

Описание работы установки

Режим бескапельного распыления можно контролировать визуально. На рис. 2, а, показаны: 1 — мениск распыляемой суспензии в бескапельном режиме, 2 — торец металлического капилляра и 3 — внешний диэлектрический капилляр. В случае существования микрокапель в факеле распыления на противоэлектроде образуется "роса" из распыляемого раствора, в случае бескапельного распыления на противоэлектроде образуется сухое механически устойчивое пятно из сорбента 4.

Скорость откачки потока лабораторного воздуха механическим насосом регулируется блоком питания. На металлический капилляр подается регулируемое высоковольтное напряжение до 5 кВ. Полярность напряжения распыления зависит от полярности распыляемых частиц сорбента и распылителя.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Апробация упрощенной лабораторной установки для нанесения сорбентов — наночастиц оксидов различных металлов на металлическую подложку проведена в случае распыления нанопорошка TiO_2 (размер частиц ~21 нм, Sigma-Aldrich). Использовали суспензию в 30% водном метаноле с 0.1% муравьиной кислотой с концентрацией частиц 5 мг/мл. Суспензию предварительно перемешивали с помощью перемешивающего устройства типа

"Вортекс", затем в течение 10 мин выдерживали в ультразвуковой ванне.

Для получения пятна сорбента диаметром 2 мм использовались следующие параметры распыления: сила тока 133 нА; расстояние между мишенью и иглой ~5 мм; игла выдвинута из корпуса на 0.7 мм; шприц с суспензией закреплен на штативе на 70 см выше уровня стола; рабочий объем суспензии не менее 20 мл; постоянный объем суспензии в шприце не менее 5 мл; время распыления 10 мин.

Методом оптической микроскопии было установлено, при таких параметрах удается получить достаточно ровное покрытие, более уплотненное

по краям пятна (рис. 2, б). При этом частицы материала достаточно плотно упакованы, что подтверждалось результатами исследования с использованием сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (рис. 2, в).

На следующем этапе полученные пятна TiO_2 были использованы для проведения металл-аффинной экстракции в формате "лаборатория на мишени". Недавно было показано, что металл-аффинная хроматография позволяет проводить обогащение образца галогенсодержащими соединениями [11–13]. Поэтому в качестве образца был

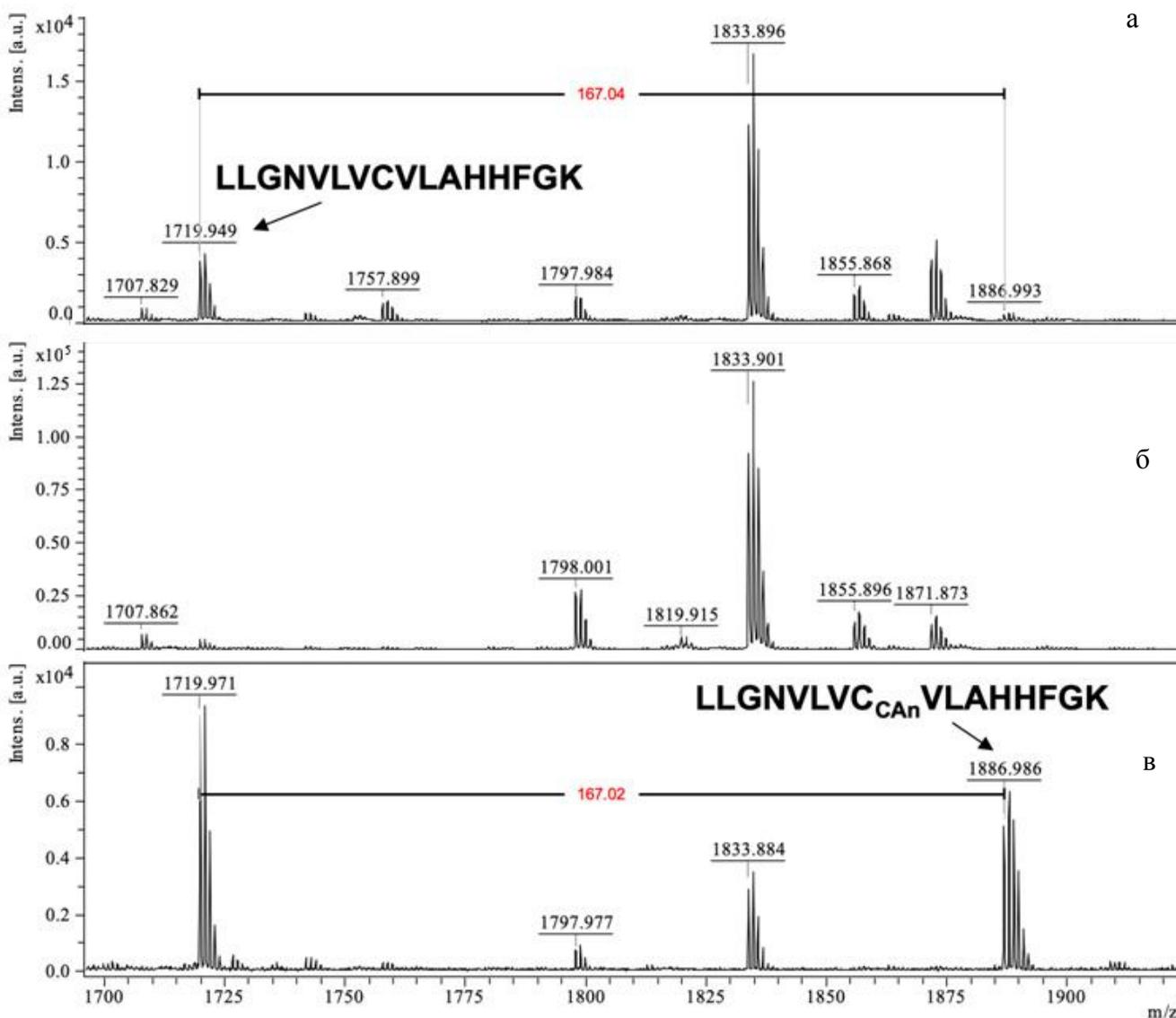


Рис. 3. МАЛДИ масс-спектры триптического гидролизата глобина человека, модифицированного M1-(4-хлорфенил)-2-хлорацетамидом.

а — до обогащения; б — несвязавшаяся фракция; в — после обогащения на пятне распыленного TiO_2

выбран триптический гидролизат глобина человека, модифицированного *N*-(4-хлорфенил)-2-хлорацетамидом (C_{CA}) таким образом, чтобы соотношение модифицированной формы к немодифицированной составляло 1:10. В этом случае, как показано на рис. 3, а, соотношение сигнал/шум (S/N) сигнала, соответствующего аддукту глобина человека с C_{CA} (LLGNVLCVLANHFGK, *m/z* 1886.993, разница масс с немодифицированным пептидом 167 Да), не превышало 4. Металл-аффинную экстракцию проводили при следующих условиях:

- сорбент — напыленные пятна TiO₂;
- сорбция — в водной среде при pH 6 в течение 20 мин (несвязавшуюся фракцию после переносили на свободную ячейку мишени и смешивали с раствором матрицы);
- промывка — дважды дистиллированной водой;
- десорбция — 30% водным ацетонитрилом в присутствии матрицы (альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота) в 70% водном ацетонитриле с 0.1% трифторуксусной кислотой.

Все элюенты высушивались непосредственно на пятне сорбента. Анализ проводили с помощью tandemного времяпролетного масс-спектрометра, оснащенного источником ионов МАЛДИ, Ultraflex[™] (Bruker Daltonics), на базе ресурсного центра "Развитие молекулярных и клеточных технологий" Научного парка СПбГУ. Спектры регистрировали в диапазоне *m/z* 1000–3000 в режиме "рефлектрон" с детектированием положительных ионов при следующих настройках масс-спектрометра: напряжения 1 и 2 на источнике равны 20.1 и 18.0 кВ соответственно; напряжение на линзах — 7.0 кВ; напряжение на рефлектроне 1 — 21.1 кВ; напряжение на рефлектроне 2 — 10.9 кВ.

При указанных условиях проведения анализа аддукт полностью связывается с сорбентом, о чем свидетельствует отсутствие сигнала с *m/z* 1886.993 в масс-спектре несвязавшейся фракции (рис. 3, б). При этом в масс-спектре, полученном с пятна сорбента, искомым сигналом оказался одним из наиболее интенсивных наряду с сигналом, соответствующим немодифицированному пептиду LLGNVLCVLANHFGK (рис. 3, в).

ВЫВОДЫ

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что TiO₂, нанесенный на поверхность мишени методом бескапельного электрораспыления, сохраняет свойства металл-аффинного сорбента, а предложенный подход в формате "лаборатория на мишени" может быть

использован для экстракции галогенсодержащих белковых аддуктов.

Таким образом, установлено, что простейший комплект оборудования для нанесения наночастиц оксидов металлов на МАЛДИ-мишень при бескапельном электрораспылении в нормальных условиях позволяет получать ровные устойчивые покрытия на поверхности твердой подложки при 100% использовании суспензии. На примере TiO₂ показано, что электрораспыление в указанных условиях не приводит к изменению свойств металл-аффинного сорбента. Кроме того, продемонстрировано, что формат "лаборатория на мишени" может быть использован для экстракции галогенсодержащих белковых аддуктов.

Авторы выражают благодарность ресурсным центрам "Развитие молекулярных и клеточных технологий" и "Геомодель" Научного парка СПбГУ за возможность проведения масс-спектрометрических исследований и предоставленные СЭМ-снимки.

Работа выполнена в Институте аналитического приборостроения Российской академии наук в рамках темы FFZM-2022-0009 (номер гос. регистрации 12204060002-3) государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-01157-23-00 (от 29.12.2022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Urban P., Amantonico A., Zenobi R. Lab-on-a-plate: extending the functionality of MALDI-MS and LDI-MS targets // *Mass Spectrometry Reviews*. 2011. Vol. 30, no. 3. P. 435–478. DOI: 10.1002/mas.20288
2. Blacken G.R., Volný M., Vaisar T., Sadílek M., Tureček F. In situ enrichment of phosphopeptides on MALDI plates functionalized by reactive landing of zirconium(IV)-*n*-propoxide ions // *Analytical Chemistry*. 2007. Vol. 79, no. 14. P. 5449–5456. DOI: 10.1021/ac070790w
3. Chen C.-J., Lai C.-C., Tseng M.-C., Liu Y.-C., Liu Y.-H., Chio L.-W., Tsai F.-J. A novel titanium dioxide-polydimethylsiloxane plate for phosphopeptide enrichment and mass spectrometry analysis // *Analytica Chimica Acta*. 2014. Vol. 812. P. 105–113. DOI: 10.1016/j.aca.2014.01.010
4. Krásný L., Pompach P., Strohalm M. In situ enrichment of phosphopeptides on MALDI plates modified by ambient ion landing // *Journal of Mass Spectrometry*. 2012. Vol. 47, no. 10. P. 1294–1302. DOI: 10.1002/jms.3081
5. Bi H., Qiao L., Busnel J.-M., Devaud V., Liu B., Girault H.H. TiO₂ printed aluminum foil: single-use film for a laser desorption/ionization target plate // *Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 81, no. 3. P. 1177–1183. DOI: 10.1021/ac8024448
6. Кельцьева О.А., Колтакова Ю.Д., Мурадымов М.З., Краснов М.Н., Суходолов Н.Г., Краснов Н.В., Подольская Е.П. Модификация MALDI-мишени наночастицами при электрораспылении суспензии оксида

- железа (III) в нормальных условиях // Научное приборостроение. 2019. Т. 29, № 2. С. 5–11. URL: <http://iairas.ru/mag/2019/abst2.php#abst1>
7. *Al-Tavil E.E., Kurnin I.V., Krasnov M.N., Muradytov M.Z., Krasnov N.V.* Dropless ESI for IMS of ambient conditions // *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*. 2019. Vol. 22, iss. 2. P. 85–91. DOI: 10.1007/s12127-019-00250-2
 8. *Подольская Е.П., Кельцьева О.А., Краснов Н.В., Мурадымов М.З., Краснов М.Н.* Устройство для нанесения оксидов металлов на металлическую поверхность при нормальных условиях. Патент РФ № 2733530 С1, 05.10.2020. URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2733530C1_20201005
 9. *Краснов Н.В., Краснов М.Н.* Способ образования бескапельного ионного потока при электрораспылении анализируемых растворов в источниках ионов с атмосферным давлением. Патент РФ № 2613429, 16.03.2017. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2613429C2/ru>
 10. *Краснов Н.В., Мурадымов М.З., Краснов М.Н.* Способ непрерывного стабильного электрораспыления растворов в источнике ионов при атмосферном давлении. Патент РФ № 2612324, 07.03.2017. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2612324C2/ru>
 11. *Shreyner E.V., Alexandrova M.L., Sukhodolov N.G., Selyutin A.A., Podolskaya E.P.* Extraction of the insecticide dieldrin from water and biological samples by metal affinity chromatography // *Mendelev Communications*. 2017. Vol. 27, no. 3. P. 304–306. DOI: 10.1016/j.mencom.2017.05.030
 12. *Kurdyukov D.A., Chernova E.N., Russkikh Y.V., Eurov D.A., Sokolov V.V., Bykova A.A., Shilovskikh V.V., Keltsieva O.A., Ubyivovk E.V., Anufrikov Y.A., Fedorova A.V., Selyutin A.A., Sukhodolov N.G., Podolskaya E.P., Golubev V.G.* Ni-functionalized submicron mesoporous silica particles as a sorbent for metal affinity chromatography // *Journal of Chromatography A*. 2017. Vol. 1513. P. 140–148. DOI: 10.1016/j.chroma.2017.07.043
 13. *Горбунов А.Ю., Подольская Е.П.* Формирование наноразмерных мультимолекулярных структур стеарата лантана с использованием монослоев Ленгмюра для масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией // *Письма в Журнал технической физики*. 2022. Т. 48, №. 21. С. 35–39. DOI: 10.21883/PJTF.2022.21.53711.19320
- Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург** (Ильюшонок С.К., Гладчук А.С., Арсеньев А.Н., Подольская Е.П., Краснов Н.В.)
- "Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека" Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург** (Ильюшонок С.К.)
- "Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова" Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург** (Гладчук А.С., Томилин Н.В., Подольская Е.П.)
- ООО "Девайс Консалтинг", Санкт-Петербург** (Краснов М.Н.)
- Контакты: Гладчук Алексей Сергеевич, aleglad24@gmail.com
- Материал поступил в редакцию 28.05.2023

THE SIMPLEST SET OF DROPLET-FREE ELECTROSPRAYING EQUIPMENT FOR THE DEPOSITION OF METAL OXIDE NANOPARTICLES ON A MALDI TARGET UNDER NORMAL CONDITIONS

S. K. Ilyushonok^{1,2}, A. S. Gladchuk^{1,3}, A. N. Arseniev¹, N. V. Tomilin³,
M. N. Krasnov⁴, E. P. Podolskaya^{1,3}, N. V. Krasnov¹

¹*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg*

²*Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, FMBA, Saint Petersburg*

³*Golikov Research Center of Toxicology, Saint Petersburg*

⁴*Device Consulting Ltd, Saint Petersburg*

This work presents a scheme for a simplified laboratory setup for the deposition of sorbents — nanoparticles of various metal oxides — on a metal substrate. The setup makes it possible to implement the "lab-on-plate" technique for metal-affinity sorbents on a metal substrate for MALDI mass spectrometric analysis. Using the example of TiO₂ sorbent, it is shown that the "lab-on-plate" format can be employed for the extraction of halogen-containing protein adducts.

Keywords: sorbents, electrospraying, MALDI mass spectrometry, titanium dioxide, nanoparticles

INTRODUCTION

Significant research efforts in the field of metal-affinity chromatography are intended to reduce the amount of sample required for analysis, and losses on the sorbent during metal-affinity chromatography. Works appeared in which very small volumes of the sample were operated on, and sample preparation was reduced to several simple stages — the so-called "laboratory on the target" [1]. A target coated or modified with a layer of sorbent — nanoparticles of oxides of various metals — can be used for direct enrichment of the sample *in situ* with subsequent analysis by mass spectrometry with matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-MS).

To apply the sorbent layer to the target, several methods for modifying the target have been developed and tested using a set of instruments and devices for applying sorbents. The techniques are implemented using electrospray of a metal-affinity sorbent suspension based on metal oxides in an aqueous methanol solution. The techniques differ in the methods of preparing the surface of the MALDI target, the conditions of the deposition, the temperature regime, and the multi-stage process [2–5]. The developed and implemented target modification techniques are based on the use of laboratory facilities, which are often quite complex and expensive.

PROBLEM STATEMENT

A relatively simple laboratory setup, consisting of 20 elements and units, is described and tested in [6].

Results of studies of dropless electrospray solutions and suspensions under normal conditions [7] made it possible not only to simplify the laboratory setup [6], but also to make it much cheaper without losing the quality of the results.

PROPOSED SOLUTION

Design description

Fig. 1 shows the layout of a simplified laboratory setup for applying sorbents — nanoparticles of oxides of various metals — on a metal substrate.

Fig. 1. Layout of a simplified laboratory installation for applying sorbents — nanoparticles of oxides of various metals on a metal substrate. Here: 1 — dropper chamber, 2 — infusion speed controller, 3 — plastic tubes, 4 — metal capillary with a diameter of 0.8 mm, 5 — external dielectric capillary, 6 — air pump R385 6-12V DC, 7 — air pump power supply, 8 — adjustable high-voltage power supply Applied Kilovolts, 9 — grounded removable smooth metal plate, 10 — MALDI target

The laboratory installation consists of three main units: an infusion system (droppers); a unit for dropless electrospraying of solutions at atmospheric pressure; and a support system, including controlled elements such as a high-voltage power supply, a mechanical air pump with a power supply, as well as a MALDI target for applying a mechanically stable sorbent spot on its surface. The infusion system con-

sists of: a dropper chamber 1, an infusion speed regulator 2 — a movable wheel-clamp wheel inside the carriage, and plastic tubes 3.

A suspension of metal oxide nanoparticles in an aqueous methanol solution is poured into a dropper, and through a plastic tube, it enters the infusion rate (the volumetric rate of suspension supply to the system) regulator. The selected suspension flow from the flow rate regulator through a plastic tube enters a metal capillary 4 with a diameter of 0.8 mm in the unit (described in detail in [6–10]) for dropless spraying of the solution at atmospheric pressure under normal conditions.

Coaxial to the capillary 4 is an external dielectric capillary 5 with an inner diameter greater than the outer diameter of the capillary 4. Excess unsprayed solution wetting the outer wall of capillary 4 together with laboratory air is pumped out by air pump 6 R385 DC 6-12V through the gap between capillaries 4 and 5. The power supply unit 7 controls the mechanical air pump.

The excess vapor-gas mixture evacuated through the coaxial channel from the mechanical pump, enters the chamber of the dropper, where the initial suspension is bubbling, which prevents the sorbent from settling to the bottom. The metal capillary of the spray node is connected to an adjustable high voltage power supply Applied Kilovolts 8. To implement the electro-spray mode, a grounded metal plate is used as a counter electrode, which can be either a smooth removable plate 9 for adjusting the sorbent deposition mode, or a MALDI target 10 for obtaining the required sorbent spot and implementing the laboratory-on-target technique. The distance between the end face of the metal capillary and the counter electrode is about 10 mm.

Description of the setup operation

The drop-free spray mode can be controlled visually. Fig. 2, a, shows: 1 — meniscus of sprayed suspension in drop-free mode, 2 — end face of a metal capillary, and 3 — external dielectric capillary. In the case of microdroplets in the spray plume, a "dew" from the sprayed solution is formed on the counter electrode. In the case of dropless spraying, a dry, mechanically stable spot of sorbent 4 is formed on the counter electrode. The pumping speed of the laboratory air flow by a mechanical pump is controlled by the power supply. An adjustable high-voltage voltage of up to 5 kV is applied to the metal capillary. The polarity of the spray voltage depends on the polarity of the sprayed sorbent and solvent particles.

Fig. 2. Sputtering of TiO₂ nanopowder onto a polished MALDI target.

a — photograph of the spraying unit: 1 — meniscus of the sprayed suspension in the non-drip mode, 2 — metal capillary end, 3 — external dielectric capillary, 4 — dry mechanically stable spot of sorbent; 6 — micrograph of a target cell with a sputtered TiO₂ nanopowder obtained by optical microscopy; b — SEM micrograph of sputtered TiO₂

EXPERIMENT

Validation of a simplified laboratory setup for applying sorbents — nanoparticles of oxides of various metals — to a metal substrate was carried out in the case of sputtering of TiO₂ nanopowder (particle size — 21 nm, Sigma-Aldrich). A suspension in 30% aqueous methanol with 0.1% formic acid with a particle concentration of 5 mg/mL was used. The suspension was first well mixed with a Vortex mixer, then held in an ultrasonic bath for 10 min.

To obtain a sorbent spot with a diameter of 2 mm, the following sputtering parameters were used: current strength 133 nA; distance between target and needle — 5 mm; the needle is out of the body by 0.7 mm; the suspension syringe is mounted on a tripod 70 cm above the table level; the working volume of the suspension is not less than 20 mL; the constant volume of suspension in the syringe is not less than 5 mL; spraying time 10 min.

Using optical microscopy, it was determined that with such parameters it is possible to obtain a fairly even coating, more compacted along the edges of the spot (Fig. 2, б). The particles of the material are quite tightly packed, which was confirmed by the results of the study using scanning electron microscopy (SEM) (Fig. 2, в).

At the next stage, the obtained TiO₂ spots were used for metal-affinity extraction in the laboratory-on-target format. It has recently been shown that metal affinity chromatography makes it possible to enrich a sample with halogenated compounds [11–13]. Therefore, a tryptic hydrolysate of human globin modified with N1-(4-chlorophenyl)-2-chloroacetamide (CCAn) was chosen as a sample so that the ratio of modified form to unmodified form was 1:10. In this case, as shown in Fig. 3, a, the signal-to-noise (S/N) ratio of the signal corresponding to the human globin adduct with CCAn (LLGNVLVCCAnVLAHHFGK, m/z 1886.993, mass difference with the unmodified 167 Da peptide), did not exceed 4. Metal-affinity extraction was carried out under the following conditions:

- sorbent — sprayed TiO₂ spots;
- sorption — in an aqueous medium at pH 6 for 20 min (the unbound fraction was then transferred to the free target cell and mixed with the matrix solution);
- rinsing — twice with distilled water;
- desorption — 30% aqueous acetonitrile in the presence of a matrix (alpha-cyano-4-hydroxycoric acid) in 70% aqueous acetonitrile with 0.1% trifluoroacetic acid.

Fig. 3. MALDI mass spectra of human globin tryptic hydrolysate modified with N1-(4-chlorophenyl)-2-chloroacetamide.
a — before enrichment; б — unbound fraction; в — after enrichment on a spot of sputtered TiO₂

All eluents were dried directly on the sorbent spot. The analysis was carried out using a tandem time-of-flight mass spectrometer UltrafleXtreme (Bruker Daltonics), equipped with a MALDI ion source and located in the resource center "Development of Molecular and Cellular Technologies" of the St. Petersburg State University Scientific Park. The spectra were recorded in the range m/z 1000–3000 in the "reflectron" mode with the detection of positive ions at the following mass spectrometer settings: voltages 1 and 2 at the source were 20.1 and 18.0 kV, respectively; voltage on lenses — 7.0 kV; voltage on the reflectron 1 — 21.1 kV; voltage on the reflectron 2 — 10.9 kV.

Under these conditions of analysis, the adduct is fully bound to the sorbent, as evidenced by the absence of a signal from m/z 1886.993 in the mass spectrum of the unbound fraction (Fig. 3, б). In the mass spectrum obtained from the sorbent spot, the desired signal turned out to be one of the most intense, along with the signal corresponding to the unmodified peptide LLGNVLCVLAHHFGK (Fig. 3, в).

CONCLUSIONS

Based on the obtained results, it can be concluded that TiO₂ deposited on the target surface according to the method of dropletless electrospray, retains the properties of a metal-affinity sorbent, and the proposed approach in laboratory-on-target format can be used for the extraction of halogen-containing protein adducts.

Thus, it has been revealed that the simplest set of equipment for deposition of metal oxide nanoparticles on a MALDI target during dropletless electrospraying under normal conditions makes it possible to obtain even stable coatings on the surface of a solid substrate with 100% use of the suspension. The example of

TiO₂ shows that electrospray under these conditions does not change the properties of the metal affinity sorbent. In addition, it has been demonstrated that the laboratory-on-target format can be used to extract halogen-containing protein adducts.

REFERENCES

1. Urban P., Amantonico A., Zenobi R. Lab-on-a-plate: extending the functionality of MALDI-MS and LDI-MS targets. *Mass Spectrometry Reviews*, 2011, vol. 30, no. 3, pp. 435–478. DOI: 10.1002/mas.20288
2. Blacken G.R., Volný M., Vaisar T., Sadilek M., Tureček F. In situ enrichment of phosphopeptides on MALDI plates functionalized by reactive landing of zirconium(IV)-n-ropoxide ions. *Analytical Chemistry*, 2007, vol. 79, no. 14, pp. 5449–5456. DOI: 10.1021/ac070790w
3. Chen C.-J., Lai C.-C., Tseng M.-C., Liu Y.-C., Liu Y.-H., Chio L.-W., Tsai F.-J. A novel titanium dioxide-polydimethylsiloxane plate for phosphopeptide enrichment and mass spectrometry analysis. *Analytica Chimica Acta*, 2014, vol. 812, pp. 105–113. DOI: 10.1016/j.aca.2014.01.010
4. Krásný L., Pompach P., Strohalm M. In situ enrichment of phosphopeptides on MALDI plates modified by ambient ion landing. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012, vol. 47, no. 10, pp. 1294–1302. DOI: 10.1002/jms.3081
5. Bi H., Qiao L., Busnel J.-M., Devaud V., Liu B., Girault H.H. TiO₂ printed aluminum foil: single-use film for a laser desorption/ionization target plate. *Analytical Chemistry*, 2009, vol. 81, no. 3, pp. 1177–1183. DOI: 10.1021/ac8024448
6. Keltsiyeva O.A., Kolpakova Yu.D., Krasnov M.N., Muradymov M.Z., Sukhodolov N.G., Krasnov N.V., Podolskaya E.P. [Modification of MALDI targets by nanoparticles during iron oxide (III) suspension electrospraying under normal conditions]. *Nauchnoe Priborostroenie [Scientific Instrumentation]*, 2019, vol. 29, no. 2, pp. 5–11. DOI: 10.18358/np-29-2-i511 (In Russ.).
7. Al-Tavil E.E., Kurnin I.V., Krasnov M.N., Muradymov M.Z., Krasnov N.V. Dropletless ESI for IMS of ambient conditions. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 2019, vol. 22, iss. 2, pp. 85–91. DOI: 10.1007/s12127-019-00250-2
8. Podolskaya E.P., Keltsiyeva O.A., Krasnov N.V., Muradymov M.Z., Krasnov M.N. Ustrojstvo dlya nanoseniya oksidov metallov na metallicheskuju poverkhnost' pri normal'nykh usloviyakh. *Patent RF no. 2733530 C1* [Patent for the device for the application of metal oxides to a metal surface under normal conditions]. Prioritet 05.10.2020. (In Russ.). URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2733530C1_20201005
9. Krasnov N.V., Krasnov M.N. Sposob obrazovaniya beskapel'nogo ionnogo potoka pri ehlektroaspnylenii analiziruemykh rastvorov v istochnikakh ionov s atmosfernym davleniem. *Patent RF no. 2613429* [Patent for the method for the formation of a droplet-free ion flux during electrospraying of analyzed solutions in ion sources with atmospheric pressure]. Prioritet 16.03.2017. (In Russ.).

- URL:
<https://patents.google.com/patent/RU2613429C2/ru>
10. Krasnov N.V., Muradymov M.Z., Krasnov M.N. Sposob nepreryvnogo stabil'nogo ehlektroaspilyeniya rastvorov v istochnike ionov pri atmosfernom davlenii. *Patent RF no. 2612324* [Patent for the method for continuous stable electrospaying of solutions in an ion source at atmospheric pressure]. Prioritet 07.03.2017. (In Russ.). URL: <https://patents.google.com/patent/RU2612324C2/ru>
 11. Shreyner E.V., Alexandrova M.L., Sukhodolov N.G., Selyutin A.A., Podolskaya E.P. Extraction of the insecticide dieldrin from water and biological samples by metal affinity chromatography. *Mendeleev Communications*, 2017, vol. 27, no. 3, pp. 304–306.
DOI: 10.1016/j.mencom.2017.05.030
 12. Kurdyukov D.A., Chernova E.N., Russkikh Y.V., Eurov D.A., Sokolov V.V., Bykova A.A., Shilovskikh V.V., Keltsieva O.A., Ubyivovk E.V., Anufrikov Y.A., Fedorova A.V., Selyutin A.A., Sukhodolov N.G., Podolskaya E.P., Golubev V.G. Ni-functionalized submicron mesoporous silica particles as a sorbent for metal affinity chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2017, vol. 1513, pp. 140–148.
DOI: 10.1016/j.chroma.2017.07.043
 13. Gorbunov A.Yu., Podolskaya E.P. [Fabrication of nanoscale multimolecular structures of lanthanum stearate using Langmuir monolayers for laser desorption/ionization mass spectrometry]. *Pis'ma v Zhurnal tekhnicheskoi fiziki* [Technical Physics Letters], 2022, vol. 48, no. 21, pp. 35–39. (In Russ.).
DOI: 10.21883/PJTF.2022.21.53711.19320

Contacts: Gladchuk Aleksei Sergeevich,
aleglad24@gmail.com

Article received by the editorial office on 28.05.2023