

‘Національна академія наук України
Інститут електронної фізики
Міністерство освіти і науки України
Державний вищий навчальний заклад
“Ужгородський національний університет”

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Папп Олександр Вікторович

**УДК 530.145; 539.14/16/18;
539.182/184/186/189**

ДИСЕРТАЦІЯ

**МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ ПРОЦЕСІВ ІОНІЗАЦІЇ ТА ДИСОЦІАТИВНОЇ
ІОНІЗАЦІЇ МОЛЕКУЛ АМІНОКИСЛОТ ЕЛЕКТРОНАМИ**

01.04.04 – фізична електроніка

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.В. Папп

Науковий керівник: Снігурський Олександр Валентинович, доктор фізико-математичних наук, старший науковий співробітник.

Ужгород – 2019

АНОТАЦІЯ

Панн О.В. Мас-спектрометрія процесів іонізації та дисоціативної іонізації молекул амінокислот електронами. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 01.04.04 “Фізична електроніка”. – Інститут електронної фізики НАН України, Ужгород, 2018.

Робота присвячена комплексному експериментальному і теоретичному дослідженню процесів іонізації та дисоціативної іонізації молекул амінокислот гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну під дією повільних електронів (≤ 100 eV), що супроводжуються фрагментацією вказаних молекул, з подальшим аналізом продуктів розпаду.

Для реалізації задачі досліджень використовувався мас-спектрометричний метод з іонізацією електронним ударом та метод молекулярного й електронного пучків, що перетинаються під прямим кутом. Експериментальні дослідження проводилися з використанням модернізованого магнітного мас-спектрометра МІ-1201. Було отримано мас-спектри вказаних молекул та виміряні енергетичні залежності перерізів іонізації та дисоціативної іонізації останніх. Для встановлення основних механізмів дисоціації вихідних молекул отримані експериментальні результати були проаналізовані із застосуванням узагальненого градієнтного підходу теорії функціоналу густини (ТФГ).

Представлено опис фізичних процесів взаємодії низькоенергетичних електронів (енергією ≤ 100 eV) з багатоатомними молекулами. Розглянуто основні закономірності аналізу спектрів мас органічних молекул при іонізації електронним ударом.

Детально розглянуто сучасний стан наявних методів дослідження продуктів іонізації та дисоціативної іонізації, Описано їх переваги та

недоліки. Розглянуто методи іонізації електронним ударом, хімічної іонізації, польової іонізації та десорбції полем, матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації, електричного розпилення та фотоіонізації. Детально розглянуто основні типи мас аналізаторів, принципи роботи, їх недоліки та переваги. Серед широкого ряду мас аналізаторів виділено магнітний, квадрупольний, іонну пастку та часопролітний аналізатори. Дано аналіз загального стану проблеми вивчення фрагментації молекул амінокислот, а саме: гліцину, метіоніну, аланіну та триптофану. Показано, що більшість наявних результатів отримана у дослідженнях процесів фотоіонізації, а число робіт з іонізації електронним ударом є вкрай обмеженим.

У роботі описано експериментальну установку з магнітним мас-спектрометром МІ-1201. Проаналізовано недоліки стандартних промислових джерел іонів та запропоновано заходи з модернізації останніх з метою можливості проведення мас-спектрометричних вимірювань сполук у газоподібному стані.

Детально описано результати здійсненого удосконалення мас-спектрометра МІ-1201, а саме: адаптація джерела іонів для роботи з твердими порошкоподібними речовинами, розробка трьох-електродної електронної гармати, розробка конструкції ефузійного джерела, удосконалення системи реєстрації та управління експериментом. Проведено контрольні виміри, необхідні для калібрування шкали мас іонних фрагментів та енергій первинних електронів. У роботі описано методику мас-спектрометричних досліджень фрагментації молекул амінокислот електронним ударом, визначення порогів іонізації материнських молекул та потенціалів (енергій) появи продуктів їх дисоціативної іонізації, дано опис теоретичних наближень, використаних для аналізу отриманих експериментальних результатів.

У роботі представлені отримані експериментально мас-спектри молекул гліцину, метіоніну, аланіну та триптофану при різних енергіях іонізуючих

електронів. Отримані мас-спектри при енергії іонізації 70 eV порівнювалися із наявними мас-спектрами інших авторів. Проведено ідентифікацію основних піків отриманих мас-спектрів. Незважаючи на слабку відносну інтенсивність піків материнських іонів досліджуваних молекул, було отримано енергетичні залежності їх виходу та енергії (потенціали) їх іонізації. Також були визначені абсолютні величини енергій появи основних іонних фрагментів досліджуваних молекул амінокислот. З метою встановлення найбільш ймовірних механізмів їх фрагментації під дією електронів використовувалися отримані експериментально величини енергій появи іонних фрагментів. При моделювання процесів фрагментації оцінювалися можливі канали утворення аніонних та катіонних фрагментів, а також уламків з нульовим зарядом. Визначення найбільш імовірних каналів фрагментації молекул відбувалося із залученням наявних теоретичних розрахунків у рамках гібридного трьохпараметричного функціоналу потенціалу Беке з нелокальною кореляцією, запропонованого Лі, Янгом та Парром (B3LYP) із використанням базисного набору $cc-pVTZ$.

Аналіз отриманих результатів дозволив встановити, що вихід основного фрагмента-іона молекули гліцину CH_4N^+ пов'язаний не лише з іонізацією з різних молекулярних орбіталей вихідної молекули, але і зі зміною заряду комплементарного фрагмента. Доведено, що основний канал дисоціативної іонізації молекули метіоніну електронним ударом обумовлений дисоціацією β -зв'язку відносно атома сірки. Показано, що утворення іона $C_2H_5S^+$ відбувається через іонізацію третьої молекулярної орбіталі з наступною стабілізацією заряду на атомі сірки. Показано, що основний продукт дисоціативної іонізації молекули триптофану – позитивно заряджений іон $C_9H_8N^+$ ($m=130$ а.о.м.) – є результатом простого розриву зв'язку $C_\alpha-C_\beta$ вихідної молекули. Дисоціація цього зв'язку є найбільш імовірною при енергіях електронів, що ненабагато перевищують потенціал іонізації молекули.

Вперше було проведено аналіз утворення подійно заряджених іонних фрагментів та встановлено їх хімічний склад, які утворювалися з вихідних молекул під час взаємодії електронів з молекулами. Так було вперше спостережено вихід двозарядного іонного фрагмента $\text{CH}_2\text{NHCO}^{2+}$ молекули метіоніну. Показано, що механізм його утворення зумовлений одночасною втратою двох електронів та відокремленням молекули води. Описано вихід двозарядних іонних фрагментів $\text{C}_8\text{H}_5\text{N}^{2+}$, $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}^{2+}$ та $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}^{2+}$ молекули триптофану, які зумовлені одночасним видаленням пари електронів, що супроводжується приєднанням різного числа атомів водню і, як наслідок, стабілізацією індольного кільця.

Вперше спостережено дифузний пік при $m/z=81.5$ а.о.м., який відповідає розпаду іона масою $m=130$ а.о.м. Останній характеризується високою інтенсивністю відповідного піка у мас-спектрі та може утворюватися не тільки внаслідок прямої дисоціації вихідної молекули триптофану, але і завдяки вторинній фрагментації її 3-метилен-індольної частини.

Встановлено, що конформаційна ізомерія молекули аланіну найбільш виразно проявляється під час утворення іонного фрагмента масою 18 а.о.м. у разі нейтрального фрагмента.

Здійснено порівняння динаміки виходу фрагментів однакового хімічного складу при фрагментації різних молекул амінокислот. Показано, що, ці молекули при фрагментації утворюють цілий ряд нейтральних та іонних фрагментів з однаковою масою.

Ключові слова: молекула, амінокислота, електрон, іон, іонізація, фрагментація, дисоціативна іонізація, енергія іонізації, енергія появи, мас-спектр, мас-спектрометр.

SUMMARY

Papp O.V. Mass-spectrometry of ionization and dissociative ionization processes of the amino acid molecules by electrons. – Qualification scientific work. Manuscript.

The thesis for the scientific degree of the Candidate of physical and mathematical sciences (Philosophy Doctor), specialty 01.04.04 "Physical electronics". – Institute of Electron Physics, NAS of Ukraine, Uzhhorod, 2018.

Present thesis is dedicated to a complex experimental and theoretical investigations of the single and dissociative ionization of the amino acid molecules glycine, methionine, tryptophan and alanine under the slow (≤ 100 eV) electron impact being accompanied by the above molecules fragmentation with subsequent analysis of the decay products.

To realize the task of the above studies, the electron-impact ionization mass-spectrometric technique was used being combined with the method of normally crossed molecular and electron beams. The experiments were carried out using a modified magnetic МИ-1201 mass-spectrometer. The mass-spectra of the above molecules have been measured together with the energy dependences of their ionization and dissociative ionization cross-sections. The experimental results obtained have been analyzed using the generalized gradient approach of the density functional theory (DFT) in order to find the principal mechanisms of the initial molecules dissociation.

The physical processes of the low-energy (≤ 100 eV) electron interaction with the many-atom molecules have been described. The principal regularities of the analysis of the many-electron organic molecules mass-spectra at the electron impact have been considered.

The up-to-date state of art of the available methods of studying the ionization/dissociative ionization products have been examined, their advantages and shortcomings have been described. An analysis of the general pattern of the

problem of studying the amino acid molecules (i.e. glycine, methionine, tryptophan and alanine) fragmentation has been presented.

It has been shown that the most of the available results were obtained in the photoionization studies, whereas the number of works on the electron-impact ionization is extremely scarce.

An experimental setup based on the magnetic МИ-1201 mass-spectrometer has been described. The main disadvantages of the conventional ion beam sources have been analyzed, the steps of their modification with the purpose to carry out the mass-spectrometric measurements for the gaseous species have been suggested.

The results of the magnetic МИ-1201 mass-spectrometer modification, namely, the ion source adaptation for working with the powdered substances, the three-electrode electron gun construction, the effusion molecular source construction and the detection and experiment control system modernization have been described. The control measurements have been carried out to calibrate the ion fragment mass scale and the incident electron energy scale.

The methods of the mass-spectrometric studies of the amino acid molecules electron-impact fragmentation and measuring the ionization thresholds for the parent molecules and the appearance potentials (energies) for the ionized products determination have been described. The theoretical approaches used to analyze the experimental results obtained have been considered.

In this work, the mass-spectra of the glycine, methionine, tryptophan and alanine molecules were measured at different ionizing electron energies. The mass spectra obtained at the 70eV ionization energy were compared with the available mass spectra from other works. The identification of the main peaks of the obtained mass spectra has been carried out. Despite the weak relative intensity of the peaks of the parent ions of the molecules under investigation, the energy dependences of their yields and the energy (potentials) of their ionization have been obtained. Also, the absolute appearance energy values for the main ionic fragments of the amino acid molecules under study have been determined. In order

to find the most probable mechanisms of their fragmentation under the action of electrons, the experimentally obtained appearance energy values were used. In the modeling of fragmentation processes, the possible channels of formation of both anionic and cationic fragments, as well as the fragments with a zero charge were estimated. The most probable channels of fragmentation of the molecules have been determined with the use of the available theoretical calculations within the framework of the hybrid three-parameter functional of the Beck potential with nonlocal correlation suggested by Lie, Yang and Parr (B3LYP) using the cc-pVTZ basis set.

The analysis of the results allowed us to state that the yield of the main fragment ion fragment of the glycine molecule (CH_4N^+) is associated not only with the ionization from different molecular orbitals of the parent molecule but also with the charge of the complementary fragment. It has been proven that the main channel of dissociative ionization of the methionine molecule by electron impact is due to the dissociation of the β -bond with respect to the sulfur atom. It has been shown that formation of the $\text{C}_2\text{H}_5\text{S}^+$ ion occurs through the ionization of the third molecular orbital, followed by the stabilization of the charge on the sulfur atom. It has been also shown that the main product of the dissociative ionization of the tryptophan molecule, i.e. the positively charged ion $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}^+$ ($m = 130$ a.m.u.), is the result of a simple break of the $\text{C}_\alpha\text{-C}_\beta$ bond of the parent molecule. Dissociation of this bond is more probable at the electron energies slightly higher than the ionization potential of the molecule.

For the first time an analysis of the formation of the partially charged ion fragments has been carried out and their chemical compositions have been found. Thus, for the first time, the yield of the double-charged ion fragment $\text{CH}_2\text{NHCO}_2^+$ of the methionine molecule was observed. It has been shown that the mechanism of its formation is due to the simultaneous loss of two electrons and the separation of the water molecule. The yield of the double-charged ion fragments $\text{C}_8\text{H}_5\text{N}^{2+}$, $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}^{2+}$ та $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}^{2+}$ of the tryptophan molecules is due to the simultaneous

removal of a pair of electrons and is accompanied by the addition of different numbers of the H atoms and, as a consequence, the stabilization of the indole ring.

For the first time, a diffuse peak was observed at $m/z = 81.5$ a.m.u. that corresponds to the decay of the ion with the mass of $m = 130$ a.m.u. The latter is characterized by a high intensity of the corresponding peak in the mass spectrum and can be formed not only due to the direct dissociation of the initial tryptophan molecule, but also due to the secondary fragmentation of its 3-methylene-indole part.

It has been found that the conformational isomerism of the alanine molecule most clearly manifests itself during the formation of the ion fragment with the 18 a.m.u. mass in the case of a complementary neutral fragment.

The dynamics of the yields of the fragments having the same chemical composition has been analyzed for the case of the different amino acid targets. It has been shown that the above molecules at fragmentation produce a series of neutral and ionized fragments of the same mass.

Key words: molecule, amino acid, electron, ion, ionization, fragmentation, dissociative ionization, ionization energy, appearance energy, mass-spectrum, mass-spectrometer.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації в наукових фахових виданнях:

1. Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced asparagine molecule fragmentation. *Eur. Phys. J. D.* **68**(5), 118-135 (2014).
2. Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Megela, I.G., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact induced fragmentation of proline molecule. *Tech. Phys. Lett.* **40**(10), 901–904 (2014).
3. Romanova, L.G., Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Production of Similar Fragments from the Glycine, Alanine, and Methionine Amino Acid Molecules under Low-Energy Electron Impact. *Acta Physica Polonica Series a.* **128**(1), 15-24 (2015).
4. Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced tryptophan molecule fragmentation. *The European Physical Journal D.* **69**(21), 1-10 (2015).
5. Snegursky, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L. G., Vukstich, V. S., Papp, A. V.: Chapter 5 Tryptophan Molecule Fragmentation in Collisions with Low-Energy Electrons in *New Developments in Tryptophan Research* (Ed. V. Hayes). Nova Science Publishers, pp.105-143. New York (2015).
6. Papp, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Demesh, S.S., Snegursky, A.V.: Fragmentation of tryptophan molecule by low-energy electron-impact. *J. Phys.: Conf. Ser.* **635**, 032048 (2015)
7. Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Papp, A., Shkurin, S., Baliulyte, L., Snegursky, A.: On the influence of low-energy ionizing radiation on the aminoacid molecule: proline. *The European Physical Journal D.* **70**(143), 143-153 (2016).
8. Папп, О.: Модернізація системи автоматизації магнітного мас-спектрометра МІ-1201. *Наук. Вісн. Ужг. Унів. Сер. Фіз.* **29**, 128–133 (2016).

9. Вукстич, В.С., Романова, Л.Г., Мегела, И.Г., Папп, А.В., Снегурский, А.В.: Фрагментация молекулы валина электронным ударом. Письма в ЖТФ. **43**(9), 10–19 (2017).
10. Tamulienė, J., Romanova, L., Vukstich, V., Papp, A., Baliulytė, L., Snegursky, A.: The influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: valine. *Lith. Journ. Phys.* **58**(2), 135–148 (2018).

Матеріали наукових конференцій:

1. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Tamulienė, J., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V.: Production of similar fragments from the amino acid molecules by electron impact. In: Book of Abstracts of 2nd Gen. Meet. COST action, XLIC, p.77. Gdansk, 10–12 September 2014.
2. Папп, О.В., Вукстич, В.С., Романова, Л.Г., Мегела, И.Г., Снігурський, О.В.: Про вплив іонізуючого випромінювання на структуру біологічних молекул. Матер. міжн. конф. "Хімічна і радіаційна безпека", с. 87-88. Ужгород, 27–30 травня 2014 р.
3. Tamulienė, J., Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Papp, A.V., Snegurskaya, T.A., Snegursky, A.V., Baliulite. L.: On the influence of low- and high-energy ionizing radiation on the amino acid molecule properties: Tryptophan. In: Book of Abstracts of 5th Int. Conf. Radiation interaction with materials: Fundamentals and applications, pp. 29-32. Kaunas, 12-15 May, 2014.
4. Tamulienė, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced tryptophan molecule fragmentation. In: Matejčík, Š., Papp, P., Bogár, O.(eds) Contributed papers of the 6th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems. pp. 97-98. Bratislava, 9–12 July, 2014.
5. Snegursky, A.V., Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Tamulienė, J., Megela I.G., Papp, A.V., Baliulyte L.: On the influence of low- and high-energy ionizing radiation on the amino acid molecule structure: proline. In: Matejčík, Š., Papp, P., Bogár, O.(eds) Contributed papers of the 6th Conference on Elementary

- Processes in Atomic Systems. pp. 254-256. Bratislava, 9–12 July, 2014.
6. Папп, О.В.: Модернізація системи реєстрації та керування мас-спектрометра МІ-1201. Матеріали міжнародної конференції молодих учених та аспірантів ІЕФ-2015, с. 208–209. Ужгород, 18-22 травня 2015 р.
 7. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Papp, A.V.: Proline molecule fragmentation by electron impact. In: Tőkési, K. (ed.) Book of Abstracts of 3rd XLIC General Meeting, p. 74. ATOMKI/ DE/ ELFT, Debrecen, 2015.
 8. Papp, A., Snegursky, A., Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Snegurskaya, T., Baliulyte, L. Shkurin, S.: Ionizing Radiation-Induced Defects in the Proline Aminoacid. In: Book of Abstracts of International Conference on Biological Sciences and Technology (BST2016) 3rd General, Guandzhou, China, pp. 153-156, 2016.
 9. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V., Shkurin, S., Magela, L.G.: Destruction of the glutamine amino acid molecule by high-energy (10 MeV) electrons. In: Book of Abstracts of 2nd COST XLIC Working Group 2 Meeting, p.62. Stockholm, 13–15 April 2016.
 10. Papp, A., Snegursky, A., Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Baliulyte, L.: Mass-spectrometric studies of the valine molecule fragmentation by electron impact. In: Extended Abstracts of the 12th European Conference on Atoms Molecules and Photons, p. 467. Goethe-Universität, Frankfurt, 5–9 Sept. 2016.
 11. Papp, A., Snegursky, A., Romanova, L., Snegurskaya, T., Vukstich, V.: Electron-impact-induced long-chain modified arylpiperazine molecule fragmentation. In: Book of abstracts of EGAS49, p. 201, July 17–21, Durham University, UK, 2017.
 12. Snegursky, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegurskaya, T.A. On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: Glutamine In: Polášek, M., et al. (eds.) Book of

Abstracts of 4th XLIC General Meeting, p. 90. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the CAS, Prague, 2017.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
SUMMARY	6
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	17
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1. ФІЗИКА ПРОЦЕСІВ ВЗАЄМОДІЇ ЕЛЕКТРОНІВ З БАГАТОАТОМНИМИ МОЛЕКУЛАМИ	
1.1 Іонізація молекул електронним ударом.....	27
1.2 Дисоціативна іонізація багатоатомних молекул електронами.....	30
1.3 Фрагментація складних органічних молекул під дією електронів	34
1.3.1 Енергії іонізації вихідної молекули та появи її іонів-фрагментів ...	35
1.3.2 Реакції фрагментації органічної сполуки на позитивно заряджені іони	36
1.4 Висновки до роділу.....	40
РОЗДІЛ 2. СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ФРАГМЕНТАЦІЇ МОЛЕКУЛ АМІНОКИСЛОТ ПОВІЛЬНИМИ ЕЛЕКТРОНАМИ	
2.1 Методи іонізації	41
2.1.1 Іонізація електронним ударом (ЕУ)	41
2.1.2 Хімічна іонізація (ХІ).....	44
2.1.3 Польова іонізація (ПІ).....	46
2.1.4 Десорбція полем (ДП).....	48
2.1.5 Матрично-активована лазерна десорбція/іонізація (МАЛДІ)	48
2.1.6 Бомбардування швидкими атомами та рідинна мас- спектрометрія вторинних іонів	49
2.1.7 Метод електричного розпилювання (ЕР).....	50
2.1.8 Фотоіонізація при атмосферному тиску (ФІ)	52
2.2 Мас аналізатори	54

2.2.1	Магнітні мас-аналізатори	54
2.3.2	Квадрупольні мас аналізатори	55
2.3.3	Іонна пастка	56
2.2.4	Часопролітний аналізатор	57
2.3	Огляд наявних результатів з фрагментації молекул амінокислот.....	59
2.3.1	Молекула гліцину.....	59
2.3.2	Молекула метіоніну	65
2.3.3	Молекула аланіну.....	67
2.3.4	Молекула триптофану.....	75
2.4	Висновки до роділу.....	78
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКА МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА МЕТОДИКА ВИМІРЮВАНЬ.....		79
3.1	Експериментальна установка з магнітним мас-спектрометром МІІ201	80
3.2	Система формування пучків. Модернізоване джерело іонів мас-спектрометра МІІ201.....	83
3.2.1	Ефузійне джерело.....	84
3.2.2	Електронна та іонна оптика джерела іонів.....	86
3.2.3	Магнітний мас-аналізатор мас-спектрометра	88
3.2.4	Система живлення функціональних блоків мас-спектрометра та їх керування.....	90
3.3	Методика вимірювань	94
3.4	Теоретичний підхід.....	99
3.5	Висновки до розділу	101
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ФРАГМЕНТАЦІЇ МОЛЕКУЛ, ЇХ АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....		102
4.1	Молекула гліцину	102
4.1.1	Мас-спектри	102
4.1.2	Потенціали появи основних фрагментів.....	105

4.1.3 Аналіз механізмів фрагментації.....	106
4.2 Молекула метіоніну	118
4.2.1 Мас-спектри	118
4.2.2 Потенціали появи основних фрагментів	120
4.2.3 Аналіз механізмів фрагментації.....	122
4.3 Молекула триптофану	147
4.3.1 Мас-спектри	147
4.3.2 Потенціали появи	149
4.3.3 Аналіз механізмів фрагментації.....	150
4.4 Молекула аланіну.....	156
4.4.1 Мас-спектри	156
4.4.2 Потенціал появи.....	158
4.4.3 Аналіз механізмів фрагментації.....	158
4.5 Утворення фрагментів однакового хімічного складу з різних молекул амінокислот	165
4.6 Висновки до розділу	176
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	178
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	180

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

У роботі введено та використано наступні умовні скорочення:

а.о.м.	атомна одиниця маси
m/z	співвідношення маси до заряду іона
АЦП	аналогово-цифровий перетворювач
eВ	електронвольт
нм	нанометр
EI	електронна іонізація
EP	енергія появи
EУ	електронний удар
EP	електричне розпилення
ЕОМ	електронно-обчислювальна машина
МАЛДІ	матрично-активована лазерна десорбція/іонізація
СУР	система управління та реєстрації
ТФГ	теорія функціоналу густини
ЦАП	цифро-аналоговий перетворювач
УФ	ультрафіолет
ВУФ	вакуумний ультрафіолет
ФІ	фотоіонізація
XI	хімічна іонізація
ПІ	польова іонізація
ДП	десорбція полем
B3LYP	трьохпараметричний гібридний потенціал Беке
CAN	локальна мережа контролерів
НОМО	найвища заселена орбіталь
USB	універсальна послідовна шина

ВСТУП

Процеси збудження та іонізації складних молекул електронним ударом в останні роки інтенсивно вивчаються у ряді провідних наукових центрів України та усього світу. Також ці елементарні процеси взаємодії низькоенергетичних електронів з біологічними молекулами, які входять в структуру живих організмів, є предметом всебічного та глибокого вивчення. На сьогодні накопичено велику кількість нових даних про перебіг та характеристики фізичних явищ, що мають місце при пружному і непружному розсіюванні електронів на складних молекулярних сполуках. Взаємодія повільних електронів з електронними оболонками молекул-мішеней призводить до утворення принципово нових структур, які характеризуються наявністю збуджених та розлітних станів вихідних молекул. Розпад станів цих молекул відбувається з формуванням нових молекулярних утворень і несе у собі важливу інформацію про поведінку процесів біохімічного характеру в клітині під дією іонізуючого випромінювання [1–3].

Вказані вище процеси елементарної взаємодії повільних електронів зі складними багатоатомними молекулами становлять інтерес з точки зору моделювання реакцій обміну енергією на клітинному рівні. Відомо, що взаємодія іонізуючого випромінювання з живими організмами має своїм наслідком ряд критичних ефектів, що відбуваються на генетичному рівні [4]. Деградація живих клітин пов'язана з прямою дією іонізуючого випромінювання високої енергії, з незворотними змінами при утворенні хімічно-активних радикалів у великій кількості, а також з виникненням канцерогенних змін у живих тканинах [5]. У той же час більшість подібних змін викликана саме вторинними, низькоенергетичними електронами, здатність яких до руйнування складових амінокислот призводить до фатальних розривів молекулярних зв'язків у живих клітинах [6]. Саме тому взаємодія повільних електронів зі складними молекулами, в тому числі з

молекулами амінокислот, викликає значний інтерес з точки зору відстеження перетворень у живих клітинах під дією іонізуючого випромінювання.

В останні десятиліття у зв'язку з інтенсивним розвитком сучасної молекулярної фізики та її прикладних застосувань, таких як генна інженерія, молекулярна біологія, фармакологія, радіаційна медицина, біо-нанотехнології виникає потреба у новій інформації з фундаментальних характеристик елементарних реакцій взаємодії молекулярних об'єктів із зарядженими частинками та іонізуючим випромінюванням. Вивчення процесів іонізації складних молекул, які відіграють важливу роль у різних галузях науки і техніки, є вельми актуальним. Це обумовлює необхідність постановки і здійснення систематичних експериментальних і теоретичних досліджень для аналізу перебігу реакцій взаємодії елементарних частинок зі складними молекулярними сполуками, у тому числі: амінокислотами, протеїнами, ДНК, РНК та іншими структурними одиницями живих клітин.

Наші дослідження цієї теми були зосереджені на застосуванні комплексного підходу до вивчення процесів іонізації складних молекулярних систем повільними моноенергетичними електронами та встановлення їх основних закономірностей з використанням сучасної методики мас-спектрометрії високого розділення, розроблених в лабораторії мас-спектроскопії відділу електронних процесів Інституту електронної фізики НАН України. Отримані у процесі виконання дослідницької роботи результати, їх аналіз, ототожнення та ідентифікація із залученням даних сучасних теоретичних методів та підходів дозволяють створити якісно нову картину динаміки взаємодії повільних моноенергетичних електронів з органічними молекулами біологічного типу.

Актуальність теми дисертаційної роботи. Вивчення явищ взаємодії низькоенергетичних електронів зі складними молекулами в останні десятиліття виділилося у самостійний напрямок експериментальної молекулярної фізики. Ця галузь фізичної науки, яка межує з біологією та

хімією, має ряд специфічних особливостей. Окрім прямого збудження енергетичних, коливних і обертальних рівнів молекул, може відбуватися їх однократна та дисоціативна іонізація. Слід відмітити, що поблизу порогу процесу саме ці види іонізації і визначають роль первинної дисипації енергії при взаємодії електронів зі складними молекулами [7]. Актуальним залишається завдання визначення енергії появи фрагментів дисоціації при мас-спектрометричних дослідженнях. Це дає можливість розрізнити фрагменти реакції з однаковим відношенням маси фрагменту до його заряду m/z .

Оскільки відомі два механізми процесу фрагментації органічних молекул (розрив водневих зв'язків вихідної молекули і порушення структурних зв'язків її скелетного остова), які є незалежною парою конкуруючих реакцій [8], то актуальною є також кількісна оцінка характеристик кожного з цих процесів. При взаємодії молекули з електроном відбувається збудження вихідної молекули, а у випадку достатньої енергії первинного електрона для електронного збудження молекулярного іона, відбувається перехід молекули з електронно-збудженого стану у коливально-збуджений основний стан молекулярного іона з наступним його розпадом і утворенням фрагментів. Ці фрагменти можуть бути як нейтральними атомами, молекулами та радикалами у збуджених або основних станах, так і іонами у різних квантових станах. Тому дослідження цих фрагментів молекул є надзвичайно актуальним завданням [9].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження, результати яких включені в дисертаційну роботу, виконані згідно з такими науково-дослідними темами Інституту електронної фізики НАН України, у виконанні яких автор брав безпосередню участь:

1. “Динаміка процесів взаємодії електронів низьких енергій з атомними, іонними та молекулярними системами” – 2014–2018 рр., № Держреєстрації 0113U004473;

2. “Механізми взаємодії електронів і фотонів низьких та середніх енергій з речовиною в газоподібному і конденсованому станах” – 2017–2021 рр., № Держреєстрації 0117U000651;
3. Грант для молодих учених НАН України “Взаємодія електронів з молекулами амінокислот: радіаційні дефекти, механізми фрагментації та структурні зміни” – 2015–2016 рр., № Держреєстрації 0115U003731;
4. “Фізичні процеси та явища при взаємодії електронів і фотонів з речовиною в газовому та конденсованому станах” – 2012–2016 рр., № Держреєстрації 0112U002079;

Мета і задачі дослідження. *Мета* даної дисертаційної роботи полягала у комплексному експериментальному дослідженні та теоретичному описі процесів збудження, іонізації та дисоціативної іонізації електронним ударом таких складних молекулярних сполук, як амінокислоти, їх фрагментації на молекулярні фрагменти з подальшим аналізом продуктів вказаної дисоціації.

Для досягнення мети розв’язуються такі *задачі*:

1. Розробити методику дослідження функцій іонізації і дисоціативної іонізації молекул амінокислот за допомогою модернізованого мас-спектрометра МІ-1201.
2. Провести комплексні експериментальні дослідження методом мас-спектрометрії, процесів іонізації та дисоціативної іонізації молекул амінокислот гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну.
3. Отримати енергетичні залежності перерізів іонізації та дисоціативної іонізації вказаних молекул амінокислот в інтервалі енергій електронів поблизу порогу процесу.
4. Встановити основні канали дисоціації молекул гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну з утворенням іонів-фрагментів та дослідити порогову поведінку перерізів дисоціативної іонізації вказаних молекул.

Об'єкт дослідження: Загальні закономірності та особливості перебігу елементарних фізичних процесів (іонізації та дисоціативної іонізації) при взаємодії повільних моноенергетичних електронів з молекулами амінокислот гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну.

Предметом дослідження є процеси іонізації та дисоціативної іонізації, інтерпретація мас-спектрів та вивчення енергетичних залежностей ефективності реакцій іонізації та дисоціативної іонізації у області порогу вказаних реакцій у випадку молекул гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну при їх зіткненнях з повільними (0–100 еВ) електронами.

Методи дослідження: мас-спектрометричний метод з використанням техніки молекулярного та електронного пучків, що перетинаються під кутом 90° , з метою дослідження основних характеристик та закономірностей процесів іонізації та дисоціативної іонізації з подальшою екстракцією продуктів взаємодії (іонів) під прямим кутом до площини перетину пучків.

Наукова новизна одержаних результатів:

1. Вперше здійснено комплексні мас-спектрометричні дослідження фрагментації молекул гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну. Ідентифіковано основні продукти їх розпаду під дією електронів, встановлено їх склад та зарядність.

2. Отримано енергетичні залежності перерізів іонізації та дисоціативної іонізації вказаних молекул амінокислот в інтервалі енергій електронів поблизу порогу процесу. Встановлено основні канали дисоціації молекул з утворенням іонів-фрагментів та детально досліджено порогову поведінку перерізів дисоціативної іонізації.

3. Вперше використовуючи іонізацію електронним ударом визначено потенціали утворення іонних фрагментів CH_2N^+ ($11,4 \pm 0,1$ еВ), CH_4N^+ ($11,0 \pm 0,1$ еВ), CH_4S^+ ($11,0 \pm 0,1$ еВ), $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$ ($11,2 \pm 0,1$ еВ) з молекули метіоніну.

4. Вперше мас-спектрометричним методом виявлено вихід двозарядних іонів $\text{C}_2\text{H}_3\text{ON}^{2+}$ та $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$, $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}^{2+}$ з молекули гліцину та метіоніну

відповідно, утворення котрих було підтверджено у рамках узагальненого градієнтного підходу теорії функціоналу густини та є результатом дисоціації скелетного зв'язку двозарядних іонів вихідних молекул, та супроводжується видаленням нейтральних фрагментів H_2O , NH_2 та CH_4S .

5. Вперше, використовуючи отримані експериментальні дані, та наявні теоретичні дані проведено порівняння процесів утворення іонних фрагментів CH_2N^+ , CH_3N^+ , CH_4N^+ однакового хімічного складу з молекул гліцину, триптофану, метіоніну, та аланіну.

6. Встановлено роль низькоенергетичних електронів (енергією до 100 eV) у руйнуванні молекул амінокислот, основних складових молекул білків живих тканин організму людини, що є надзвичайно важливим компонентом радіаційної терапії злоякісних утворень у людському організмі.

Практичне значення одержаних результатів. Більшість результатів експериментальних та теоретичних досліджень, які викладені у даній роботі, можуть бути використані у вирішенні прикладних задач мас-спектрометрії, у аналізі процесів, що мають місце у низькоенергетичній плазмі та у біофізиці. Отримані дані можуть бути використані для аналізу наслідків взаємодії іонізуючого випромінювання з живою тканиною, у задачах розробки принципово нових терапевтичних методів лікування злоякісних новоутворень, а також для вдосконалення теоретичних моделей і підходів аналізу характеристик процесів взаємодії повільних електронів зі складними молекулами.

Особистий внесок здобувача у виконанні всіх досліджень, які склали основу дисертаційної роботи, є таким:

- автором самостійно здійснено суттєву модернізацію та автоматизацію експериментальної установки з магнітним мас-спектрометром MI1201, а саме: системи управління експериментом, розгортки мас-спектрів, системи вимірювання та стабілізації температури досліджуваної речовини

- автором обґрунтовано та залучено теоретичні методи розрахунку енергетичних характеристик молекул та їх фрагментів у процесах дисоціативної іонізації молекул електронним ударом, а також методи аналізу мас-спектрів досліджуваних молекул та визначення енергій появи їх основних фрагментів;
- автором, за його активної та безпосередньої участі, у співробітництві з працівниками відділу електронних процесів Інституту електронної фізики НАН України здійснено експериментальні дослідження, отримано нові наукові результати, проведено їх аналіз, обговорення і інтерпретацію;
- здобувачу належить безпосередня та провідна роль у постановці задач більшості виконаних наукових досліджень, у представленні результатів на конференціях та у підготовці більшості публікацій за темою дисертаційної роботи.

Спільно проведено: експериментальне дослідження мас-спектрів та виходу фрагментів дисоціативної іонізації молекул досліджуваних амінокислот електронним ударом (разом з д.ф.-м.н. О.В. Снігурським, к. х.н. Л.Г. Романовою, к.ф.-м.н. В.С. Вукстичем, Інститут електронної фізики НАН України, Ужгород); функцій дисоціативної іонізації досліджених молекул (разом з д.ф.-м.н. О.В. Снігурським, к. х.н. Л.Г. Романовою, к.ф.-м.н. В.С. Вукстичем, Інститут електронної фізики НАН України, Ужгород); встановлення основних механізмів фрагментації вказаних молекул амінокислот (разом з д.ф.-м.н. О.В. Снігурським, к. х.н. Л.Г. Романовою, Інститут електронної фізики НАН України, Ужгород, к.ф.-м.н. Е. Тамулієне, Інститут теоретичної фізики та астрономії, Вільнюс, Литовська Республіка).

Автором самостійно написана наукова стаття [7]; йому належить основний внесок у написання статті [8]; внесок у написання інших статей спільно з О.В. Снігурським, В.С. Вукстичем, Л.Г. Романовою та Е. Тамулієне є рівнозначним.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційного дослідження оприлюднено у вигляді усних та стендових доповідей на:

- Міжнародній конференції “Хімічна та радіаційна безпека”(м. Ужгород, 2014 р.)
- Міжнародній конференції з взаємодії випромінювання з матеріалами: принципи та застосування (м. Каунас, Литва, 2014 р.)
- міжнародній конференції з елементарних процесів в атомних системах “СЕРAS 6” (м. Братислава, Словаччина, 2014 р.)
- міжнародній конференції молодих вчених та аспірантів “ІЕФ-2015” (м. Ужгород, 2015 р.)
- міжнародній конференції з фізики фотонних, електронних і атомних зіткнень “ІСРЕАС ХХІХ” (м. Толедо, Іспанія, 2015 р.)
- міжнародних генеральних нарадах: “ХЛІС 2” (м. Гданськ, Польща, 2014 р.), “ХЛІС 3” (м. Дебрецен, Угорщина, 2015 р.), “ХЛІС 4” (м. Прага, Чеська Республіка, 2017 р.)
- європейській конференції з атомів, молекул та фотонів “ЕСАМР 12”(м. Франкфурт-на-Майні, Німеччина, 2016 р.)
- міжнародній конференції з біологічних наук та технологій “BST2016” (м Гуанджоу, Китай, 2016р.)
- міжнародній конференції Європейської Групи з Атомних Систем “EGAS 49” (м. Дурем, Англія, 2017 р.).

Структура і обсяг роботи. Дисертація складається із вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел із 136 найменувань. Загальний обсяг роботи становить 196 сторінок, з яких 158 – основний текст дисертації. Робота містить 73 рисунків, а також 33 таблиці, список використаних джерел із 136 найменувань на 14 сторінках.

РОЗДІЛ 1. ФІЗИКА ПРОЦЕСІВ ВЗАЄМОДІЇ ЕЛЕКТРОНІВ З БАГАТОАТОМНИМИ МОЛЕКУЛАМИ

Даний розділ дисертаційної роботи присвячений опису фізичних основ процесів взаємодії низькоенергетичних електронів з багатоатомними молекулами. Оскільки основною метою роботи ставилося дослідження впливу повільних електронів на фізичні, енергетичні та геометричні характеристики молекул амінокислот, основний акцент тут було зроблено на розгляді процесів іонізації та дисоціативної іонізації досліджуваних молекул електронним ударом. Метод іонізації електронним ударом (ЕУ) є найбільш універсальним із наявних на даний момент [8]. Завдяки простоті його реалізації та зрозумілій фізичній природі даний метод є найбільш поширеним у мас-спектрометрії.

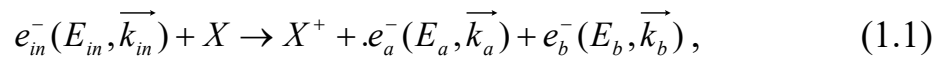
Інтерес до методу ЕУ спричинений можливістю проаналізувати взаємодію електрона, що налітає з мішенню в різних наближеннях у залежності від його енергії, наприклад, в Борнівському наближенні [8]. При взаємодії первинного електрона з мішенню відбувається пружна або непружна взаємодія [8]. У випадку пружної взаємодії електрон розсіюється на мішені без будь-якої зміни внутрішньої структури молекули, у той час як при непружному розсіюванні її внутрішня структура зазнає змін. Такі процеси, за рахунок яких структура молекули змінюється, носять назву процесів іонізації та збудження.

Вказаний спосіб іонізації прийнято називати іонізацією електронним ударом, хоча насправді це поняття абстрактне, оскільки реальний удар електрона по молекулі відсутній. Тому в багатьох останніх публікаціях послуговуються терміном "електронна іонізація".

1.1 Іонізація молекул електронним ударом

Процес іонізації відбувається, коли первинний електрон взаємодіє з молекулою (далі за текстом – мішень) та вибиває один або більше електронів з неї [8].

Якщо мішень знаходиться в основному стаціонарному стані, то процес однократної іонізації електронним ударом може бути виражено як [8]:



де X – мішень, $e_{a(b)}^-$ – розсіяний (вибитий) електрон, X^+ – утворений під час взаємодії іон, E_{in} , E_a , E_b та \vec{k}_{in} , \vec{k}_a , \vec{k}_b – енергії та імпульси електрона, що налітає, розсіяного та ежектованого електронів, відповідно. Оскільки маса іона дуже велика у порівнянні з масою електрона, то рухом іона можна знехтувати. Загальна енергія взаємодії може бути виражена таким співвідношенням [8]:

$$E = \varepsilon_i + E_a + E_b, \quad (1.2)$$

де ε_i – потенціал іонізації. Загальний імпульс взаємодії також зберігається:

$$\vec{k} = \vec{k}_a + \vec{k}_b + \vec{P}, \quad (1.3)$$

де \vec{P} – імпульс залишкового іона. Із співвідношення (1.3) можемо знайти імпульс залишкового іона:

$$\vec{P} = \vec{k}_{in} - \vec{k}_a - \vec{k}_b \quad (1.4)$$

Імпульс, переданий розсіяним електронем, виражається так:

$$\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_a \quad (1.5)$$

Вихідний результат такої взаємодії прийнято виражати через ефективний переріз іонізації. Ефективний переріз іонізації рівний відношенню кількості утворених за одиницю часу іонів до густини потоку первинних електронів [9].

Ще у 1912 р. Дж.Дж.Томсон запропонував класичну модель, згідно з якою електрон атома, на якому розсіюється налітаючий електрон, вважається у стані спокою, оскільки первинний електрон значно швидший за електрон атома, з яким відбувається взаємодія [10]. Диференціальний переріз кулонівського розсіювання, під час якого нерухомий електрон отримує від електрона, що налітає, енергію у діапазоні від ε до $\varepsilon + d\varepsilon$, має вид:

$$d\sigma(\varepsilon) = \frac{2\pi e^4}{mv^2} \frac{d\varepsilon}{\varepsilon^2} = \frac{\pi e^4}{E} \frac{d\varepsilon}{e^2}, \quad (1.6)$$

де E – енергія електрона, що налітає.

Переріз іонізації електрона з енергією зв'язку I_k можна записати у такому вигляді [10]:

$$\sigma_i(I_k) = \int_{I_k}^E d\sigma(\varepsilon) = \frac{\pi e^4}{E} \left(\frac{1}{I_k} - \frac{1}{E} \right). \quad (1.7)$$

Повний переріз іонізації атома є сумою всіх перерізів відповідно до (1.7) по всіх електронах, енергія зв'язку яких не перевищує енергію первинного електрона:

$$\sigma_i = \sum_{I_k < E} \sigma_i(I_k). \quad (1.8)$$

Як правило, при цьому обмежуються сумою перерізів за кількістю лише електронів зовнішньої оболонки атома, які мають меншу енергію зв'язку. У такому випадку:

$$\sigma_i \cong \xi \frac{\pi e^4}{E} \left(\frac{1}{I} - \frac{1}{E} \right), \quad (1.9)$$

де ξ – число еквівалентних електронів у зовнішній електронній оболонці атома, що мають енергію зв'язку не більше за I .

Найменше значення енергії електрона, що налітає, при якому молекула втрачає електрон, і, відповідно, іонізується, називається *енергією іонізації* (EI). У випадку, коли вихідний молекулярний іон отримує надлишкову внутрішню енергію, остання рівномірно розподіляється по всій молекулі, що

при перевищенні значення енергії певного зв'язку молекули призводить до утворення іона-уламка (фрагмента). Мінімальна енергія, яка необхідна для утворення певного іона-фрагмента, називається *енергією появи* (ЕП) E_{ap} цього іона. У залежності від значення енергії первинних електронів, а, відповідно, і від надлишкової енергії молекулярного іона, можуть реалізуватися різні схеми фрагментації (у загальному випадку молекула позначена як ABC), а саме [8]:

– збудження, утворення нейтрального фрагменту



– іонізація, утворення позитивних іонів



– дисоціативна іонізація



– дисоціативна іонізація з перегрупуванням



– резонансне захоплення електрона



– дисоціативне захоплення електрона



– іонізація з утворенням іонних пар



Не зважаючи на те, що схеми утворення іонів (1.10 – 1.20) записані для трьохатомних молекул, вони залишаються актуальними і для інших багатоатомних молекул.

1.2 Дисоціативна іонізація багатоатомних молекул електронами

Описані вище схеми іонізації стосуються процесів, в основі яких лежать електронні переходи. Час протікання таких процесів складає 10^{-16} с [8]. Схеми (1.13)-(1.16) та (1.18)-(1.20) свідчать про додаткове коливальне збудження яке призводить до дисоціації.

Як відомо [11], процес утворення іона-уламка, пов'язаний з передачею вихідному молекулярному іону додаткової внутрішньої енергії. Енергетичний розподіл молекулярних іонів, що утворилися, можна представити у вигляді функції ймовірностей $P(E)$ та констант швидкості $\vec{k}(E)$ конкретних реакцій. (див. рис. 1.1 на прикладі молекули АВХУ).

При іонізації електронним ударом, в умовах високого вакууму, іони, що утворилися, не зазнають взаємних зіткнень, а їх наступні стани залежать тільки від значення внутрішньої енергії, яку вони отримали у результаті іонізації. Саме ця енергія і визначає можливий канал дисоціації молекулярного іона. Таким чином, можливою є поява фрагментних іонів, які утворюються при розпаді молекулярного іона, внаслідок розриву простих зв'язків та утворення нових зв'язків між атомами чи їх групами, які не були прямо зв'язані у вихідній молекулі.

У 1952 році Г.М. Розеншток запропонував фізичний опис процесів, які спостерігаються при взаємодії електронів з простими молекулами в умовах високого вакууму. Дана теорія називається квазірівноважною [9], оскільки встановлює, що за час порядку 10^{-12} с надлишкова енергія рівномірно розподіляється по всіх зв'язках молекули, точніше, по всіх енергетичних станах молекулярного іона.

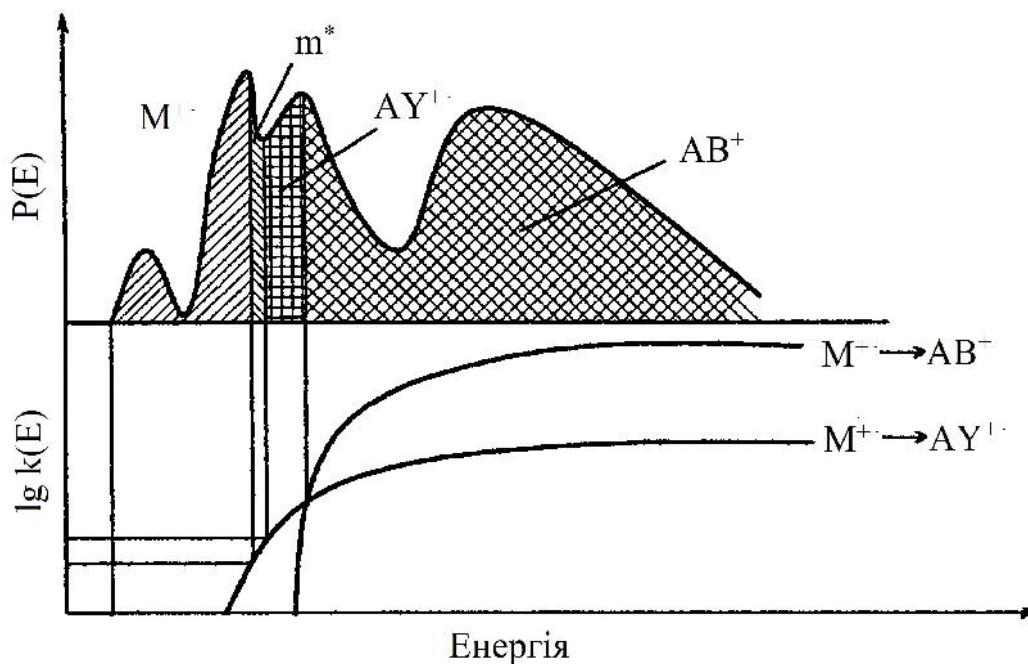


Рис. 1.1. Функції $P(E)$ та $\bar{k}(E)$ молекулярного іона органічного з'єднання $ABXY$ (діаграма Вархафтига) [11].

Іншими словами, квазірівновага між всіма цими станами встановлюється до того, як почнеться розпад молекули. Величину імовірності того чи іншого шляху фрагментації визначають тільки енергія та структура конкретного іона. У той самий час виникла ще одна теорія, яка описувала процеси в нейтральних молекулах [12].

Обидві теорії базуються на певних припущеннях та постулатах. Перше припущення стосується того, що поступальні, обертальні, коливальні та електронні рухи не залежать один від одного. Друге припущення стверджує, що рух ядер може бути описаний рівняннями класичної механіки з урахуванням квантовохімічних корекцій. Іонізація електронним ударом молекули M призводить до утворення молекулярного іона в основному стаціонарному стані M^{+0} , або збудженого іона M^{+*} за дуже короткий час. Наприклад, електрон, прискорений різницею потенціалів 10 В має швидкість, рівну $1.88 \times 10^8 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$. Тому він пролітає відстань 1.88 \AA або $1.88 \times 10^{-8} \text{ см}$ за 10^{-16} с . Це час взаємодії електрона з молекулою, що є набагато меншим за час періоду одного коливання молекули. На рис. 1.2 зображені криві Морзе [8] з

позначеними вертикальними переходами. Вертикальні переходи спостерігаються у випадку, коли міжатомні відстані не змінилися протягом часу взаємодії та потребують більших значень енергії іонізації, ніж адіабатичні. Іонізація також може призводити до збудження більш високих енергетичних станів, включаючи збуджені електронні стани.

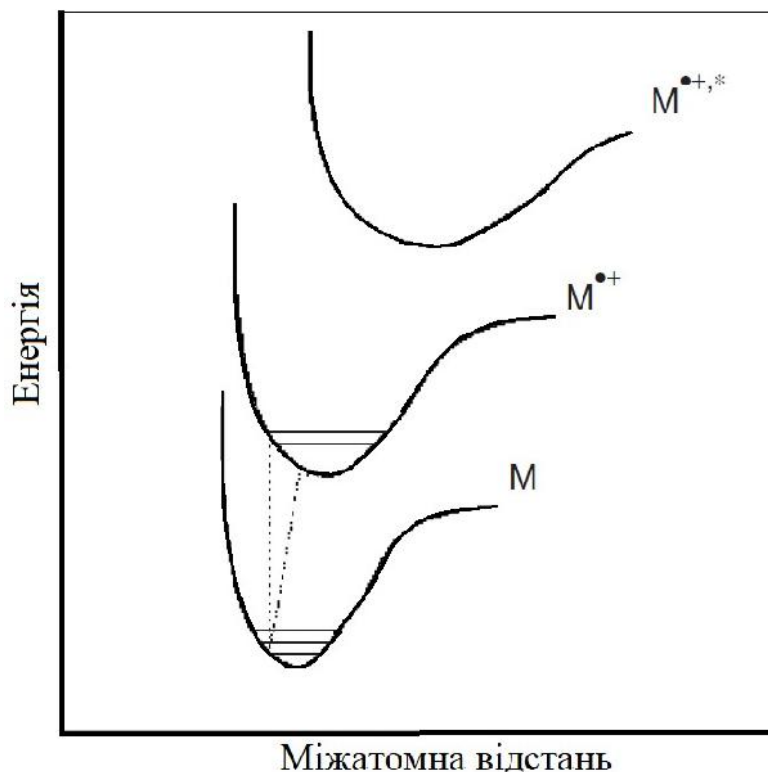


Рис. 1.2. Криві Морзе для електронної іонізації [8].

Обидві теорії мають однакову мету – розрахунок швидкостей розпаду молекул із розривом будь-якого хімічного зв'язку в залежності від надлишку внутрішньої енергії. При іонізації електронним ударом саме процес втрати електрона нейтральною молекулою та утворення молекулярного іону M^+ у стаціонарному чи M^{+*} у збудженому стані протікає за дуже короткий час (порядку $10^{-16} c$). Відповідно до принципу Франка-Кондона [12], відстані між ядрами при цьому не змінюються. Коливальні процеси у молекулі можуть розпочатись через $10^{-12} - 10^{-13} c$. Після іонізації молекулярні іони можуть знаходитися на будь-яких рівнях у збуджених станах, але час життя іона у збудженому стані складає не більше $10^{-8} c$ [12]. За цей проміжок часу іон

переходить в основний електронний стан у результаті радіаційних чи нерадіаційних процесів, або ж розпадається. Вертикальний перехід при іонізації потребує більшої іонізаційної енергії, ніж адіабатичний (див. рис. 1.2). Повна енергія, передана іону, може бути набагато вище за значення енергії вертикального переходу. У такому разі зростає імовірність вертикального переходу та утворення іонів із високою внутрішньою енергією. Тим не менше, внутрішня енергія утвореного іона не може перевищувати певного граничного значення, яке складає близько 15 eV [12].

Ще раз зазначемо постулати та припущення на яких базуються вказані обидві теорії:

1. Поступальні, обертальні, коливальні та електронні рухи частинок не залежать один від одного.
2. Рух ядер може бути описаний рівняннями класичної механіки, але з урахуванням квантовомеханічних поправок.
3. Усі мікростани частинок рівноімовірні, тобто енергія рівноімовірно розподіляється по всіх степенях свободи іона.
4. Існує гранична енергетична поверхня, що розділяє материнський та дочірній іони. Перетин з цією поверхнею може призвести до незворотнього процесу фрагментації (дисоціації). Іншими словами, для будь-якого материнського іона досягнення цього перехідного стану означає його незворотній розпад з утворенням відповідних продуктів.

Енергія електрона, передана при взаємодії, прямо не може призвести до фрагментації молекулярного іону. Процес фрагментації потребує попереднього перетворення надлишкової енергії в коливальну. При іонізації швидкий обмін надлишковою внутрішньою енергією, що була передана первинним електронем, здійснюється не тільки між різними ступенями свободи одного й того ж електронного стану, а також між усіма ступенями свободи всіх електронних станів. Ці обміни призводять до перетворення електронної енергії, отриманої під час іонізації, у коливальну та обертальну

енергії основного електронного стану молекулярного іона M^+ . Як тільки осцилятор (молекула) отримує енергію, більшу за певне значення E_0 , яке є його характеристикою, розпочинається реакція фрагментації. Значення E_0 називають *енергією активації*. При цьому вказана реакція протікає швидше, якщо внутрішня енергія, яка розповсюджується по молекулі, більша порогового значення E_0 . Швидкість реакції визначається константою швидкості протікання реакції, та виражається так [13]:

$$k(E) = \frac{1}{h} \frac{Z^\ddagger}{Z^*} \frac{P^\ddagger(E - E_0)}{\rho_E}, \quad (1.21)$$

де h – стала Планка, Z^\ddagger – функція розподілу для адіабатних ступенів свободи активованих комплексів, Z^* – функція розподілу активних іонних типів, $P^\ddagger(E - E_0)$ – число станів активованих комплексів між нулем та різницею $E - E_0$, ρ_E – густина станів іонів при енергії E . Наведене вище рівняння також використовується у спрощеному вигляді:

$$k(E) = \nu \left(\frac{E - E_0}{E} \right)^{n-1}, \quad (1.22)$$

де n – число коливальних ступенів свободи, ν – частотний коефіцієнт, E – внутрішня енергія іона, E_0 – енергія переходу.

1.3 Фрагментація складних органічних молекул під дією електронів

Відомо [11], що імовірність розпаду молекулярного іона в залежності від його внутрішньої енергії (див. рис. 1.3) пов'язана з константою швидкості $k(E)$ (1.21), (1.22) конкретної реакції. Молекулярні іони, внутрішня енергія яких нижче критичної енергії, енергії активації E_0 (енергії найменш енергетичної реакції розпаду) не будуть зазнавати фрагментації та спостерігатимуться як M^+ .

На рис. 1.3 зображений графічний запис мас-спектра на прикладі розпаду молекулярного іона $ABXY^+$ [11]. Останній може розпадатися шляхом розриву зв'язків – простого:



або з перегрупуванням:



Рисунок 1.3 чітко демонструє зміну мас-спектра із зміною внутрішньої енергії молекулярного іона M^+ та показує, що реакція із найнижчою E_0 не завжди призводить до утворення найбільш інтенсивного іона-уламка.

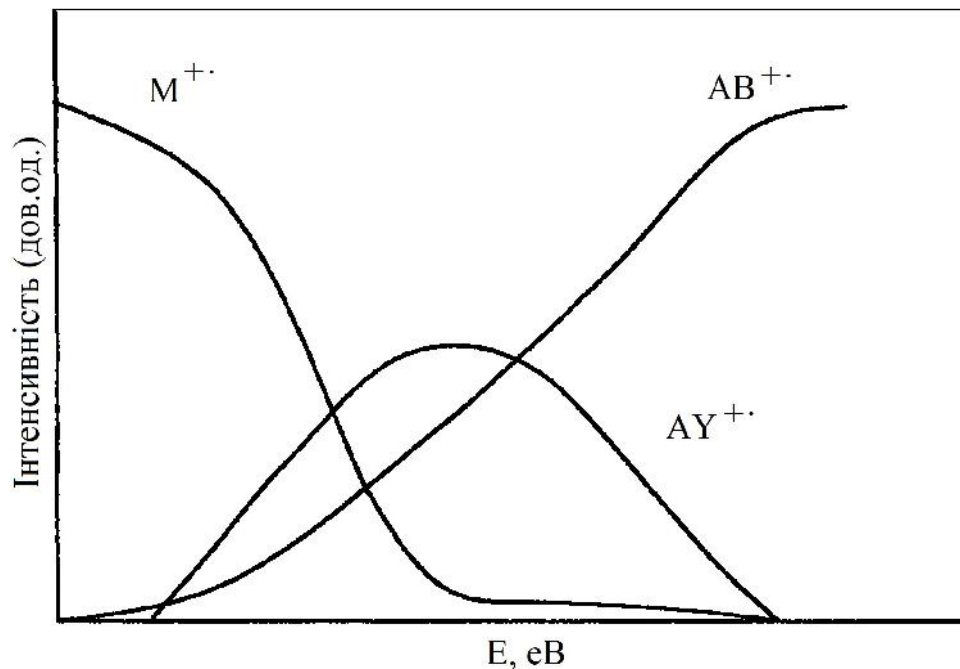


Рис. 1.3. Залежність інтенсивності піків іонів-фрагментів у мас-спектрі від внутрішньої енергії E іона M^+ [11].

1.3.1 Енергії іонізації вихідної молекули та появи її іонів-фрагментів

Процес іонізації нейтральної молекули потребує мінімального значення енергії, яке називається енергією (або потенціалом) іонізації. Визначається дане значення експериментально шляхом зміни енергії електронів, що взаємодіють з досліджуваною речовиною, таким чином, щоби можна було

визначити мінімальне (порогове) значення енергії пучка електронів, при якому відповідний іон може бути зареєстрований на детекторі мас-спектрометра.

Поява іона фрагмента відбувається за рахунок енергії, яка включає в себе значення енергії іонізації нейтральної молекули та значення енергії активації (мінімальне значення енергії, необхідне для протікання реакції дисоціації) [11]. Як було описано вище, молекулярний іон дисоціює на фрагменти тільки у випадку, якщо він має внутрішню енергію, яка більша від порогу активації. Таким чином, енергія появи E_{ap} означає мінімальну енергію електронів, що витрачається на вихід відповідних іонів при дисоціативній іонізації молекули.

1.3.2 Реакції фрагментації органічної сполуки на позитивно заряджені іони

Накопичений емпіричний матеріал, що описує реакції фрагментації органічних сполук, дозволяє визначити певні правила та закономірності мас-спектрометричного розпаду органічних молекул при іонізації електронами [8]. На рис. 1.4 зображено загальний вид структури умовної амінокислоти.

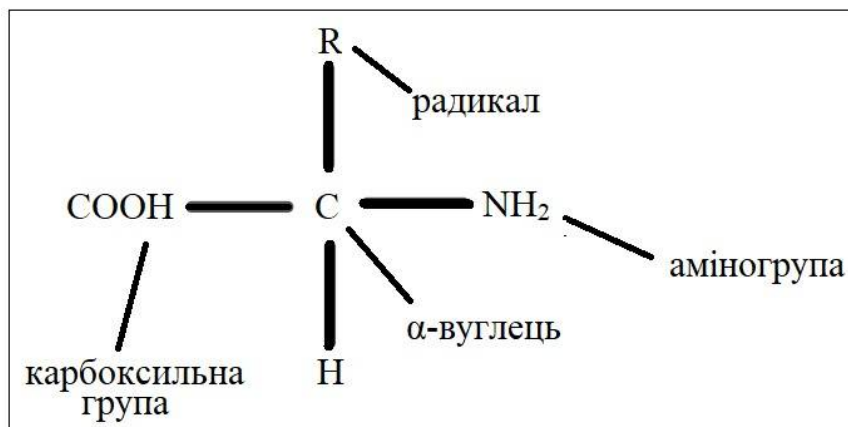


Рис. 1.4. Загальна структура α -амінокислоти.

Амінокислота містить як карбоксильну, так і амінну групи. Амінокислоти, амінна група яких зв'язана безпосередньо з α -вуглецем, називаються α -амінокислотами. Атом вуглецю, який зв'язаний з

карбокисьною групою COOH, називається α -вуглецем, а сам зв'язок – α -зв'язком. Розглянемо основні закономірності розпаду органічних молекул при іонізації електронами:

1. Правило відокремлення максимального алькільного радикалу

Розпад іонів, як правило, відбувається з відокремленням невеликих нейтральних молекул: водню, метану, води, моноокису та двоокису вуглецю, метанолу та ін. Велика від'ємна величина теплоти утворення цих молекул надає перевагу реалізації відповідного напрямку розпаду. Процеси які супроводжуються виходом менш стабільних фрагментів, програють конкуренцію, що може привести до відсутності відповідних піків у мас-спектрі.

Важливим є виняток, коли зі збільшенням термостабільності іонів інтенсивність піків останніх зменшується, тобто, має місце відщеплення великого алькільного радикалу. Це правило діє завжди і часто допомагає при інтерпретації мас-спектрів [11].

2. Пряма дисоціація та правило Стівенсона

Видалення електрона з σ -зв'язку призводить до прямої дисоціації останнього. Один з фрагментів зберігає заряд, а інший стає радикалом.

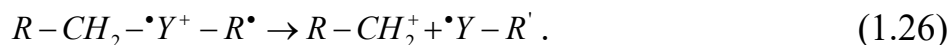
Розрив простого зв'язку в непарноелектронному іоні призводить до утворення двох пар іонів та радикалів:



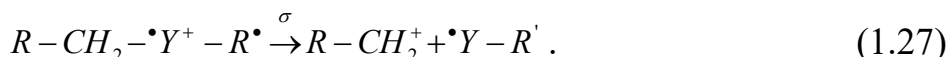
Вирішенням питання, який з утворених фрагментів буде заряджений, вперше зайнявся Д.П. Стівенсон у 1951р. [14]. Фрагмент з більшою EI має тенденцію утримувати неспарений електрон. Відповідно, імовірність утворення іона з меншим значенням енергії іонізації буде вища.

3. Розрив зв'язку з гетероатомом

Розрив зв'язку з гетероатомом Y може бути викликаний захопленням його електронної пари:

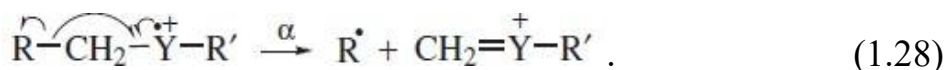


Розрив зв'язку спорідненого із гетероатомом Y можна розглядати як пряму дисоціацію, викликану вилученням електрона через різницю електронегативності атомів вуглецю і гетероатома. Враховуючи правило Стівенсона [14], розрив α -зв'язку може спричинити міграцію радикалу та затримку заряду, якщо енергія іонізації YR' менша, ніж у RCH_2' . Така реакція класифікується як особливий випадок розриву σ -зв'язку, який може бути записаний наступним чином:



4. Розрив α - зв'язку

Альфа-зв'язок з позитивно зарядженим радикалом може бути розірваний реакцією обміну неспареного електрона для утворення нового зв'язку із сусіднім атомом (α -атомом) з паралельним розщепленням іншого зв'язку атома. Новий зв'язок енергетично буде компенсувати розірваний зв'язок. Тобто, це – α -фрагментація, ініційована розташуванням радикалу:



Стрілка вказує на розташування електрона. Інколи можлива конкуренція декількох процесів розриву зв'язків. У такому випадку найчастіше спостерігається втрата радикалу із найвищою енергією іонізації[8].

5. Конкуренція процесів розриву суміжних та α - зв'язків

Залежно від природи гетероатома Y в структурних фрагментах C–C–Y, може мати місце як C–Y (α -) так і C–C (β -) розрив зв'язку. Розподіл заряду між фрагментами, що утворюються, залежатиме від природи гетероатома Y. Якщо молекула містить азот чи кисень, доміантним процесом буде β -розрив із утворенням стабільних катіонів.

Розрив прилеглого (суміжного) зв'язку відбувається тим легше, чим більше маса гетероатома. У випадку сусідніх атомів, атом з найбільшою

електронегативністю має більшу імовірність розриву суміжного зв'язку. А α -розрив є домінуючим для донорів електронів.

6. Фрагментація катіонів з парною кількістю електронів

При іонізації електронним ударом молекулярний радикал-катіон утворюється безпосередньо у камері зіткнень. Такий радикал-катіон швидко розпадається на радикал та катіон з парною кількістю електронів, або шляхом перегруповування утворюється нейтральний фрагмент та новий катіон із непарною кількістю електронів.

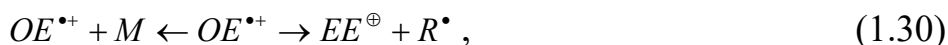
Процес утворення радикал-катіона із парно-електронного іона, або із іона з закритою оболонкою обов'язково супроводжується гомолітичним розривом зв'язку [8]:



де EE^+ – іон з парною кількістю електронів, $OE^{\bullet+}$ – іон з непарною кількістю електронів, відповідно.

Зазвичай такий процес дуже ендотермічний, а тому – малоімовірний. Статистична оцінка багатьох спектрів показує, що парно електронний іон фрагментується у 95% випадків [8].

Тому можна виділити такі схеми реакцій:



Ці два типи іонів можна легко ідентифікувати, використовуючи азотне правило: якщо сполука містить парну кількість атомів азоту, або їх взагалі немає, то її молекулярна маса парна; якщо ж число атомів азоту непарне, молекулярна маса буде непарна, відповідно [11]. Дане правило застосовується для молекул, молекулярних іонів, та іонів-уламків. Тому за відсутності азоту іони $OE^{\bullet+}$ або $OE^{\bullet-}$ будуть детектовані із непарним значенням співвідношення m/z , а EE^+ , відповідно, із парним.

1.4 Висновки до роділу

Провівши огляд фізики процесів іонізації та дисоціативної іонізації електронами, можна зробити такий висновок:

1. У залежності від енергії іонізуючих електронів механізм перебігу реакції взаємодії електронів з молекулами суттєво ускладнюється: утворені іонізовані молекули можуть розвалюватися через канал дисоціації, результатом чого є вихід продуктів реакції різного ступеня складності.
2. Фрагментація органічних сполук шляхом електронної іонізації відбувається за певними законами, що дозволяє при аналізі невідомої речовини встановити її молекулярну масу, наявність функціональних груп, а іноді й точну структуру за характером розпаду. При фрагментації родинних сполук є багато спільного, що допомагає зробити впевнену інтерпретацію спектрів.

РОЗДІЛ 2. СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ФРАГМЕНТАЦІЇ МОЛЕКУЛ АМІНОКИСЛОТ ПОВІЛЬНИМИ ЕЛЕКТРОНАМИ

Найбільш зручним методом вирішення поставленої задачі є метод мас-спектрометричного вимірювання виходів іонів-фрагментів. За останні роки методика мас-спектрометрії зазнала значної кількості змін та вдосконалень.

У залежності від фізико-хімічних властивостей об'єкту дослідження, обирається метод отримання продуктів іонізації, від фізичного механізму взаємодії якого залежить значення енергії, яке передається у процесі іонізації. Таким чином, одні методи можуть викликати значну фрагментацію, а інші можуть бути більш "м'якими" та призводити до викликання появи тільки молекулярних іонів. Іонізація електронним ударом, хімічна іонізація та іонізація полем підходять тільки для вивчення об'єктів, які перебувають у газовій фазі. У разі дослідження термічно стабільних сполук, або таких, які не мають достатнього для проведення вимірювань тиску парів, необхідно попередньо перевести їх з конденсованого стану в газову фазу, наприклад, використовуючи ефузійний метод Кнудсена [11]. У даному розділі розглянуто найбільш широкоживані сучасні методи іонізації досліджуваної речовини. Вказані їхні переваги та недоліки.

2.1 Методи іонізації

2.1.1 Іонізація електронним ударом (ЕУ)

Метод іонізації електронним ударом та джерело іонів на базі цього методу були розроблені А.Дж. Демпстером, а потім вдосконалені В. Блікні [15] та А. Ніром (Nier) [16]. Цей метод є найпоширенішим серед методів, що використовуються в мас-спектрометрії органічних сполук. Джерело іонів такого типу містить катод, який емітує електрони, що прискорюються електричним потенціалом (10–70 В) у напрямку до анода (див. рис. 2.1).

Влітаючи у камеру зіткнень, пучок електронів перетинається потоком молекул досліджуваної речовини у газовій фазі, які інжектвані у джерело. Молекули взаємодіють з електронами та іонізуються.

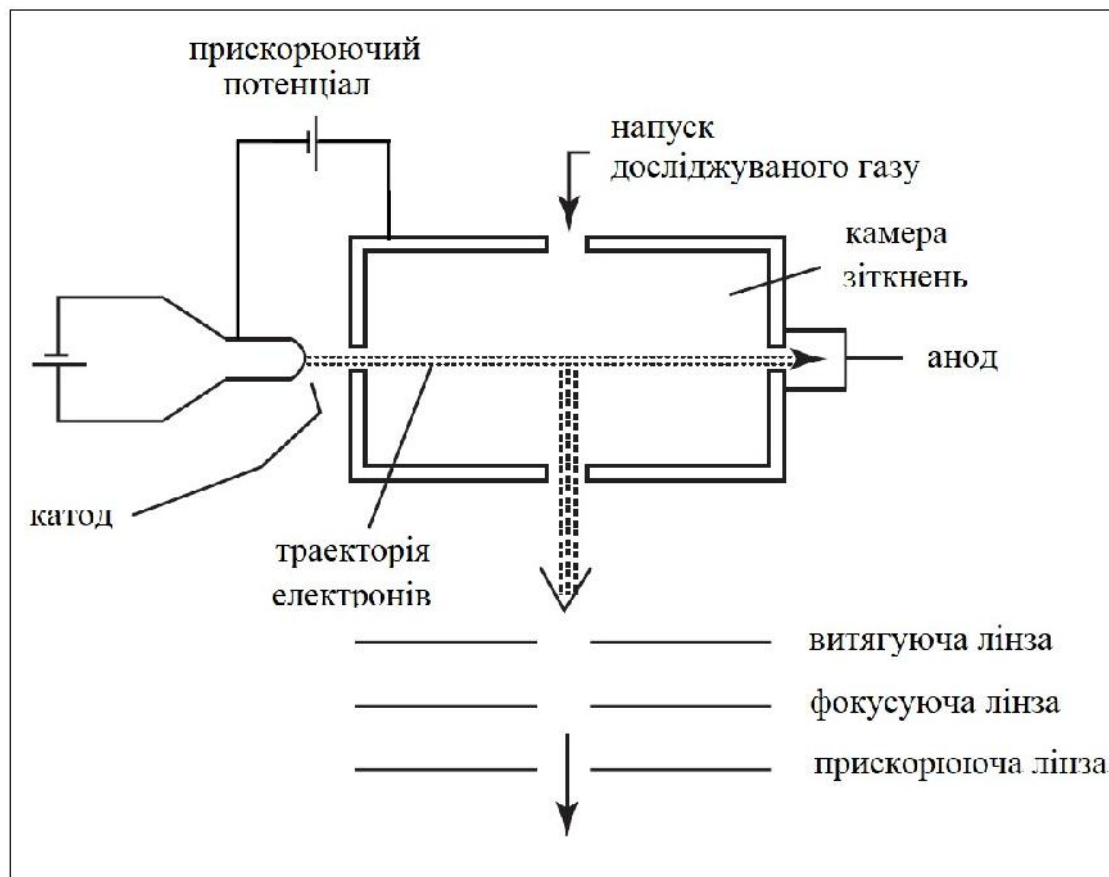


Рис. 2.1. Загальна схема джерела іонів, отриманих з молекул іонізованих електронним ударом [16].

Ефективність процесу іонізації досить низька, наприклад, іонізується приблизно одна з десяти тисяч молекул зразку [11]. Але цього достатньо для забезпечення необхідної чутливості при отриманні та реєстрації мас-спектру. Імовірність іонізації змінюється в залежності від досліджуваної речовини та енергії електронів, а її кількісний показник називається перерізом іонізації.

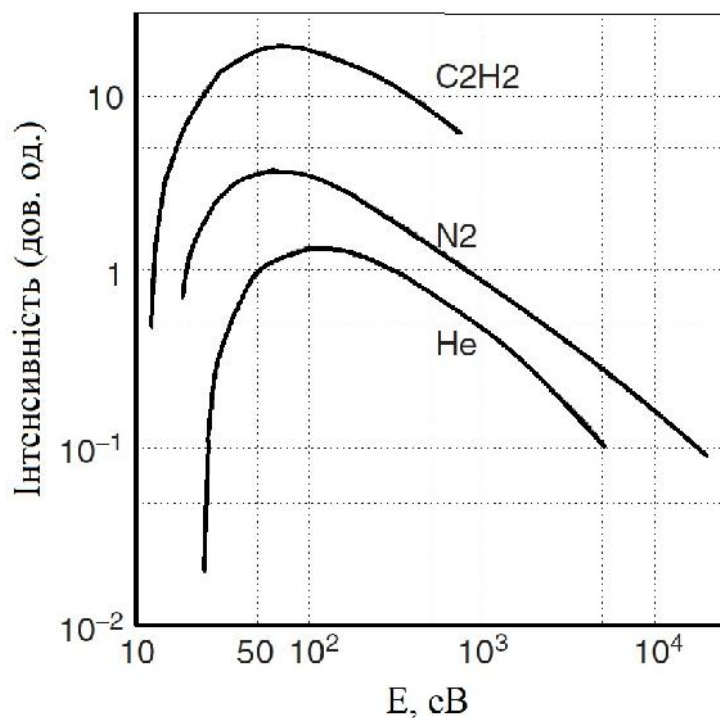


Рис. 2.2. Кількість іонів як функція енергії електронів [17].

На рис. 2.2 продемонстровано залежність кількості іонів (іонний струм), які утворюються при відповідному значенні енергії іонізуючих електронів [17]. Чіткий широкий максимум спостерігається при значенні енергії електронів 70 еВ у випадку іонізації молекул N₂ та C₂H₂. Тому ця величина буде вибрана нами в якості стандартної при отриманні та аналізі мас-спектрів.

Основними перевагами даного методу є:

- хороша повторюваність мас-спектрів;
- продукти фрагментації несуть у собі безпосередню інформацію про структуру досліджуваної речовини;
- кількість мас-спектрів, отриманих даним методом, в електронних бібліотеках є найбільшою.

2.1.2 Хімічна іонізація (XI)

Основною відмінністю хімічної іонізації від іонізації ЕУ є те, що вона не веде до фрагментації молекулярного іону, а, навпаки, призводить до утворення іонів з малими енергіями активації. Хімічна іонізація [18] відбувається завдяки дії іон-молекулярних реакцій для утворення іонів з об'єкту дослідження. Процес XI починається тоді, коли газ-реагент спочатку іонізують електронним ударом. Високий тиск газу-реагенту призводить до реакцій між іонами останнього та нейтральними молекулами досліджуваної речовини у газовій фазі. У якості газу-реагенту найчастіше використовують метан, ізобутан або аміак.

У загальному випадку ці реакції можна записати так [18]:



де R – газ-реагент, M – досліджувана речовина та H – атом водню.

Найбільш детально процеси хімічної іонізації описані у монографії А.Г. Гарісона [19].

Не зважаючи на те, що кількість можливих реакцій іонізації є великою, найбільш імовірною є передача протона (proton transfer). Коли молекули досліджуваної речовини з'являються в іонізованій плазмі, газ-реагент RH^+ часто передає протон молекулі M та утворює молекулярний іон MH^+ з надлишковим протоном.

Азот, окис вуглецю та інші гази X_e із високим потенціалом іонізації реагують з досліджуваною речовиною M шляхом обміну електронів:



Відповідно до рівнянь (2.4) та (2.5) утворюється радикал-катіон, так само, як при іонізації ЕУ, але з меншою енергією. Як наслідок, спостерігається менш значна фрагментація об'єкта дослідження.

Чітка відмінність мас-спектрів, отриманих за допомогою ЕУ та ХІ, продемонстрована на рис. 2.3. Хімічна іонізація демонструє набагато меншу ступінь фрагментації молекули при тому, що інтенсивність піку молекулярного іона у рази більша ніж при ЕУ.

Основними перевагами методу хімічної іонізації є:

- дозволяє точно визначити молекулярну масу речовини, що досліджується;
- навіть коли молекулярний іон досліджуваної речовини дуже нестабільний, та не може бути отриманий використовуючи іонізацію ЕУ, даний метод дозволяє його отримати;
- отримані мас-спектри виглядають простіше за рахунок менш інтенсивного процесу фрагментації у порівнянні з ЕУ.

Тим не менш, суттєвим недоліком є те, що отримані мас-спектри сильно залежать від типу газу-реагенту, його тиску, та часу реакції. За рахунок менш інтенсивної фрагментації отримані результати часто не є достатньо інформативними та їх важко порівнювати із бібліотечними.

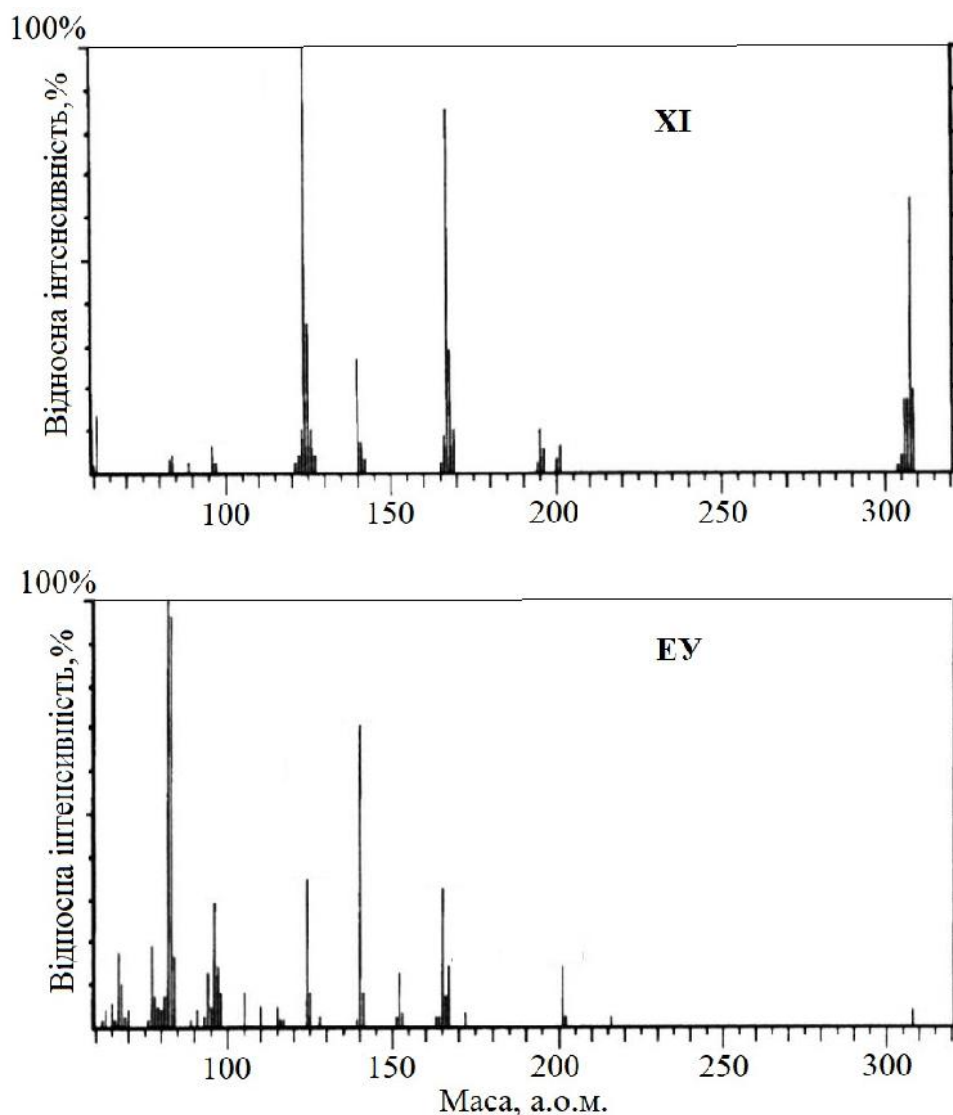


Рис. 2.3. Порівняння мас-спектрів бензатропіну ($m/z=307.4293$), отриманих методами XI та EY [20].

2.1.3 Польова іонізація (ПІ)

Метод польової іонізації використовує сильні електричні поля для утворення іонів з молекул у газовій фазі. Даний метод використовується як метод «м'якої» іонізації в мас-спектрометрії органічних молекул[21].

Так само, як і вище описані методи, даний метод підходить тільки для іонізації речовин, які знаходяться у газовій фазі. Основою даного методу є використання сильних електричних полів, які отримані за рахунок великої різниці потенціалів, порядку 8–12 кВ, що прикладається між емітером електронів та прискорюючим електродом. Молекули M досліджуваної

речовини у газовій фазі наближаються до поверхні емітера, який знаходиться під високим позитивним потенціалом. Якщо значення електричного поля сягає порядку $10^7 - 10^8 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$, один з електронів молекули переходить на емітер шляхом квантового тунелювання. Таким чином утворюється катіон-радикал M^+ , який під дією негативного потенціалу іншого електрода, в середині якого є отвір, прискорюється і направляється до мас-аналізатора.

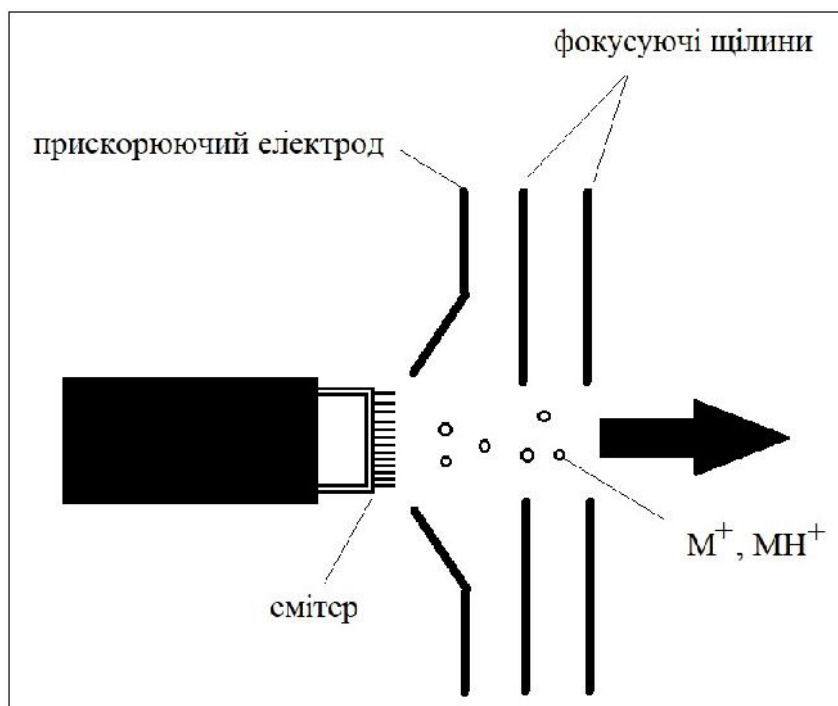


Рис. 2.4. Схема джерела іонів з використанням іонізації полем [22]

У залежності від досліджуваної речовини, польова іонізація призводить до утворення іонів M^+ та/або MH^+ . Формування протонованих молекулярних продуктів є результатом іон-молекулярних реакцій, які можуть відбуватися між початковими іонами та молекулами речовини у безпосередній близькості до поверхні емітера. Енергія, яка передається при польовій іонізації, як правило, складає менше 1 еВ [22].

Основною перевагою методу ПІ є те, що у порівнянні з методами ЕУ та ХІ він майже не спричиняє фрагментацію. Це дозволяє отримувати молекулярні іони таких сполук, які при використанні ЕУ та ХІ дисоціюють.

2.1.4 Десорбція полем (ДП)

Даний метод базується на вже описаному методі польової іонізації та поєднує процеси десорбції та іонізації досліджуваної речовини [23]. Речовина наноситься на вольфрамову чи ренієву нитку розжарення (катод), на якій знаходяться мікроголки з вуглецю. Між катодом та електродом створюється сильне електричне поле величина якого може сягати $10^8 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Катод розігрівається до температури плавлення зразка. Іони зразка мігрують та накопичуються на кінцях голок, де вони десорбуються, захоплюючи молекули зразка. Процес іонізації такий самий, як і при польовій іонізації.

2.1.5 Матрично-активована лазерна десорбція/іонізація (МАЛДІ)

Це – десорбційний метод, що полягає у взаємодії імпульсів лазерного випромінювання з матрицею, на яку нанесена речовина. Метод був розроблений у 1988 р. [24, 25]. Цей метод характеризується простотою приготування зразка та високою толерантністю до забруднення [26, 27].

Досліджувана речовина розчиняється у розчиннику, що містить малі органічні молекули, які називають матрицею. Ці молекули володіють сильною абсорбцією при вибраній довжині хвилі лазера. Розчин перед використанням повністю стає твердим і не містить рідких складових.

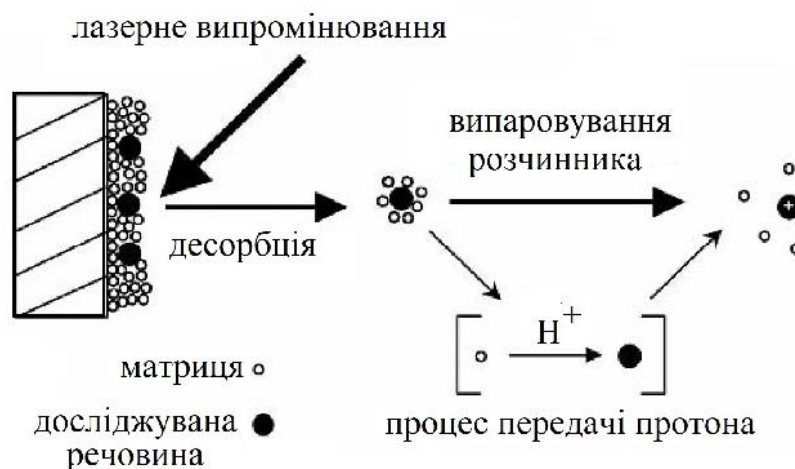


Рис. 2.5. Загальна схема методу МАЛДІ [8].

Таким чином, отримується твердий розчин, який містить кристали матриці, леговані молекулами досліджуваної речовини, розподілені таким чином, що молекули повністю відділені одна від одної. Далі проходить абляція об'ємних порцій поверхні твердого розчину під дією короткочасних інтенсивних лазерних імпульсів. Опромінення лазером призводить до миттєвого нагрівання зразка та акумуляції енергії шляхом збудження молекул матриці, які знаходяться у твердій фазі. Швидке нагрівання призводить до локальної сублімації кристалів матриці та до абляції частини кристалічної поверхні з переведенням матриці у газову фазу [28]. Реакції іонізації можуть відбуватися у вакуумі на будь-якому з вище описаних етапів. Але загальноприйнятим механізмом утворення іонів є передача протона у твердій, або у газовій, фазі від фотоіонізованих молекул матриці. Далі, як і в інших випадках, іони прискорюються електричним полем у напрямку мас-аналізатора.

Потрібно відмітити, що у більшості випадків метод МАЛДІ використовується для дослідження синтетичних полімерів та біополімерів [29].

2.1.6 Бомбардування швидкими атомами та рідинна мас-спектрометрія вторинних іонів

Мас-спектрометрія вторинних іонів здійснює аналіз іонів, які утворилися під час опромінення поверхні енергетичним пучком первинних іонів [30, 31]. Метод бомбардування швидкими атомами [32] та рідинної мас-спектрометрії вторинних іонів [33] полягає у фокусуванні на зразок пучка високоенергетичних нейтральних атомів або іонів, відповідно. Єдиною особливістю даного методу є те, що зразок повинен бути розчинений у нелеткій рідкій матриці, наприклад, у гліцерині, який знайшов найбільш широке використання. Використання розчинника створює певний хімічний фон тому, що кластери іонів рідкої матриці також десорбуються. Утворений фон залежить від того, яка саме матриця (розчинник) використовується.

Основною перевагою даного методу є можливість його використання для дослідження важких сполук (масою m до 13000 а.о.м.).

2.1.7 Метод електричного розпилювання (EP)

Метод електричного розпилювання [34, 35] полягає у створенні сильного електричного поля в умовах атмосферного тиску у розчині, який проходить капіляром зі швидкістю порядку $1\text{--}10\text{ мкл}\cdot\text{хв}^{-1}$. Електричне поле створюється різницею потенціалів $3\text{--}6\text{ кВ}$ між капіляром та електродом, які розміщують одне від одного на відстані $0,3\text{--}2\text{ см}$. Таким чином отримують напруженість поля $10^6\text{ В}\cdot\text{м}^{-1}$. Це поле індукує накопичення заряду на поверхні рідини, яка знаходиться на кінці капіляра (див. рис 2.6). На кінці капіляра утворюються краплі розчину, які за наявності градієнта тиску відриваються від отвору капіляра. Вони починають рухатися у напрямку градієнта тиску та електричного поля. Під час цього руху краплі зменшуються у розмірі за рахунок випаровування розчинника та під дією кулонівських сил.

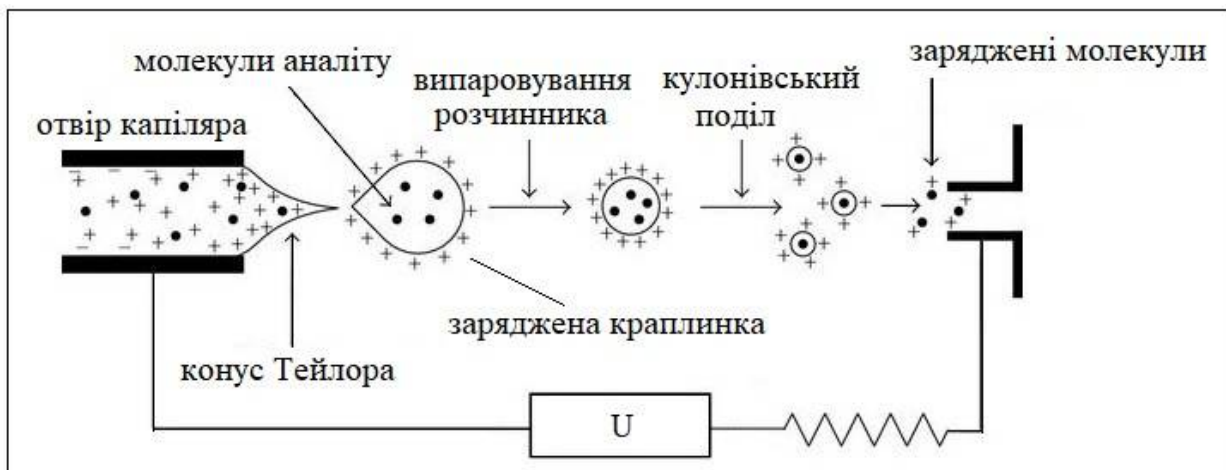


Рис. 2.6. Схематичне зображення процесу поділу заряджених краплинок та утворення іонів аналіту у методі електричного розпилювання [35]

Струмień розпилення у просторі потребує обмеження, оскільки під дією високої різниці потенціалів, а також градієнта тиску, у вакуумній системі

джерела він може поширюватися на значну відстань. У такому випадку коаксіально подають азот з низькою швидкістю потоку (див. рис. 2.7).

Маленькі, заряджені краплинки втрачають розчинник, та, зрештою, коли електричне поле стає достатньо великим, відбувається десорбція іонів з поверхні [36]. Тому чутливість методу вища для тих розчинників, концентрація яких на поверхні більша. Важливою характеристикою даного методу є можливість утворення багатозарядних іонів великих молекул. Утворення останніх є результатом електрохімічних процесів та накопичення заряду у краплинках. Можливість отримання багатозарядних іонів сильно покращує чутливість детектора та дає змогу досліджувати молекули із великою молекулярною масою, наприклад протеїни [37].

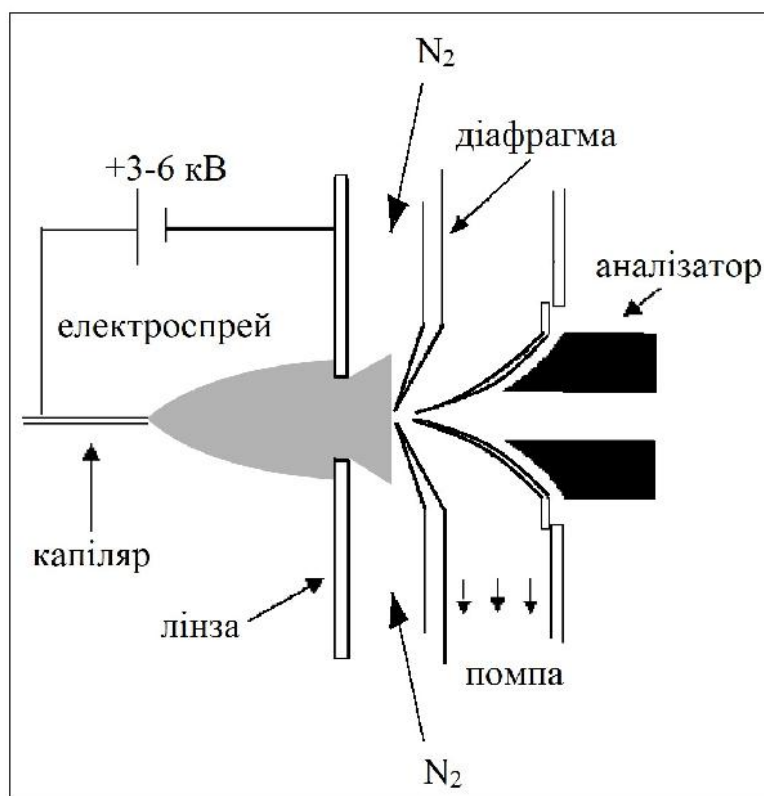


Рис. 2.7. Загальна схема джерела іонів електричного розпилювання [35]

Основними перевагами даного методу, як вже було сказано, є можливість досліджувати важкі сполуки. Він добре підходить для

дослідження заряджених полярних сполук. Метод електричного розпилення є найкращим методом для аналізу багатозарядних продуктів фрагментації.

До недоліків даного методу можна віднести відносно слабкі іонні струми та дуже складну конструкцію іонного джерела у порівнянні з іншими.

2.1.8 Фотоіонізація при атмосферному тиску (ФІ)

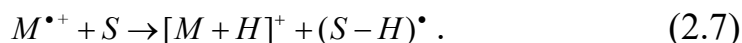
Основою даного методу є використання фотонів для іонізації молекул, які знаходяться у газовій фазі в умовах атмосферного тиску [38]. Досліджувана речовина випаровується за допомогою термічного небулайзера. Потім її пари взаємодіють з фотонами, що випромінюються газорозрядною лампою. Фотони викликають серію реакцій у газовій фазі, які призводять до іонізації молекул досліджуваної речовини. Особливістю даного методу є те, що він дозволяє іонізувати сполуки, які не можуть бути іонізовані, наприклад, методами ХІ та ЕУ, зокрема – неполярні сполуки.

Як правило, джерелом фотонів служить УФ-лампа, яка випромінює фотони із енергією, більшою за потенціали іонізації досліджуваної речовини, але нижчою за потенціали іонізації атмосферних газів та розчинників, що використовуються. Таким чином досягається селективне отримання тільки необхідних іонів, що суттєво зменшує фоновий шум. Наприклад, при використанні криптонової газорозрядної лампи енергія її фотонів, складає 10 та 10,6 еВ [39]. У той час як більшість досліджуваних речовин мають енергії іонізації у діапазоні 7-10 еВ, а компоненти, які знаходяться у повітрі (азот та кисень), та розчинники (метанол, вода, та ін.) мають значно вищі потенціали іонізації [40].

Мас-спектри, отримані за допомогою даного методу, можна охарактеризувати наявністю у них двох основних типів іонів, а саме: радикалу-катиону M^+ та протонованої молекули $[M+H]^+$. Загалом, реакція класичної фотоіонізації призводить до утворення радикал-катиону [41]:



Дуже часто наявність протонуваних молекул дозволяє припустити можливість перебігу іон-молекулярних реакції у газовій фазі після фотоіонізації. Як правило – це екстракція атома водню з молекул розчинника молекулярним іоном [41]:



Процес утворення радикал-катиону $M^{\bullet+}$ чи протонуваної молекули $[M + H]^+$, або ж обох одразу, буде залежати від відносної енергії іонізації, або енергії спорідненості до протона у молекулах зразка, який досліджується, та у молекулах розчинника. Якщо розчинник має низьку енергію спорідненості до протона, переважатиме процес обміну заряду. Розчинники із високою енергією спорідненості до протона будуть сприяти саме процесу переносу протонів.

Утворення негативного молекулярного іону M^- шляхом захоплення електрона можливе для будь якого зразка, який має позитивну енергію спорідненості до електрона:



Такий молекулярний аніон-радикал може бути отриманий реакцією обміну заряду з іоном $O_2^{\bullet-}$, який утворюється у джерелі шляхом захоплення електрона молекулою кисню з атмосфери. Умовою реакції є те, що спорідненість до електрона зразка повинна бути більша ніж 0,45 eV [42]. Ця величина відповідає спорідненості до електрона молекули O_2 [40]. Реакцію можна записати наступним чином:



Даний метод є дуже чутливим до експериментальних умов, що призводить до певних ускладнень, таких як зниження селективності, або чутливості реєстрації зразків.

2.2 Мас аналізатори

Зрозуміло, що наступним кроком після того, як речовина була іонізована, незалежно від методу іонізації та реакцій, що відбулися у джерелі іонів, утворені іони мають бути зареєстровані у відповідності до величини співвідношення їх маси до заряду (m/z). Величина m/z , як фізична властивість іонів, яка вимірюється аналізатором мас повинна бути визначена з максимальною точністю. Але потрібно пам'ятати, що багатозаряджені іони будуть реєструватися із дробовим значенням m/z .

На сьогоднішній час мас-спектрометрія налічує велику кількість розроблених мас-аналізаторів. Кожен конкретний мас-аналізатор базується на певному принципі роботи. У мас-аналізаторах використовуються статичні чи динамічні електричні та магнітні поля, які можуть бути використані як окремо, так і у їх поєднанні. Таким чином, кожен тип аналізатора має свої переваги та обмеження. Всі аналізатори можуть бути поділені на два широкі класи [43]. Одні з них можуть пропускати тільки іони певного значення m/z . Це можуть бути як секторні магніти із пролітними камерами в середині, так і монопольні та квадрупольні. Інші ж, наприклад, часопротітні мас-аналізатори чи іонні пастки, пропускають всі іони [43].

В останні роки популярною є техніка поєднання різних типів мас-аналізаторів таким чином, щоби іони послідовно проходили через декілька аналізаторів.

2.2.1 Магнітні мас-аналізатори

Магнітний мас-аналізатор історично був найпершим запропонованим типом аналізатора [44]. У 1921 р. Дж.Дж. Томсон створив перший мас-спектрометричний прилад. Принцип роботи даного аналізатора полягає в наступному. Іони, які вилетіли із джерела іонів, потрапляють у магнітне поле мас-аналізатора, силові лінії якого напрямлені перпендикулярно їх траєкторії. Під дією поля траєкторія заряджених частинок викривляється

(деформується), та вони починають рухатися по колу, радіус якого прямо пропорційний величині m/z . Таким чином іони меншої маси відхилятимуться сильніше, а важчі слабше (див. рис. 2.8).

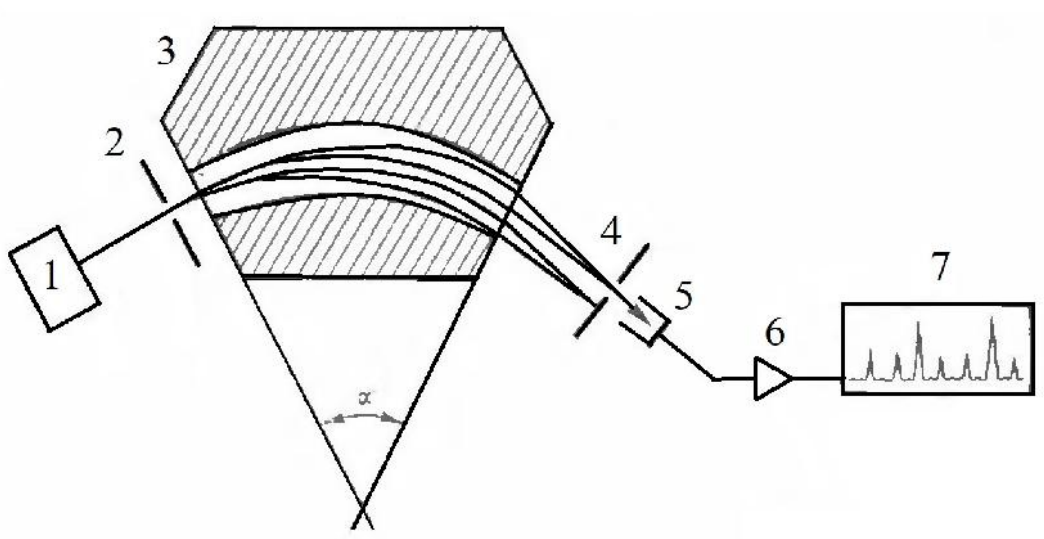


Рис. 2.8. Загальна функціональна схема мас-спектрометра з магнітним мас-аналізатором [45]

- 1 – джерело іонів; 2 – вихідна щілина джерела іонів; 3 – магніт;
4 – входна щілина детектора; 5 – циліндр Фарадея;
6 – електрометричний підсилювач; 7 – система реєстрації.

2.3.2 Квадрупольні мас аналізатори

Квадрупольні аналізатори – це пристрої, що використовують стабільність траєкторій у змінних електричних полях для того, щоби розділити іони відповідно до значень їх m/z . Вперше таке рішення було запропоновано В. Паулем та Г. Штайнвенделем у 1953 році [46].

Квадрупольний аналізатор [46] складається з чотирьох паралельно розміщених електродів із гіперболічним профілем робочої поверхні. Прискорені іони рухаються по осі z у просторі між електродами, до яких прикладені постійна напруга U та змінна напруга V високої частоти ω (див Рис 2.9). Сумарне поле, як суперпозицію поля, утвореного квадруполем, та постійного поля, можна виразити так:

$$\Phi_0 = +(U - V \cos \omega t) \text{ та } -\Phi_0 = -(U - V \cos \omega t). \quad (2.11)$$

При певних значення співвідношення U/V тільки іони певної маси будуть досягати колектора та реєструватися. Таким чином сканування діапазону мас відбувається шляхом одночасної зміни U та V . Такий аналізатор не є чутливим до початкової швидкості іонів, але важливим критерієм є те, що іони мають зробити декілька коливань, поки вони потраплять у детектор.

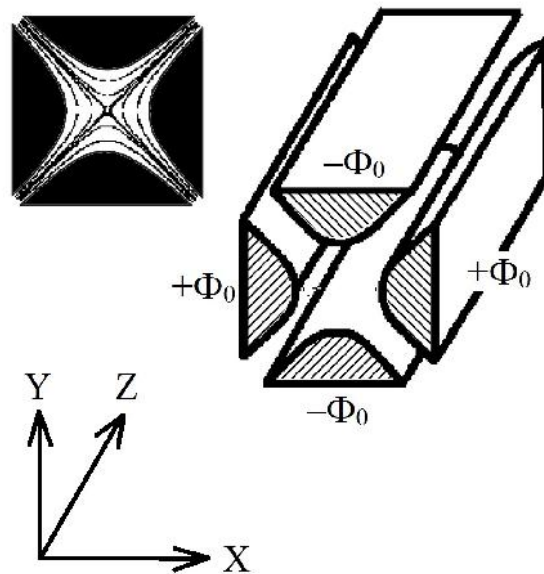


Рис 2.9. Квадруполь із гіперболічними електродами та прикладеними потенціалами [8]. Зліва зображені екіпотенціальні лінії

2.3.3 Іонна пастка

Мас-аналізатор типу іонної пастки працює на схожому, можна навіть сказати – на ідентичному, принципі, що і квадрупольний аналізатор. Принцип його роботи був описаний В. Паулем та Г. Штайнвенделем у 1960 році [47]. Згодом аналізатор був модернізований групою Г. Стаффорда та ін. [48]. У основі конструкції аналізатора лежить система з трьох електродів. Загальний вид конструкції іонної пастки зображено на рис. 2.10.

Два кінцеві електроди мають нульовий потенціал, а між ними розміщений кільцевий електрод, на який подається радіочастотна напруга. Простір всередині пастки заповнюють інертним газом. Потрапивши у пастку,

іони починають рухатися по замкнених орбітах всередині кільцевого електрода. Через зіткнення між собою чи з молекулами інертного газу, іони

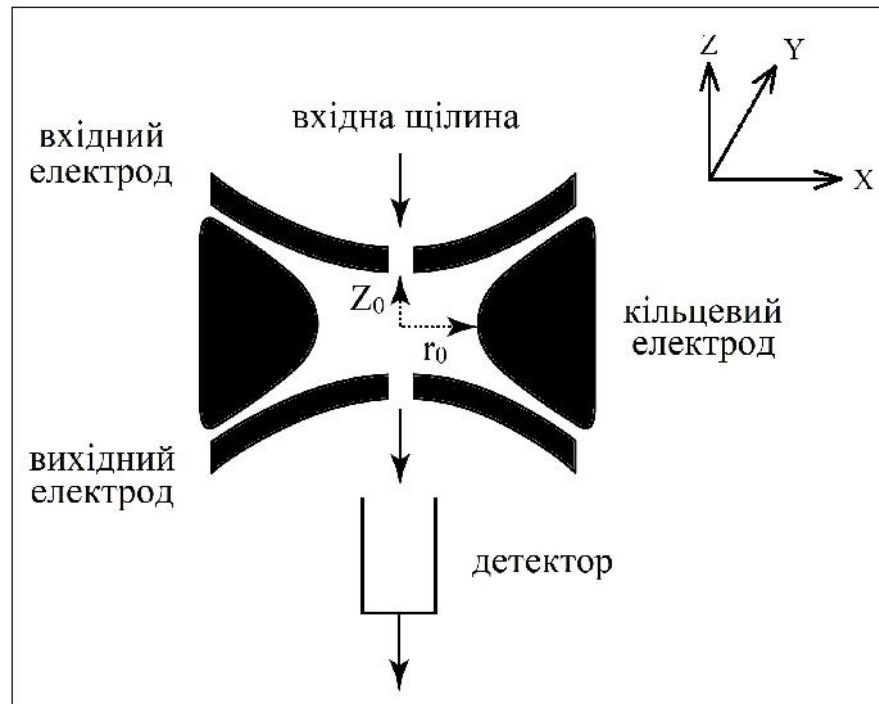


Рис. 2.10. Внутрішня будова іонної пастки [8]

мають певний обмежений час життя. Інертний газ у камері необхідний для того, щоб забрати надлишкову енергію іонів при зіткненні та давати змогу їм фрагментуватися і взаємодіяти з іншими іонами. Іони, які знаходяться у резонансі із зовнішнім радіочастотним полем, отримують максимальну енергію та можуть покинути пастку і потрапити на детектор.

2.2.4 Часопролітний аналізатор

Робота такого мас-аналізатора базується на використанні принципу пропорційності швидкості прискорених іонів їх масі [49].

Вперше концепцію часопролітного мас-аналізатора було описано у 1946 р. В.Е. Стефенсом [50], але популярності часопролітний аналізатор набув лише наприкінці 1980-х років. По-перше, це було пов'язано із бурхливим розвитком електронної бази. По-друге, часопролітний мас-аналізатор найкраще підходив для імпульсних процесів лазерної десорбції, які ставали

дуже популярними. Розвиток джерел іонів для методу МАЛДІ разом з використанням часопролітного мас-аналізатора дали змогу досліджувати не тільки біологічні молекули, але й синтетичні полімери. Огляд часопролітних аналізаторів, їх переваг та недоліків проводився багатьма провідними науковими групами і узагальнений у ряді робіт (див., наприклад, [51, 52]).

Принцип роботи такого мас-аналізатора дуже простий, а діапазон значень співвідношення m/z – практично необмежений.

На рис. 2.11 зображена конструкція сучасного часопролітного мас-спектрометра із рефлектроном (так званим іонним дзеркалом) [53].

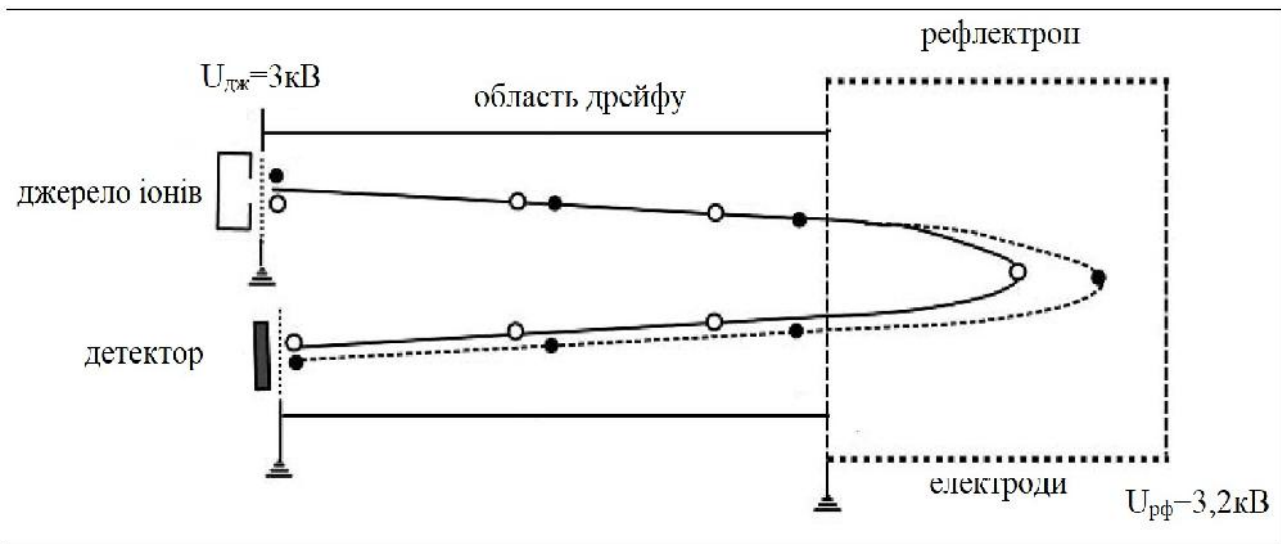


Рис. 2.11. Схема часопролітного мас-спектрометра із рефлектроном [53]

Із недоліків цього типу аналізаторів потрібно виділити їх низьку роздільну здатність у порівнянні з іншими аналізаторами та неможливість роботи з неперервними методами іонізації. Це пов'язано з тим, що іони подаються у аналізатор постійно, і це не дає можливості вимірювати час від моменту їх входження у аналізатор до моменту їх потрапляння на детектор, і – як наслідок – визначати значення m/z . Тим не менше, для імпульсних методів іонізації, таких як МАЛДІ, даний тип мас-аналізатора є практично незамінним.

2.3 Огляд наявних результатів з фрагментації молекул амінокислот

У цьому підрозділі дано аналіз загального стану проблеми з дослідження іонізації та дисоціативної іонізації (фрагментації) молекул амінокислот гліцину, метіоніну, аланіну та триптофану. Слід наголосити, що більш детальний аналіз наявних у літературі даних буде проведено у розділі 4, присвяченому обговоренню результатів досліджень, виконаних у даній роботі.

2.3.1 Молекула гліцину

Дослідженню фрагментації молекули гліцину під дією зовнішнього іонізуючого випромінювання контрольованої енергії присвячено цілий ряд як теоретичних, так і експериментальних робіт. Відмітимо, що більшість з останніх присвячена процесам фотоіонізації, а число робіт з іонізації електронним ударом є вкрай обмеженим. Розглянемо деякі найбільш важливі, з нашої точки зору, результати вказаних досліджень.

У роботі [54] теоретично розглянуто динаміку однофотонної іонізації молекули гліцину методом моделювання у рамках теорії класичних траєкторій з застосуванням напівемпіричної потенціальної поверхні РМЗ. Конформер гліцину до іонізації розглядався в основному коливному стані. Початкові умови траєкторій зважувалися згідно з функцією розподілу Вігнера, розрахованого для цього стану. При цьому вертикальна іонізація оцінювалася за класичним принципом Франка-Кондона. Було знайдено, що фотоіонізація вихідної молекули спричинює швидке внутрішнє обертання навколо С-С зв'язку, причому групи NH_2 та COOH обертаються у протилежних напрямках. Встановлено, що утворений у процесі фотоіонізації іон гліцину має дві конформерні структури. Для різних типів мод знайдено різну поведінку розподілу коливних енергій. Стверджується, що найбільш вірогідним каналом дисоціації є розрив С-С зв'язку.

Пізніше цією ж групою дослідників було вивчено динаміку однофотонної іонізації двох конформерів гліцину методом моделювання

класичних теорій з використанням напівемпіричної потенціальної поверхні РМ3 [55]. Початкові умови траєкторій зважувалися за функцією розподілу Вігнера для основного коливного стану досліджуваної молекули. При цьому розглядалася вертикальна іонізація за класичним принципом Франка-Кондона, а поведінка двох конформерів порівнювалася протягом перших 10 пс. Було знайдено, що динаміка поведінки цих конформерів суттєво відрізняється, зокрема, їх дисоціація характеризувалася різними каналами фрагментації. Для одного з конформерів спостерігалися більш високі швидкості переходів, а для іншого – більші виходи фрагментів.

Експериментальне дослідження іонізації молекул гліцину, аланіну, валіну та проліну фотонами енергією 21,21 еВ було виконано у роботі [56] із застосуванням техніки часопролітної мас-спектрометрії з використанням гелієвої лампи (рис. 2.12). У роботі були вивчені виходи іонних фрагментів та їх розподіли за кінетичними енергіями. Вперше спостерігався вихід фрагменту молекули гліцину масою $m = 32$ а.о.м.

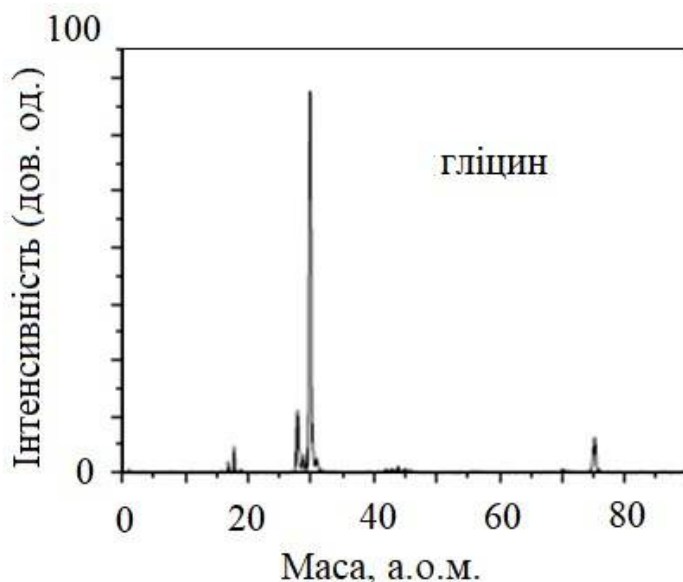


Рис. 2.12. Часопролітний мас-спектр молекули гліцину при іонізації фотонами з енергією 21,21 еВ.

У роботі [57] досліджувалися канали фрагментації протонowanego гліцину із застосуванням *ab initio* розрахунків. Авторами було встановлено,

що найбільш енергетично ймовірною є фрагментація вихідної молекули з відщепленням молекул води та окису вуглецю.

Аналогічний теоретичний аналіз можливих каналів фрагментації протонowanego гліцину був здійснений групою дослідників під керівництвом Р. О'Хари [58]. Авторами на підставі проведених *ab initio* розрахунків методами ТФГ були запропоновані три основні механізми фрагментації молекули гліцину. а саме: 1) відщеплення молекул H_2O і CO , 2) відокремлення дигідроксикарбену $(\text{HO})_2\text{C}$ та 3) втрата мурашиної кислоти НСООН . Перший механізм виявився більш ймовірним з точки зору термодинаміки та кінетики перебігу процесу дисоціації у порівнянні з іншими двома.

Цими ж авторами було досліджено, як експериментально, шляхом поєднання методики тандемної мас-спектрометрії, так і теоретично, розрахунками *ab initio*, структуру $[\text{M}-\text{H}]$ катіонів та аніонів гліцину [59]. Було знайдено, що до стабільних структур іонних фрагментів досліджуваної молекули слід віднести $[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2]^-$, $[\text{H}_2\text{NCHCO}_2\text{H}]^-$, $[\text{HNCH}_2\text{CO}_2\text{H}]^-$ та $[\text{H}_2\text{NCHCO}_2\text{H}]^+$. У той же час іон $[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2]^+$ спонтанно фрагментує з утворенням іон-молекулярного комплексу $[\text{H}_2\text{NCH}_2^+ \cdots (\text{OCO})]$, а синглетний ізомер $[\text{HNCH}_2\text{CO}_2\text{H}]^+$ зазнає скелетної перебудови з утворенням іона $[\text{CH}_2\text{NHCO}_2\text{H}]^+$. Мас-спектри катіонів $[\text{M}-\text{H}]^+$ різних ізотопомерів гліцину були отримані шляхом ударної активації катіонів, що виникли в результаті іонізації електронним ударом, а також внаслідок зміни знаку аніонів, утворених у процесі хімічної іонізації негативного іона HO^- .

Дослідження конформаційних ефектів при іонізації молекули гліцину [60] у рамках моделей $\text{B3LYP}/6\text{-}311\text{G}^{**}$ та $\text{MP2}/6\text{-}311\text{G}^{**}$ у ТФГ показали, що основними компонентами перших чотирьох орбіталей Дайсона є неподілена пара N, неподілена пара O, π_{CO} , та гілка C-H, відповідно.

Конформаційно індуковані зсуви вертикальної енергії іонізації були пояснені у термінах електростатичного та фазового зв'язку в орбіталях Дайсона.

Фотоелектронні спектри молекул гліцину, проліну та метіоніну при їх опроміненні ВУФ- та м'яким рентгенівським випромінюванням досліджувалися у роботі [61] (див. рис. 2.13). Було показано, що досліджені спектри подібні раніше вимірним цією ж групою авторів із застосуванням гелієвої лампи. Крім того, для проліну були виміряні температурні залежності фотоелектронних спектрів, що дозволило зробити важливі висновки про відносні заселеності ряду конформерів цієї амінокислоти.

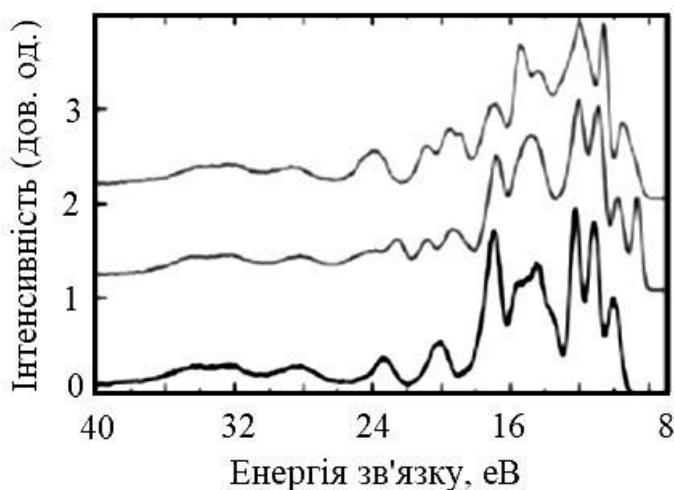


Рис. 2.13. Спектри фотоемісій валентних оболонок молекул (знизу вгору) гліцину, метіоніну та проліну при енергії фотонів 99eВ [61].

Фотоіонізація ряду аліфатичних молекул, зокрема, гліцину та валіну, з одночасним їх збудженням випромінюванням ІЧ-лазера експериментально досліджувалася у роботі [62] із застосуванням методу часопротітної мас-спектрометрії.

Енергія іонізуючих фотонів складала 10,5 eВ, тобто була приблизно на 2 eВ вищою, від порогів іонізації вказаних молекул. Було встановлено, що кожен з конформерів досліджуваних молекул амінокислот має свою картину фрагментації, пов'язану з від'єднанням радикалів NH_2 та OH . Також спостерігалось змішування мод в області мод радикала CH і зміщення та розтягнення мод радикалів NH та OH . Встановлено, що коливне збудження

вихідних молекул призводить до відкриття каналів фрагментації та впливає на інтенсивності піків мас-спектрів (див. рис. 2.14).

Теоретичному дослідженню фрагментації молекул гліцину та аланіну присвячена робота [63], у якій досліджено структуру фрагментів досліджуваних молекул та зазначено, що найбільш ймовірним каналом їх розпаду є від'єднання радикалу COOH . Було встановлено, що у такому процесі фрагмент з найнижчим потенціалом іонізації отримує позитивний заряд.

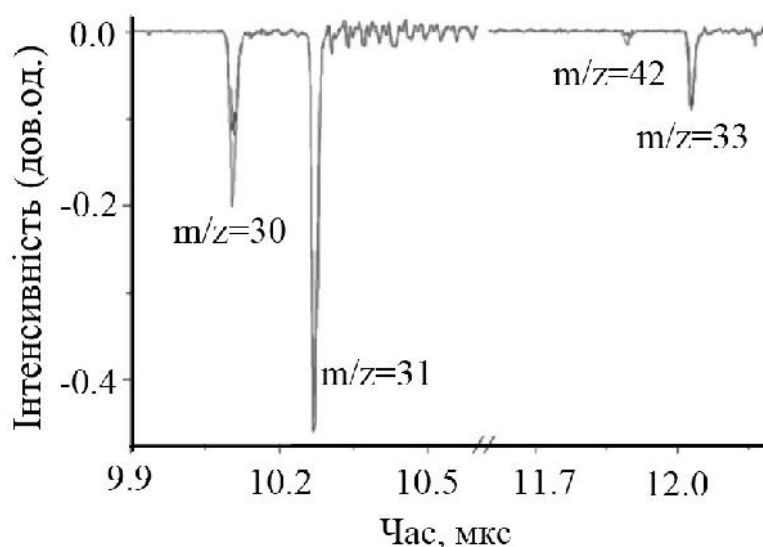


Рис. 2.14. Мас-спектр гліцину, іонізованого лазером 118 нм [62].

Детально утворення фрагментів молекул гліцину, аланіну та валіну під дією ВУФ-фотонів з енергіями 6–22 еВ вивчалось у роботі [64]. Були встановлені основні механізми фрагментації досліджуваних молекул, виміряні енергії їх іонізації та потенціали появи основних іонних фрагментів. Ототожнення іонних піків спектрів фотоіонізації здійснювалось з урахуванням спектральних даних про дейтеровані ізотопологи відповідних трьох амінокислот. Можливі канали фрагментації молекул уточнювались з використанням термохімічних даних. Було показано, що у ряді процесів фрагментації відбувається утворення іонних пар. Нижче, на рис. 2.15, ми наводимо фотоіонні мас-спектри, отримані авторами вказаної роботи.

На рис. 2.16 наведено криві виходу двох основних іонних фрагментів вказаної молекули з масами $m=28$ а.о.м. та $m=30$ а.о.м., отримані у роботі [65]. Було показано, що пік при $m=28$ а.о.м. можна пов'язати з іоном HCNH^+ , а пік при $m=30$ а.о.м. – з іонами NH_2CH_2^+ , CH_3NH^+ та H_2CO^+ .

Цими ж авторами було узагальнено питання ВУФ-фотохімії ряду молекул амінокислот на підставі даних експериментальних мас-спектрометричних досліджень із застосуванням техніки флуоресцентної спектроскопії [66]. Було встановлено, що величини адіабатичних енергій

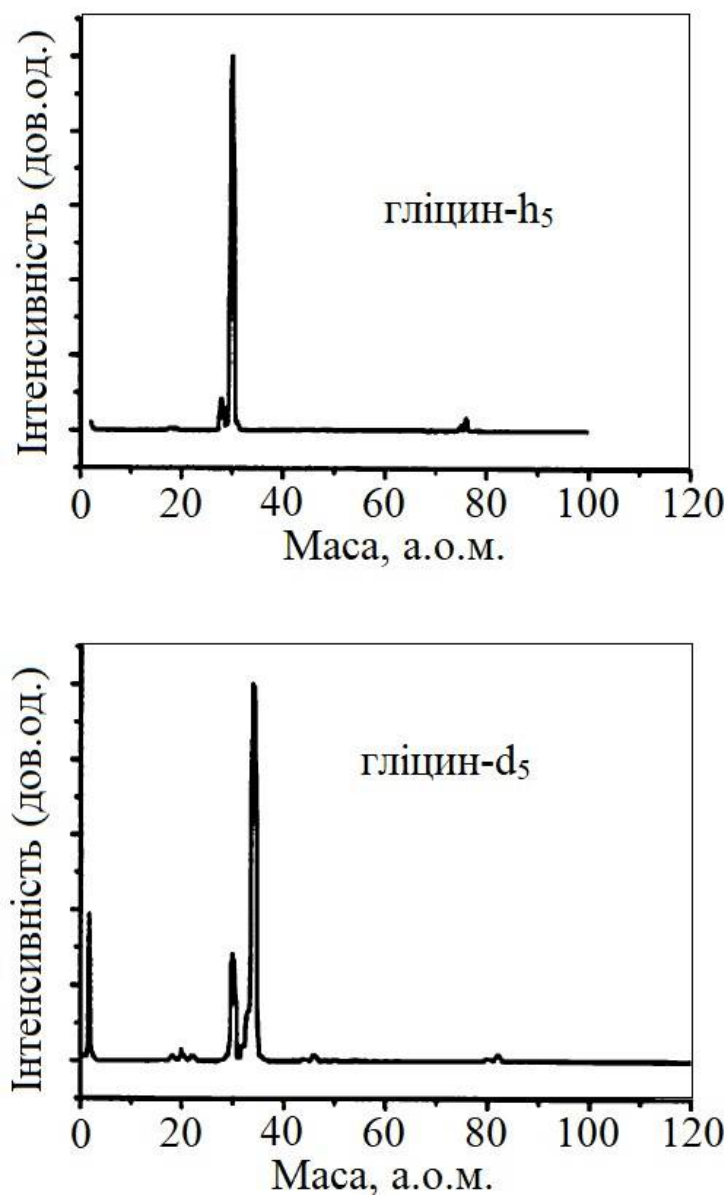


Рис. 2.15. Мас-спектри фотоіонізації молекули гліцину [64].

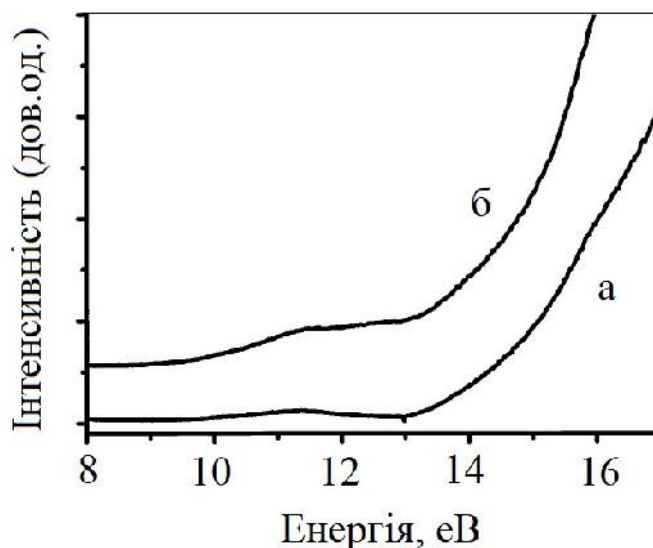


Рис. 2.16. Криві виходу іонних фрагментів $m=28$ (а) та $m=30$ (б) молекули гліцину при фотоіонізації [65].

іонізації досліджених молекул лежать у діапазоні від 8,2 еВ до 9,6 еВ. Авторами також було показано, що на відміну від, скажімо, моно-катионів нуклеїнових кислот, моно-катиони амінокислот є нестійкими, і їх швидка фрагментація відбувається через розрив зв'язку С–С(ООН). Виняток становить аланін, для якого найнижчим енергетичним каналом іонної дисоціації є розрив зв'язку між а-С та б-С.

У роботі [67] було досліджено процеси дисоціації молекули N,N,N -триметилгліцину $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ повільними електронами.

2.3.2 Молекула метіоніну

Як і у випадку молекули гліцину, число робіт, присвячених дослідженню взаємодії іонізуючого випромінювання з молекулою метіоніну, є невеликим. І знову, більшість експериментальних досліджень пов'язана з процесами фотоіонізації. Перейдемо до розгляду найбільш важливих з них.

Спектри фотофрагментації ряду амінокислот, у тому числі – молекули метіоніну, вимірювалися у роботі [68] у діапазоні енергій квантів від 8,43 до 21,2 еВ. Було встановлено, що при менших енергіях фотонів спостерігалася "м'яка" іонізація та незначна фрагментація вихідної молекули.

Також відмічалось, що для метіоніну спостерігалася більш "скромна" фрагментація, ніж у випадку молекул лейцину, що пов'язувалося авторами з тим фактом, що зовнішня орбіталь молекули метіоніну має характер неподіленої пари сірки.

У якості прикладу на рис. 2.17 наведено мас-спектр молекули метіоніну при різних енергіях іонізуючих фотонів.

Цією ж групою авторів досліджувалися фотоемісійні спектри молекули метіоніну під дією ВУФ та рентгенівського випромінювання [61]. Як і у випадку гліцину, було встановлено, що інтенсивність піків суттєво залежить від енергії фотонів.

Спектри фотопоглинання молекул гліцину та метіоніну вивчалися вказаною групою дослідників [69]. Було знайдено, що спектри молекули гліцину подібні спектрам втрат енергії електронів [70], але є більш структурними. Аналогічні спектри для молекули метіоніну продемонстрували хорошу кореляцію з даними електронної спектроскопії [71].

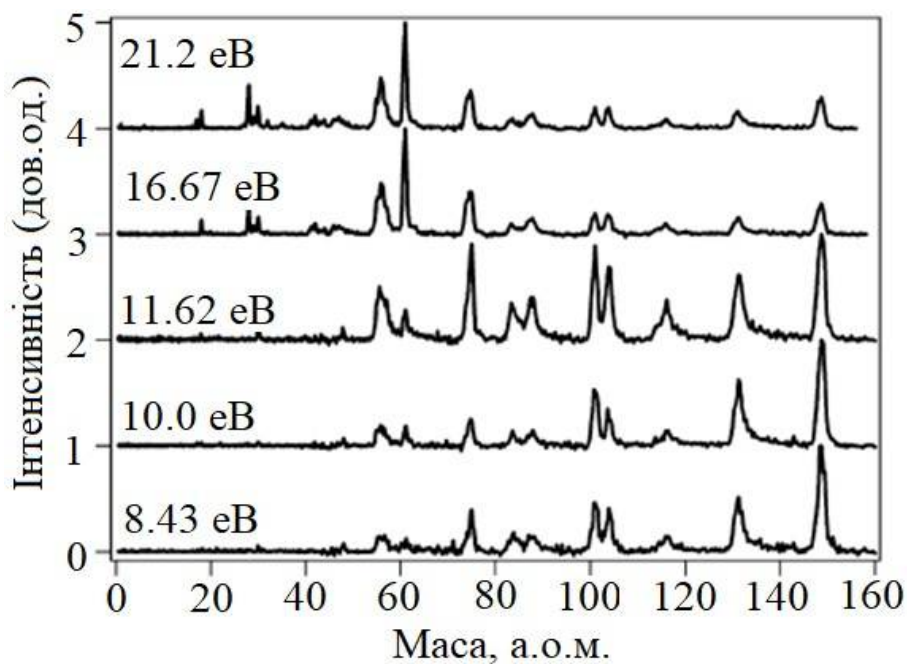


Рис. 2.17 Мас-спектр молекули метіоніну [68].

Криві, поверхні та гіперповерхні потенціальної енергії для молекул метіоніну розраховувалися у роботі [72]. Були виявлені деякі непередбачувані поверхні потенціальної енергії, що пояснювалося авторами просторовою близькістю структурних атомів.

Дослідженню фотоемісії та форми молекул гліцину та метіоніну присвячена робота [73]. Для прикладу на рис. 2.18 наведено фотоемісійні спектри вказаних молекул у порівнянні зі спектром молекули проліну.

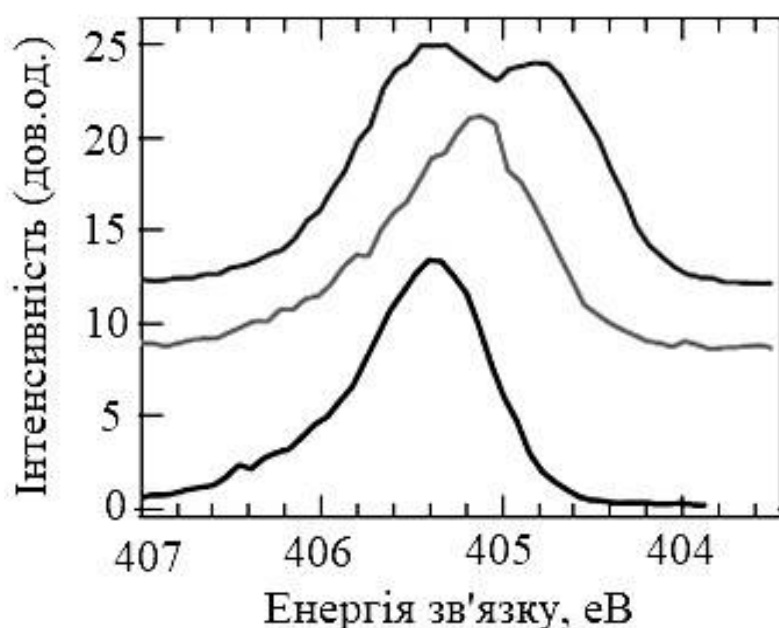


Рис. 2.18. Фотоемісійні спектри молекул (знизу вгору) гліцину, метіоніну та проліну [73].

2.3.3 Молекула аланіну

Фотоелектронні спектри молекули аланіну, отримані під дією синхротронного випромінювання, досліджувалися у роботі [74] у поєднанні з *ab initio* розрахунками з використанням функції Гріна, енергій вертикальної іонізації зовнішніх валентних оболонок та CMS- $X\alpha$ обчисленнями перерізів іонізації вказаної молекули. Було встановлено, що, на відміну від молекули треоніну, фотоелектронні спектри молекули аланіну не свідчили про внесок її термічного розкладу. Три піки досліджуваного спектру були ототожені з внеском від трьох іонізованих атомів вуглецю вихідної молекули. Незначний

пiк був приписаний внеску пептидного CONH_2 -зв'язку, який формується мiж мономерами аланiну.

Фотоiонiзацiя аланiну розглядалася також у рамках теоретичного *ab initio* пiдходу з використанням поверхонь потенцiальної енергiї [75]. Як в адиабатичному, так i у термостатичному моделюванні вертикальна фотоiонiзацiя розглядалася з точки зору принципу Франка-Кондона. Для конформера, що має мiжмолекулярний водневий зв'язок $\text{N}\cdots\text{H}-\text{O}$, було виявлено явище внутрiшньо-молекулярного протонного переносу з супровiдною фрагментацiєю. Було вiдмiчено хороше узгодження теоретичних даних з результатами експериментiв рiзних авторiв, наявними в лiтературi. Вперше було показано, що теплові ефекти сильно впливають на процеси фрагментацiї, викликанi фотоiонiзацiєю.

Поєднання технiки мас-спектрометрiї з технiкою iонiзацiї молекул α - та β -аланiну фотонами енергiями вiд 6 до 22 eV [64] дозволило встановити основні канали розпаду дослiджуваних молекул пiд дiєю ВУФ-фотонiв. Крім того, авторами були знайденi абсолютні величини енергiй iонiзацiї вихiдних молекул та потенцiалiв появи їх основних iонних фрагментiв. У дiапазонi енергiй фотонiв до 20 eV не спостерiгалася взаємна конверсiя катiонiв вказаних iзомерiв – α -аланiну та β -аланiну На рис. 2.19 показанi фотоiонні мас-спектри, а на рис. 2.20 – криві виходу чотирьох найбільш iнтенсивних iонних фрагментiв молекули α -аланiну, отриманi у роботi [75].

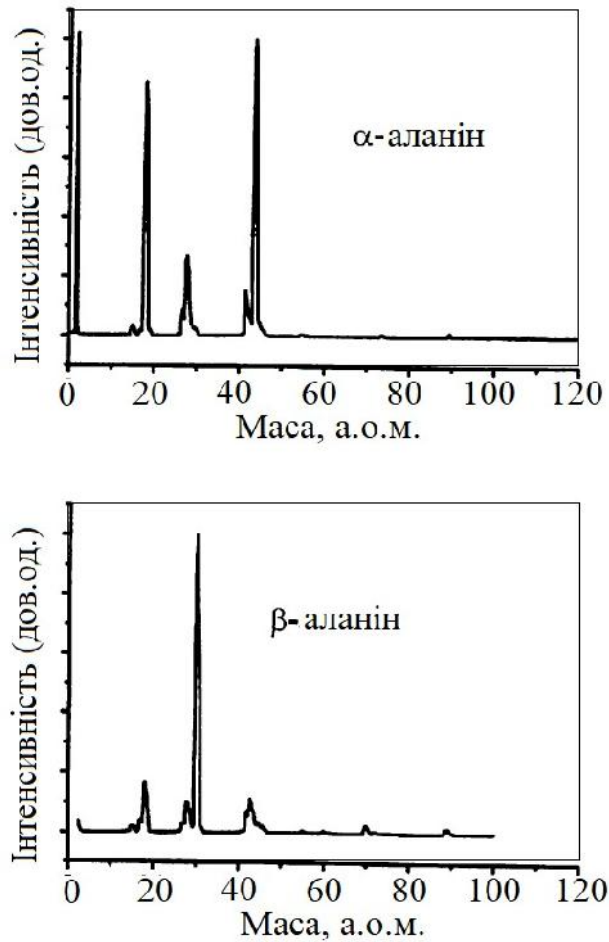


Рис. 2.19. Фотоіонні мас-спектри молекули амінокислоти аланіну при опроміненні їх фотонами енергією 20 еВ [64].

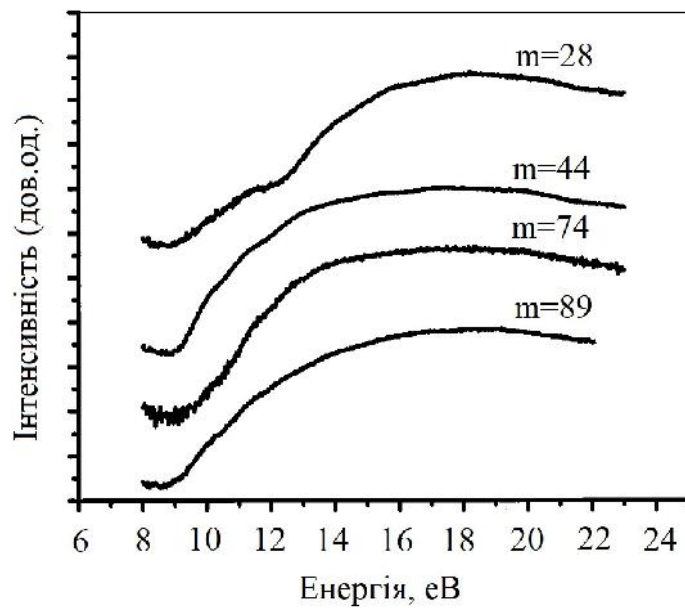


Рис. 2.20. Криві виходу найбільш інтенсивних іонних фрагментів молекули α -аланіну [75].

Методом часопротитної мас-спектрометрії високого розділення у роботі [56] досліджувалася взаємодія швидких іонів He^+ , He^{2+} та O^{5+} з ізольованими α - та β - ізомерами молекули аланіну. Авторами спостерігалася сильна ізомерна залежність характеристичних каналів, що проявлялося у значній зміні коефіцієнтів гілкування, а також переорієнтація молекул з наступним утворенням іона H_3^+ .

Також із застосуванням техніки часопротитної мас-спектрометрії та з використанням синхротронного джерела збудження у роботі [77] були отримані криві виходу іонів та мас-спектри L-аланіну (див. рис. 2.22 та 2.23, відповідно). У процесі іонізації досліджуваної молекули не спостерігалася ефектів селективності.

На підставі отриманих даних мас-спектрів, авторами були запропоновано спрощену схему фрагментації молекули аланіну. Спершу відбувається заселення високозбудженого молекулярного стану, яке супроводжується наступним розривом зв'язку C–C, що має своїм наслідком утворення двох заряджених фрагментів. У залежності від надлишку енергії зіткнення після завершення попереднього процесу,

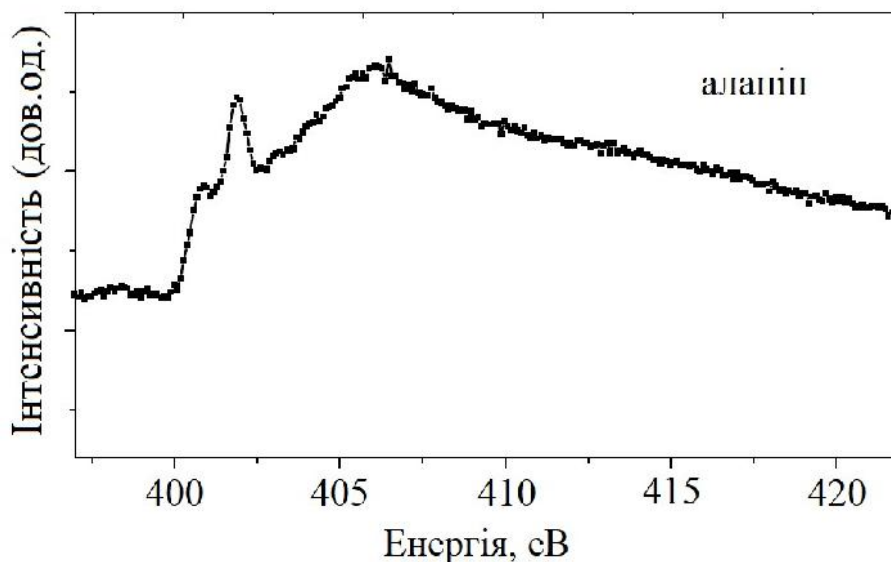


Рис. 2.22. Повна крива виходу іонних фрагментів L-аланіну [77]

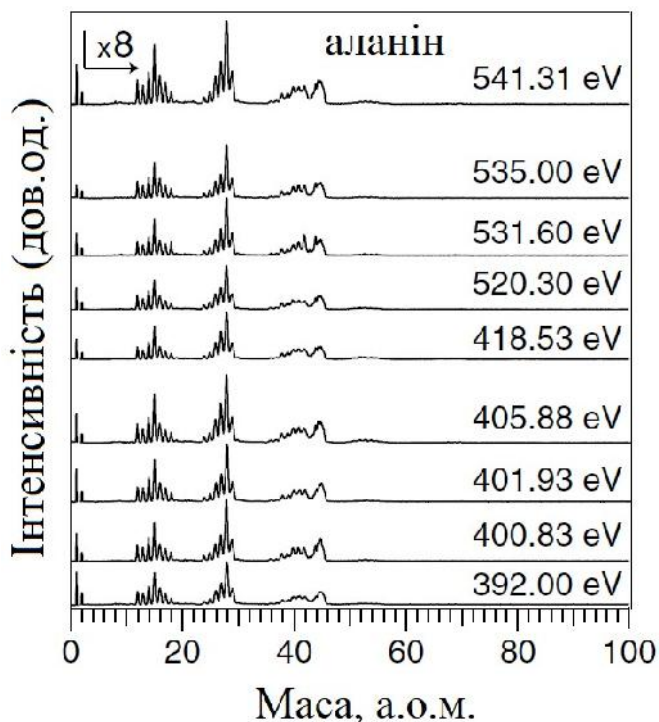


Рис. 2.23. Часопролітні мас-спектри L-аланіну [77].

наступна дисоціація з перестановкою призводить до появи більш легких фрагментів.

Фрагментація молекули α -аланіну під дією рентгенівського випромінювання енергією від 280 еВ до 550 еВ спостерігалася у роботі [78]. Виміряні криві виходу іонів (див. рис. 2.24) дозволили авторам виявити основні канали дисоціативної іонізації досліджуваної молекули. Домінуючим фрагментом виявився іон COOH^+ , а зростання виходу іона COO^+ та спад виходу іона COOH^+ були пов'язані з можливим розривом зв'язку O–H.

Вихід іонних фрагментів молекули L-аланіну під дією випромінювання гелієвої лампи (енергія фотонів 21,21 еВ) досліджувався у роботі [56] за допомогою часопролітного мас-спектрометра. Авторами були знайдені парціальні іонні виходи (коефіцієнти гілкування) та розподіли іонів за кінетичними енергіями. Отриманий мас-спектр загалом подібний до спектру, отриманого при іонізації молекули електронами енергією 70 еВ [40], що свідчить про те, що дисоціативна іонізація, викликана електронним ударом,

також пов'язана з процесами збудження низькоенергетичних валентних орбіталей.

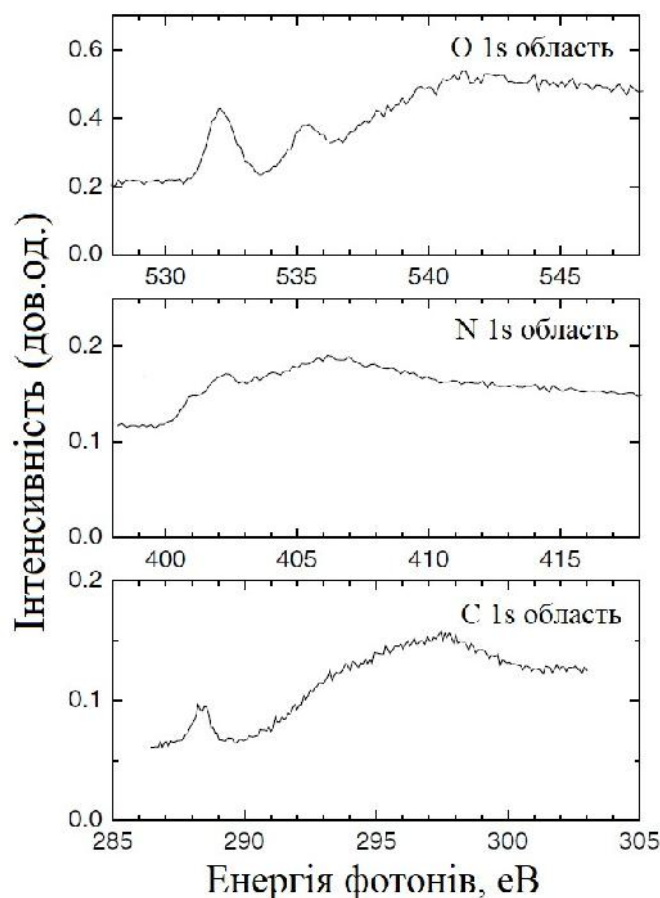


Рис. 2.24. Криві виходу іонних фрагментів молекули α -аланіну [78].

Спектри рентгенівської фотоemisії та спектри поглинання молекули аланіну у газовій фазі експериментально досліджувалися у роботі [79] та підтверджувалися теоретичними розрахунками із застосуванням *ab initio* підходу. Обидва типи виміряних спектрів продемонстрували вплив ефектів, пов'язаних з конформерами досліджуваної молекули, хоча у випадку фотопоглинання їх доволі важки виділити. Автори пов'язали це з енергетичними зсувами різного знаку для діркових станів остову та незаселених орбіталей, що може викликати їх часткове маскування.

Мас-спектр молекули L-аланіну при іонізації електронним ударом енергією 70 eV у пучках, що перетинаються, був виміряний авторами роботи [80] (див. рис. 2.25). Одночасно були виміряні функції виходу ряду іонних

фрагментів досліджуваної молекули, з аналізу яких були встановлені абсолютні потенціали появи відповідних іонів (див. рис. 2.26).

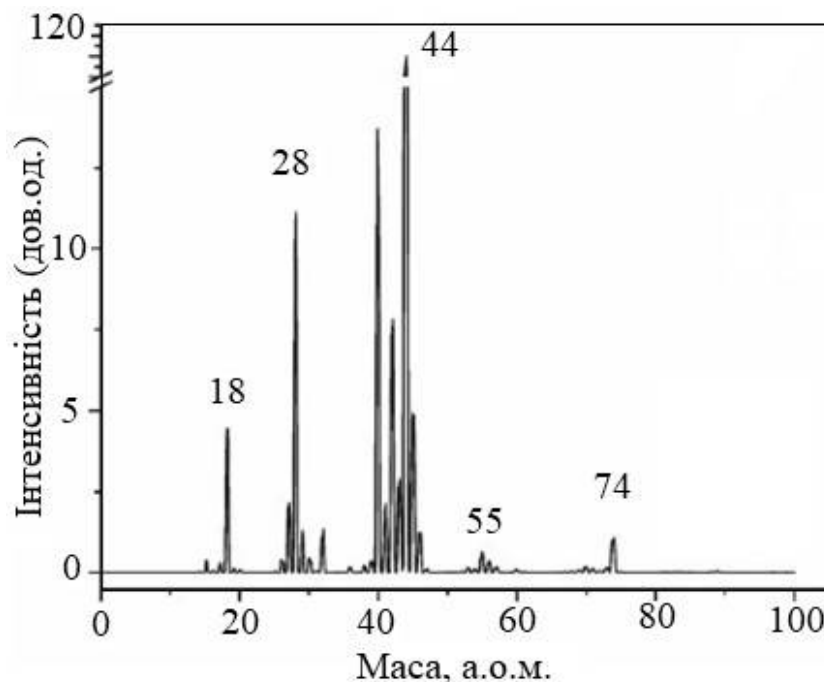


Рис. 2.25 Мас-спектр молекули L-аланіну отриманий іонізацією електронами енергією 70 еВ [81].

Проведені теоретичні розрахунки із застосуванням ТФГ дозволили здійснити ідентифікацію основних іонних компонент мас-спектру. Експериментально виміряне значення енергії іонізації материнської молекули аланіну ($m = 89$ а.о.м.) склало $9,12 \pm 0,1$ еВ, а потенціали появи іонних фрагментів $m = 74$, 44 та 28 а.о.м. становили $10,74 \pm 0,1$; $9,10 \pm 0,05$ та $10,85 \pm 0,1$ еВ, відповідно.

У роботі [81] досліджувалися хімічні реакції аліфатичних амінокислот, зокрема, аланіну, у твердій фазі під дією ВУФ-випромінювання. Поєднання технік мас-спектрометричного аналізу та рідинної хроматографії дозволили визначити квантові ефективності утворення димерів аланіну для різних довжин хвиль опромінення. Отримані мас спектри плівки аланіну під дією ВУФ-випромінювання чітко вказали на те, що при цьому відбуваються реакції деамінації та декарбоксилації.

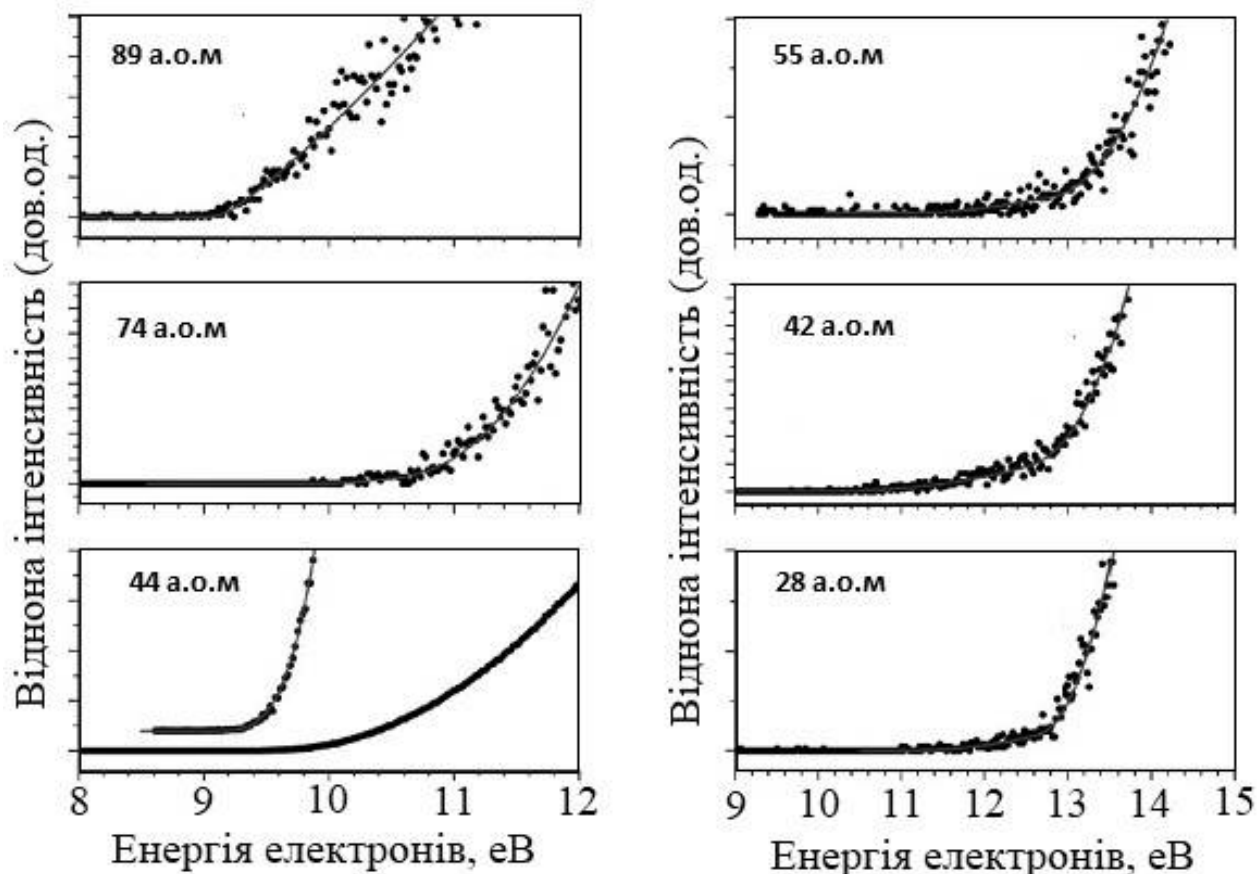


Рис. 2.26. Криві ефективності виходу іонних фрагментів молекули аланіну із визначеними абсолютними потенціалами появи останніх [80].

Структура радикалів-катіонів молекули аланіну та її фрагментація розраховувалися у ТФГ на рівні B3LYP/6-31CCG(d,p). Було встановлено високу ефективність протікання реакції відокремлення радикалу COOH^+ , а також показано, що геометричні структурні зміни у процесі іонізації можна пояснити вузловими властивостями відкритої орбіталі. І, нарешті, із застосуванням теорії гібридного функціоналу густини (метод B3LYP/aug-ccpVDZ) були досліджені 10 нижніх конформерів α -аланіну [82]. Розраховані потенціали іонізації виявили хороше узгодження з наявними експериментальними результатами інших авторів [83].

2.3.4 Молекула триптофану

Фотодисоціація молекул триптофану на довжинах хвиль випромінювання 212,8 та 193 нм, що відповідають збудженню другої та третьої смуг поглинання, досліджувалася у роботі [84] з застосуванням методики іонного відображення. При цьому спостерігався єдиний канал дисоціації вихідної молекули: $C_8NH_6CH_2CHNH_2COOH \rightarrow C_8NH_6CH_2 + CHNH_2COOH$. Швидкість дисоціації становила $1,3 \cdot 10^6$ та $5 \cdot 10^6$ s^{-1} , відповідно, для двох вказаних довжин хвиль випромінювання. Порівняння з даними теоретичних розрахунків дозволило авторам зробити висновок про те, що дисоціація має місце після внутрішньої конверсії основного стану.

У роботі [85] шляхом вимірювання спектрів поглинання та визначення часів дисоціації було встановлено основні канали розпаду протонованих молекул триптофану у процесі їх фотозбудження випромінюванням ЕКСPLA лазера у присутності 19-краун-СЕ-ефіру. Було встановлено, що приєднання краун-ефіру суттєво впливає на канали та часи дисоціації триптофану, оскільки це запобігає руйнуванню зв'язку N–H, який відповідає саме за основний канал фрагментації "чистого" протонованого триптофану. У діапазоні довжин хвиль лазерного випромінювання від 210 до 290 нм. спостерігалися значні зміни коефіцієнтів гілкування фрагментів.

У роботі [86] було отримано часопролітні мас-спектри молекули триптофану. Домінуючим у спектрі є пік материнської молекули ($m=204$ а.о.м.), а другий за інтенсивністю пік при $m=130$ а.о.м. пов'язувався авторами з каналом дисоціації через розрив зв'язку $C_\alpha-C_\beta$, пов'язаний з фотофрагментацією материнського іона.

Виміряний у цій же роботі спектр двофотонної іонізації молекули триптофану під дією випромінювання Nd:YAG-лазера з довжиною хвилі у діапазоні 289–278 нм демонструє чітку структуру, яку автори роботи пов'язували саме з молекулою триптофану, а не з ван-дер-Ваальсівськими молекулами кластерів.

У роботі [87] з використанням техніки квадрупольної іонної пастки було виміряно спектри фотодисоціації протонованого іона триптофану у діапазоні довжин хвиль лазерного випромінювання від 215 до 320 нм. Продемонстровано значний перехід між 290 та 240 нм та особливість на довжині хвилі 225 нм. Канали дисоціації вихідної молекули сильно залежали від енергії лазерного випромінювання.

Крім того, авторами були визначені перерізи фото дисоціації, оцінено еволюцію продуктів процесу фрагментації зі зміною довжини хвилі лазера та встановлено основні канали дисоціації вихідної молекули.

Дисоціативне прилипання повільних (енергією <10 eV) електронів до молекул триптофану у газовій фазі досліджувалося у роботі [88].

Спостерігався вихід іонів-фрагментів масами $m=16, 17, 26, 45, 74$ та 203 а.о.м. Їх вихід може бути викликаний простим розривом зв'язків (наприклад, водневих), або ж більш складним механізмом молекулярної переорієнтації негативного іона триптофану. Цікаво, що основні процеси дисоціації відбувалися при енергіях електронів, нижчих ніж поріг електронного збудження.

Електронна структура молекули триптофану досліджувалась методом рентгенівської фотоemisійної спектроскопії у роботі [89]. Було встановлено чітку картину прояву конформаційного ізомеризму. Теоретичні розрахунки показали, що зміни у вертикальній енергії збудження для різних конформерів є незначними.

Ab initio розрахунки, виконані для молекули протонованого триптофану [90] виявили надзвичайно важливу роль $\pi\sigma^*$ стану, локалізованого на амінній групі, у динаміці збудження вихідної молекули. Цей стан лежить поблизу найнижчого збудженого $\pi\pi^*$ -стану і відповідає за ефективну фрагментацію молекули під дією УФ-випромінювання. Сильний зв'язок локально збудженого стану $\pi\pi^*$ з дисоціативним станом $\pi\sigma^*$ відбувається у випадку,

якщо протонувана амінна група розташована над індольним хромофором. Часи дисоціації при цьому становлять декількох пікосекунд.

Експериментально спостережений експоненціальний характер розпаду молекули протонованого триптофану пов'язувався авторами з наявністю двох ротамерів. Взаємодія протона з гідроксильною групою стабілізувала $\pi\sigma^*$ -стан, а вказані ротамери власне і викликали часи життя збуджених молекул, порядку одиниць пікосекунд. Оптимізація збуджених станів триптофану вздовж осей координат дисоціації дозволила порівняти дисоціацію при розриві N–H-зв'язку з передачею атома водню N–H \cdots O=C (або N–H \cdots (H)O–C).

2.4 Висновки до роділу

Провівши аналіз загального стану вивчення проблем іонізації та фрагментації молекул амінокислот гліцину, метіоніну, аланіну та триптофану можна зробити наступний висновок:

1. Переважна кількість наявних у літературі матеріалів з фрагментації молекул амінокислот присвячена фотоіонізації.
2. Інформація щодо виходу іонних фрагментів внаслідок електронного удару далеко не вичерпна та у багатьох випадках суперечлива.
3. Результати досліджень, отримані з використанням техніки фотоіонізації, які були розглянуті у даному розділі, є дуже корисними, та надалі будуть використовуватися для порівняння з отриманими нами експериментально.

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКА МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА МЕТОДИКА ВИМІРЮВАНЬ.

Відповідно до матеріалу, викладеного у розділах 1 та 2, та поставленої мети роботи, стає очевидним, що для проведення експериментальних досліджень з вивчення процесів взаємодії низькоенергетичних електронів з молекулами амінокислот найкращим є мас-спектрометричний метод. Але потрібно пам'ятати, що амінокислоти мають невисоку термостабільність [91]. У такому випадку при мас-спектрометричних дослідженнях часто замість прямого термічного випаровування застосовують інші методи переведення молекул у газову фазу з одночасною м'якою іонізацією. Наприклад, методи МАЛДІ та електророзпилення, розглянуті у попередньому розділі. У той же час ці методи підходять в основному для аналітичних узагальнень, тоді як для вирішення поставленої в даній роботі задачі дослідження найбільш придатним є метод іонізації електронним ударом. Універсальність, надійність та більш зрозуміла фізична сутність формування реєстрованих іонів є безперечними перевагами цього методу.

Провівши детальний огляд наявних на сучасному етапі методик досліджень та зваживши їх переваги і недоліки (див. розділ 2), нами було вирішено використати модернізований магнітний мас-спектрометр МІ1201. У цьому розділі ми детально розглянемо експериментальний апаратно-вимірювальний комплекс, а також процедуру його модернізації та методику експериментальних досліджень.

3.1 Експериментальна установка з магнітним мас-спектрометром МИ1201

Магнітні мас-спектрометри МИ1201 отримали широке застосування в різних дослідницьких установах ще в 70–80-х роках минулого століття [92]. На сьогодні деякі елементи цих досить дорогих комплексів трохи застаріли і вичерпали свій ресурс. Тим не менше, за умови відповідної модернізації МИ1201, він може успішно експлуатуватися і надалі.

Так, спеціально для модернізації мас-спектрометрів серії МИ1201 заводом-виробником (ВАТ «SELMI», м. Суми) була розроблена система управління і розгортки (СУР), пов'язана з керуючою ЕОМ типу IBM PC [93]. Цифрова обробка даних, завдяки використанню ЕОМ, значно спростила налаштування і керування мас-спектрометром, підвищила точність кількісних вимірів.

Недоліком даної заводської модернізації було те, що дана вона не торкнулася блоків живлення електронної гармати та силових блоків живлення електромагніту аналізатора мас спектрометра. Заводські блоки керування електронною гарматою могли працювати тільки з заводськими джерелами іонів з 2-х електродною гарматою та фокусуванням пучка електронів шляхом використання поздовжнього магнітного поля. Стандартні джерела іонів МИ1201 призначалися для аналізу ізотопного складу тільки речовин в газоподібному стані або пари металів та їх сплавів. Без конструктивних змін вони не можуть використовуватися для дослідження речовин в порошкоподібній або рідкій фазах. Враховуючи ці недоліки раніше було проведено подальшу модернізацію мас-спектрометра, яка включила у себе адаптацію джерела іонів для роботи з порошкоподібними речовинами та розробку 3-х електродної гармати, а також розробку нових та удосконалення існуючих функціональних модулів магнітного мас спектрометра.

На рис. 3.1 зображено загальну блок схему принципу роботи магнітного мас-спектрометра. На рис. 3.2 дано загальний вигляд експериментальної установки МИ-1201.

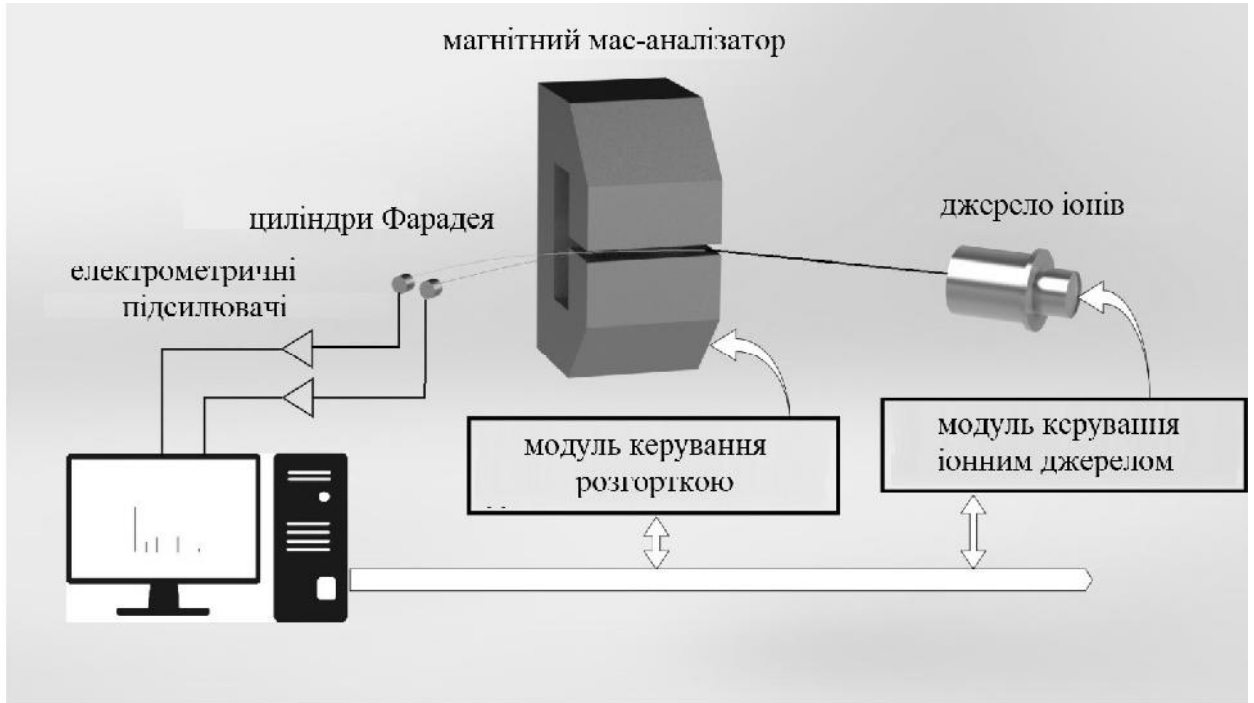


Рис. 3.1. Загальна схема магнітного мас-спектрометра.



Рис. 3.2. Загальний вигляд експериментальної установки з магнітним мас-спектрометром МИ-1201 лабораторії мас-спектрометрії.

Вакуумна система мас-спектрометра складається із трьох частин: форвакуумної, високовакуумної та системи напуску газів для калібрування приладу (див. рис. 3.3). Попереднє розрідження у системі створюється форвакуумною помпою пластинчасто-роторного типу Leroy Somer LS80PA. Відкачка виконується через так званий форвакуумний балон (ФБ). Джерело іонів може відкачуватися напряму через вентиль В2 напряму без балона.

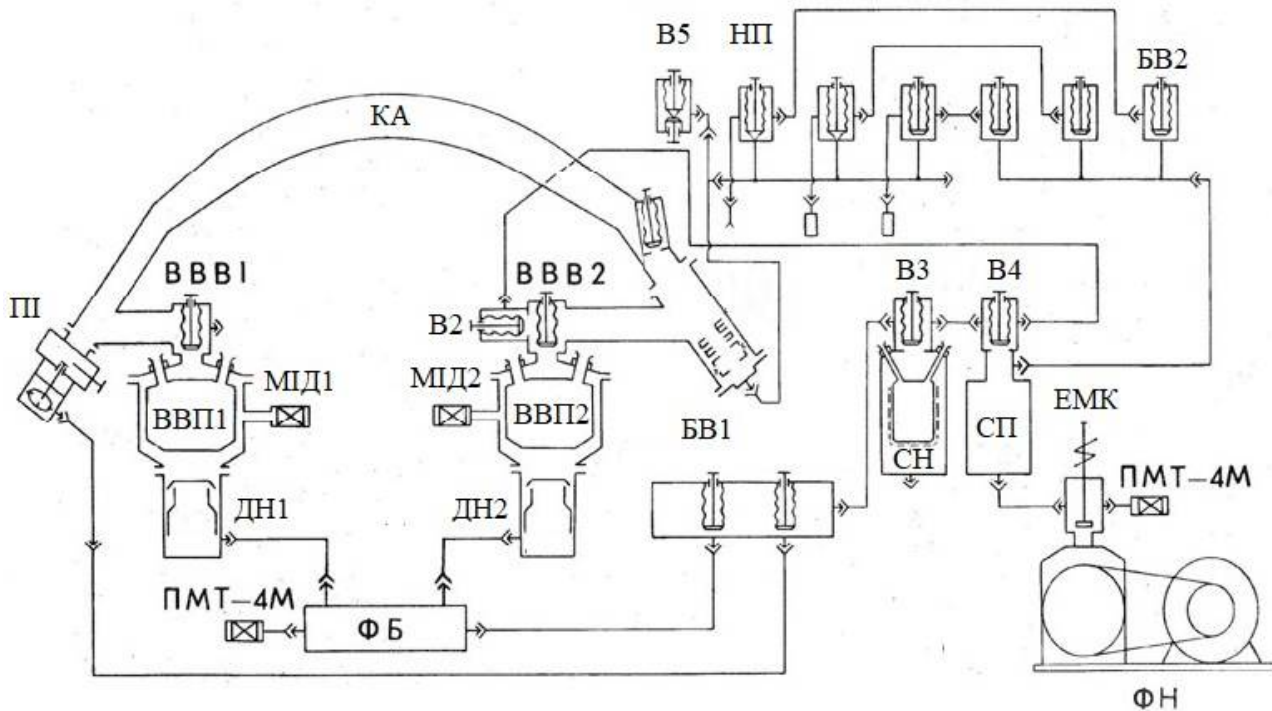


Рис. 3.3. Схема вакуумної системи мас-спектрометра МІ-1210.

МІД – магніто-іонізаційний датчик. ВВВ – високовакуумний вентиль.
 КА – камера аналізатора. ФБ – форвакуумний балон. ФН – форвакуумна помпа. ПМТ – перетворювач манометричний термопарний. БВ – байпасний вентиль. ЕМК – електромагнітний клапан. СН – сорбційний насос.
 СП – сорбційна пастка. ДН – дифузійна помпа. ВВП – високо вакуумна пастка. ДЖІ – джерело іонів. ПІ – приймач іонів.

Високий вакуум досягається диференційною відкачкою за допомогою дифузійних pomp із максимальним тиском на виході $1,3 \cdot 10^{-5}$ Па.

3.2 Система формування пучків. Модернізоване джерело іонів мас-спектрометра МІІ1201

В основі принципу роботи джерела лежить метод пучків, що перетинаються. А саме – потік молекул M , отриманий ефузійним джерелом, перетинається з пучком електронів заданої наперед енергії під кутом 90° . Власне процес взаємодії, а саме – іонізація молекул – відбувається у так званій камері зіткнень.

На рис. 3.4 зображена об'ємна модель модернізованого джерела іонів мас-спектрометра.

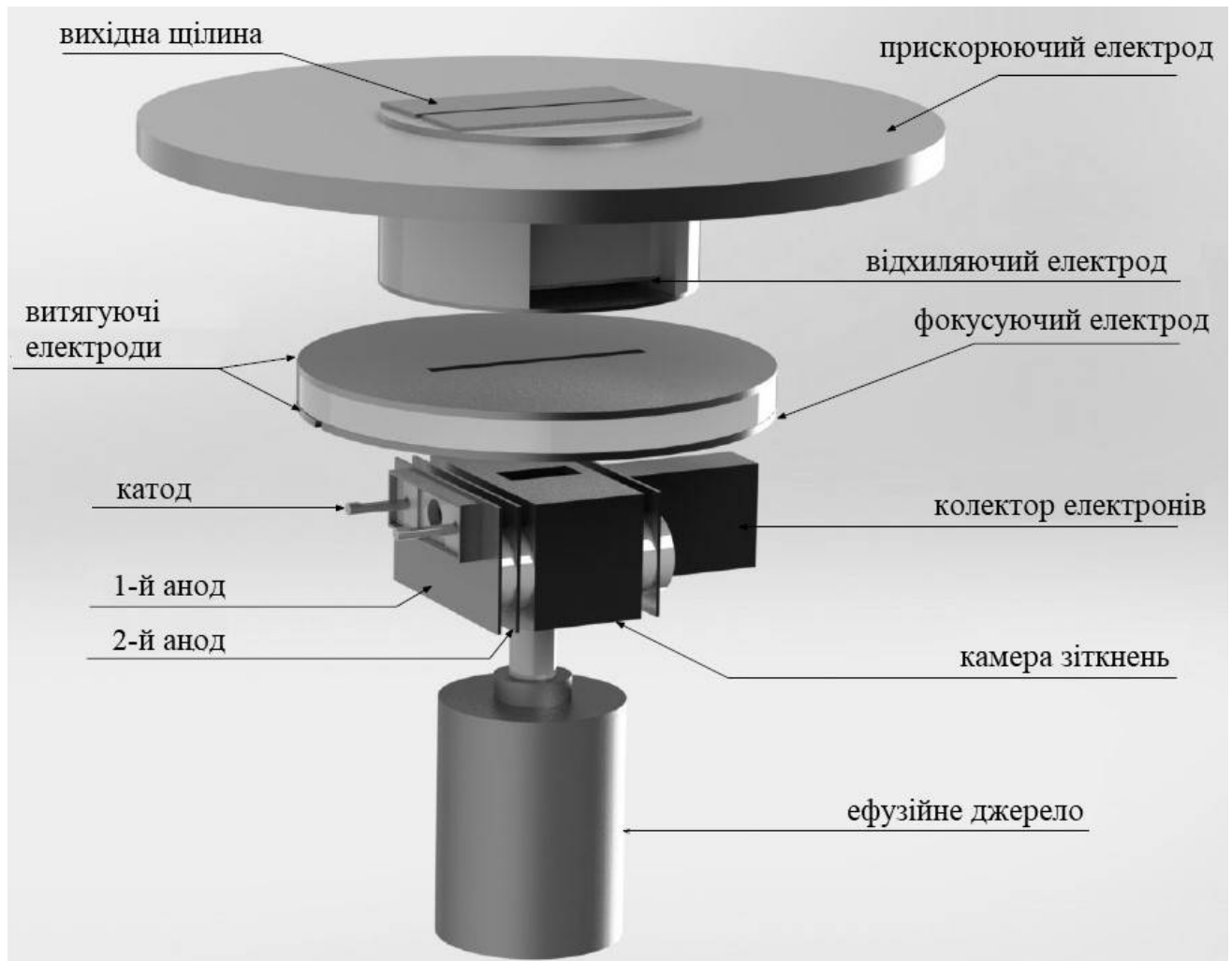


Рис. 3.4. Загальний вигляд модернізованого джерела іонів.

Джерело іонів конструктивно можна поділити на такі складові:

- Термічне ефузійне джерело з резистивним нагрівачем;
- Трьохелектродна електронна гармата;
- Камера зіткнень;
- Система електростатичних лінз формування іонного пучка.

3.2.1 Ефузійне джерело

Для отримання молекулярного пучка нами було використано ефузійне джерело з резистивним нагрівом досліджуваної речовини. Ефузійне джерело каналного типу часто використовують у мас-спектрометрії [94]. Це є один із основних типів джерел, які дають змогу отримати молекулярні пучки низької енергії. Як випливає з назви, у цих джерелах використовується явище ефузії частинок – витікання газу через отвір [95]. Вперше молекулярний пучок таким методом був отриманий у 1911 р. [95].

Як відомо, параметри потоку газу, що проникає у вакуум через діафрагму, товщина стінки якої мала у порівнянні з розмірами отвору, можуть бути легко розраховані на основі кінетичної теорії [94]. Загальна кількість молекул N , які вилітають з джерела за одиницю часу:

$$N = \frac{1}{4} nca, \quad (3.1)$$

де: n – число молекул у одиниці об'єму, c – середня швидкість молекул маси m , a – площа отвору ефузійного джерела. Якщо виразити ці змінні через відповідні співвідношення $n = \frac{p}{kT}$ та $c = (8kT/\pi m)^{1/2}$, де $k = \frac{R}{N_0}$ – стала Больцмана, N_0 – число Авогадро, ми отримуємо [94]:

$$N = \frac{pa}{(2\pi mkT)^{1/2}}. \quad (3.2)$$

Потік газу кількісно виразимо у грамах за одиницю часу (г/сек). Тоді отримаємо наступне:

$$G = N_m = \frac{pam^{1/2}}{(2\pi mkT)^{1/2}} = \frac{pAM^{1/2}}{(2\pi RT)^{1/2}}. \quad (3.3)$$

Даний вираз справедливий тільки у тому випадку, якщо молекула, пролітаючи через отвір діафрагми, не зазнає зіткнень з іншими молекулами. Тобто, середня довжина вільного пробігу λ молекул у джерелі повинна бути велика у порівнянні з діаметром отвору $d - \lambda \gg d$. Як правило, λ рівне кільком значенням d . Такі умови є оптимальними для формування гідродинамічного струменя газу.

У реальному випадку отвір у діафрагмі являє собою не ідеальний отвір, а є каналом певного перерізу.

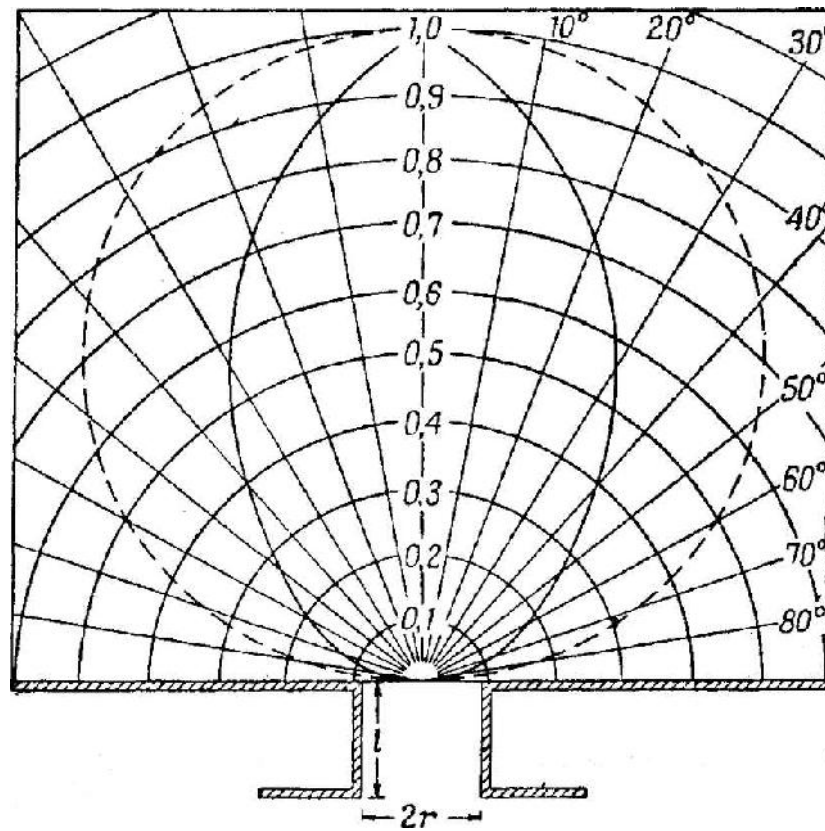


Рис. 3.5. Кутовий розподіл молекул, які вилітають з короткого каналу ефузійного джерела [94].

На рис. 3.5 зображено (суцільна лінія) кутовий розподіл молекул, що ефундують з каналу джерела, круглого перерізу у випадку, коли $b = 2r = L$.

Враховуючи викладене вище, в якості джерела іонів мас спектрометра МИ2101 нами було виготовлено спеціальне ефузійне джерело. На рис. 3.6 зображено розроблене нами ефузійне джерело молекул. Джерело молекул

являє собою тонкостінний резервуар з нержавіючої сталі \varnothing 15 мм, в якому розміщується досліджувана речовина (порошок). Резервуар забезпечений паропроводом з керамічної трубки \varnothing 4 мм і довжиною 10 мм, що ізолює його від постійного струму та від іонізаційної камери. Потік молекул M формується розташованим безпосередньо на вході в камеру каналом \varnothing 2 мм. Необхідна

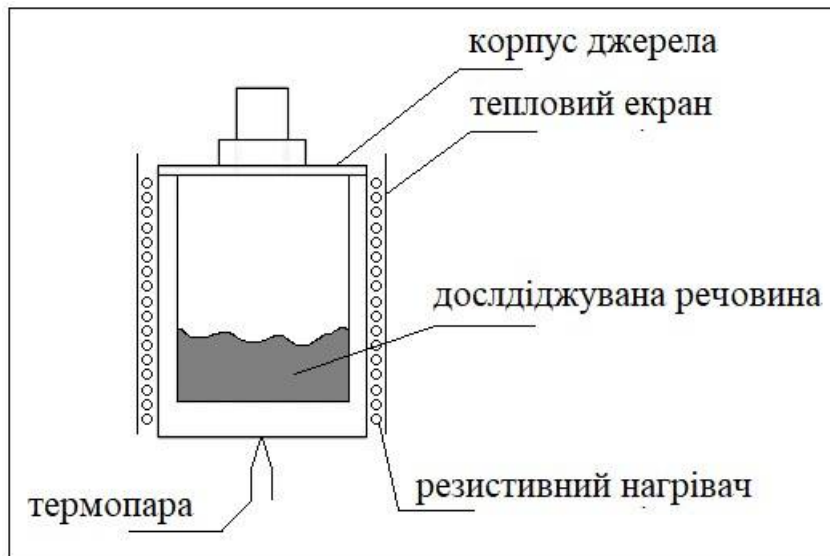


Рис. 3.6. Розроблене у роботі ефузійне джерело.

для досліджень концентрація молекул створюється термічним нагріванням резервуару вольфрамовим нагрівачем, що живиться від стабілізованого джерела живлення. Для ізоляції витків нагрівача використані керамічні трубки. Також для зменшення теплових втрат джерело ізольовано тепловим екраном з нержавіючої сталі. Температура резервуара вимірюється градуйованою термопарою К-типу (хромель-алюмель).

3.2.2 Електронна та іонна оптика джерела іонів

Джерело електронів складається з мініатюрної електронно-оптичної системи з трьох анодів, колектора електронів і катода непрямого або прямого розжарення. У електродах гармати A_1 , A_2 , A_3 , виготовлених з полірованих пластинок з ніхрону розміром 7×15 мм² і товщиною 0,4 мм, є отвори $\varnothing 1,5$ мм, що формують пучок круглого перерізу. Проміжок у 1 мм між

електродами гармати фіксується керамічними шайбами. Прискорюючим електродом A_3 служить бокова стінка іонізаційної камери. Пучок електронів проходить крізь протилежну до електрода A_3 стінку камери у колектор. Отвір у цьому електроді камери збільшено до 6 мм, щоб потік електронів реєструвався коректно з урахуванням його кутового відхилення і впливу на його траєкторію провисання у камеру витягуючого іони потенціалу. В якості колектора електронів служить циліндр Фарадея. Глибина колектора і форма його дна виключають вплив вторинної емісії на результати вимірювання струму пучка.

Іонно-оптична система формує пучок іонів шляхом його колімування за допомогою щілин заданої конфігурації та фокусування електростатичним полем. Оптична система складається з витягаючої та прискорюючої лінз з додатковими фокусуючим та відхиляючим електродами. Іони, що утворилися в області проходження електронного пучка в камері зіткнень, виводяться через щілину під дією електричного поля, яке створюється витягуючим електродом. Витягуючий електрод розміщується безпосередньо над камерою зіткнень на відстані 1,5–2 мм. Далі іони отримують прискорення між витягуючим та прискорюючим електродами. Іонний пучок формується двома послідовно розміщеними щілинами прискорюючого електрода. Напрямок іонного пучка може бути кориговано поперечним електричним полем між відхиляючими електродами. Змінюючи значення напруги на відхиляючому електроді, можна проводити корекцію іонного пучка.

Таким чином, модернізований варіант джерела іонів МИ1201 дозволяє працювати з молекулами в газовій фазі і дослідити ефективність їх фрагментації під дією електронного удару в діапазоні енергій електронів, від порога, до 100 еВ. Енергетична неоднорідність електронів в цьому діапазоні не перевищує 0,5 еВ, а крок зміни енергії електронів можна задавати дискретно від 0,01 еВ.

3.2.3 Магнітний мас-аналізатор мас-спектрометра

Мас-спектрометр обладнаний статичним аналізатором мас, а саме аналізатором із аксіально-симетричним полем. Такого роду мас-аналізатори мають велике практичне значення. На рис. 3.7 показана схема магнітного аналізатора.

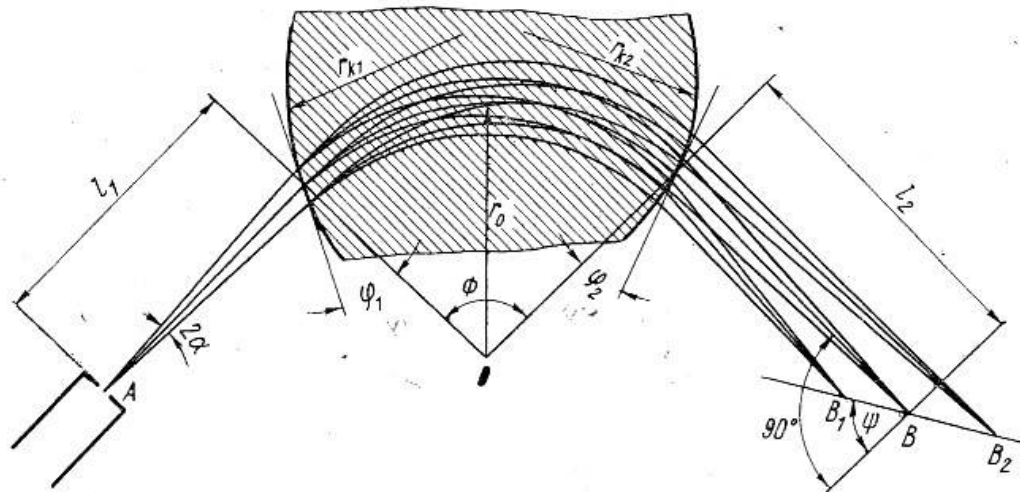


Рис. 3.7. Схема магнітного мас-аналізатора із зображеними траєкторіями руху пучків заряджених частинок [96].

Загальний принцип роботи магнітного мас-аналізатора був розглянутий у попередньому розділі. Опишемо його роботу трохи детальніше. Так само як і в монопольних чи квадрупольних мас-аналізаторах, у даному аналізаторі іонний пучок розділяється на складові частини за величиною співвідношення m/z , кожна з яких фокусується за напрямком. Іони, попередньо прискорені та сформовані у пучок, виходять з джерела іонів з апертурним кутом (кутом розбіжності) у площині, перпендикулярній до напрямку магнітного поля. Відповідно, іони з різними значеннями m/z рухаються круговими траєкторіями різної кривизни.

Радіус такої траєкторії визначається за умови динамічної рівноваги відцентрової F_1 та доцентрової F_2 сил, що діють на іон який рухається у магнітному полі нормально до напрямку силових ліній [96]:

$$F_1 = \frac{mv^2}{r}, \quad F_2 = Bqv, \quad (3.4)$$

де m – маса іона, v – швидкість іона, B – магнітна індукція, q – заряд іона. Звідси радіус траєкторії буде:

$$r = \frac{mv}{qB}. \quad (3.5)$$

Швидкість іона визначається з умови:

$$\frac{mv^2}{2} = qU, \quad (3.6)$$

де U – різниця потенціалів, пройдена іоном у прискорюючому електричному полі джерела іонів. Таким чином із формул (3.4) та (3.5) маємо

$$r = \frac{1}{B} \sqrt{\frac{2mU}{q}}. \quad (3.7)$$

Іонно-оптичні властивості магнітних мас-аналізаторів характеризуються величиною дисперсії і якістю фокусування іонного пучка. Величина дисперсії, яка визначає просторову роздільну здатність мас-аналізатора, залежить від співвідношення:

$$D = 0,01 \frac{r_0}{1 + A_1}, \quad (3.8)$$

де r_0 - радіус центральної траєкторії іонного пучка; A_1 - коефіцієнт неоднорідності поля, який характеризує форму профілю полюсних наконечників магніту ($-1 < A_1 \leq 0$).

Фокууючі властивості магнітних мас-аналізаторів характеризуються так званим розмиттям (збільшенням ширини) іонного пучка в фокальній площині в порівнянні з шириною об'єкта [96]. Ширина “об'єкта” S_2 рівна сумі ширин “об'єкта” S_1 та всіх аберацій:

$$S_2 = S_1 + \sum S. \quad (3.9)$$

Для симетричних магнітних мас-аналізаторів з однорідним полем (яке використано в установці МИ1201) можна записати такі співвідношення:

- Радіус центральної траєкторії іонного пучка (для однозарядних іонів):

$$r_0 = \frac{14.4}{B} \sqrt{MU} , \quad (3.10)$$

де B – індукція, M – масове число іона а.о.м., U – різниця потенціалів прискорюючої напруги;

- дисперсія мас аналізатора (на 1% відносної різниці мас) $D = 0,01r_0$;
- довжина “плеча”:

$$l_0 = r_0 \operatorname{ctg} \frac{\Phi}{2} ; \quad (3.11)$$

- довжина центральної траєкторії іонного пучка:

$$b_0 = 2l_0 + r_0 \Phi = r_0 \left(2 \operatorname{ctg} \frac{\Phi}{2} + \Phi \right) ; \quad (3.12)$$

- радіус кривизни границь магнітного поля

$$r_k = r_0 \operatorname{ctg}^3 \frac{\Phi}{2} ; \quad (3.13)$$

- роздільна здатність (наближене значення)

$$R = \frac{r_0}{2 \cdot \left(S_1 + r_0 \alpha^3 + r_0 \frac{\Delta U}{U} \right)} , \quad (3.14)$$

де S_1 – ширина вихідної щілини джерела іонів, ΔU – розподіл іонів за енергією, U – енергія іонів, еВ.

3.2.4 Система живлення функціональних блоків мас-спектрометра та їх керування

Особливо важливим є те, щоби процес вимірювання ефективності іонізації і фрагментації вихідних молекул був якомога автоматизований. Це дає змогу підвищити швидкість та точність проведення експерименту.

Розроблена система є мультиконтролерною модульною системою, кожен функціональний модуль якої є закінченим приладом. Системи збору даних виконані на базі мікроконтролерів, які контролюють роботу певних аналогових кіл та можуть бути підключені у єдину цифрову мережу якщо це

необхідно. Дане рішення часто застосовується у сучасній електроніці. У системі такого типу персональний комп'ютер під'єднується тільки за допомогою інтерфейсу USB та працює тільки з цифровими сигналами які попередньо вже оброблені відповідними функціональними модулями. Цифрова мережа працює за протоколом Controller Area Network (CAN). CAN (локальна мережа контролерів, він же CAN-Bus і Інтерфейс CAN) — стандарт, призначений для організації високонадійних та недорогих каналів зв'язку у розподілених системах керування.

На рис. 3.7 зображено загальну блок-схему системи реєстрації.

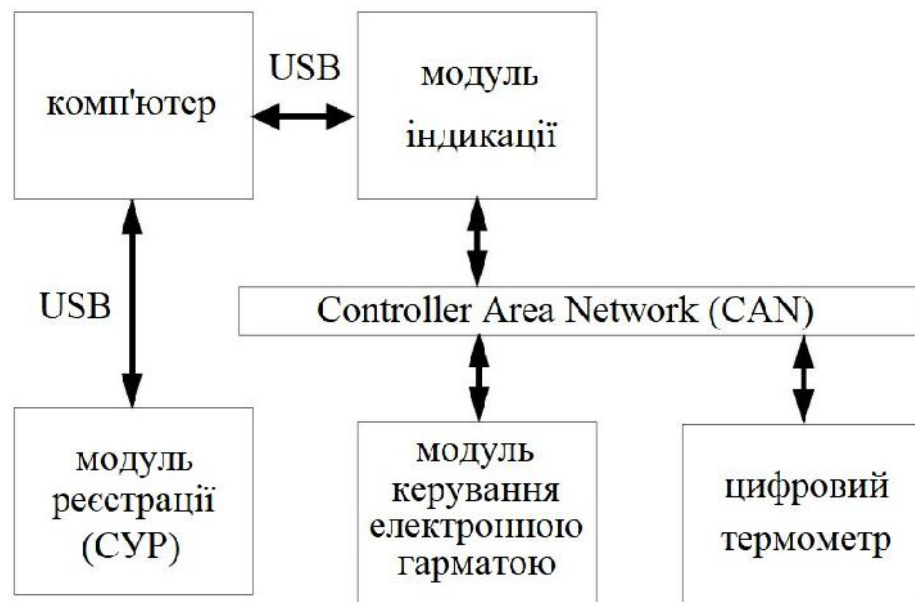


Рис. 3.7. Загальна блок-схема системи реєстрації.

Для забезпечення безпеки роботи з колами живлення високої напруги (4 кВ) з боку цифрових інтерфейсів всі модулі оснащені спеціальними промисловими CAN-трансмiтерами фірми Analog Devices які мають оптичну розв'язку з максимально допустимою різницею потенціалів 5 кВ. З боку мережі живлення 220 В встановлені спеціально виготовлені розв'язуючі трансформатори тороїдального типу з номінальною потужністю 700 ВА та випробувальною напругою не менше 6 кВ.

На рис. 3.8 зображена блок-схема модуля живлення та керування електронної гармати.

Основні характеристики модуля живлення та керування електронної гармати:

1. Діапазон енергій іонізуючих електронів $E = 2,5-100$ еВ при моноенергетичності $< 0,5$ еВ.
2. Діапазон регулювання струму емісії катода $I_k = 1-50$ мкА.
3. Стабільність струму емісії електронів $-\pm 1$ %.
4. Діапазон регулювання струму розжарення катода $I_D = 0,1-4,0$ А.

Система розгортки мас-спектрометра є надзвичайно складною системою, у якій основним блоком є джерело струму для живлення електромагніта з фіксованим стабільним вихідним струмом порядку $\pm 2-5 \cdot 10^{-3}$ % протягом 20 хвилин за дрейфом. Діапазон регулювання струму через магніт складає $0,15 - 6,0$ А.

Розгортка працює повністю в автоматичному режимі, та виконується, як правило, згідно з експоненціальним законом. Система розгортки забезпечує автоматичне повторення циклу розгортки з регулюванням швидкості та ширини діапазону. На рис. 3.9 зображена блок-схема модуля розгортки мас спектрометра МИ1201.

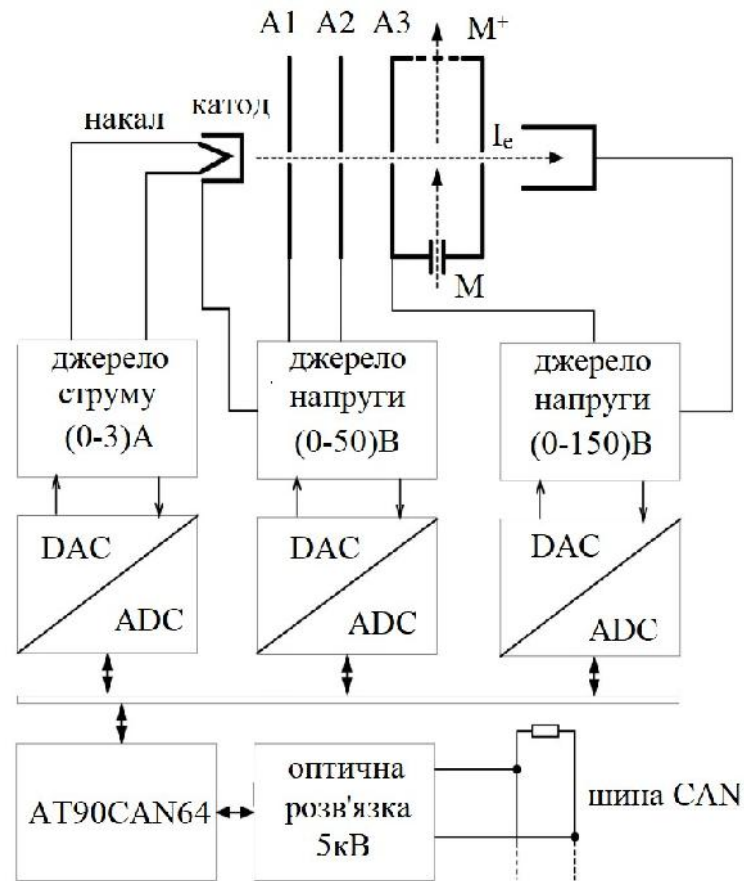


Рис. 3.8 Блок-схема модуля живлення та керування електронної гармати.

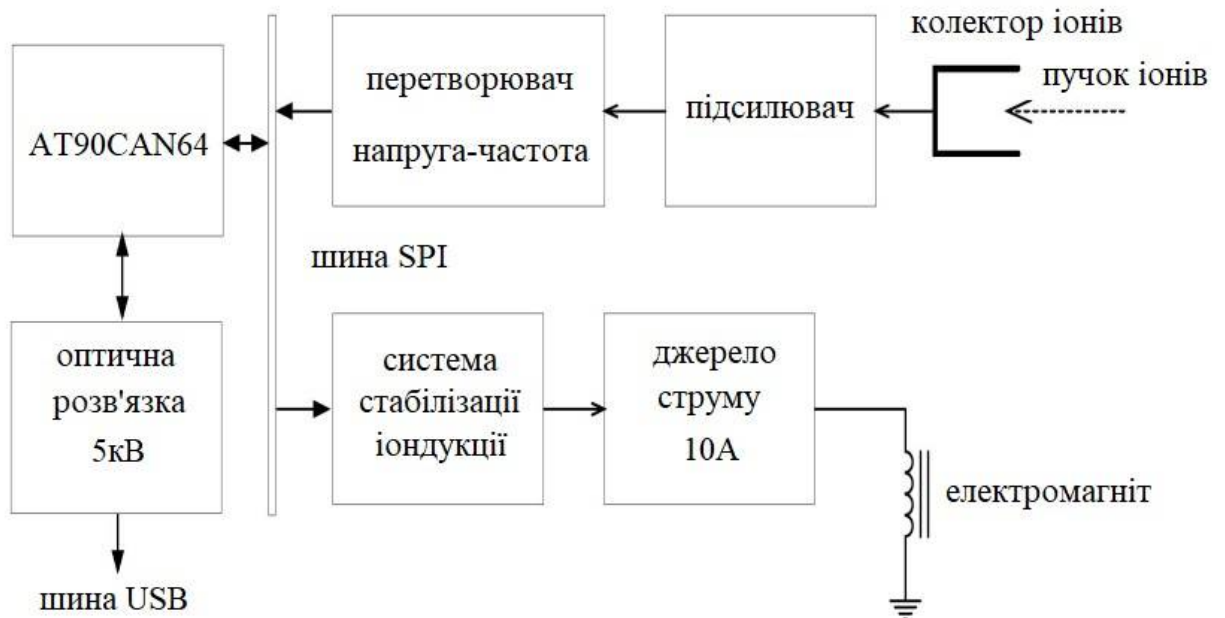


Рис. 3.9 Блок-схема модуля розгортки.

Для забезпечення довготривалої роботи у режимі максимального навантаження, джерело струму електромагніта аналізатора оснащено додатковим рідинним охолодженням.

Основні характеристики мас-аналізатора:

- Діапазон вимірювання за масовими числами, а.о.м. - 0,5–700 (при прискорюючій напрузі 5 кВ).
- Роздільна здатність мас-спектрометра при вимірюванні на рівні 10% висоти піків – не гірше 1000.
- Поріг чутливості підсилювача іонного струму – $1 \cdot 10^{-16}$ А.
- Робочий тиск у камерах аналізатора та джерела іонів: $3-7 \cdot 10^{-6}$ Торр.

3.3 Методика вимірювань

Зразок досліджуваної речовини був поміщений у вище описану ефузійну комірку циліндричної форми. Джерела електронного та молекулярного пучків вводилися в оптимальні режими роботи. Ефузійне джерело розігрівалося до необхідної температури, яка стабілізувалося цифровим термометром. Вимірювання температури проводилися із точністю $\pm 0,5$ °С. Як вже згадувалося, амінокислоти можуть сильно потерпати від термічної деградації при зовнішньому нагріванні [92]. Тому вказані мас-спектри вимірювалися послідовно при різних значеннях температури молекулярного джерела. Після цього визначалися температурні залежності інтенсивності їх найбільш виразних піків з метою виявлення оптимальних температурних режимів генерації потоку молекул.

Як приклад, на рис. 3.10 показано температурні залежності виходу іонного фрагмента CH_4N^+ молекул гліцину ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$) та метіоніну ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$), виміряні при енергії іонізуючих електронів 70 еВ (це значення енергії є традиційним у мас-спектрометричних дослідженнях амінокислот). Аналізуючи наведені дані, можна зробити важливий висновок про те, що у

діапазоні робочих температур 50–120°C вказані залежності мають лінійний характер (у напівлогарифмічному масштабі), що свідчить про відсутність ефекту термічної деградації при формуванні вихідних потоків досліджуваних молекул. Це твердження добре узгоджується з даними термогравіметричних досліджень L- α -амінокислот [98].

Потік молекул, сформований каналом ефузійного джерела, спрямовувався у іонне джерело мас-спектрометра перпендикулярно до пучка електронів. Енергія пучка іонізуючих електронів встановлювалася програмно в діапазоні 8–150 еВ. Робочий вакуум у джерелі іонів складав $1\text{--}2 \cdot 10^{-4}$ Па. З метою дегазації внутрішніх стінок установки перед проведенням досліджень аналітичну частину та іонізаційну камеру установки прогрівали протягом 2 годин при температурі 150°C. Мас-спектри отримувалися при постійних значеннях температури ефузійної комірки і струму емісії іонізуючих електронів та були нормовані за основним (найбільш інтенсивний пік у спектрі) піком у спектрі.

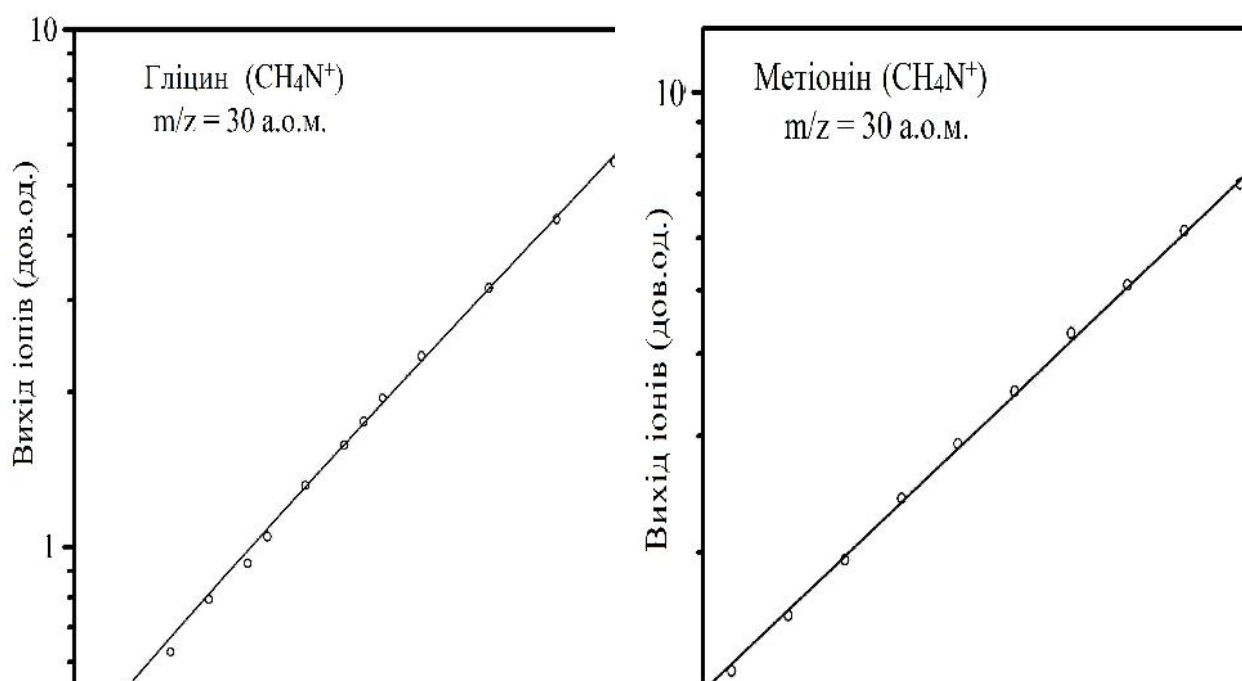


Рис. 3.10 Температурні залежності виходу іонного фрагмента CH_4N^+ молекул гліцину (зліва) та метіоніну (справа) при енергії іонізуючих електронів 70 еВ.

Модернізована система автоматизації, збору і обробки даних мас-спектрометра МІ-1201 дозволяла керувати розгорткою мас-аналізатора та скануванням енергії іонізуючих електронів за допомогою комп'ютера.

Вимірювання біляпорогових енергетичних залежностей ефективності іонізації і фрагментації проводилися у області енергій 8–12 еВ. При потребі вказаний діапазон енергій міг бути програмно змінений. Процес вимірювання відбувався автоматично, крок зміни енергії іонізуючих електронів складав 0,1–0,25 В. Виконуючи кожен наступний крок зміни енергії іонізуючих електронів, алгоритмом проводилось центрування піку з наступною фіксацією його інтенсивності.

Шкала енергій електронів калібрувалася за відомими порогоми іонізації атома аргону та молекули азоту (див. рис. 3.11а) з точністю не гірше $\pm 0,1$ еВ. Експериментальні порогови іонізації вказаних об'єктів визначалися шляхом підгонки виміряних кривих іонізації з використанням алгоритму Маркуардта-Левенберга методу найменших квадратів.

На рис. 3.11б порівнюються отримана нами крива іонізації атома аргону та аналогічна залежність, виміряна у роботі Фройнда та ін. [98]. Отримані нами результати добре узгоджуються з результатами роботи [98] та з даними бази інституту стандартів НІСТ [40]. Аналогічний висновок можна зробити і для випадку іонізації молекули азоту (див. рис. 3.11.б).

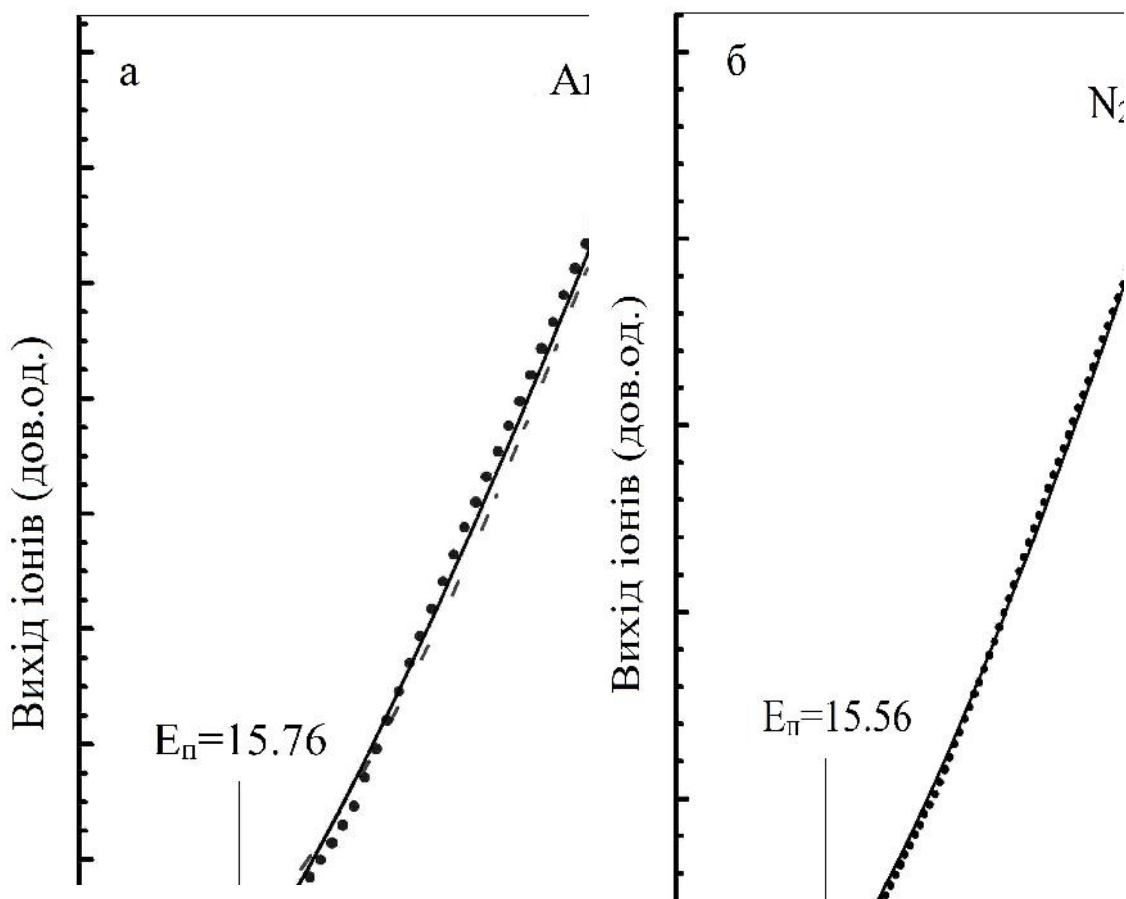


Рис. 3.11. Біляпорогові ділянки енергетичних залежностей перерізів іонізації атома аргону (а) та молекули азоту (б). Точки – експериментальні дані [98]. Суцільні криві – результат підгонки. Пунктир – експериментальні дані [40]. Стрілками показано положення порогів іонізації, еВ.

Шкала мас калібрувалася за відомими лініями реперних газів. В якості реперів використовувалися аргон, ксенон та при необхідності пара ртуті. При необхідності напуск реперного газу може відбуватися одночасно з використанням ефузійного джерела, тим самим полегшуючи калібрування шкали мас-спектрометра за відомими масами.

На рис. 3.12 та 3.13 приведені мас-спектри ізотопів Kr та Hg, відповідно.

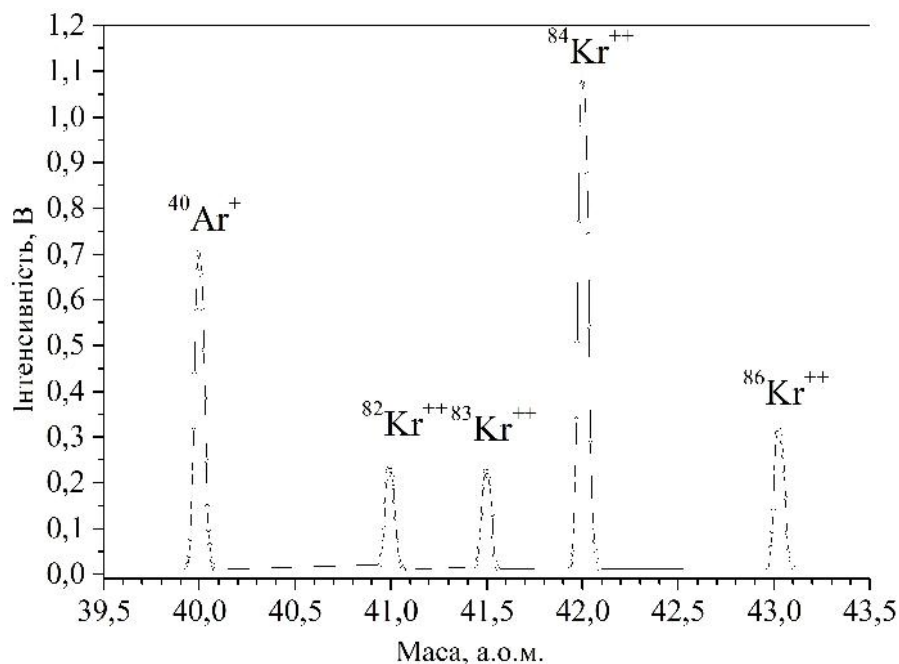


Рис. 3.12. Мас-спектр аргону та ізотопів криптону.

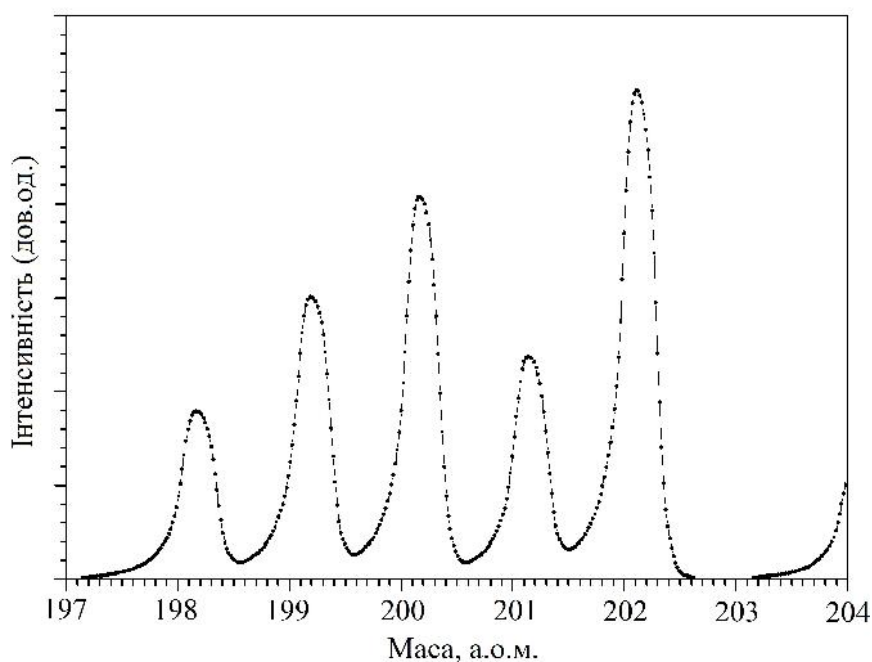


Рис. 3.13. Мас-спектр ізотопів ртуті.

3.4 Теоретичний підхід

Коротко розглянемо теоретичні наближення та характеристики молекул, використані для аналізу отриманих експериментальних результатів, що представлені у даній роботі.

Для аналізу структури молекул, що були досліджені мас-спектрометричним методом та утворених фрагментів їх дисоціації використовувався узагальнений градієнтний підхід теорії функціоналу густини (ТФГ). Методи ТФГ отримали популярність протягом останнього десятиліття. Вони прирівнюються до методів теорії Хартрі-Фока, але враховують деякі ефекти кореляції електронів [99]. Серед великої кількості методів ТФГ, кількість яких постійно зростає, гібридний трьохпараметричний функціонал потенціалу Беке з нелокальною кореляцією, запропонованого Лі, Янгом та Парром (B3LYP) [100] був першим із розроблених методів для вивчення коливної асорбції та кругового дихроїзму. Останній став стандартним методом вивчення органічних молекул у газовій фазі. У даній роботі використовувався базисний набір cc-pVTZ [101].

Структури ізомерів (конформерів) молекул глобально оптимізувалися без обмежень їх симетрії. Розрахунок порядків та довжин зв'язків атомів у конформаційних ізомерах молекул дозволив знаходити найбільш слабкі з них, що в першу чергу можуть підлягати розриву. Крім того, проводилася оцінка коливних спектрів досліджуваних молекул (їх конформерів/ізомерів) з метою як передбачення можливого видовження зв'язків та зміни кутів між ними, так і встановлення найбільш імовірних фрагментів, що можуть утворитися внаслідок електронного удару. З іншого боку, аналізувалися також і коливні моди з метою знаходження точок рівноваги молекулярних систем. Для моделювання процесів фрагментації оцінювалися можливі канали утворення аніонних та катіонних фрагментів, а також нейтральних уламків (з нульовим зарядом). Енергії дисоціації вихідних молекул

розраховувалися як різниця між повною енергією вихідної молекули та сумою енергій очікуваних фрагментів.

Було передбачено, що за наших експериментальних умов структура утворених фрагментів може змінюватися, що впливає на енергію дисоціації вихідної молекули. Для врахування такого ефекту енергія дисоціації розраховувалася для таких двох випадків: 1. розраховувалася одноточкова енергія фрагментів з урахуванням геометрії певної частини досліджуваної молекули (при цьому енергія утворення фрагмента не була найнижчою); 2. структура фрагмента підлягала оптимізації – фрагменти вважалися такими, що досягали своєї рівноважної геометрії, а отримана енергія фрагмента (його найнижча енергія) використовувалася для розрахунку енергії дисоціації.

3.5 Висновки до розділу

- 1 Показано, що для проведення експериментальних досліджень з вивчення процесів взаємодії низькоенергетичних електронів з молекулами амінокислот найкращим є мас-спектрометричний метод.
- 2 Розглянуто принцип роботи експериментальної установки, яка була використана у даній роботі, а саме: магнітного мас-спектрометра, іонного джерела з трьохелектродною електронною гарматою, ефузійного джерела Кнудсена, автоматичної системи керування та збору даних.
- 3 Описано проведену модернізацію експериментальної установки для дослідження однократної та дисоціативної іонізації складних багатоатомних молекул електронним ударом, а саме: модернізацію системи управління експериментом та розгортки мас-спектрів, системи детектування корисного сигналу, блоку стабілізації струму, джерела іонів та контролю температури робочої речовини, а також відповідного програмного забезпечення.
- 4 Проведено контрольні виміри, які підтвердили суттєве покращення умов вимірювань та надійність і повторюваність отриманих даних.
- 5 Описано методику проведення експериментальних вимірювань, та аналізу отриманих даних з використанням узагальненого градієнтного підходу теорії функціоналу густини.

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ФРАГМЕНТАЦІЇ МОЛЕКУЛ, ЇХ АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У даному розділі представлені результати досліджень процесів іонізації та дисоціативної іонізації молекул амінокислот гліцину, метіоніну, аланіну та триптофану. Дослідження проводили з використанням магнітного мас-спектрометра МІ-1201 з модернізованим джерелом іонів. Отримані спектри при енергії іонізації 70 еВ порівнювали із наявними спектрами [40]. Крім того виміряно енергетичні залежності утворення основних іонних фрагментів досліджуваних іонів, встановлено значення їх енергій появи.

4.1 Молекула гліцину

Молекула гліцину ($C_2H_5NO_2$) є найпростішою аліфатичною амінокислотою. Саме тому в даному розділі вона буде розглядатися першою. У людському організмі гліцин синтезується із амінокислотного серіну [102]. Відомо [103], що гліцин використовують для зниження симптомів різних захворювань, зокрема таких як серцева недостатність, хронічна виснаженість, порушення сну, а також деяких видів раку.

4.1.1 Мас-спектри

Вимірний за допомогою мас-спектрометра МІ1201 мас-спектр молекули гліцину продемонстрований на рис. 4.1. Завдяки модернізації мас-спектрометра, висока роздільна здатність дає змогу мас-спектру показати багату картину утворення фрагментів внаслідок процесів однократної та дисоціативної іонізації вихідної молекули. Цікавою особливістю спектру є те, що іонний пік "материнської молекули" гліцину при $m = 75$ а.о.м. (див. вставку на рис. 4.1) є доволі слабким за інтенсивністю. Це дозволяє зробити важливий висновок про те, що ймовірність його утворення є малою через розпад цього іону за час зіткнення. Зазначимо, що за нашими даними, така

картина є типовою для складних багатоатомних молекул, що не містять спряжені зв'язки, це підтверджується попередніми результатами для інших багатоатомних молекул (див., наприклад [104]). Тим не менш, можна однозначно стверджувати, що картина продуктів реакції взаємодії електронів з молекулою гліцину є багатою і, як буде показано нижче, вельми інформативною.

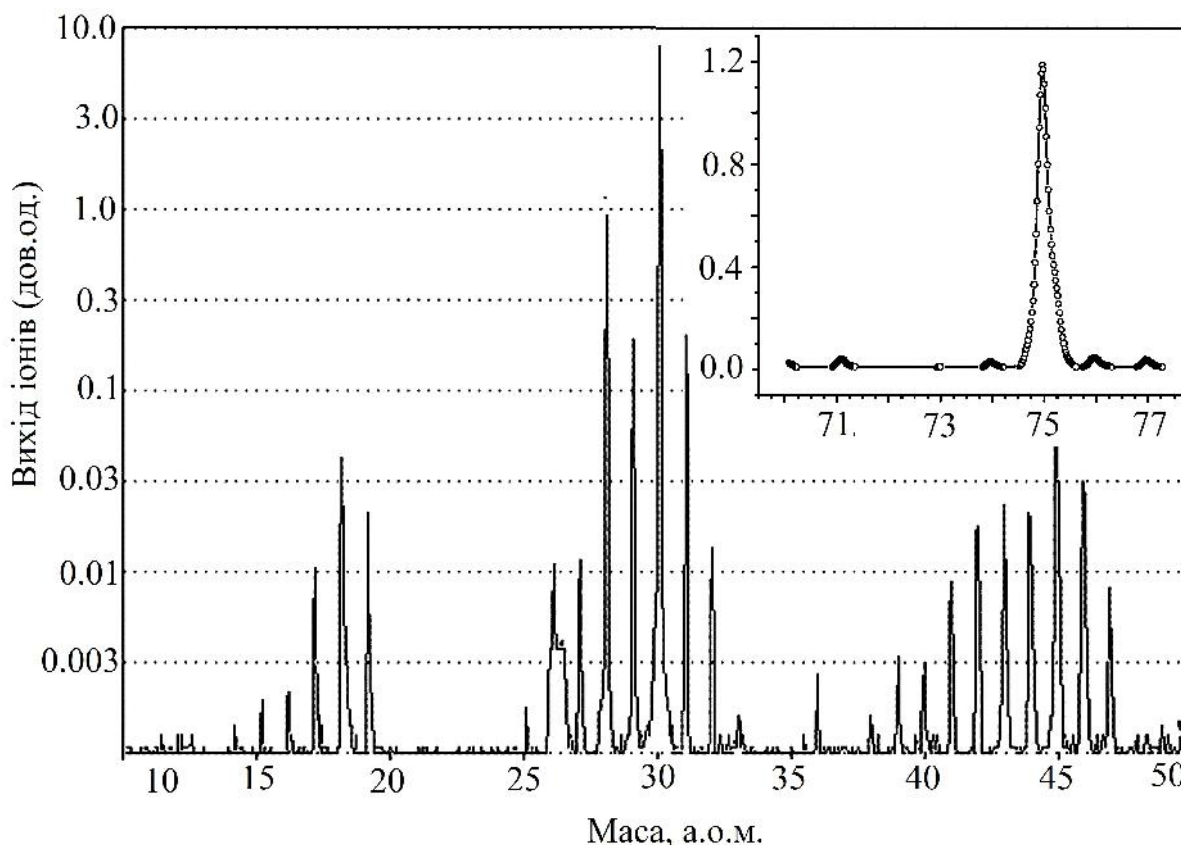


Рис. 4.1. Мас-спектр молекули гліцину при енергії електронів 70 еВ.

Домінуючий пік у вказаному мас-спектрі зобов'язаний своїм походженням утворенню фрагмента материнської молекули з масою $m=30$ а.о.м. Найбільш ймовірним є ототожнення даного піку з іонними фрагментами CH_4N^+ та CH_2O^+ . Нами було встановлено, що перший з вказаних фрагментів може мати дві ізомерні структури: NH_2CH_2^+ та CH_3NH^+ . Утворення фрагмента CH_3NH^+ є менш ймовірним через його термодинамічну нестабільність [106, 107]. Що стосується фрагмента CH_2O^+ , його утворення пов'язано зі значними витратами енергії на переорієнтування атомів та зв'язків материнського

молекулярного іона. Таким чином, можна вважати, що цей процес є менш ймовірним у порівнянні з процесом утворення фрагмента CH_4N^+ . Вихід іонного фрагмента масою $m=30$ а.о.м. з найбільшою інтенсивністю піка у мас спектрі, тобто іона CH_4N^+ , може бути зумовленим "амінною" іонізацією вихідної молекули $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ та розривом зв'язку прилеглого атома вуглецю з наступною втратою нейтрального радикала CHO_2 .

На рис. 4.2. наведено ділянку мас-спектра молекули гліцину в області $m=27,5-30,5$ а.о.м., де розташовано наступний за інтенсивністю у мас-спектрі пік при $m=28$ а.о.м.. Його ми пов'язуємо з утворенням іонного фрагмента CH_2N^+ .

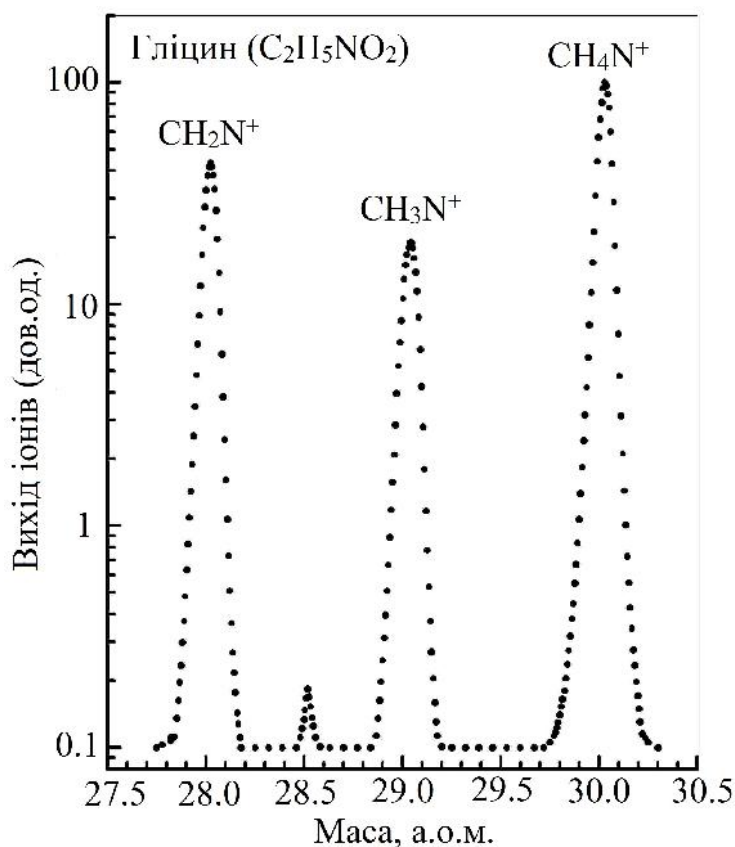


Рис. 4.2. Ділянка мас-спектра молекули гліцину, що демонструє прояв двозарядного іона $\text{CH}_2\text{NHCO}^{2+}$ ($m/z=28,5$ а.о.м.).

Очевидно, що основним компонентом цього піку є ізомер HCNH^+ . Що стосується піка при $m=29$ а.о.м., то його утворення можна однозначно віднести до виходу іона CH_3N^+ . На нашу думку, найбільш несподіваним є

досить слабкий пік в області $m/z=28,5$. Мабуть, цей пік був спостережений нами вперше. Можливо це прояв двозарядного іона $\text{CH}_2\text{NHCO}^{2+}$ з масою $m=57$ а.о.м. (див. рис. 4.1 та 4.2). Нижче буде проаналізовано природу його появи.

4.1.2 Потенціали появи основних фрагментів

У ході вимірювань були отримані енергетичні залежності утворення основних іонних фрагментів гліцину. Оскільки молекулярний іон $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$ при іонізації ЕУ виявився достатньо стійким, хоча ймовірність його утворення є малою через розпад за час зіткнення, але нам вдалося визначити енергію іонізації молекули гліцину, яка склала 8,1 еВ. На рис 4.3 зображено функцію виходу молекулярного іону гліцину. Стрілкою показано положення енергії іонізації, еВ.

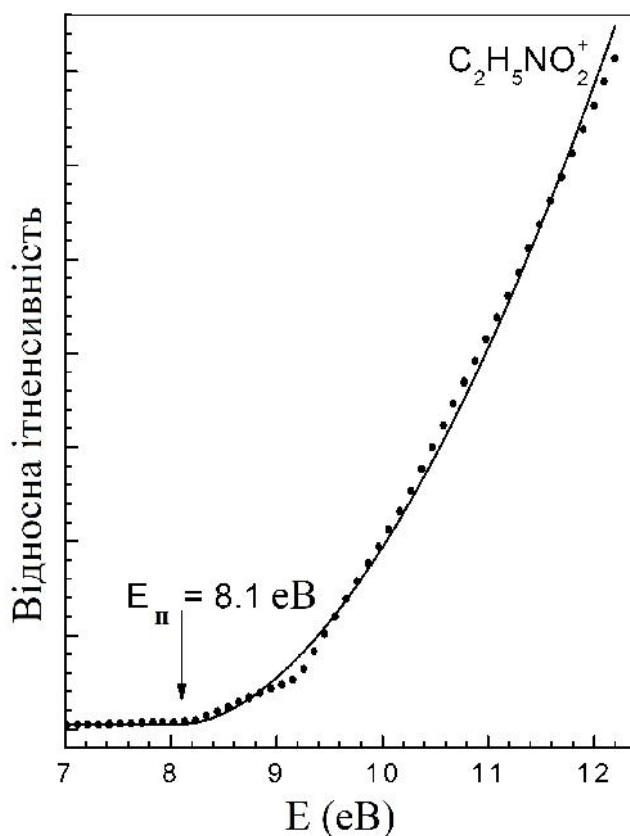


Рис. 4.3. Біляпорогові ділянки енергетичної залежності виходу молекулярного іону гліцину. Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу іонізації.

На рис. 4.4 зображено функцію виходу основних іонних фрагментів CH_2N^+ та CH_4N^+ . Виміряна енергія появи першого складала 11,9 еВ, а останнього 10,1 еВ.

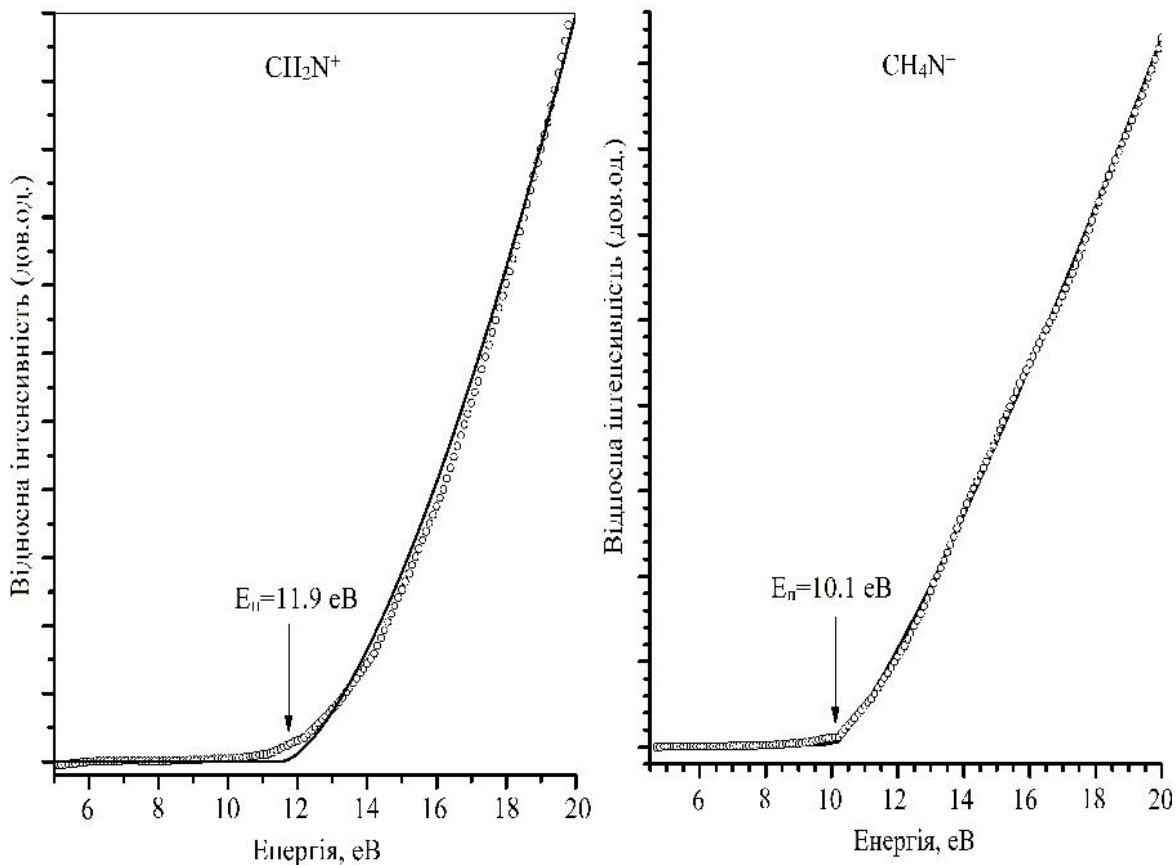


Рис. 4.4. Функції виходу іонних фрагментів CH_2N^+ та CH_4N^+ .

Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

4.1.3 Аналіз механізмів фрагментації

З метою виявлення найбільш ймовірних каналів фрагментації гліцину під дією низькоенергетичних електронів було проаналізовано довжини та порядки зв'язків нейтральної молекули гліцину (див. табл. 4.1). Порядок зв'язку, визначається як половина різниці між кількістю зв'язаних та вільних електронів [107]. Зображення молекули гліцину та відповідних атомних номерів наведено на рис. 4.5.

Таблиця 4.1.

Довжини та порядки зв'язків у молекулі гліцину.

Зв'язки	Довжини зв'язків, (Å)	Порядок зв'язку
C1 – C2	1,52	0,85
C1 – N4	1,46	0,98
C1 – H8	1,09	0,94
C1 – H10	1,09	0,94
C2 – O3	1,38	1,01
C2 – O5	1,23	1,98
O3 – H9	0,98	0,80
N4 – H7	1,01	0,87

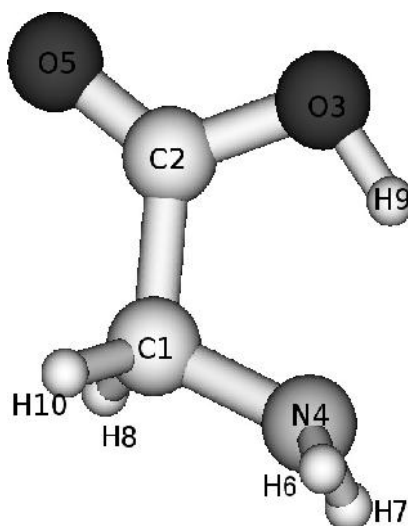


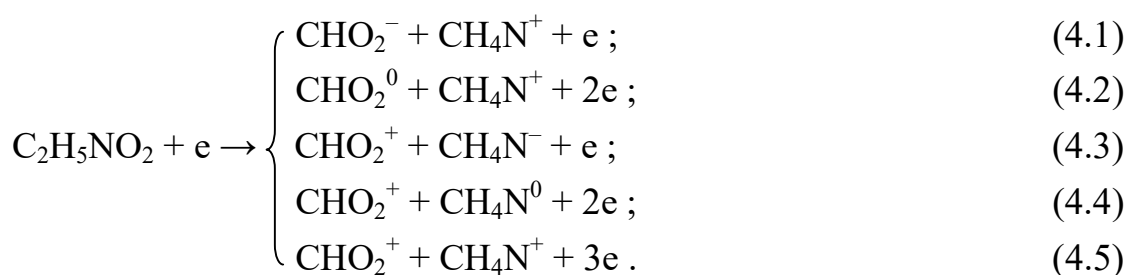
Рис. 4.5. Загальний вигляд молекули гліцину.

Видно, що зв'язок O3–H9 є найбільш слабким. Розрив останнього, призведе до утворення фрагменту $C_2H_4NO_2^-$, котрий може утворюватися через депротонування молекули гліцину. Не зважаючи на те, що у нас не було можливості спостерігати ці аніони експериментально, то було досліджено процес фрагментації, що має своїм наслідком вихід позитивно заряджених іонів (катионів).

Другим найслабшим зв'язком є зв'язок між атомами вуглецю. На підставі отриманих результатів з застосуванням аналізу заселеності Маллікена-Лоудіна

[108, 109] можна передбачити, що утворення фрагментів CH_4N та CHO_2 пов'язано з дисоціацією простого зв'язку між атомами вуглецю молекули гліцину внаслідок видалення одного електрона з неподіленої пари електронів атома азоту.

Така іонізація "амінного типу" переважає над іншими можливими іонізаційними каналами, тому найпростіший аналіз дозволяє виділити найбільш ймовірні процеси фрагментації при розриві зв'язку C1–C2:



Розраховані енергії появи вказаних фрагментів наведені у табл. 4.2. Енергія появи E_{ap} розраховувалася як: $E_{ap} = E_{glycine} - (E_{\text{CHO}_2} + E_{\text{CH}_4\text{N}})$, де $E_{glycine}$ – повна енергія нейтральної молекули гліцину, а E_{CHO_2} та $E_{\text{CH}_4\text{N}}$ – повні енергії фрагментів CHO_2 та CH_4N , відповідно. У цьому розрахунку не враховується енергія активації фрагментації молекулярного іона. Відзначимо, що для дисоціації молекули гліцину на аніон CHO_2^- та катіон CH_4N^+ (за реакцією (4.1)) потрібна мінімальна енергія. Позитивний іон CH_4N^+ утворюється згідно з реакцією (4.2) з мінімальними витратами енергії у разі врахування розриву тільки зв'язку C–C молекули гліцину, тобто довжини зв'язків та кути між ними у вихідній молекулі та у її фрагментах вважаються однаковими. Крім того, нами спостерігався незначний уступ у функції виходу цього фрагмента (див. рис. 4.4), який, на нашу думку, є результатом внеску іншого каналу дисоціації материнської молекули, що приводить до утворення фрагмента з масою 30 а.о.м. (тобто CH_4N^+). Це також можна пов'язати як з процесом двократною іонізацією вихідної молекули, так і зі зміною заряду або структури фрагмента.

Таблиця 4.2.

Розраховані енергії появи (eV) фрагментів CHO_2 та CH_4N

Заряд фрагмента CHO_2 ($m=45$ а.о.м.)	Заряд фрагмента CH_4N ($m=30$ а.о.м.)	Геометрія молекули незмінна ^a	Геометрія молекули змінна ^b
-1	1	10,6	8,57
0	1	12,03	9,99
1	-1	16,62	16,11
1	0	15,26	14,99
1	1	23,17	21,14

Примітка до табл. 4.2:

^a Незмінна геометрія молекули означає розрахунок одноточкової енергії фрагментів з урахуванням геометрії відповідної частини вихідної молекули.

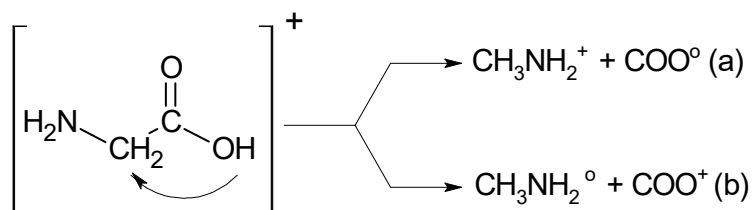
^b Змінна геометрія молекули означає розрахунок рівноважної геометричної структури фрагментів.

У ході експериментальних вимірювань було визначено значення енергії появи фрагмента CH_4N , яке складає $10,1 \pm 0,1$ eV, що є близькою до розрахованого значення (9,99 eV) за реакцією (4.2) та змінною геометрією структури фрагментів. Потрібно зазначити, що, згідно з даними фотоіонізаційних досліджень [110], енергія появи цього іона становить $9,38 \pm 0,05$ eV. Більш високі значення енергій іонізації та появи у випадку електронного удару у порівнянні з фотоіонізацією зазвичай пояснюються впливом спінової поляризації та кулонівської взаємодії як до, так і після зіткнення. Наприклад, спінова поляризація зменшує енергію іонізації молекули гліцину на величину 0,24 eV [111]. Отже, у разі фотоіонізації молекули гліцину, необхідно також брати до уваги процес (4.1), який призводить до утворення іонної пари, та потребує менше енергії, ніж процеси (4.2–4.5).

Основний фрагментний пік CH_4N^+ ($m = 30$ а.о.м.) молекули гліцину у її мас-спектрі супроводжується сателітними піками з масами $m = 28, 29$ та 31 а.о.м., які відповідають іонним фрагментам, утвореним завдяки як міграції та приєднанню атома водню, так і дегідруванню основного фрагмента. Відносна

інтенсивність піка при $m = 31$ а.о.м. у нашому мас-спектрі становить близько 1,8–5,5% піку іона CH_4N^+ у залежності від енергії іонізації. Розрахована висота першого ізотопного піка цього іона як сума прирощень відносних інтенсивностей ізотопів атомів, що входять до його складу становить 1,55%, що підтверджує адитивний характер вказаного піка, що містить ізотопні іони $^{13}\text{CH}_4\text{N}^+$ та CH_5N^+ . Загалом, внесок іона CH_5N^+ у загальну інтенсивність піка залежить від швидкості міграції атома водню з гідроксильної групи, а у нашому експерименті він є значно більшим, ніж у відповідній базі даних NIST [40]. Найбільш імовірно, що структура іона CH_5N^+ відповідає метиламіну, тобто має вигляд CH_3NH_2^+ .

Що стосується іона CH_3NH_2^+ , його комплементарний фрагмент відповідає нейтральній молекулі CO_2 . У мас-спектрі гліцину відносна інтенсивність цього піка при $m = 44$ а.о.м. (що відповідає масі іону CO_2^+) складає 5,8% [40]. Ця пара фрагментів утворюється завдяки міграції атома водню з гідроксильної групи до атома вуглецю через проміжковий 4-членний стан. Можливими є два альтернативні шляхи розпаду іона вихідної молекули, які відрізняються як швидкістю реакції, так і кінцевим розподілом зарядів:

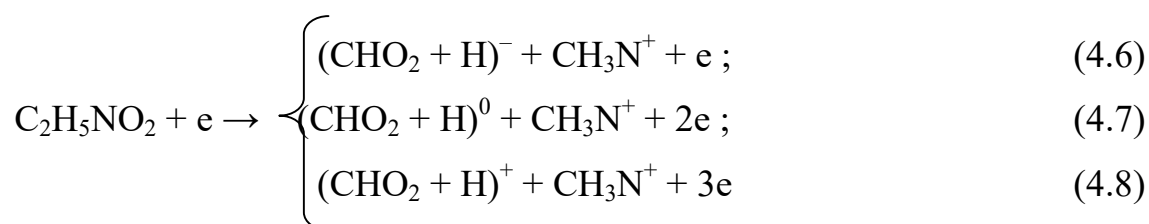


Інтенсивність відповідних піків у мас-спектрі характеризує ефективність вказаних каналів дисоціації. Згідно з нашими даними, інтенсивність піка при $m = 44$ а.о.м. (CO_2^+) вища, ніж інтенсивність піка $m = 31$ а.о.м. (CH_3NH_2^+). Тому у випадку дисоціації зв'язку C–C з міграцією атома водню гідроксильної групи катіонний центр зміщується, у більшості випадків, на фрагмент CO_2 , при цьому нейтральний фрагмент CH_3NH_2 видаляється.

Іон масою $m = 28$ а.о.м. є другим за інтенсивністю у мас-спектрі материнської молекули і може мати таку загальну формулу: CH_2N^+ або CO^+ (чи $\text{CH}_2\text{N}^+ + \text{CO}^+$). У роботі [56] було висловлено припущення, що цей пік зобов'язаний іонам CH_2N^+ та/або CO^+ . Однак, мас-спектр депротонowanego гліцину (складу $\text{HNCD}_2\text{CO}_2\text{H}$ та $\text{H}^{15}\text{NCH}_2\text{CO}_2\text{H}$) вказує, що цей фрагмент містить атом азоту, у той час як експеримент для дейтерованого d5 та d3-гліцину однозначно вказує на приналежність цього піка до іона CH_2N^+ (CD_2N^+). Порівняння стабільності позитивних іонів CH_2N^+ та CO^+ дозволяє зробити висновок, що утворення катіона CH_2N^+ є більш ймовірним, ніж катіона CO^+ .

Структура іона CH_2N^+ залежить від типу зв'язків, що розриваються у материнському або проміжному іонах. Чотири можливі ізомерні структури цього іона показані на рис. 4.6. Важливо, що у випадках, коли розриваються різні зв'язки катіонів CH_4N^+ або CH_3N^+ , фрагменти стають планарними після оптимізації їх геометрії. Розрахунки вказують, що структура HCNH^+ є найбільш стабільною з усіх, зображених на рис. 4.6. Згідно з проведеними розрахунками, якщо оптимізація геометрії здійснюється з використанням наближення V3LYP cc-pVTZ, транс- та цис- ізомери – III та IV на рис 4.6 – переходять у найбільш стійку структуру лінійної конфігурації (точкова група C_s). При цьому атоми вуглецю та азоту зазнають *sp*-гібридизації.

Позитивні іони (катіони) CH_3N^+ та CH_2N^+ , спостережувані у експериментальному мас-спектрі, можуть утворюватися завдяки одночасному розриву ряду простих зв'язків:



та

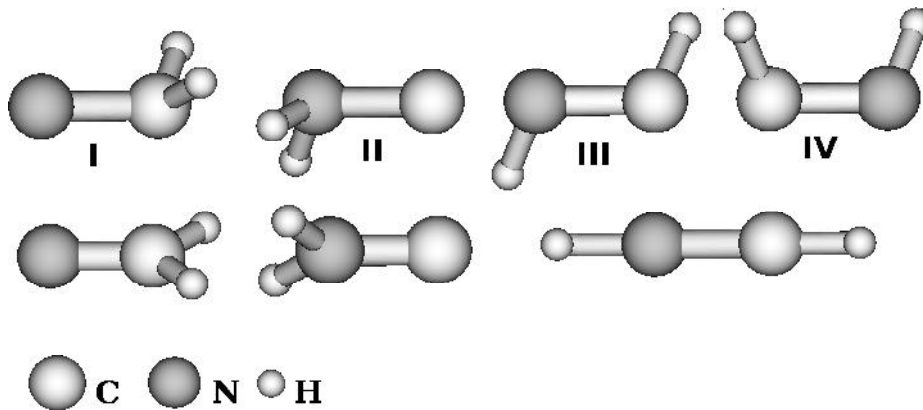
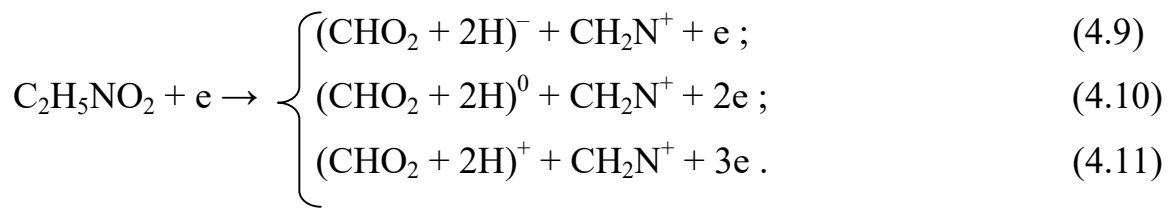


Рис 4.6. – Конформери фрагмента CH_2N^+ до (зверху) та після (знизу) оптимізації геометрії.

Розраховані енергії, необхідні для утворення вказаних нижче фрагментів, представлені у табл. 4.3 та 4.4. Очевидно, що розрив зв'язку C–C з одночасним відокремленням одного або двох атомів водню від материнського іона та вихід позитивних CH_2N^+ і CH_3N^+ іонів вимагає більше енергії, ніж це передбачено каналом (4.1). У випадку процесу (4.7) утворення іона CH_3N^+ відбувається з мінімальними витратами енергії (при змінній геометрії молекули). Як вказано у роботах [55], перехід атома водню з аміногрупи до карбоксильної, що передує розриву зв'язку C–C, є одним з найбільш пріоритетних каналів дисоціації молекули гліцину. Тобто, для випадку іонізації електронним ударом цей механізм є найбільш енергетично вигідним у разі виходу фрагмента CH_3N^+ .

Таблиця 4.3.
Розраховані енергії появи (eВ) катіонів та аніонів $\text{CHO}_2 + \text{H}$ і CH_3N у
процесах (4.6)-(4.8)

Заряд фрагмента CH_3N ($m=29$ а.о.м.)	Заряд фрагмента ($\text{CHO}_2 + \text{H}$) ($m=30$ а.о.м.)	Геометрія молекули незмінна ^а	Геометрія молекули змінна ^б
1	-1	14,89	11,55
1	0	16,51	10,52
1	1	26,76	23,61

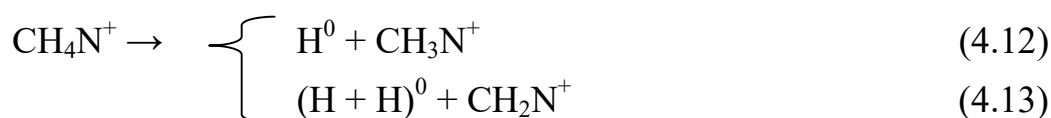
^{а, б} – див. примітки до табл. 4.2.

Таблиця 4.4.
Розраховані енергії появи (eВ) катіонів та аніонів CHO_2+2H і CH_2N у
процесах (4.9)-(4.11)

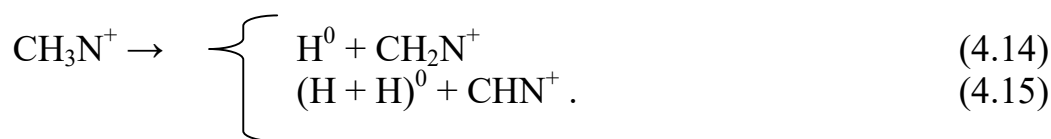
Заряд фрагмента CH_2N ($m=28$ а.о.м.)	Заряд фрагмента $\text{CHO}_2 + 2\text{H}$ ($m=30$ а.о.м.)	Геометрія молекули незмінна ^а	Геометрія молекули змінна ^б
1	-1	19,45	12,89
1	0	20,2	14,63
1	1	29,32	23,02

^{а, б} – див. примітки до табл. 4.2.

Аналіз розподілу зарядів у групі $[\text{CHO}_2 + \text{H}]$ (див. табл. 4.5) свідчить про те, що мінімальні енергії з табл. 4.4 відповідають утворенню фрагмента CH_2O_2 . Таким чином, розрив зв'язку $\text{C}-\text{C}$, що супроводжується міграцією атома H з амінної групи до карбонільної є найбільш ймовірним каналом виходу фрагмента CH_3N^+ . З іншого боку, позитивні іони CH_3N^+ та CH_2N^+ можуть утворюватися внаслідок вторинної дисоціації завдяки депротонування іона CH_4N^+ та іона CH_3N^+ . Вказані вище процеси описуються такими схемами:



(4.13)



(4.15)

Таблиця 4.5.

Розподіл зарядів у групі [CHO₂ + H]

Заряд	Після оптимізації ^б		До оптимізації ^а (заряд Маллікена)	
	CHO ₂	H	CHO ₂	H
0	Утворюється CH ₂ O ₂		0	0
1	1	0	1	0
-1	Утворюється CH ₂ O ₂		-1	0

^{а, б} – див. примітки до табл. 4.2.

Мас-спектр молекули гліцину (рис. 4.1) демонструє дифузний пік при $m^* \sim 26.1$ а.о.м., який відповідає переходу 30→28 з відокремленням нейтрального фрагмента масою $m=2$ а.о.м., тобто завдяки вторинній фрагментації іона CH₄N⁺. Таким чином, дегідрування проходить за каналом (4.13) з утворенням молекули водню, що і спостерігається експериментально.

У процесі депротонування фрагментів CH₄N⁺ та CH₃N⁺ за схемами (4.12)-(4.15) можуть руйнуватися зв'язки C–H або N–H. Для цих двох варіантів перебігу процесу нами, наприкладі схем (4.12) та (4.14), були розраховані енергії, необхідні для депротонування CH₄N⁺ та CH₃N⁺ (див. табл. 4.6).

Потрібно зазначити, що утворення іонів CH₃N⁺ при розриві зв'язку C–H у іоні CH₄N⁺ є більш ймовірним через стабільність другого іона, що є вищою ніж стабільність катіонів CH₃N⁺ при розриві зв'язку N–H під час депротонування іона CH₄N⁺. Порівняння енергії появи катіонів CH₃N⁺ дозволяє зробити висновок, що реакція з розривом зв'язку C–H при депротонуванні CH₄N⁺ є більш вірогідною. Однак, очевидно, що вихід молекули водню при депротонуванні іона CH₄N⁺ супроводжується руйнуванням обох зв'язків – C–H та N–H.

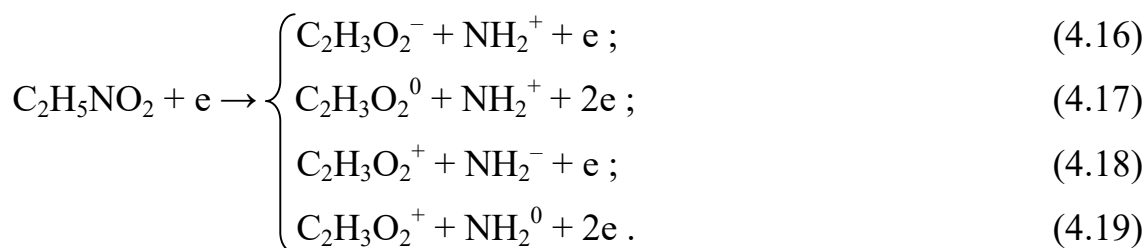
Таблиця 4.6.

Розраховані енергії (eV) депротонування іонів CH_4N^+ та CH_3N^+

Процес	Розрив зв'язку –C–N		Розрив зв'язку –N–H	
	Геометрія молекули незмінна ^a	Геометрія молекули змінна ^b	Геометрія молекули незмінна ^a	Геометрія молекули змінна ^b
$\text{CH}_4\text{N}^+ \rightarrow \text{H}^0 + \text{CH}_3\text{N}^+$	4,84	5,36	5,92	5,58
$\text{CH}_3\text{N}^+ \rightarrow \text{H}^0 + \text{CH}_2\text{N}^+$	3,71	3,27	6,72	6,04

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Нами також були розраховані значення енергії, що витрачається на руйнування зв'язку C–N у вихідній молекулі (див. табл. 4.7). Наведемо відповідні можливі канали дисоціації молекули гліцину:



Таблиця 4.7.

Розраховані енергії (eV) дисоціації молекули гліцину з утворенням фрагментів $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ та NH_2 у процесах (4.16)-(4.19)

Заряд фрагмента $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ($m=59$ а.о.м.)	Заряд фрагмента NH_2 ($m=16$ а.о.м.)	Геометрія молекули незмінна ^a	Геометрія молекули змінна ^b
-1	1	15,73	14,33
0	1	16,95	16,09
1	-1	14,84	12,88
1	0	14,9	12,98

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Інтенсивності іонів у мас-спектрі молекули гліцину, утворених внаслідок розриву вказаного вище зв'язку, становлять $\sim 1,59\%$ для $m=16$ а.о.м. (NH_2^+) та 0% для $m=59$ а.о.м. ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^+$). Отже, відокремлення аміногрупи від материнської молекули є малоімовірним, не дивлячись на відносно малі величини розрахованих енергій, необхідних для руйнування зв'язку C–N (див. схеми (4.18), (4.19) та табл. 4.7).

Як зазначено вище, особливий інтерес викликає слабкий за інтенсивністю пік при $m/z=28,5$ а.о.м. (рис. 4.2). Очевидно, що його слід пов'язувати з двократно-іонізованим фрагментом $C_2H_3ON^{2+}$ у процесі відокремлення молекули води або її атомів. Інтенсивність піка однозарядного іона $C_2H_3ON^+$ масою $m=57$ а.о.м. у спектрі молекули гліцину [40] складає 0,4%, хоча у мас-спектрах α -амінокислот цей фрагмент спостерігається поряд із фрагментами масами $m=30, 44$ та 75 а.о.м. [112]. Більше того, дані з тандемної мас-спектрометрії депротонованого гліцину, позначеного ізотопами D та ^{15}N , вказують на присутність найбільш вираженого піка при $m=57-59$ а.о.м. [56]. Заміщення двох атомів водню у положеннях H8, H10 (рис. 4.5) на атоми дейтерію вказує на те, що утворення молекули води пов'язане з відокремленням атома водню від аміногрупи. У роботі [55] було розраховано процес фрагментації одного з конформерів гліцину і доведено, що молекула води утворюється і вивільнюється протягом 3 пс через перехід атома водню з аміногрупи до атома кисню гідроксильної групи. Згідно з [112], втрата молекули води фрагментом $CH_2NH_2COOH^+$ ($m=75$ а.о.м.) супроводжується утворенням метастабільного іона масою $m^*=43,3$ а.о.м. У даному випадку дифузний пік цієї маси не спостерігався, у той час як мала інтенсивність піка при $m=57$ а.о.м. свідчить про відсутність каналу фрагментації, що має своїм наслідком вихід іона CH_2NHCO^+ .

Таким чином, вихід двозарядного іона CH_2NHCO^{2+} зумовлений одночасним (протягом часу $10^{-5}-10^{-7}$ с) видаленням молекули води. Це, у свою чергу, пов'язане зі втратою вихідною молекулою двох електронів з перших двох найнижчих за енергією молекулярних орбіталей (тобто незв'язуючих n -орбіталей атомів азоту та кисню гідроксильної групи). Можна із впевненістю сказати, що в даній роботі вперше спостережено прояв вказаного двозарядного іона у мас-спектрі гліцину. Тому нами були розраховані повні енергії відповідних іонів. Отже, серед досліджених можливих двозарядних іонів CHO_2^{2+} , $C_2H_3O_2^{2+}$, $C_2H_3ON^{2+}$, $C_2H_2ON^{2+}$,

$C_2H_3ON^{2+}$, $C_2H_2ON^{2+}$ тільки іони $C_2H_3O_2^{2+}$, $C_2H_3ON^{2+}$ та $C_2H_2ON^{2+}$ виявилися стабільними (див. табл. 4.8). Таким чином, аналізуючи дані табл. 4.8, можна стверджувати, що у даному експерименті реєструвалися лише найбільш стабільні іони, тобто $C_2H_3ON^{2+}$.

Таблиця 4.8.

Енергії зв'язку одного атома (eV) відповідних двозарядних іонів

Іон	$C_2H_3O_2^{2+}$ (m/z=29,5 а.о.м.)	$C_2H_3ON^{2+}$ (m/z=28,5 а.о.м.)	$C_2H_2ON^{2+}$ (m/z=28 а.о.м.)
Енергія зв'язку одного атома	0,50	1,63	1,015

Розрахунок енергії, необхідної для утворення двозарядного іона $C_2H_3ON^{2+}$ з вихідної нейтральної молекули з мультиплетністю 1 вказує, що відокремлення атома водню від атома вуглецю є більш ймовірним ніж від атома азоту. Мінімальна енергія у цьому випадку відповідає нейтральній групі фрагментів [ОН + Н] та становить 24,55 eV (див. табл. 4.9).

Таблиця 4.9.

Розраховані енергії (eV) дисоціації вихідної нейтральної молекули гліцину з утворенням фрагментів $C_2H_3ON^{2+}$ та [ОН + Н]

$C_2H_3ON^{2+}$	Заряд фрагмента [ОН + Н]	До оптимізації ^a	Після оптимізації ^b
Розрив зв'язку С–Н	–1	48,4	36,8
	0	38,87	24,55
	1	35,33	27,0
Розрив зв'язку N–H	–1	47,96	41,13
	0	38,44	28,89
	1	34,9	31,34

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Отримані результати вказують, що у випадку виходу іонів [ОН + Н]⁰ та [ОН + Н][–] утворюється також молекула води. На жаль, мала інтенсивність піка $C_2H_3ON^{2+}$ не дозволяє виміряти функцію дисоціативної дисоціації для цього іонного фрагмента та визначити експериментально його енергію появи.

Нами було досліджено можливі механізми фрагментації молекули гліцину при взаємодії з повільними електронами. Експериментальне виявлення утворення іонізованих фрагментів у поєднанні з теоретичними розрахунками дозволило передбачити можливі канали фрагментації вихідної молекули. Аналіз теоретично розрахованих механізмів виходу іонів CH_4N^+ та експериментально вимірної відповідної функції дисоціативної іонізації для цього фрагмента свідчить про те, що його вихід є пов'язаним не лише з прямою іонізацією материнської молекули, але і зі зміною розподілу зарядів комплементарних фрагментів, що при цьому утворюються.

Утворення двозарядного іонного фрагмента $\text{CH}_2\text{NHCO}^{2+}$ було спостережено нами вперше. Припущення щодо механізму утворення цього фрагмента при одночасному видаленні двох електронів та молекули води підтверджується результатами розрахунку, відповідно до яких найменші витрати енергії відповідають руйнуванню зв'язку C–H з одночасним виходом нейтральних фрагментів $[\text{OH} + \text{H}]$.

4.2 Молекула метіоніну

Молекула метіоніну являє собою незамінну амінокислоту, яка відіграє унікальну роль в структурі білка та процесах метаболізму. Метіонін слугує ініціюючою амінокислотою в синтезі еукаріотичного білка. Структура метіоніну пов'язана з її назвою, так як вона містить метильну групу, ковалентно зв'язану з атомом сірки. Метильна група та сірка, мають вирішальне значення в її структурних та метаболічних функціях.

4.2.1 Мас-спектри

Початкова ділянка мас-спектра молекули метіоніну, виміряна при енергії електронів 70 eV (рис. 4.7) загалом подібна наведеній у найбільш

повній базі даних NIST [40]. Бачимо, що мас-піки групуються біля певних значень

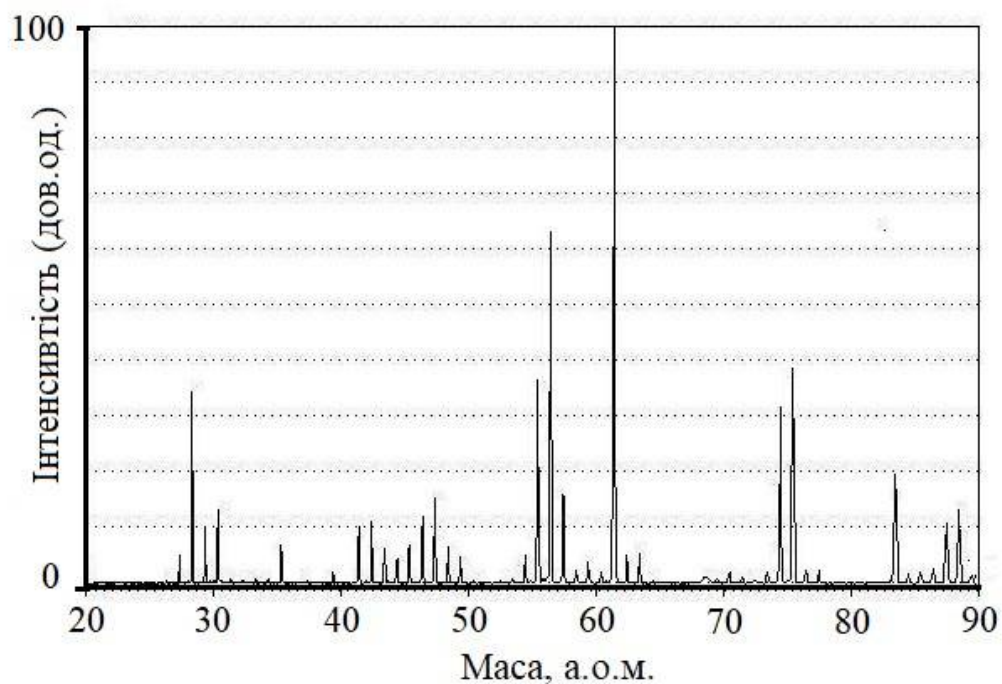


Рис. 4.7. Початкова ділянка мас-спектра молекули метіоніну

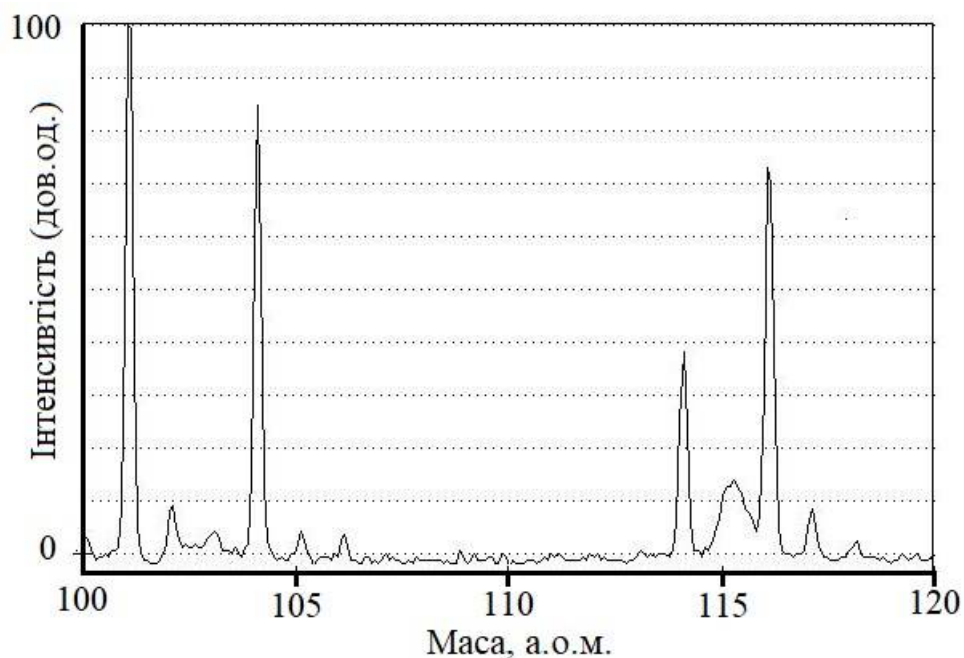


Рис. 4.8. Ділянка мас-спектра молекули метіоніну в області мас 100–120 а.о.м, виміряна при енергії іонізуючих електронів 70 еВ

відношень m/z . На рис. 4.8 приведена ділянка мас-спектра цієї молекули для діапазона великих мас. На рис. 4.9 приведено детальний вимірний мас-спектр, що відповідає групі мас-пиків малих мас фрагментів – біля 30 а.о.м.

4.2.2 Потенціали появи основних фрагментів

Аналогічно до дослідженої вище амінокислоти гліцину, у ході вимірювань були отримані енергетичні залежності утворення основних іонних фрагментів метіоніну.

Нижче на рис. 4.10–4.12 зображені отримані нами функції виходу основних іонних фрагментів з позначеними відповідними порогами появи.

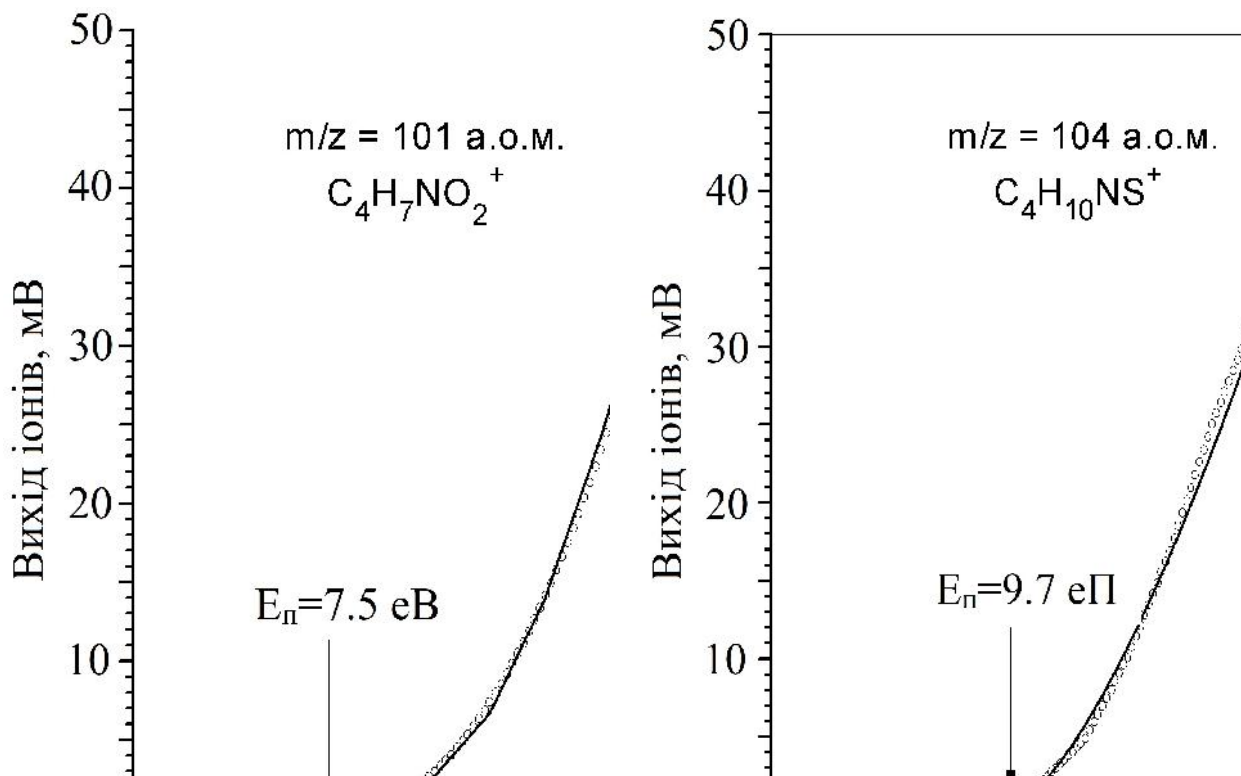


Рис. 4.10. Функції виходу іонних фрагментів $C_4H_7NO_2^+$ (зліва) та $C_4H_{10}NS^+$ (справа). Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

Функції виходу на рис. 4.10 та 4.11 відповідають великим, більше 100 а.о.м., масам фрагментів, а на рис. 4.12 – малим, 28 та 30 а.о.м., масам. Наведені функції виходу іонних фрагментів мають вигляд з різною величиною нахилу лінійної частини кривих. Цікаво, що поява фрагментів з великими масами характеризується малими величинами енергій появи (від 7.5 до 9.7 еВ), а фрагментів з малими масами – більшими (11 і 11.4 еВ).

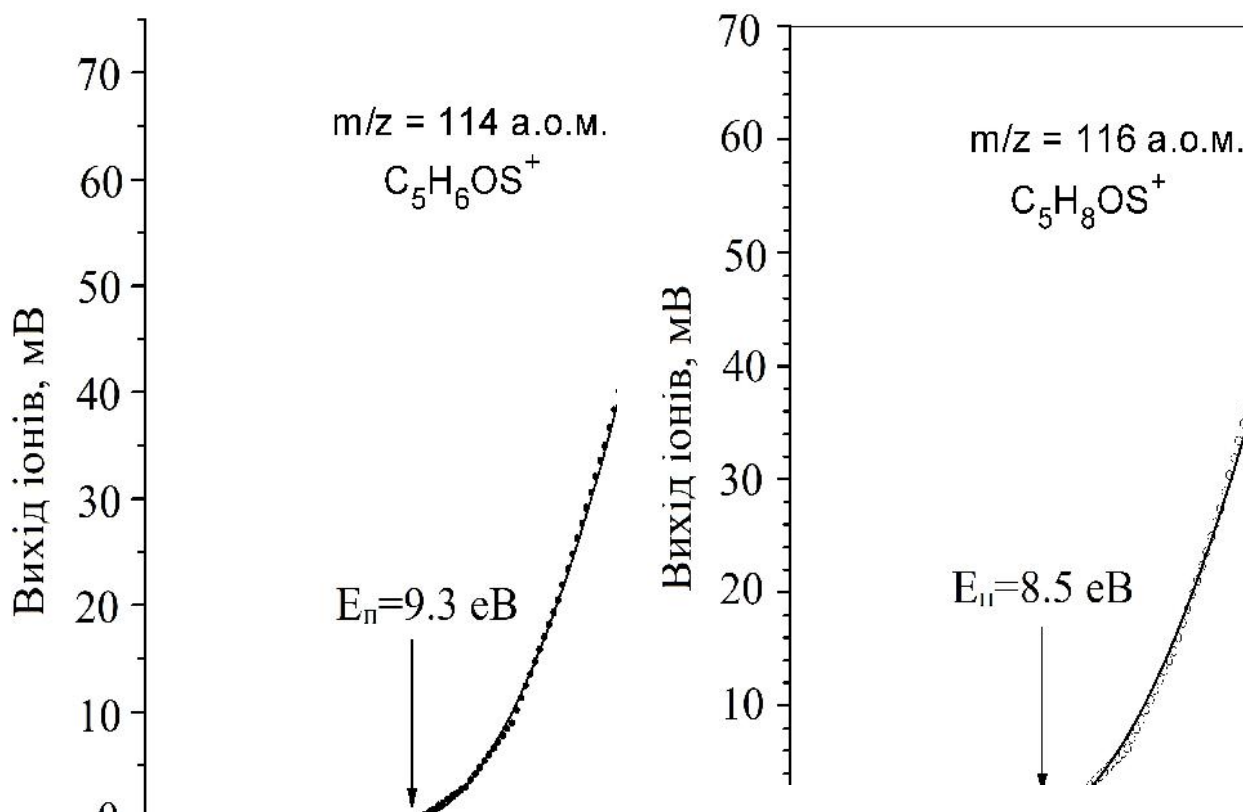


Рис. 4.11. Функції виходу іонних фрагментів $C_5H_6OS^+$ (зліва) та $C_5H_8OS^+$ (справа). Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

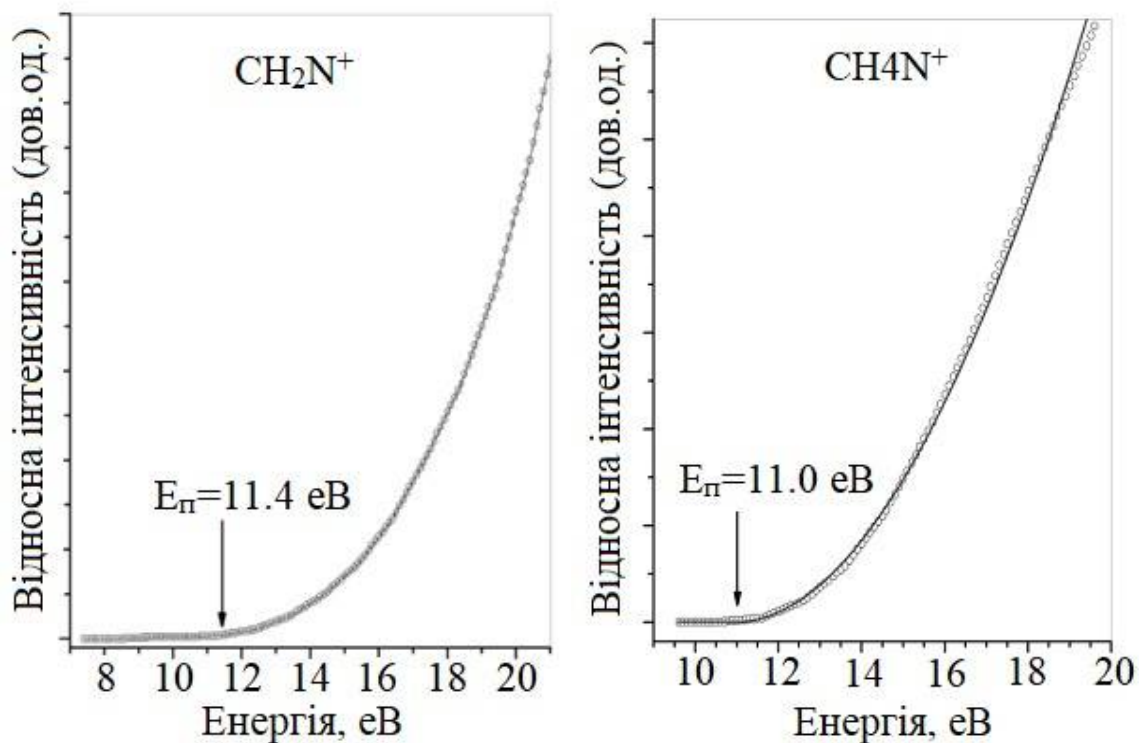


Рис. 4.12. Функції виходу іонних фрагментів CH_2N^+ (зліва) та CH_4N^+ (справа). Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

4.2.3 Аналіз механізмів фрагментації

Вигляд молекули метіоніну з зазначенням номерів атомів представлений на рис. 4.13. Основною особливістю молекули метіоніну у порівнянні до інших молекул амінокислот є наявність атома сірки у бічній ланці, зв'язаного з двома атомами вуглецю (див. рис. 4.13). Молекула метіоніну, окрім атома сірки, містить дві ізольовані функціональні групи гетероатомів з неподіленою парою електронів, у той час як карбонільна група містить π -електрони. Тому іонізація цієї молекули може проходити завдяки втраті електронів з n -орбіталей гетероатомів та видаленню електрона подвійного зв'язку. Однак, з точки зору термодинаміки, у разі дисоціації молекулярного іона заряд розміщується на фрагменті з меншим потенціалом іонізації, тобто, у нашому випадку, атом сірки має більш сильні електронно-донорні властивості у порівнянні з аміно-, гідроксильною та карбонільною групами [11].

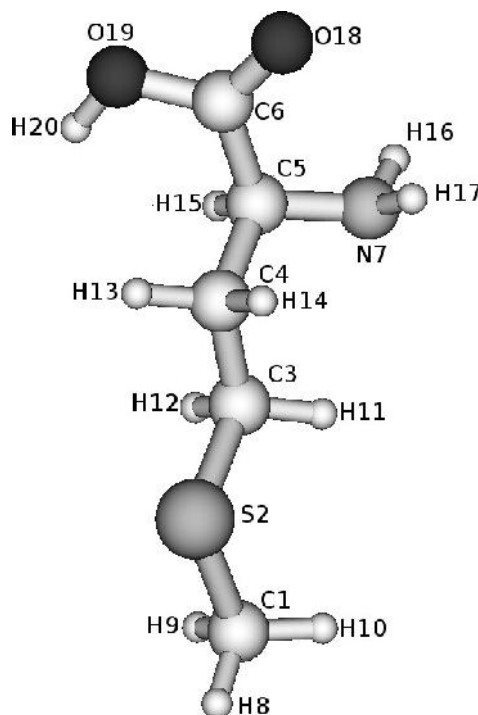


Рис. 4.13. Загальний вигляд молекули метіоніну.

Аналізуючи фрагментацію на підставі розподілу зарядів у молекулярних іонах, можна вважати, що цей процес реалізується через найближчі зв'язки з місцями локалізації заряду. Тобто при енергіях електрона, що налітає, які незначно перевищують потенціал (енергію) іонізації вихідної молекули. Тобто, найбільш ймовірною є дисоціація зв'язку C–S. При більш високих енергіях електрона, коли її достатньо, щоби іонізувати більш глибокі молекулярні орбіталі, перш за все, неподілені електронні пари атомів азоту та кисню, відбувається дисоціація суміжних зв'язків, що призводить до появи ряду нових каналів дисоціації (фрагментації). Для кількісної оцінки найбільш вірогідних каналів дисоціації молекули метіоніну були розраховані молекулярні орбіталі основного стану вихідної молекули (МО) з застосуванням методу B3LYP/cc-pVTZ з метою визначення внеску атомних орбіталей у МО (див. табл. 4.10).

У таблиці 4.10 наведено результати розрахунку МО з залученням електронів валентної атомної оболонки, оскільки енергії зв'язку електронів атомного остову виявилися надто великими, щоб впливати на енергію появи

іонів. Згідно з теоремою Купманса, потенціал іонізації молекули метіоніну визначається енергією електрона неподіленої пари атома сірки та дорівнює 6,21 eВ.

Таблиця 4.10.

Енергія, тип зв'язку та молекулярні орбіталі, що дають найбільш значний внесок у механізми фрагментації молекули метіоніну, розраховані із застосуванням методу B3LYP/cc-pVTZ

Енергія, eВ	Ідентифікація	Опис орбіталей
-14,96	σ_p	-0,18 (2pz,C6)+ 0,16 (2py, N7)
-14,50	σ_p	0,27(2px,C1)
-13,31	π	0,13(2px, C4)+0,16(2py,C4)+N7(-0,19(2py,N7)-0,09(2px,N7)-0,08(2py,O18)-0,098(2pz,O18)
-12,62	π	-0,202 (2py,C3)-0,17 (2px,O18) +0,18 (2pz,O18)
-12,57	σ_p	0,22(2px,C6)+0,13(2py,C6)-0,12(2px,N7)-0,11(2py,N7)-0,20 (2px,O18)+0,21(2px,O19)
-12,08	σ_p	-0,24(2px,C1)+0,15 (2py,O18)+0,12(2pz,O18)
-11,87	π	-0,21(2px,C1)+0,23(2py,C1) -0,13 (2py,O18)
-11,70	π	0,13(2px,C1)+0,25(2py,C1)+0,13 (2py,O18)
-11,32	σ_p	-0,12 (2px,C3)-0,18(2pz,C3)+0,19(2pz,C4)-0,14(2px,O18)-0,16(2px,O19)
-10,87	σ_p	0,11(2px,O18)+0,38(2pz,O19)
-10,59	σ_p	0,22(2pz,C3)-0,18(2px,C4)-0,20(2py,C4)+0,10(2py,O18)
-10,17	π	-0,20(2py,C3)+0,26(2py,C4)
-9,70	σ_p	-0,22(2pz,C1)-0,12(2pz,C3)+0,13(2px,C3)-0,16(2pz,S2)+0,12(2px,O19)
-9,04	π	-0,33(2px,O18)+0,37 (2px,O19)
-8,52	σ_p	-0,15(2pz,C1)-0,09(2px,C1)-0,195(2px,S2)-0,12(2pz,S2)-0,20 (2px,C3)
-8,04	π	0,24(2py,O18)-0,37(2pz,O18)+0,11(2py,O19)
-6,94	π	(-0,309 (2pz))
-6,21	π	НОМО 0,29 (2py,S2)

Відмітимо, що розраховані нами енергії зв'язку електронів відрізняються від наведених у [113], що зумовлено різними підходами до їх оцінки. З іншого боку, розраховані нами величини добре узгоджуються з

отриманими у роботі [114], де розраховані вертикальні енергії іонізації трьох конформерів метіоніну.

Зазвичай, інтенсивності піків молекулярних іонів аліфатичних амінів у мас-спектрі є малими через високу ймовірність процесу дисоціації, ініційованого катіонним центром, локалізованим на амінній групі. У разі ж метіоніну картина є іншою. Це пов'язано, по-перше, з тим, що неподілена пара електронів атома сірки є НОМО (найвищою зайнятою МО), отже при малих енергіях вона іонізується з більшою вірогідністю, ніж неподілена пара електронів атома азоту. По-друге, сірка стабілізує позитивний заряд і зменшує фрагментацію молекули. В отриманому мас-спектрі пік материнської молекули має відносну інтенсивність порядку 20%, у той час як дані NIST [40] наводять величину 13,7–28,0%, що значно перевищує частку молекулярних іонів у мас-спектрах інших аліфатичних амінокислот. Таким чином, іонізація неподіленої пари електронів атома сірки викликає значно меншу фрагментацію.

Як впливає з квантово-механічних розрахунків геометрії та міжатомних відстаней у оптимізованих молекулярних структурах різних органічних молекул та їх однозарядних іонів, відстані між атомами вуглецю скелетного ланцюга після іонізації змінюються (див., наприклад, [114]). Втрата електрона молекулою призводить до того, що деякі зв'язки у ній видовжуються, у той час як інші – скорочуються. У такому разі розрахована величина енергії дисоціації зв'язку C–C в іонізованій молекулі, в залежності від каналу фрагментації, становить від 0,84 до 3,45 еВ [115].

Для того, щоби оцінити зміну геометрії молекули метіоніну внаслідок іонізації, необхідно розрахувати довжини зв'язків та їх порядки для нейтральної та іонізованої молекул метіоніну у рівноважних точках. Враховуючи дані аналізу заселеності Маллікена [108, 109] можна визначити найбільш слабкі зв'язки у молекулі метіоніну. Розраховані значення довжин

та порядків зв'язків нейтральної та іонізованої молекул метіоніну наведені у табл. 4.11, тоді як зміни їх геометрії представлені на рис. 4.14 та у табл. 4.12.

Згідно з результатами, отриманими для нейтральної молекули метіоніну, найбільш слабкими є зв'язки C3–C4, C5–C6 та C4–C5. У результаті іонізації, ці зв'язки видовжуються, тобто ймовірність дисоціації молекулярного іона вздовж цих зв'язків зростає. З іншого боку, іонізація вихідної молекули призводить до скорочення зв'язків "вуглець–гетероатом", особливо зв'язку C5–N7, тому деамінування стає неможливим.

Таблиця 4.11.

Розраховані довжини та порядки зв'язків молекули та іона метіоніну

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å Нейтральна молекула	Порядок зв'язку, Нейтральна молекула	Довжина зв'язку, Å Іонізована молекула	Порядок зв'язку, Іонізована молекула
C1–S2	1,886	0,938	1,886	0,903
C1–H8	1,087	0,935	1,085	0,910
C1–H9	1,087	0,924	1,087	0,902
C1–H10	1,087	0,924	1,087	0,897
S2–C3	1,899	1,024	1,877	0,981
C3–C4	1,525	0,886	1,531	0,809
C3–H11	1,091	0,897	1,094	0,873
C3–H12	1,086	0,917	1,088	0,892
C4–C5	1,553	0,906	1,576	0,865
C4–H13	1,093	0,947	1,091	0,934
C4–H14	1,093	0,936	1,091	0,915
C5–C6	1,539	0,854	1,566	0,851
C5–H15	1,096	0,925	1,090	0,913
C6–O18	1,222	1,969	1,216	1,927
C6–O19	1,386	0,951	1,359	0,999
N7–H16	1,012	0,876	1,009	0,844
N7–H17	1,014	0,869	1,013	0,825
O19–H20	0,978	0,805	0,978	0,788

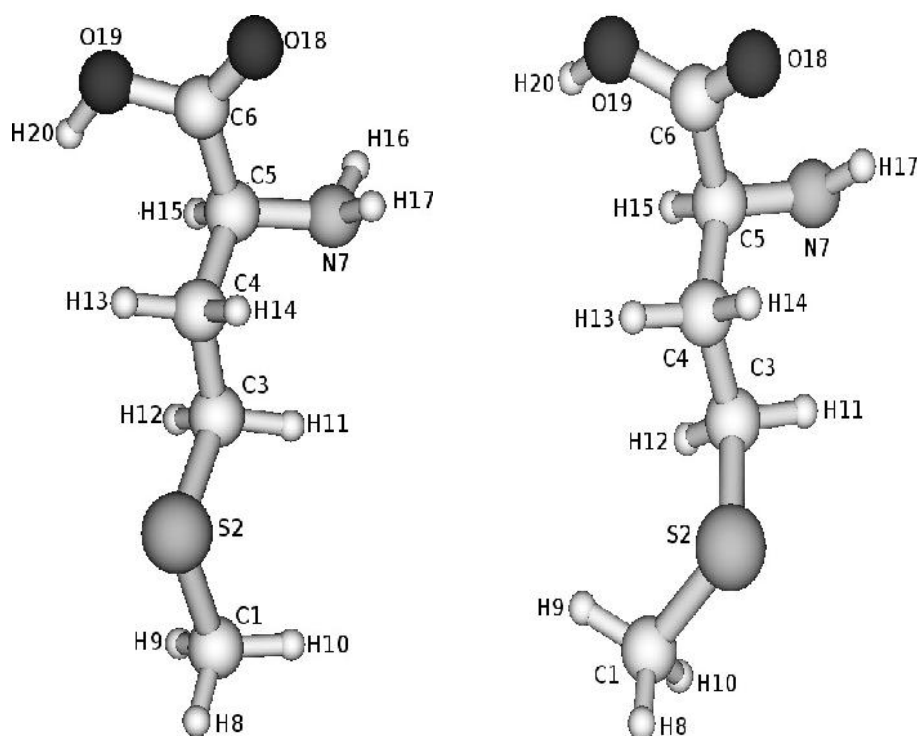


Рис. 4.14. Нейтральна молекула метіоніну (зліва) та іонізована (справа).

Найбільш інтенсивний пік у мас-спектрі молекули метіоніну (рис. 4.6) пов'язаний з утворенням іона $C_2H_5S^+$ ($m=61$ а.о.м.), який є комплементарним іону $C_3H_6NO_2^+$ ($m=88$ а.о.м.), вихід якого зумовлений розривом найбільш слабкого зв'язку C3–C4 вихідної молекули. Це свідчить про те, що характер бічних ланцюгів молекул амінокислот впливає на процес фрагментації. Це дозволяє нам висловити припущення, що під дією низькоенергетичного електронного удару розрив зв'язків бічних ланцюгів, які містять сірку, є більш ймовірним, ніж в остові амінокислоти. Це припущення підтверджується результатами розрахунків, наведених нижче.

Розраховані у цій роботі енергії появи E_{ap} вказаної вище пари фрагментів наведені у табл. 4.13. Як і у випадку молекули гліцину, енергія появи пари іонів розраховувалася за формулою $E_{ap} = |E_{meth}| - |\sum_i(E_i)|$, де E_{meth} – повна

енергія нейтральної молекули метіоніну, а E_i – повна енергія усіх утворених фрагментів.

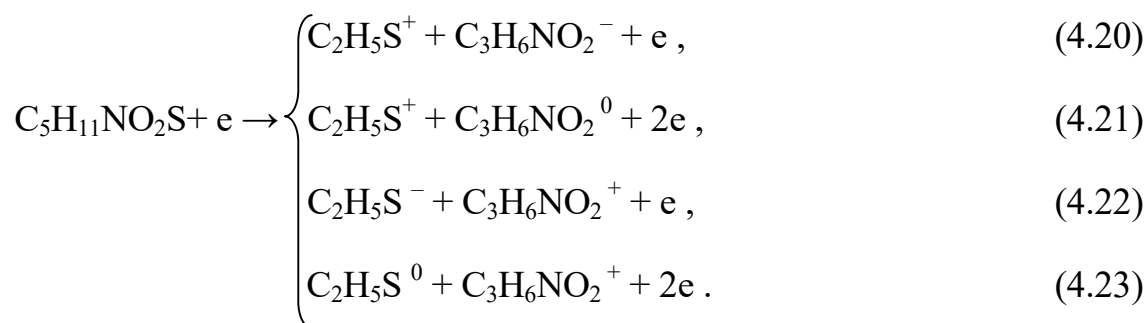
Таблиця 4.12.

Площини зв'язків та кути між ними для нейтральної та іонізованої молекули метіоніну

Площини зв'язків	Нейтральна молекула	Іонізована молекула
	Кут, град.	Кут, град.
C1–S2–C3	98,62	102,83
S2–C3–C4	109,32	108,45
C3–C4–C5	111,87	109,46
C4–C5–N6	110,70	112,17
C4–C5–C7	109,43	105,57
C5–N7–O8	116,46	117,39
C5–N7–O9	124,26	120,66
S2–C1–H10	106,45	106,141
S2–C1–H11	110,26	109,29
S2–C1–H12	110,09	109,09
S2–C3–H13	108,65	117,87
S2–C1–H14	107,84	108,49
C3–C4–H15	109,80	111,72
C3–C4–H16	109,90	110,70
C4–C5–H17	108,20	109,43
C5–N6–H18	114,20	120,94
C5–N6–H19	113,13	118,27
C7–O8–H20	113,89	117,01
C1–S2–C3–C4	–175,94	124,101
S2–C3–C4–C5	178,88	172,21
C3–C4–C5–N6	–61,96	–56,43
C3–C4–C5–C7	173,02	–175,63
C4–C5–N7–O8	–73,30	–99,10
C4–C5–N7–O9	105,98	78,86
C3–S2–C1–H10	179,82	–176,71
C1–S2–C3–H13	–55,30	107,27
S2–C3–C4–H16	58,28	53,75
C3–C4–C5–H17	55,64	64,38
C4–C5–N6–H18	163,96	126,72
C4–C5–N6–H19	–68,41	–76,77
C5–C7–O8–H20	–0,86	–6,78

Нагадаємо, що у цих розрахунках енергія активації фрагментації молекулярного іона не бралася до уваги.

Вказана пара фрагментів утворюється через простий розрив найбільш слабого зв'язку вихідної молекули, тобто C3–C4. При цьому заряд, в основному, локалізується на фрагменті, що містить атом сірки, і внесок атома сірки у іонізацію та розпад молекули є очевидним. Врахування усіх можливих випадків розподілу зарядів при дисоціації цього зв'язку призводить до виходу фрагментів C_2H_5S та $C_3H_6NO_2$ за такими каналами:



Таблиця 4.13.

Розраховані енергії появи (еВ) фрагментів C_2H_5S та $C_3H_6NO_2$

Заряд фрагмента C_2H_5S ($m=61$ а.о.м.)	Заряд фрагмента $C_3H_6NO_2$ ($m=88$ а.о.м.)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
1	-1	13,71	7,17
1	0	14,53	10,71
-1	1	13,49	8,43
0	1	14,29	8,72

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Найбільш енергетично "привабливими", з найменшою E_{ap} , каналами утворення вказаних катіонів є процеси (4.20) та (4.22). Порівняння інтенсивностей піків дозволяє припустити, що утворення катіона $C_2H_5S^+$ є більш імовірним, ніж катіона $C_3H_6NO_2^+$, хоча дані таблиці (4.13) дещо суперечать такому твердженню. Тому нами були розраховані енергії зв'язку на один атом для цих фрагментів, і отримані результати підтверджують висновок, що катіон $C_2H_5S^+$ є більш стабільним, ніж $C_3H_6NO_2^+$. Це і може слугувати основною причиною того, що пік мас-спектра при $m=61$ а.о.м. є більш інтенсивним, ніж при $m=88$ а.о.м. Комплементарні іони $C_2H_5S^+$ та $C_3H_6NO_2^+$ малої інтенсивності спостерігалися у ФІ-спектрах при енергії 8,43 еВ [224].

При 11,62 еВ інтенсивності їх практично сумірні, а, починаючи з 16,67 еВ, пік $m=61$ а.о.м. (іон $C_2H_5S^+$), домінує.

Аналіз мас-спектрів фотонної (ФІ) та електронної (ЕІ) іонізації вказує на те, що основний канал фрагментації метіоніну вище 16 еВ зобов'язаний розриву β -зв'язку відносно атома сірки. Однак, енергія появи відповідного фрагмента, виміряна експериментально – $12,4 \pm 0,1$ еВ (див. також [116]), дозволяє зробити висновок про те, що цей канал пов'язаний не лише з видаленням електрона з неподіленої пари атома сірки. Для того, щоб цей канал став домінуючим, необхідною є іонізація принаймні третьої за енергією МО з наступною стабілізацією заряду на атомі сірки.

Наступний виразний пік мас-спектра молекули метіоніну пов'язаний з утворенням фрагмента $C_3H_6N^+$ масою $m=56$ а.о.м. Цей іон може утворитися через видалення фрагментів CH_3SH та $COOH$. У спектрах ФІ та ЕІ наявні піки масами $m=104$ а.о.м. та $m=101$ а.о.м., що відповідають фрагментам ($M^+ - COOH$) і ($M^+ - CH_3SH$), де M^+ – молекулярний іон. Інтенсивності цих піків у спектрах ФІ при енергії фотонів нижче 11,62 еВ перевищують інтенсивності піків фрагмента з масою $m=56$ а.о.м. При більш високих енергіях фотонів (понад 16 еВ) спостерігається інверсія інтенсивностей вказаних піків. Відмітимо, що нижче 16 еВ ефективність каналів ФІ, пов'язаних з розривом зв'язків $C3-S2$ та $C5-C6$, є вищою, ніж у випадку дисоціації найбільш слабкого зв'язку $C3-C4$, що має своїм наслідком утворення фрагмента $C_2H_5S^+$. Таким чином, видалення n_s -електрона (тобто НОМО-іонізація) призводить до прояву каналів фрагментації, пов'язаних з дисоціацією зв'язків $C3-S2$ та $C5-C6$. Очевидно, що позитивний заряд у цьому випадку локалізується не на атомі сірки, а на атомі азоту.

Фрагменти $[CH_3S+H]$ та $COOH$ можуть видалятися одночасно або у двостадійному процесі. Відповідні цій схемі результати наведені у табл. 4.14 та табл. 4.15. Найменша енергія системи досягається, коли фрагменти CH_3S та H об'єднуються у молекулу CH_4S . Теоретичний аналіз підтверджує, що

видалення атома Н13 вимагає найменшої кількості енергії, тобто молекула CH_4S утворюється завдяки міграції атома Н13 до атома сірки через перехідний 4-членний стан.

Таблиця 4.14.
Розраховані енергії появи (eВ) фрагментів $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$ та $\text{CH}_4\text{S} + \text{COOH}$ з нейтральної молекули метіоніну

Заряд фрагмента $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$ ($m=56$ а.о.м.)	Заряд фрагмента ($\text{CH}_4\text{S} + \text{COOH}$)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
1	-1	9,16	1,24
1	0	9,63	4,38

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Енергія появи іона $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$, виміряна експериментально, становить $11,2 \pm 0,1$ eВ та перевищує розраховане значення. Таким чином, процес одночасного утворення фрагментів ($\text{CH}_4\text{S} + \text{COOH}$) та $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$ з нейтральної молекули метіоніну внаслідок електронного удару є сумнівним. Тому були виконані розрахунки енергій, необхідних для утворення фрагментів $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$ та CH_4S досліджуваної молекули після втрати фрагмента CO_2H (див. табл. 4.15).

Як видно, у табл. 4.15 наведено надлишкову енергію іона $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}^+$, необхідну для його наступної фрагментації з виходом іона-фрагмента $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$.

Таблиця 4.15.
Розраховані енергії (eВ), необхідні для утворення фрагментів $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$ та CH_4S з молекули метіоніну зі втратою фрагмента COOH

Заряд фрагмента $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$ ($m=56$ а.о.м.)	Заряд фрагмента CH_4S ($m=48$ а.о.м.)	Незмінна геометрія молекули ($\text{M}^+ - \text{COOH}$) ^a	Змінна геометрія молекули ($\text{M}^+ - \text{COOH}$) ^b
1	-1	8,06	2,93
1	0	10,04	1,73
1	1	18,86	11,16

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Експериментально виявлена різниця в енергіях появи $E_{\text{ар}}$ фрагментів з масами $m=104$ а.о.м. та $m=56$ а.о.м. за одержаними даними становить $1,5 \pm 0,2$

еВ, тому можна зробити висновок, що загальною схемою каскадного процесу, що призводить до виходу вказаних фрагментів, є:

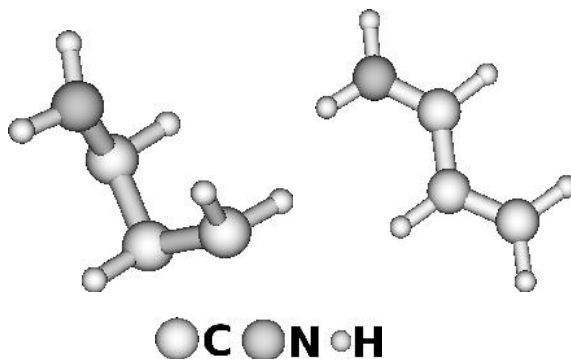
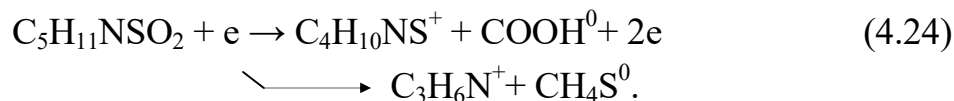


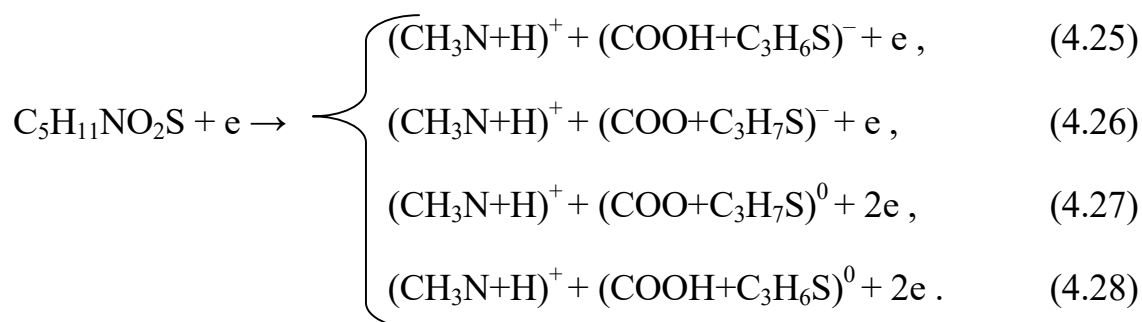
Рис. 4.15. Вигляд катіона $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$ ($m=56$ а.о.м.) у разі його незмінної геометрії (зліва) та у разі досягнення рівноважної геометрії катіона (справа).

Слід відмітити, що геометрична та електронна структури фрагмента $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}$ можуть різнитися через видалення різних атомів водню. Наші розрахунки вказують, що видалення атома Н13 потребує меншої кількості енергії. На підставі порівняння енергій появи та енергії катіона можна передбачити, що позитивно заряджений іон масою $m=56$ а.о.м. має вигляд, зображений на рис. 4.15.

У такому випадку атоми С3–С4–С5 знаходяться на площині з кутом $120,57^\circ$, тобто гібридизація атомів вуглецю при дисоціації змінюється з sp^3 на sp^2 , тобто утворюється псевдозв'язана система, що містить ненасичені зв'язки та атом з неподіленою парою електронів на p -орбіталі. Делокалізація електронів у цьому випадку відбувається із залученням трьох атомів.

Наступний чіткий пік мас-спектра метіоніну пов'язаний з утворенням фрагмента масою $m=30$ а.о.м. Він є типовим для алкіл-амінів і зазвичай домінує у мас-спектрах відповідних речовин. На підставі отриманих даних можна висловити припущення, що даний пік пов'язаний з утворенням іона CH_4N^+ . Слід зазначити, що вихід цього фрагмента з алкіл-амінів з бічними

ланцюгами є дискусійним тому, що він пов'язаний не лише з розривом зв'язку внаслідок електронного удару, але також вимагає зміни положення атома Н у процесі фрагментації. Можливими каналами утворення іона CH_4N^+ є:



Приєднання атома водню до іона CH_3N^+ супроводжується вивільненням енергії величиною 6,12 або 7,85 еВ, якщо атом Н походить з фрагментів $\text{C}_3\text{H}_7\text{S}$ або COOH , відповідно. Таким чином, в утворенні фрагмента CH_4N^+ бере участь атом водню з гідроксильної групи. За нашими розрахунками мінімальна енергія витрачається у випадку розпаду молекули метіоніну на аніон $(\text{COO} + \text{C}_3\text{H}_7\text{S})^-$ та катіон CH_4N^+ .

Пік масою $m=30$ а.о.м. (CH_4N^+) у мас-спектрі молекули метіоніну супроводжується сателітними піками масами $m=28$ а.о.м. та $m=29$ а.о.м. Фрагмент масою 29 а.о.м. можна пов'язати з іоном COH^+ або CH_3N^+ . За результатами нашого теоретичного аналізу можемо стверджувати, що у випадку метіоніну утворення фрагмента COH є малоімовірним, оскільки маловірогідним є формування сполуки $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS} + \text{O}$ через низьку ймовірність одночасного розриву зв'язків $\text{C}-\text{O}$ та $\text{C}-\text{S}$. Отже, вказаним фрагментом є катіон CH_3N^+ . Мінімальна енергія появи цього іона пов'язана з розпадом вихідної молекули на іонну пару за таким каналом (при цьому початкова геометрія молекули метіоніну не змінюється):



Не дивлячись на те, що утворення іонного фрагмента CH_3N^+ відбувається при мінімальному числі структурних змін у порівнянні з іонами масами $m=30$

а.о.м. та $m=28$ а.о.м., інтенсивність його піку є меншою. Це є аргументом на користь припущення, що рушійною силою розпаду молекулярного іона є не локалізація заряду на гетероатомі з наступним розривом найближчих до нього зв'язків, а стабільність продуктів дисоціації. Відмітимо, що розраховане значення енергії появи фрагмента CH_3N^+ є на 3,48 еВ вищим, ніж фрагмента $(\text{CH}_3\text{N} + \text{H})^+$. На підставі цих результатів можна передбачити, що фрагментація молекули метіоніну електронним ударом з утворенням фрагмента $(\text{CH}_3\text{N} + \text{H})^+$ є більш імовірною, ніж з виходом іона CH_3N^+ .

На відміну від випадку молекули гліцину, іонний фрагмент молекули метіоніну масою $m=28$ а.о.м. може мати такий елементний склад: CH_2N , CO та C_2H_4 . Порівняння величин енергій зв'язку на один атом вказує, що іон CO^+ є менш стабільним, ніж іони CH_2N^+ та C_2H_4^+ . Таким чином, спостереження іонних фрагментів CH_2N^+ та C_2H_4^+ при електронному ударі є більш імовірним, ніж іона CO^+ .

Очевидно, що фрагмент CO^+ може утворитися у таких процесах:



Розраховані енергії появи відповідних фрагментів наведені у табл. 4.16. З таблиці чітко видно, що енергія появи фрагмента CO^+ у вказаних вище процесах є більшою, ніж виміряне експериментально значення для фрагмента масою $m=28$ а.о.м. – $11,9 \pm 0,1$ еВ. Отриманий результат дозволяє висловити думку, що позитивно заряджений фрагмент з цією масою не може бути іоном CO^+ при значеннях енергії іонізуючих електронів близьких до порога появи цього фрагмента.

Нами досліджено два канали утворення фрагмента CH_2N , оскільки його вихід може бути пов'язаний з розривом зв'язків $\text{C}-\text{C}$ та $\text{C}-\text{H}$ або $\text{N}-\text{H}$ молекули метіоніну.

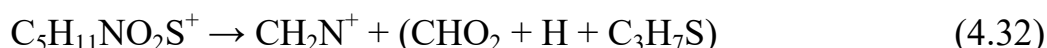
Таблиця 4.16.

Розраховані енергії появи (eВ) фрагментів CO та (HO + C₄H₁₀NS) молекули метіоніну

Заряд фрагмента CO	Заряд фрагмента (HO + C ₄ H ₁₀ NS)	Незмінна геометрія ^a	Змінна геометрія ^b
1	-1	17,66	15,53
1	0	18,50	14,92

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Це означає, що фрагмент CH₂N може мати структури, аналогічні зображеним на рис. 4.6 у випадку молекули гліцину. Аналіз енергій появи фрагмента CH₂N⁺ з нейтральної та іонізованої молекули метіоніну свідчить про те, що розрахована величина 11,83 eВ згідно з процесом:

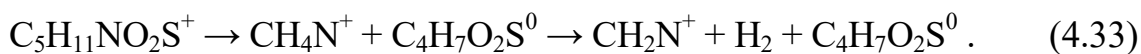


добре узгоджується з виміряною величиною 11,4±0,1 eВ. Однак, у біляпороговій області енергій електронів утворення іона CH₂N⁺ може завдячувати іншим механізмам.

Позитивно заряджені іони CH₃N⁺ та CH₂N⁺ можуть бути зобов'язані своєю появою вторинній дисоціації іона CH₄N⁺, у той час як іон CH₂N⁺ може утворитися через депротонування іона CH₃N⁺. Вказана вторинна дисоціація є більш вірогідною у випадку, коли енергія, що передається материнській молекулі метіоніну, зростає.

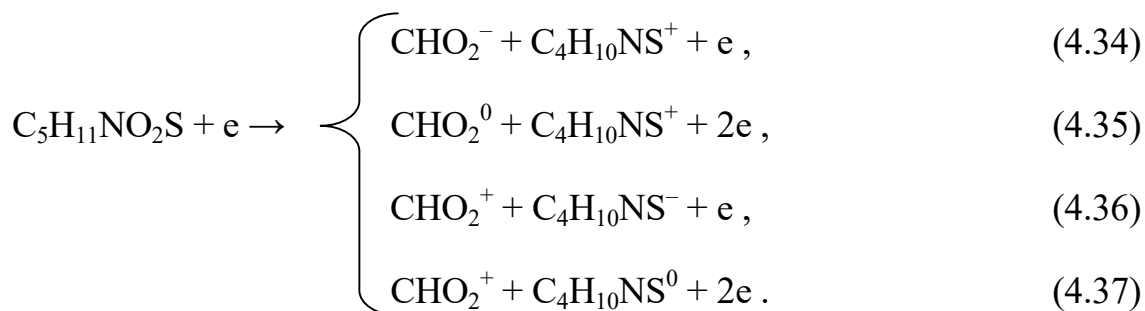
Як і у випадку молекули гліцину, спектр молекули метіоніну містить дифузний пік у районі маси $m^* \sim 26,1$ а.о.м. (див. рис. 4.8), зважте на напівлогарифмічну шкалу), який відповідає переходу 30→28 з відокремленням нейтрального фрагмента масою $m=2$ а.о.м., тобто тут має місце вторинна фрагментація іона CH₄N⁺. Враховуючи вимірні величини енергій появи фрагментів CH₂N⁺ та CH₄N⁺ (11,4±0,1 та 11,0±0,1 eВ, відповідно) та розраховані значення для цих іонів, утворених з материнської молекули, можна припустити,

що у біляпороговій області енергій основним механізмом утворення іона CH_2N^+ є каскадна дисоціація через вихід іона CH_4N^+ :



Завдяки вказаному процесу дегідрування, коли продуктом дисоціації є стабільна молекула водню, вихід фрагмента масою $m=29$ а.о.м. є малоймовірним.

Пік масою $m=45$ а.о.м. може бути ідентифікований як належний до фрагмента COOH^+ , оскільки для його утворення вимагається розрив тільки одного зв'язку C5–C6. У той час вихід інших ізобарних фрагментів, а саме, CHS^+ та $\text{C}_2\text{H}_7\text{N}^+$, вимагає розриву декількох зв'язків та, у ряді випадків, переміщення атомів водню. З іншого боку, необхідно вказати, що втрата фрагментів COOH , NH_2 та $\text{COO}+\text{NH}_3$ з одночасним утворенням фрагментів COOH^+ , NH_2^+ та $\text{COO}+\text{NH}_3^+$ належить до основних процесів дисоціативної іонізації молекули метіоніну [117]. Нами проаналізовано різні канали утворення фрагмента COOH (CHO_2):



Слід зазначити, що найменша енергія, необхідна для розпаду молекули метіоніну з утворенням катіона CHO_2^+ відповідає каналу (4.37). Експериментально виміряний потенціал появи цього фрагмента становить $13,5 \pm 0,1$ еВ. Порівняння цієї величини з наведеною у табл. 4.8 вказує, що утворення цього іона можливе у реакціях (4.36) та (4.37). Згідно з реакціями (4.34)–(4.37), утворюється і фрагмент масою $m=104$ а.о.м. Порівнюючи розраховану та виміряну ($9,7 \pm 0,1$) еВ енергії появи цього позитивного іона,

приходимо до висновку, що дисоціація вихідної молекули з виходом іона проходить за каналами (4.34) та (4.35) (див. табл. 4.17).

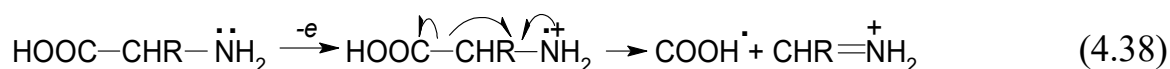
Таблиця 4.17.
Розраховані енергії появи (eV) фрагментів CHO_2 та $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}$

Заряд фрагмента CHO_2 ($m=45$ а.о.м.)	Заряд фрагмента $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}$ ($m=104$ а.о.м.)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
-1	1	10,01	7,35
0	1	10,77	8,7
1	-1	14,98	12,34
1	0	14,24	11,76

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

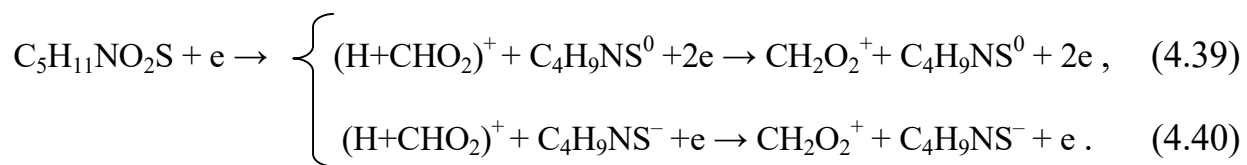
Оскільки фрагменти COOH та $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}$ є комплементарними, інтенсивності відповідних піків у мас-спектрах характеризують ефективності вказаних вище процесів. За нашими даними, інтенсивність піка при $m=104$ а.о.м. перевищує інтенсивність піка іона масою $m=45$ а.о.м., тобто, у випадку дисоціації зв'язку C5-C6 катіонний центр зміщується переважно до фрагмента $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}$.

Механізм утворення іона $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NS}^+$ вимагає розриву зв'язку C5-C6 молекулярного іона. Це можна наочно представити як β -розпад по відношенню до атома азоту з утворенням іммонієвої структури, типової для дисоціативної іонізації амінів, коли атом азоту ефективно стабілізує заряд:



Тут R – це бічний ланцюг амінокислоти ($\text{C}_3\text{H}_7\text{S}$ у випадку метіоніна). Одноелектронний зсув з іонізованого атома азоту і α -атома вуглецю призводить до утворення подвійного зв'язку з наступним вивільненням електрона.

Пік при $m=46$ а.о.м. у мас-спектрі метіоніну пов'язаний з виходом іона CH_2O_2^+ . Цей іонізований фрагмент може утворюватися за такими двома каналами:



Розрахована енергія появи іона CH_2O_2^+ з утворенням нейтрального фрагмента $\text{C}_4\text{H}_9\text{NS}^0$ складає 13,22 еВ, у той час як при виході негативного іона $\text{C}_4\text{H}_9\text{NS}^-$ вона становить 12,59 еВ. Ці дві величини близькі до вимірюваного значення $13,1 \pm 0,1$ еВ. Тому можна припустити, що обидві ці реакції є ймовірними. Зазначимо, що нами досліджено різні варіанти утворення іона масою $m=46$ а.о.м., однак, тільки в одному випадку розрахована та вимірювана величини потенціалу появи добре узгоджуються, а саме – при втраті молекулою метіоніну групи COOH та приєднання атома H13 до неї з утворенням CH_2O_2^+ .

Піки мас-спектра при $m=74$ а.о.м. та $m=75$ а.о.м. мають практично рівні інтенсивності. На перший погляд, ці два фрагменти є комплементарними і своїм виходом завдячують розриву зв'язку C4-C5 . Однак, сателітні піки при $m=76$ а.о.м. та $m=77$ а.о.м. інтенсивністю 7,47% та 4,47%, відповідно, з врахуванням внеску ^{13}C у масу $m=76$ а.о.м., дозволяють стверджувати, що обидва фрагменти масами $m=74$ та $m=75$ а.о.м. містять атом сірки, що підтверджує висновок авторів роботи [112]. Фрагмент масою $m=75$ а.о.м. (тобто $\text{C}_3\text{H}_7\text{S}^+$) утворюється завдяки дисоціації зв'язку C4-C5 , у той час як фрагмент масою $m=74$ а.о.м. (тобто $\text{C}_3\text{H}_6\text{S}^+$) своїм утворенням зобов'язаний міграції атома водню з наступною дисоціацією скелетного зв'язку C4-C5 . У такому випадку відокремлюється нейтральний фрагмент, і його структура відповідатиме молекулі гліцину.

Розрахунок енергій появи іонів $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$ ($m=74$ а.о.м.) та $\text{C}_3\text{H}_7\text{S}^+$ ($m=75$ а.о.м.) у разі дисоціації зв'язку C4-C5 вказує, що мінімум енергії відповідає утворенню іонної пари (див. табл. 4.18). Порівняння розрахованих енергій появи іонних пар цих фрагментів дозволяє зробити висновок, що процес $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NSO}_2 + e \rightarrow \text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^- + \text{C}_3\text{H}_7\text{S}^+ + e$ є більш енергетично вигідним.

Таблиця 4.18.
Розраховані енергії появи (eV) фрагментів $C_2H_4NO_2$ та C_3H_7S

Заряд фрагмента $C_2H_4NO_2$ ($m=74$ а.о.м.)	Заряд фрагмента C_3H_7S ($m=75$ а.о.м.)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
-1	1	11,83	8,07
0	1	13,12	8,96
1	-1	12,98	7,85
1	0	13,46	9,79

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Пік при $m=83$ а.о.м. у мас-спектрі молекули метіоніну має незначну інтенсивність. На підставі простого аналізу, пов'язаного з розрахунком мас усіх можливих фрагментів, утворених внаслідок розриву всіх відповідних зв'язків, можна передбачити, що фрагмент масою $m=83$ а.о.м. утворюється внаслідок ряду швидких процесів.

У роботі [118] зазначено, що цей фрагмент утворюється завдяки каскадній фрагментації молекули метіоніну через вихід іона масою $m=131$ а.о.м. (зі втратою молекули H_2O) та з наступною втратою нейтрального фрагмента CH_3SH . Фрагмент $C_4H_5ON^+$ може мати циклічну структуру фурану або ж лінійну структуру (рис. 4.16).

Варто зазначити, що катіон $C_4H_5ON^+$ у точці рівноваги розпадається на фрагменти C_3H_5N та CO . У той же час, механізм утворення цього фрагмента та його структура експериментально не визначені. Мінімальне число структурних перетворень відповідає видаленню H_2O з переходом атома водню до атома сірки з одночасним розривом зв'язку $C3-S2$.

Слід відмітити, що виміряна експериментально енергія появи фрагмента масою $m=101$ а.о.м. ($C_4H_7NO_2^+$) складає $7,5 \pm 0,1$ eV, і ця величина є меншою ніж енергія НОМО, розрахована у роботі [113]. Експериментально визначена енергія іонізації материнської молекули складає приблизно 8,6 eV [40, 113, 119]. Отже, утворення позитивного іона $C_4H_7NO_2^+$ зобов'язане коливному

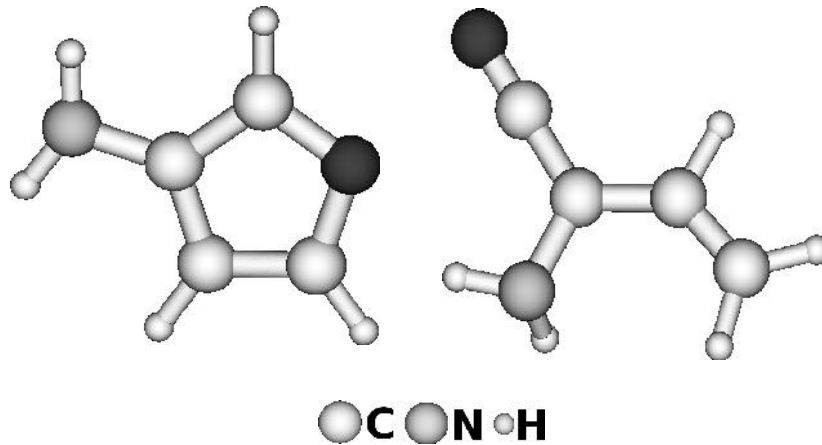
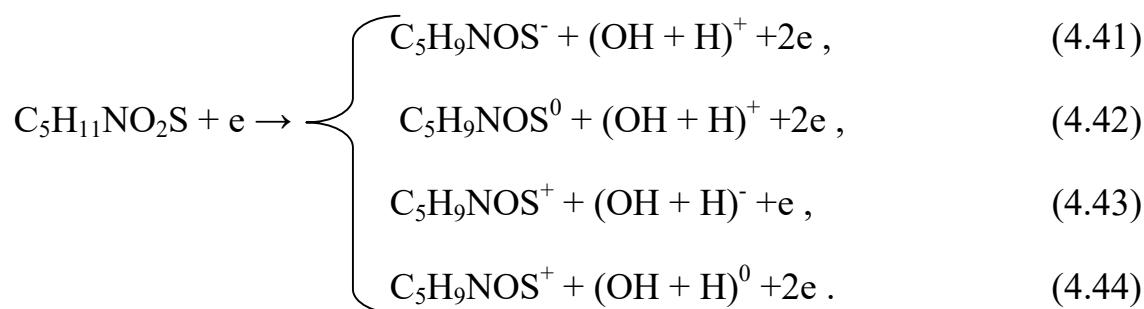


Рис. 4.16. Вигляд фрагмента $C_4H_5ON^+$ зі структурою амінофурану (ліворуч) та з лінійною (праворуч) структурою.

збудженню вихідної нейтральної молекули з відокремленням негативного фрагмента CH_3SH^- . Зазначимо, що геометрична структура катіона $C_4H_7NO_2^+$ може відрізнятися через розрив різних зв'язків $-C-H$, тобто через міграцію різних атомів водню. Усі можливі ізомери цього катіона нами були вивчені експериментально. Найбільш ймовірна структура цього катіона вказує на те, що його утворення пов'язане з міграцією атома водню до атома сірки та з розривом зв'язку S_2-C_3 без зміни початкової структури вихідної молекули. При більш високих енергіях (понад $11,0 \pm 0,1$ еВ), цей же процес призводить до появи фрагмента CH_4S^+ . Це означає, що при енергіях електронів нижче потенціалу іонізації позитивний заряд локалізується на фрагменті $C_4H_7NO_2$, у той час як при більш високих енергіях електронів це відбувається на фрагментах, що містять сірку.

Пік мас-спектра молекули метіоніну при $m=131$ а.о.м. можна пов'язати з виходом іона $C_5H_9NOS^+$ в результаті видалення фрагмента масою $m=18$ а.о.м. Такий канал дисоціації переважає при енергії фотонів 8,43 еВ. Вказані вище іонізовані та нейтральні фрагменти можуть утворюватися у таких процесах:



Порівняння експериментальних та розрахованих даних вказує на те, що утворення іона $C_5H_9NOS^+$ ($m=131$ а.о.м.) при дисоціації материнської молекули супроводжується відокремленням двох фрагментів HO та H (див. табл. 4.19).

Таблиця 4.19.

Розраховані енергії появи (eV) фрагмента C_5H_9NOS молекули метіоніну

Заряд фрагмента C_5H_9NOS ($m=131$ а.о.м.)	Заряд фрагмента (HO + H)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
-1	1	18,96	13,52
0	1	21	13,87
1	-1	15,21	13,35
1	0	18,68	10,81

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Вивільнення енергії, необхідної для утворення нейтральної молекули води, знижує розраховану енергію появи іона $C_5H_9NOS^+$ на 6,39 eV. Таким чином, вихід іона масою $m=131$ а.о.м. у спектрі метіоніну пов'язаний з видаленням нейтральної молекули води за каналом (4.44). На ділянці мас-спектра молекули метіоніну у області великих мас (див. рис. 4.8) присутній дифузний пік масою $m^* \sim 115,1$ а.о.м., який відповідає переходу $149 \rightarrow 131$, тобто видаленню нейтрального фрагмента масою $m=18$ а.о.м. Таким чином, у наших експериментах підтверджено наявність каналу дисоціації (4.44) материнської молекули з видаленням нейтральної молекули води.

У мас-спектрі молекули метіоніну також наявний пік при $m=35$ а.о.м., і його відповідність фрагменту SH_3^+ видається сумнівною. Очевидно, що утворення цього фрагмента вимагає не тільки розриву двох скелетних α -

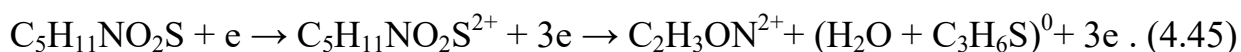
зв'язків відносно атома сірки, але і зміни положення трьох атомів водню. Однак, наші експериментальні результати свідчать про те, що пік при $m=35$ а.о.м. належить фрагменту SH_3^+ , оскільки він супроводжується сателітним піком масою $m=37$ а.о.м., інтенсивність якого відповідає природному вмісту ізотопу ^{34}S .

Катіон SH_3^+ може бути утворений при видаленні атома С з фрагмента CH_3S , але ймовірність перебігу саме цього процесу не підтверджується, наприклад, даними мас-спектрометричних досліджень молекул метилтіолу (CH_4S) та диметилсульфіду (CH_3SSCH_3) [40]. Обидві ці сполуки під дією електронного удару утворюють фрагмент CH_3S^+ , при цьому вихід іона SH_3^+ у відповідному мас-спектрі не спостерігався. Дані наших теоретичних розрахунків вказують на те, що для видалення атома С з катіона CSH_3^+ необхідна енергія у межах 6,27 – 6,44 еВ. З іншого боку, у мас-спектрах діалкілсульфідів (скажімо, CH_3SCH або $\text{C}_2\text{H}_5\text{SC}_2\text{H}_5$) наявні іони $\text{CH}_3\text{SCH}_2^+$ та SH_3^+ [40]. У випадку, коли діалкілсульфіди мають бічний ланцюг, який блокує утворення іона $\text{CH}_3\text{SCH}_2^+$, іон SH_3^+ взагалі не утворюється. Це непрямо підтверджує каскадний характер фрагментації, що призводить до утворення іона SH_3^+ . Відмітимо, що можливий механізм виходу катіона SH_3^+ з $\text{CH}_3\text{SCH}_2^+$ через циклічну перехідну структуру описаний у роботі [120]. Тому, аналіз мас-спектрів низькомолекулярних діалкілсульфідів дозволяє нам зробити висновок про те, що іон сульфонію SH_3^+ у спектрі метіоніну утворюється завдяки каскадному механізму вторинної дисоціації іона $\text{CH}_3\text{SCH}_2^+$.

Представлення початкової ділянки мас-спектра молекули метіоніну у напівлогарифмічній шкалі (див. рис. 4.6) дозволяє виявити вихід фрагментів, які до тепер не спостерігалися у наявній літературі. Іншими словами, нами спостережено два слабких піки, пов'язаних з утворенням двозарядних іонів $\text{C}_2\text{H}_3\text{ON}^{2+}$ ($m/z=28,5$) та $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$ або $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}^{2+}$ ($m/z=33,5$). Очевидно, що нами вперше виявлено утворення двозарядних іонів у спектрах амінокислот.

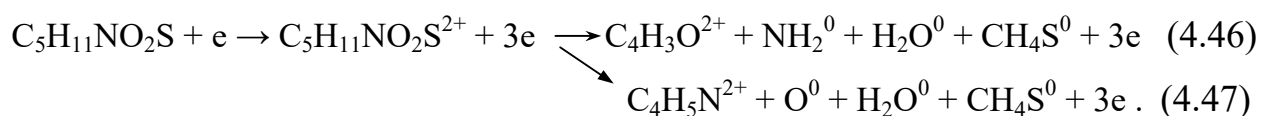
Без сумніву, пік масою $m/z=28,5$ можна зв'язати з двозарядним іоном $C_2H_3ON^{2+}$. Такий висновок ґрунтується на результатах, отриманих у даній роботі. Однозарядний іон $C_2H_3ON^+$ масою $m=57$ а.о.м. був виявлений у спектрі молекули метіоніну (рис. 4.9), що свідчить про те, що фрагментація вихідної молекули за "амінним" типом може мати своїм наслідком утворення як одно- так і двозарядного іонів з первинною масою $m=57$ а.о.м. Найбільш імовірно, утворення іона $C_2H_3ON^{2+}$ електронним ударом відбувається в результаті дисоціації скелетного зв'язку C4–C5 двозарядного іона материнської молекули, яка супроводжується видаленням молекули води. Враховуючи, що для виходу молекули води необхідними є наявність гідроксильної групи та атома водню у протилежних частинах вихідної молекули після розриву зв'язку C4–C5, можна зробити висновок, що молекула води видаляється одночасно з дисоціацією скелетного зв'язку, або безпосередньо до початку цього процесу.

Результати оптимізації вказують, що у випадку реакції утворення фрагментів $[OH + H]^0$ та $[OH + H]^-$ утворюється також і молекула води. На жаль, низька інтенсивність іонного піка $C_2H_3ON^{2+}$ не дозволила виміряти функцію дисоціативної іонізації з виходом цього іона та визначити його енергію появи. Пропонуємо можливий канал утворення іона $C_2H_3ON^{2+}$:



Як зазначено вище, рис. 4.8 наочно ілюструє прояв додаткового піку, який відповідає іншому двозарядному іону при $m/z=33,5$. Однозарядний іон масою $m=67$ а.о.м. у спектрі молекули метіоніна відсутній. Загальна формула двозарядного іона з $m/z=33,5$ може виглядати як $C_4H_3O^{2+}$ або $C_4H_5N^{2+}$. Очевидно, утворення двозарядного іона $C_4H_3O^{2+}$ має місце при відокремленні стабільних нейтральних фрагментів H_2O , NH_2 та CH_4S від двозарядного іона вихідної молекули (див нижче канал (4.46)). Утворення ж іона $C_4H_5N^{2+}$ пов'язане з втратою двозарядним іоном вихідної молекули метіоніну атома

кисню та молекул H_2O , CH_4S (див нижче канал (4.47)). Для перевірки можливості ступінчастого утворення вказаних двозарядних іонів нами проаналізовано ділянки мас-спектра, де можуть проявлятися вказані проміжкові іони. Двозарядні іони $(\text{M}-\text{H}_2\text{O})^{2+}$, $(\text{M}-\text{NH}_2)^{2+}$ та $(\text{M}-\text{CH}_4\text{S})^{2+}$, що відповідають послідовному відокремленню нейтральних фрагментів від материнського іона M^{2+} у мас-спектрі молекули метіоніну не спостерігаються. Це дозволяє виключити каскадний механізм утворення іона при $m/z=33,5$. Нами були теоретично досліджені різні можливості виходу двозарядних іонів та встановлені два таких можливих канали їх утворення з одночасним видаленням відповідних нейтральних фрагментів:



У таблиці 4.20 наведені результати оцінки стабільності двозарядних іонних фрагментів вказаної маси щодо розпаду з урахуванням їх структури. Наші розрахунки внутрішньої енергії циклічних та лінійних структур іона $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$ дозволили зробити висновок, що лінійна структура іона є більш стабільною, ніж циклічна. Загалом, найбільшою стабільністю серед іонів з $m/z=33,5$ відрізняється $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}^{2+}$. Структура цього іона після оптимізації (при досягненні рівноважної геометрії) вказана на рис. 4.16.

Таблиця 4.20.

Стабільність двозарядних фрагментів з $m/z=33,5$

Фрагмент	Внутрішня енергія, а.о.	Енергія появи, еВ	Енергія появи на один атом, еВ
$\text{C}_4\text{H}_5\text{N}^{2+}$	-209,164	30,237	3,022
$\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$ ($\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2$)	-228,328	18,894	2,362
$\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$ ($\text{O}=\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}$)	-228,340	18,59	2,324
$\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$ (циклічна форма)	-228,240	16,17	2,022

Таким чином, після втрати вихідною молекулою метіоніну двох електронів з двох найвищих заселених молекулярних орбіталей, тобто з незв'язаних *n*-орбіталей атомів сірки та азоту, та завдяки подальшому розпаду стає можливим утворення двозарядних іонів $C_2H_3ON^{2+}$ ($m/z=28,5$), $C_4H_5N^{2+}$ та/або $C_4H_3O^{2+}$ ($m/z=33,5$) (див. (4.45)-(4.47)). Однак, вихід іона $C_4H_5N^{2+}$ є більш вірогідним завдяки його більшій стабільності.

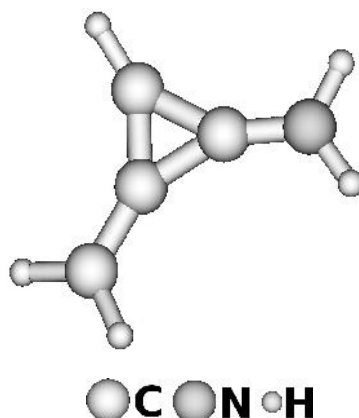


Рис. 4.17. Структура двозарядного іона $C_4H_5N^{2+}$ після оптимізації геометрії.

Як зазначено вище, у даній роботі були експериментально виміряні енергії появи фрагментів молекули метіоніну, які були доповнені відповідними даними наших теоретичних розрахунків (див., наприклад, [119, 121]). У табл. 4.21 ці результати порівнюються між собою та з даними інших робіт, взятими з бази НІСТ [40].

Таблиця 4.21.

Енергії появи (eV) фрагментів молекули метіоніну

Маса фрагмента, а.о.м.	Ототожнення іона	Експериментальні енергії появи	База даних НІСТ [202]	Теоретичні дані методу ТФГ	
				Енергія появи	Інші продукти реакції
28	CH_2N^+	$11,4 \pm 0,1$	–	$11,31^{\circ}$	$(C_3H_7S + H + CHO_2)^0$
30	CH_4N^+	$11,0 \pm 0,1$	–	$9,08^{\circ}$	$(COO + C_3H_7S)^0$
41	$C_3H_5^+$	$13,3 \pm 0,1$	–	$9,74^{\circ}$	$(NH_2 + CH_3S + CHO_2)^0$
	$C_2H_3N^+$			$14,41^{\circ}$	$(CHO_2 + C_2H_5S + 2H)^-$
42	$C_3H_6^+$	$12,9 \pm 0,1$	–	–	–

Продовження таблиці 4.21.

Маса фрагмента, а.о.м.	Ототоження іона	Експериментальні енергії появи	База даних НІСТ [202]	Теоретичні дані методу ТФГ	
				Енергія появи	Інші продукти реакції
	$C_2H_4N^+$			9,37 ^o 16,98 ^б	$(C_2H_5S + H + CHO_2)^-$ $(C_2H_5S + H + CHO_2)^0$
43	$C_3H_7^+$	13,2 ± 0,1	–	–	–
	$C_2H_5N^+$			13,58 ^а 7,46 ^б	$(C_2H_5S + CHO_2)^-$
44	$C_3H_8^+$	12,9 ± 0,1	–	–	–
	$C_2H_6N^+$			8,28 ^o	$(C_2H_5S + CO_2)^0$
	CS^+			16,76 ^б	$(CH_3 + 2H + C_3H_6NO_2)^0$
45	CHO_2^+	13,5 ± 0,1	–	11,76 ^б	$C_4H_{10}NS^0$
46	$CH_2O_2^+$	13,1 ± 0,1	–	13,22 ^б	$C_4H_9NS^{0,-1}$
47	CH_3S^+	13,0 ± 0,1	13,0 ± 0,20	11,82 ^б	$(C_4O_2NH_8)^0$
48	CH_4S^+	11,0 ± 0,1	–	10,57 ^б	$C_4H_7NO_2^0$
55	$C_3H_5N^+$	11,8 ± 0,1	–	11,86 ^б	$(CH_3S + 2H + CHO_2)^-$
56	$C_3H_6N^+$	11,2 ± 0,1	–	10,04 ^а	$(CH_3S + H + CO_2H)^0$
57	$C_3H_7N^+$	12,7 ± 0,1	–	12,51 ^б	$(CH_3S + CO_2H)^-$
61	$C_2H_5S^+$	12,4 ± 0,1	12,43 ± 0,10	10,71 ^б	$C_3H_6NO_2^0$
74	$C_3H_6S^+$	–	–	12,26 ^б	$C_2H_5NO_2^0$
	$C_2H_4NO_2^+$			9,79 ^б	$C_3H_7S^0$
75	$C_3H_7S^+$	–	–	8,07 ^б	$C_2H_4NO_2^-$
	$C_2H_5NO_2^+$			10,82 ^б	$C_3H_6S^-$
88	$C_3H_6NO_2^+$	–	–	8,72 ^б	$C_2H_5S^0$
101	$C_4H_7NO_2^+$	7,5 ± 0,1	–	9,26 ^б	$(CH_3S + H)^0$
104	$C_4H_{10}NS^+$	9,7 ± 0,1	9,68 ± 0,15	8,70 ^б	CHO_2^0
114	$C_5H_6OS^+$	9,3 ± 0,1	–	10,50 ^б	$(NH + OH + 3H)^-$
116	$C_5H_8OS^+$	8,5 ± 0,1	–	14,93 ^б	$(NH_2 + OH)^0$
	$C_5H_{10}NS^+$			14,37 ^б	$(OH + O)^-$
131	$C_5H_9NOS^+$	–	–	10,81 ^б	$(OH + H)^0$
149	$C_5H_{11}NO_2S^+$	8,6 ± 0,1	8,63 ± 0,10	8,09 ^б	–

^{а, б} – див. примітки до табл. 4.2.

Звернемо увагу на те, що у ряді випадків енергії появи деяких фрагментів не були розраховані, оскільки нам не вдалося розрахувати їх для точки рівноваги фрагментів та передбачити, як змінюється геометрія молекули метіоніну при утворенні вказаних фрагментів.

З іншого боку, нами розраховані енергії появи деяких фрагментів, не дивлячись на відсутність відповідних експериментальних даних. Оскільки інтенсивність піка масою $m=85$ а.о.м. дуже мала, цей фрагмент експериментально не міг бути досліджений, хоча дані розрахунку вказують на те, що цим іоном є $C_4H_5O_2^+$, а енергія його появи складає 11,17 еВ.

Незважаючи на ретельні теоретичні моделювання та розрахунки, проведені у даній роботі, величина енергії появи фрагмента $m=116$ а.о.м., отримана теоретично, перевищує виміряну експериментально. На нашу думку, цей фрагмент, як і інші з масами $m=42$, 43 та 44 а.о.м., утворюється з молекули метіоніну не в її рівноважному стані. Інші можливі стани молекули важко розраховуються наявним теоретичним апаратом.

4.3 Молекула триптофану

Молекула амінокислоти триптофану ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) являє собою незамінну амінокислоту, яка є попередником мелатоніну та серотоніну. Мелатонін – гормон, який утворюється у епіфізі тварин, він відповідає за процеси сну. Серотонін є нейротрансмітером головного мозку та є фактором згортання тромбоцитів [122]. Так само як інші амінокислоти, зокрема ті, що були розглянуті у даній роботі, триптофан має декілька конформерів. L-стереоізомер триптофану знаходить своє місце у структурних, або ферментних білках в той час, як D-стереоізомер інколи зустрічається у природніх пептидах [123]. D-ізомер молекули не використовується людьми [124], у той час як L-триптофан використовується для подолання безсоння, депресії, тривоги, а також для покращення спортивної ефективності [125].

4.3.1 Мас-спектри

Виміряний на експериментальній установці мас-спектр при стандартній енергії електронів 70 еВ зображений на рис. 4.18. Загалом виміряний мас-спектр дуже близький до наявного у базі спектрів NIST [40] та отриманих

при фотоіонізації у роботах [87, 126]. Мас-спектр триптофану характеризується високою селективністю, оскільки окрім основного каналу розпаду молекулярного іона з подальшим утворенням іонного фрагмента масою 130 а.о.м. інтенсивність найбільш чітких піків, із відповідними масами: 28, 77, 103, 204 а.о.м. не перевищує 7% інтенсивності основного піку. Слід відмітити, що під дією ЕУ утворюється низка фрагментів, інтенсивність яких не перевищує 3% інтенсивності основного піку.

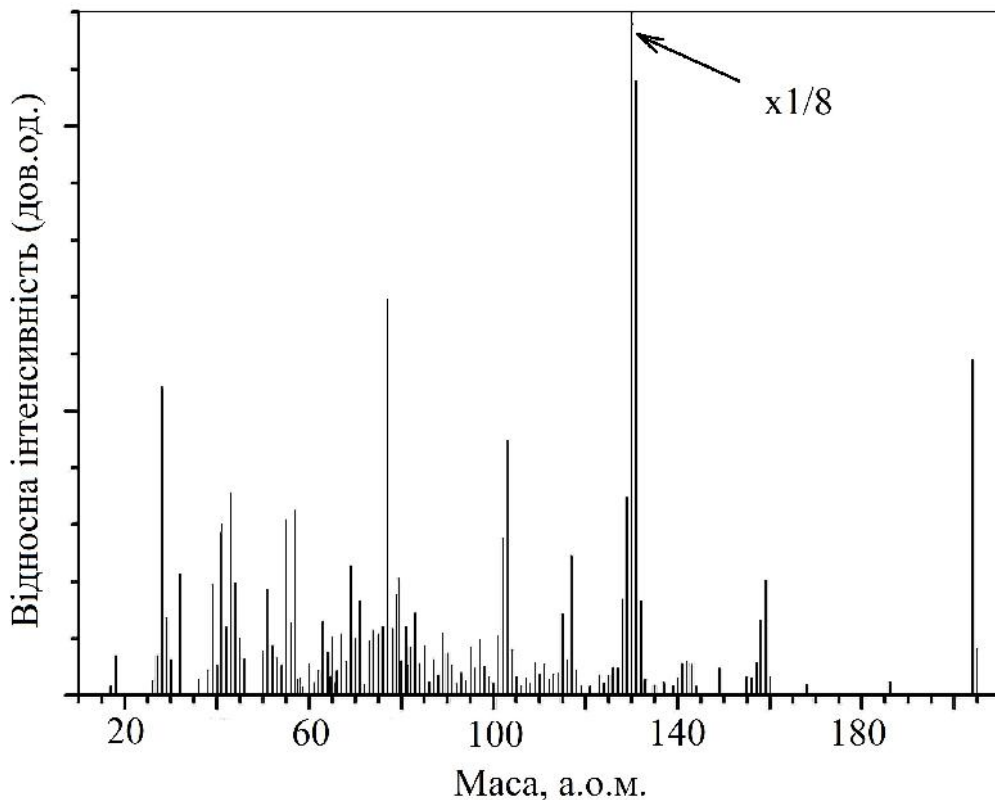


Рис. 4.18. Мас-спектр молекули триптофану при енергії іонізуючих електронів 70 еВ.

Велика кількість піків в мас-спектрі свідчить про багатоканальність розпаду вихідної молекули під дією ЕУ. Особливий інтерес становлять піки відносно малої інтенсивності з дробовою масою, а саме: 57.5, 64.5, 79.5 (найбільш інтенсивний) та 81.5 а.о.м. Останні виділені на мас-спектрі товстішими лініями.

Рис. 4.19 демонструє ділянку мас-спектра у діапазоні 70-210 а.о.м. З останнього видно, що молекулярний іон молекули триптофану є стійким при іонізації електронами енергією 70 еВ, достатню для того, щоб його можна було зареєструвати.

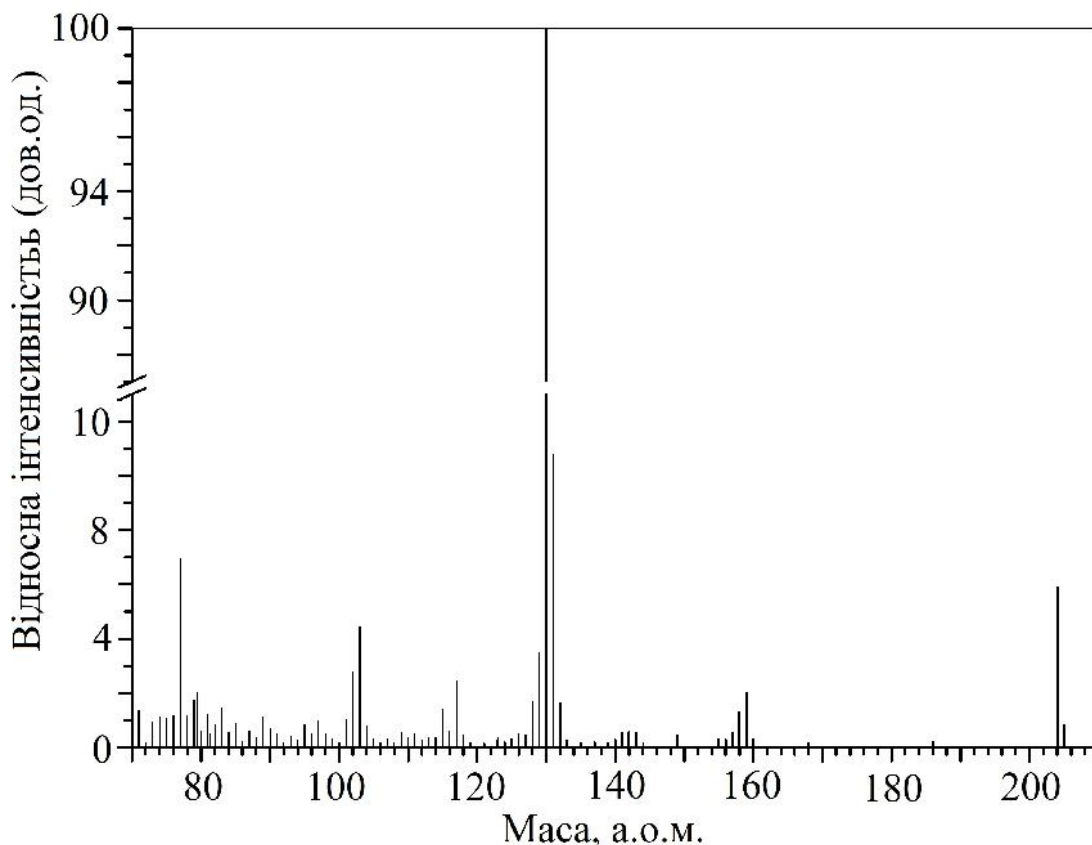


Рис. 4.19. Ділянка мас-спектра молекули триптофану при енергії іонізуючих електронів 70 еВ.

4.3.2 Потенціали появи

У ході експерименту нами були отримані енергетичні залежності перерізів виходу молекулярного іона та основного іонного фрагменту молекули.

Нижче на рис. 4.20 зображені отримані функції з позначеними на них відповідними пороговими значеннями енергії.

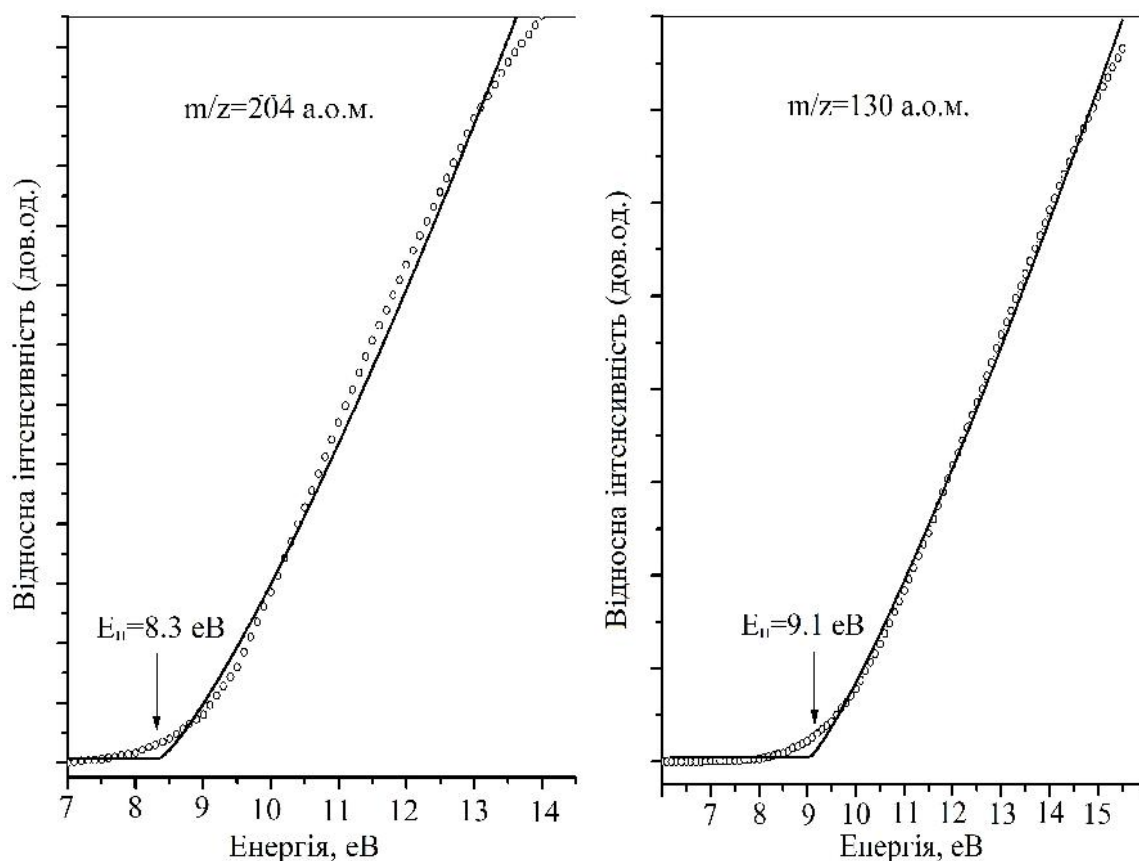


Рис. 4.20. Функції виходу іонних фрагментів $C_{11}H_{12}N_2O_2^+$ (зліва) та $C_9H_8N^+$ (справа). Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

Використовуючи описану вище методику та отримані експериментальні криві, було визначено поріг іонізації молекули триптофану, який склав 8.3 ± 0.1 eV. Отримане значення дещо менше порогів іонізації деяких інших аліфатичних молекул, в тому числі і для описаного вище гліцину. Натомість, це значення добре узгоджується із тими, що отримані за допомогою фотоелектронної спектроскопії: 7.9 (π_1), 8.3 (π_2), 9.8 eV для першої молекулярної орбіталі триптофану [83].

4.3.3 Аналіз механізмів фрагментації

Очевидно, що інтенсивність піків материнських іонів аліфатичних амінокислот у мас-спектрах при ЕУ низька через високу імовірність процесів розпаду, ініційованих катіон-радикальним центром, який локалізований в амінній групі. Проте, через ароматичний характер бічного ланцюга,

триптофан демонструє зовсім інший характер мас-спектру та як було вже сказано, інтенсивність сигналу материнського іона, дозволяє визначити значення енергії іонізації молекули. У випадку аліфатичних молекул амінокислот, найнижча енергія іонізації, в основному, пов'язана з іонізацією незв'язаної пари атома азоту NH_2 . Проте для ароматичних амінокислот найнижча енергія іонізації, очевидно, пов'язана з іонізацією молекулярної орбіталі ароматичного кільця π , що має потенціал іонізації нижче ніж для n -орбіталі атома азоту. Вертикальні енергії іонізації, які були розраховані у роботах [127] для трьох конформерів триптофану, відрізняються відносною орієнтацією амінів та карбоксильних вузлів. Зрозуміло, що конформація може дуже суттєво впливати на порядок іонізованих молекулярних орбіталей, та як наслідок впливати і на енергію іонізації. Таким чином, для трьох конформерів триптофану значення вертикальної енергії іонізації, розрахованих методом функцій Гріна для зовнішніх оболонок знаходиться у інтервалі 7,07 – 7,34 еВ. Для всіх конформерів порядок перших трьох молекулярних орбіталей є однаковим, а орбіталі π_1 , π_2 та π_3 є індолом. Різниця в характері молекулярної орбіталі обумовлена просторовою орієнтацією функціональних груп. Перше порогове значення іонізації для молекули триптофану, яке було розраховане використовуючи різні методи, становить 7,22–7,88 еВ [127]. Згідно з нашими розрахунками, енергія іонізації, розрахована як різниця енергій між катіоном триптофану та нейтральною молекулою, та становить 7,12 еВ. Ця величина попадає в наведений вище інтервал значень з роботи [127].

На рис. 4.20 зображено загальний вигляд молекули триптофану із позначеними відповідними номерами атомів.

Так само як і для інших молекул, які вже були розглянуті у даній роботі, нами було проведено розрахунок довжин та порядки зв'язків молекули триптофану. Отримані значення приведені у таблиці 5.22.

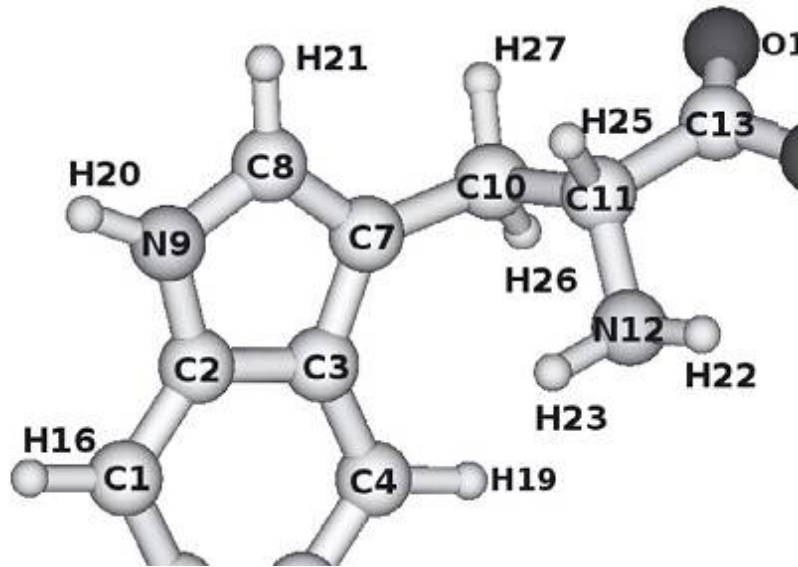


Рис. 4.20. Загальний вигляд молекули триптофану.

Таблиця 4.22.

Розраховані довжини та порядки зв'язків молекули триптофану.

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å. Нейтральна молекула	Довжина зв'язку, Å. Іонізована молекула	Порядок зв'язку. Нейтральна молекула	Порядок зв'язку. Іонізована молекула
C1-C2	1.394	1.372	1.356	1.475
C1-C6	1.384	1.409	1.538	1.366
C1-H16	1.082	1.081	0.902	0.882
C2-N9	1.375	1.401	1.015	0.924
C2-C3	1.418	1.417	1.407	1.356
C3-C4	1.403	1.406	1.366	1.339
C3-C7	1.442	1.419	1.278	1.328
C4-C5	1.383	1.393	1.522	1.433
C4-H19	1.081	1.079	0.87	0.869
C5-C6	1.405	1.391	1.39	1.493
C5-H18	1.082	1.08	0.91	0.889
C6-H17	1.082	1.081	0.91	0.889
C7-C8	1.369	1.42	1.685	1.395
C7-C10	1.5	1.478	0.911	0.957
C8-N9	1.379	1.334	1.038	1.265
N9-H20	1.003	1.009	0.837	0.806
C10-C11	1.537	1.571	0.905	0.838
C10-H26	1.091	1.091	0.945	0.929
C10-H27	1.089	1.088	0.943	0.918
C11-N12	1.463	1.437	0.954	0.995

Продовження таблиці 4.22.

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å. Нейтральна молекула	Довжина зв'язку, Å. Іонізована молекула	Порядок зв'язку. Нейтральна молекула	Порядок зв'язку. Іонізована молекула
C11-H25	1.103	1.092	0.922	0.937
C13-O14	1.356	1.341	1.018	1.045
C13-O15	1.203	1.2	1.982	1.961
N12-H22	1.012	1.012	0.864	0.864
N12-H23	1.013	1.01	0.864	0.862
O14-H24	0.968	0.971	0.804	0.789

Структурно молекулу триптофану, як ароматичну амінокислоту, можна представити як індол-3-аланін, або 3-метилєнїндол зв'язаний у позиції C_α із залишком простої амінокислоти (гліцин). Іонний фрагмент $C_9H_8N^+$ (масою 130 а.о.м.) відповідає домінуючому піку мас-спектра незалежно від методу іонізації [87, 126], та утворюється за рахунок розриву $C_\alpha-C_\beta$ (C10-C11) зв'язку у вихідній молекулі. Інтєнсивність іона з масою 74 а.о.м. ($C_2H_4NO_2^+$) у мас-спектрі, складає приблизно 1% основного піка. Таким чином, іонізація молекули триптофану, в основному, відбувається за рахунок елімінування електрона мультиєнїндольною групою атомів, в якій локалізується заряд. Схематично процес зображено на рис. 4.21.

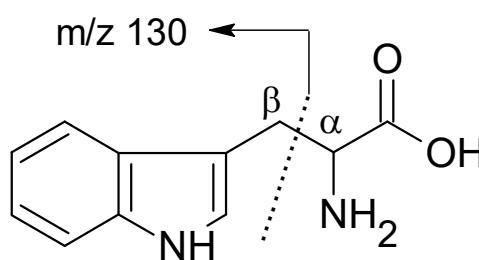


Рис. 4.21. Схема розриву $C_\alpha-C_\beta$ зв'язку молекули триптофану з подальшим утворенням основного іонного фрагмента.

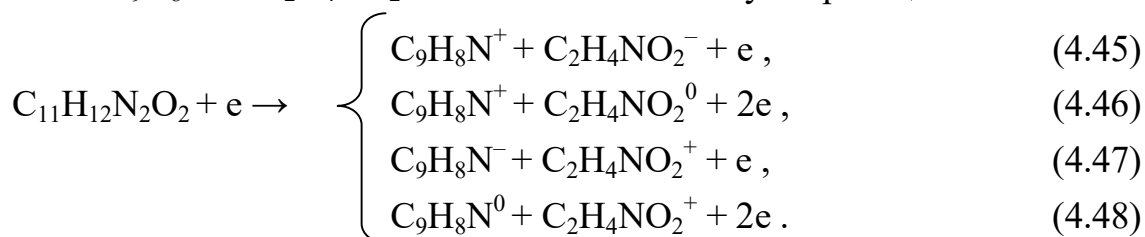
Також відбувається розрив між індольною та $CH_2-C(NH_2)-COOH$ групами. Однак, цей канал дисоціації не є ефективним, про що свідчить пік масою 117 а.о.м. інтенсивністю 4% по відношенню до основного піку мас-

спектра. Переважаючий розрив зв'язків C10-C11 у порівнянні з C4-C10, на наш погляд, пояснюється відмінністю EI в отриманих фрагментах. Таким чином, EI 3-метиніндолу в [128] визначали як 7,52 еВ, а для індолу – 7,76 еВ [129].

З термодинамічної точки зору, у випадку дисоціації молекулярного іона, заряд локалізується у фрагменті з нижчим потенціалом іонізації. Таким чином фрагментація, найімовірніше, проходить через найближчий простий зв'язок до локалізації заряду. При значенні енергії електронів, що трохи перевищує потенціал іонізації молекули триптофану, ймовірність дисоціації C10–C11 зв'язку дуже висока. При більш високих енергіях, відбувається іонізація більш глибоких молекулярних орбіталей, насамперед азотних і кисневих неподілених електронних пар. Останнє призводить до дисоціації сусідніх зв'язків, що збільшує кількість каналів фрагментації. Однак, як видно з отриманого мас-спектра (рис. 4.18), інтенсивність сигналу іонних фрагментів, які утворилися таким чином, незначна, оскільки ароматична група стабілізує позитивний заряд і зменшує фрагментацію.

Як згадувалося раніше, основний пік мас-спектра триптофану пов'язаний з іонами $C_9H_8N^+$, отриманими при простому розщепленні зв'язку $C_\alpha-C_\beta$ (C10-C11) вихідної молекули. Заряд в основному локалізується на фрагменті, що містить ароматичне індольне кільце.

Розраховане значення енергії зв'язку для фрагмента $C_9H_8N^+$ складає 5.44 еВ і вище, що більше ніж у комплементарного іона масою 74 а.о.м. (3,92 еВ). Ці результати вказують на високу стійкість фрагмента масою 130 а.о.м. та високу імовірність його утворення. Якщо виключити можливі інші випадки розподілу заряду при дисоціації зв'язку, який призводить до утворення фрагментів C_9H_8N та $C_2H_4NO_2$ можна записати наступні реакції:



У табл. 4.23 представлено розраховані енергії появи іонних фрагментів молекули триптофану.

Таблиця 4.23.

Розраховані енергії появи іонних фрагментів молекули триптофану.

C_9H_8N ($m=130$ а.о.м.) заряд фрагмента	$C_2H_4NO_2$ ($m=74$ а.о.м.) заряд фрагмента	Розрахована енергія
1	-1	7.59
1	0	8.07
-1	1	9.08
0	1	9.12

Експериментальні результати підтверджують нижчу стабільність іона $C_2H_4NO_2^+$ у порівнянні з фрагментом $C_9H_8N^+$ та високе значення порогової енергії, тобто, імовірність утворення позитивно зарядженого фрагмента гліцину нижче, ніж у C_9H_8N . Ці результати збігаються із спостереженнями М.М. Макленнана з співавт. [130], що вказують на дисоціацію зв'язку $C_\alpha-C_\beta$ (C10-C11) з відщепленням катіонного фрагмента бічного ланцюга $C_9H_8N^+$ як на низькоенергетичний процес, тоді як утворення $C_2H_4NO_2^+$ є високоенергетичним процесом.

Відповідно до енергетичної залежності іона $C_9H_8N^+$, утвореного з вихідної молекули (див. рис. 4.20), ми визначили його потенціал появи який склав $9,1 \pm 0,1$ еВ. Отримане значення дещо (на 0,93) перевищує значення, що було отримане при теоретичних розрахунках відповідно до реакції (4.46).

У табл. 4.24 розраховані енергії появи іонних фрагментів $C_2H_3NO_2$ та C_9H_8N при розриві зв'язку N-H більші, на 4.54 та 4.40 еВ, відповідних значень з табл. 4.23.

Таблиця 4.24.

Розраховані енергії появи іонних фрагментів $C_2H_3NO_2$ та C_9H_8N при розриві зв'язку N-H.

$C_2H_3NO_2$ ($m=74$ а.о.м.) заряд фрагмента	C_9H_8N ($m=130$ а.о.м.) заряд фрагмента	Розрахована енергія
-1	1	12.13
0	1	12.47

4.4 Молекула аланіну

Молекула аланіну являє собою заміну амінокислоту, тобто може бути синтезована у людському тілі. L-аланін є другим після лейцину за швидкістю утворення, та складає 7.8% основної структури білків [131]. При дослідженнях молекула аланіну, як і гліцин, часто використовується у якості модельної системи для вивчення властивостей більш складних систем, у тому числі й впливу іонізуючого випромінювання [132]. Внаслідок наявних радіометричних властивостей аланін, вважається вторинним стандартом для дозиметрії високих доз [133]. Крім того, інформація про фрагментацію цієї молекули має велике астрофізичне значення завдяки домінуючим процесам утворення фрагментів нейтральної молекули COOH та протонованого ціаніду водню HCNH^+ [134].

4.4.1 Мас-спектри

На рис. 4.22 зображено частину отриманого у ході експерименту мас-спектру молекули аланіну, виміряного при енергії іонізуючих електронів 70 еВ. У загальному мас-спектр дуже схожий до того, який знаходиться у базі даних NIST [40]. Представлення цього спектру у напівлогарифмічній шкалі (див. рис. 4.24) дозволяє більш чітко виявити пік двозарядного іона масою $m/z=43,5$ а.о.м. Найбільш інтенсивними у мас-спектрі є піки $m=18, 28, 42, 44$ а.о.м. Зауважимо, що нами не було зареєстровано піку іона аланіну. Відсутність цього піка іона $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2^+$ вихідної молекули у спектрі свідчить про те, що ймовірність недисоціативної (прямої) іонізації молекули аланіну є надзвичайно малою.

У ході експерименту три піки у мас-спектрі молекули мали роздвоєну форму, тобто, принаймні два іони роблять свій внесок у кожний з піків.

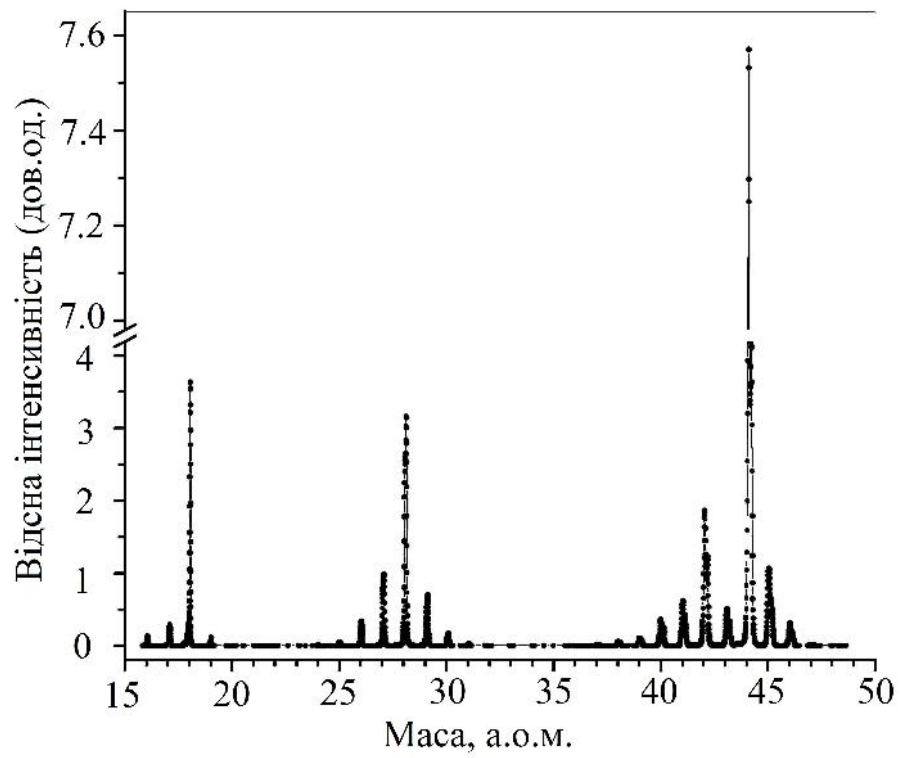


Рис. 4.22. Загальний мас-спектр молекули DL α -аланіну.

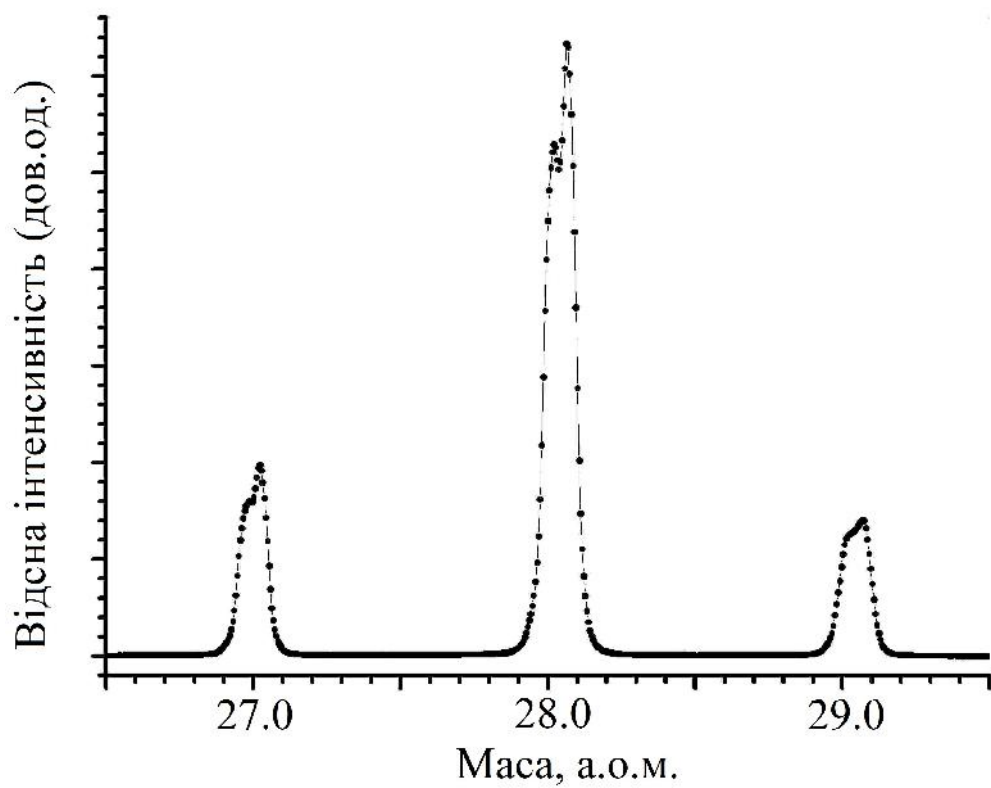


Рис. 4.23. Ділянка мас-спектру DL-аланіну в області 26,5–29,5 а.о.м.

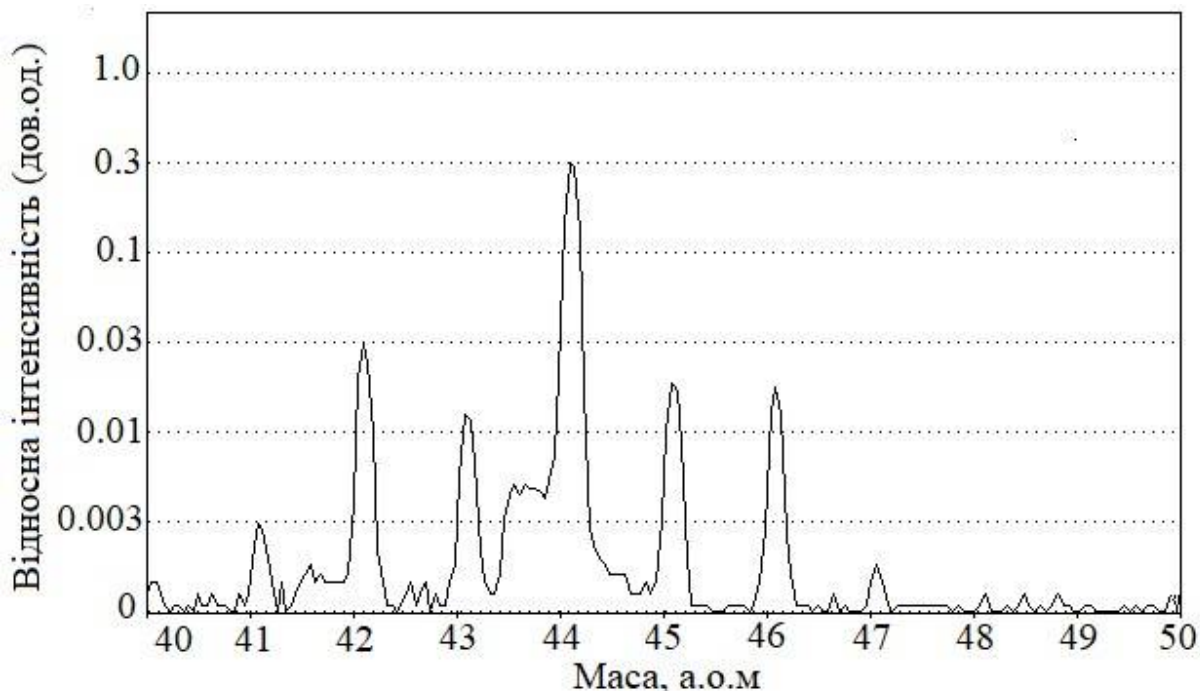


Рис. 4.24. Ділянка спектру молекули DL-аланіну у області мас 40–50 а.о.м.

Ділянка мас-спектру молекули DL-аланіну в області мас 26,5–29,5 а.о.м. представлена на рис. 4.23, в області мас 40–50 а.о.м. – на рис. 4.24.

4.4.2 Потенціал появи

У ході експерименту було отримано функцію виходу основного іонного фрагменту масою 44 а.о.м. Нижче на рис 4.26. зображено отриману функцію виходу фрагменту $C_2H_6N^+$, а механізм його утворення та ідентифікація будуть наведені нижче. Енергія його появи, визначена експериментально становить 10.79 eV.

4.4.3 Аналіз механізмів фрагментації

Загальний вигляд конформерів досліджуваної молекули DL α -аланіну представлено на рис. 4.26. За отриманими даними, повні енергії трьох найбільш стійких конформерів молекули аланіну відрізняються дуже мало. Як і в попередніх випадках, основним нашим завданням було визначення найбільш енергетично вигідних каналів фрагментації молекули аланіну під дією низькоенергетичних електронів.

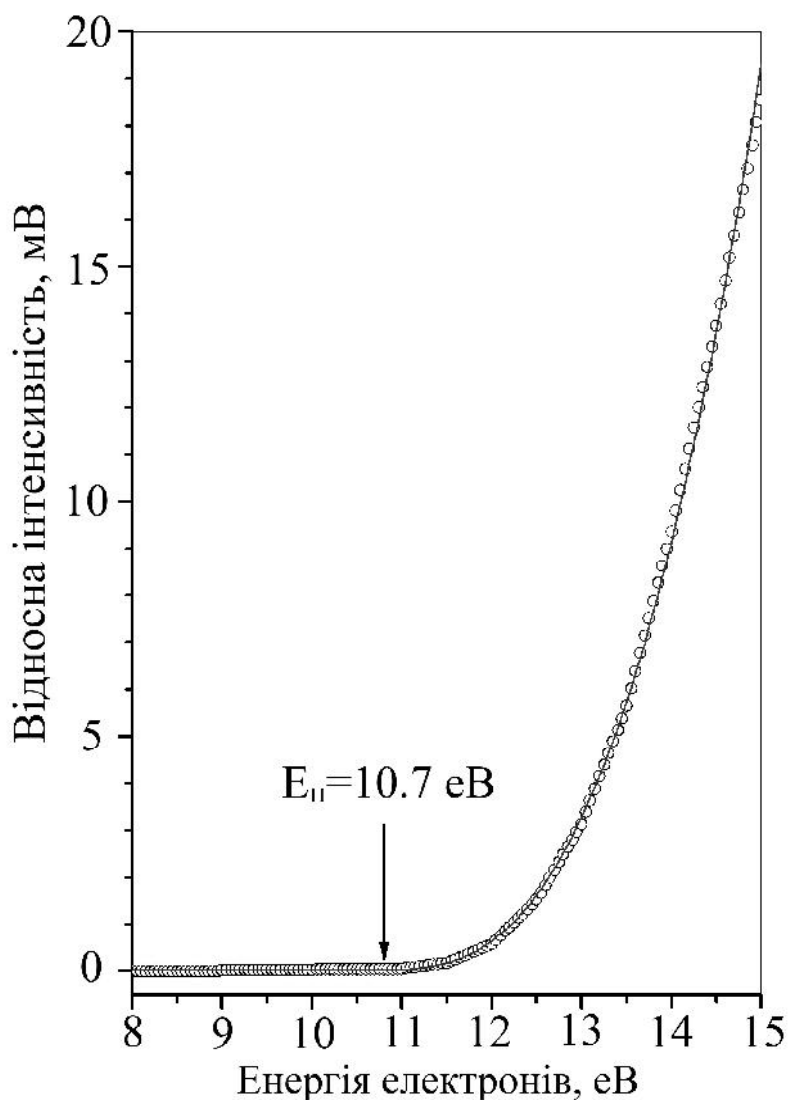


Рис. 4.25. Функція виходу іонного фрагмента $C_2H_6N^+$. Точки – дані експерименту. Суцільна крива – результат підгонки. Стрілка – положення порогу появи.

Для систем з внутрішньо-молекулярним водневим зв'язком структурна перебудова після іонізації вихідної молекули є типовою, однак, кожен її конформер має свої власні канали фрагментації, пов'язані з цими внутрішньо-молекулярними зв'язками.

Нами було встановлено, що найбільш стабільним є конформер аланіну II, повна енергія якого на 0,054 еВ менша від повної енергії аланіну I, а найнижчий енергетичний бар'єр для переходу аланіну III у аланін I (завдяки

обертанню групи $-\text{COOH}$) становить 0,086 еВ. Крім того, рівноважна структура іонізованої молекули аланіну III подібна до структури аланіну I.

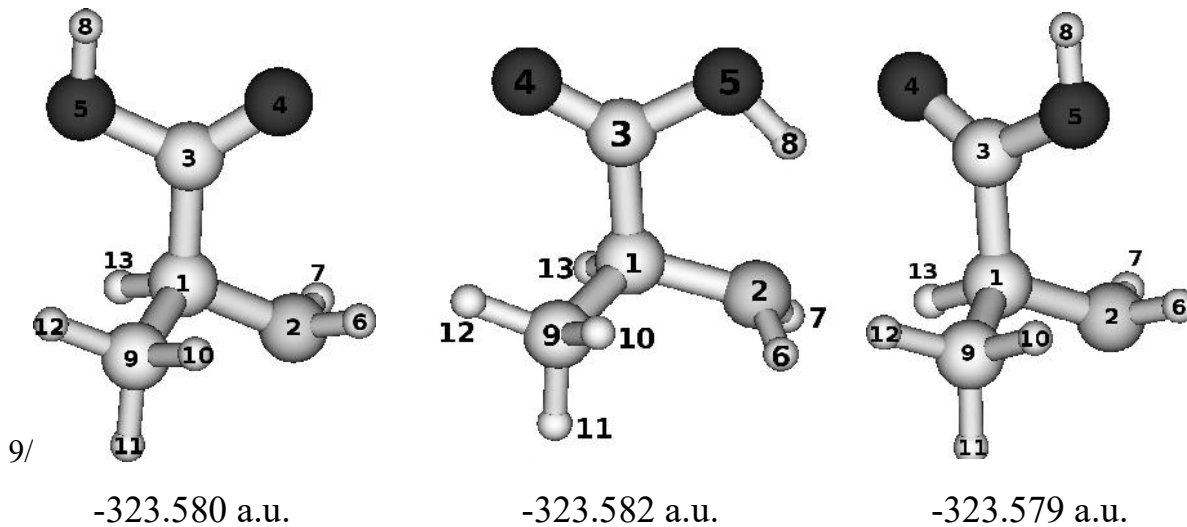


Рис 4.26. Загальний вигляд та розраховані повні енергії нейтральних конформерів молекули аланіну: I (зліва), II (у центрі) та III (справа).

Розраховані довжини та порядки зв'язків конформерів нейтральної та іонізованої молекул аланіну наведені у таблицях 4.25 та 4.26. Іонізація материнської молекули найбільш ймовірно пов'язана зі змішаною найвищою заселеною орбіталлю (НОМО) σ_p . Вона містить електронні конфігурації $N2(0.41(2pz)); O3(0.13(2pz))$, а її енергія складає 6,59 еВ.

Однак, експериментально визначені та розраховані енергії іонізації нейтральної молекули аланіну лежать у діапазоні 8,75–9,85 еВ. Це означає, що іонізація молекули аланіну відбувається також за рахунок орбіталей НОМО–1 (σ_p C1–O4–O5, 7,997 еВ) та НОМО–2 (π O4–O5, 9,048 еВ). Таким чином, очевидно, що іонізація молекули аланіну відбувається за безпосередньої участі функціональних груп $-\text{NH}_2$ та $-\text{COOH}$.

Таблиця 4.25.
Довжини зв'язків конформерів молекули аланіну до і після іонізації .

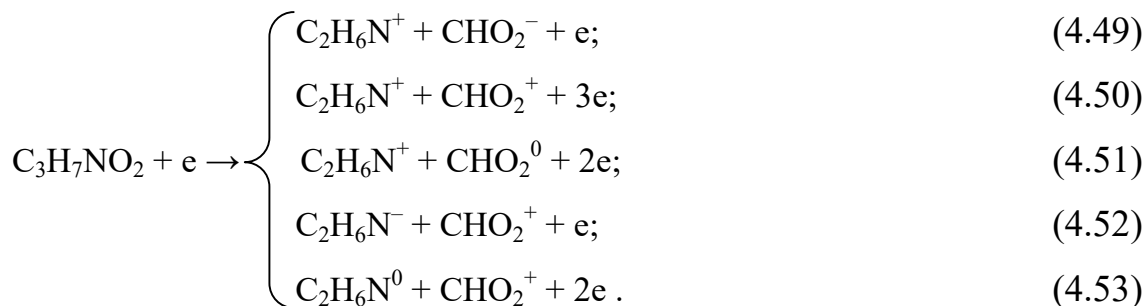
Зв'язок	Аланін I		Аланін II		Аланін III	
	Довжина зв'язку, Å нейтр.	Довжина зв'язку, Å іонізов.	Довжина зв'язку, Å нейтр.	Довжина зв'язку, Å іонізов.	Довжина зв'язку, Å нейтр.	Довжина зв'язку, Å іонізов.
C1–N2	1,433	1,415	1,483	1,415	1,455	1,415
C1–C3	1,578	1,588	1,535	1,604	1,528	1,604
C1–C9	1,530	1,556	1,535	1,523	1,542	1,522
C1–H13	1,096	1,087	1,093	1,101	1,092	1,101
N2–H6	1,020	1,017	1,011	1,017	1,011	1,016
N2–H7	1,020	1,017	1,012	1,016	1,012	1,017
C3–O4	1,389	1,212	1,228	1,210	1,230	1,210
C3–O5	1,386	1,349	1,360	1,348	1,379	1,348
O5–H8	0,982	0,984	1,002	0,984	0,981	0,984
C9–H10	1,090	1,089	1,091	1,089	1,088	1,090
C9–H12	1,090	1,089	1,089	1,089	1,090	1,088

Таблиця 4.26.
Порядки зв'язків конформерів аланіну до і після іонізації.

Зв'язок	Аланін I		Аланін II		Аланін III	
	Порядок зв'язку, нейтр.	Порядок зв'язку, іонізов.	Порядок зв'язку, нейтр.	Порядок зв'язку, іонізов.	Порядок зв'язку, нейтр.	Порядок зв'язку, іонізов.
C1–N2	0,937	0,989	0,850	0,915	0,999	0,995
C1–C3	0,815	0,730	0,827	0,704	0,843	0,704
C1–C9	0,983	0,970	0,976	1,011	0,942	1,012
C1–H13	0,880	0,912	0,937	0,861	0,929	0,860
N2–H6	0,809	0,819	0,876	0,816	0,879	0,808
N2–H7	0,807	0,807	0,876	0,808	0,866	0,816
C3–O4	1,102	1,971	1,949	1,979	1,977	1,980
C3–O5	0,998	1,082	1,075	1,092	1,007	1,089
O5–H8	0,767	0,764	0,743	0,763	0,803	0,763
C9–H10	0,920	0,923	0,942	0,920	0,949	0,919
C9–H11	0,905	0,906	0,940	0,915	0,944	0,916
C9–H12	0,916	0,911	0,938	0,914	0,942	0,914

Як уже було показано, на рис. 4.23 у ході експерименту було виявлено пік двозрядного іона з масою 43,5 а.о.м. Відсутність піка материнського іона $C_3H_7NO_2^+$ у спектрі свідчить про те, що ймовірність недисоціативної іонізації молекули аланіну є надзвичайно малою . Домінуючий пік у мас-спектрі масою 44 а.о.м. пов'язаний з утворенням іона $NH_2CH_3CH^+$ ($C_2H_6N^+$) завдяки

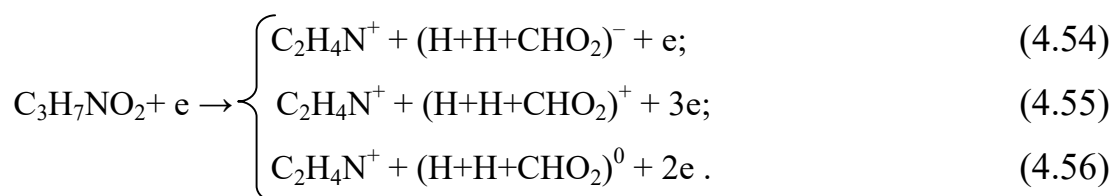
простому розриву зв'язку C1–C3. Він призводить до виходу комплементарних фрагментів C_2H_6N і CHO_2 за такими схемами реакцій:



Потрібно відмітити, що найбільш енергетично сприятливими каналами утворення катіона $C_2H_6N^+$ є реакції (4.49) та (4.50), що дозволяє говорити про них, як про найбільш ймовірні канали фрагментації конформерів молекули аланіну при дисоціації зв'язку C1–C3. У цьому випадку утворюється комплементарний іон масою 45 а.о.м.. Енергія його появи становить 12,08 еВ для молекули аланіну I та 12,12 еВ для аланіну II. Очевидно, що присутність водневого зв'язку O4 – H8 у молекулах аланіну I і III стабілізує цей фрагмент.

У діапазоні мас 40–50 а.о.м. (див. рис. 4.24) експериментально був виявлений пік з масою 42 а.о.м. Його появу можна пов'язати з виходом іона CH_3CHN^+ . Це твердження базується на аналізі порядку зв'язків нейтральних конформерів, який свідчить, що зв'язки C1–C3, N2–H7 та N2–H6 є більш слабкими, ніж інші (див. табл. 4.26).

Отже, цей фрагмент може утворюватися у таких реакціях:



Аналіз енергій появи цих фрагментів свідчить про те, що реакція (4.54) є найбільш реальною у випадку конформерів аланіну I та II (див. табл. 4.27 та 4.28). Найменші величини енергій появи, 10,08 і 10,18 еВ, для конформерів аланіну I і II, відповідно, підтверджують припущення, що конформери

аланіну можуть руйнуватися з утворенням іонного фрагмента $C_2H_4N^+$ за каналом (4.54).

Таблиця 4.27.

Енергії появи (eВ) фрагментів C_2H_4N та $(H+H+CHO_2)$ молекули аланіну I.

Заряд C_2H_4N (42 а.о.м)	Заряд $H+H+CHO_2$	Незмінна геометрія молекули	Змінна геометрія молекули
1	-1	19,68	10,08
1	0	20,87	11,74
1	1	31,26	20,18

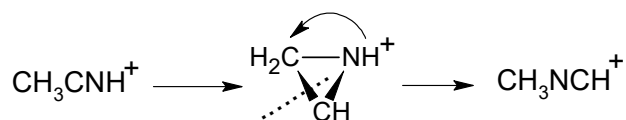
Таблиця 4.28.

Енергії появи (eВ) фрагментів C_2H_4N та $(H+H+CHO_2)$ молекули аланіну II.

Заряд C_2H_4N (42 а.о.м)	Заряд $H+H+CHO_2$	Незмінна геометрія молекули	Змінна геометрія молекули
1	-1	19,70	10,18
1	0	22,39	12,09
1	1	30,89	19,93

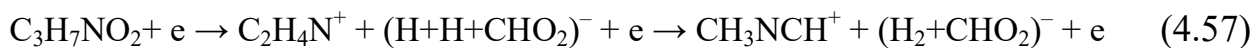
Енергії появи іона $C_2H_4N^+$ з різних конформерів молекули аланіну свідчать, що механізм його утворення включає відщеплення карбоксильної групи з вихідної молекули, яке супроводжується утворенням молекули водню за каналом (4.54). Крім того, можна стверджувати, що нами спостережено значну зміну вихідної геометрії іона CH_3CHN^+ . Цей фрагмент у точці рівноваги переходить у фрагмент CH_3NCH^+ .

Механізм структурних змін під час формування такого фрагмента включає у себе утворення проміжної циклічної структури дегідратованого іміна етилену за схемою, що зображена на рис. 4.27.

Рис. 4.27. Схема структурних змін під час формування фрагмента CH_3NCH^+ .

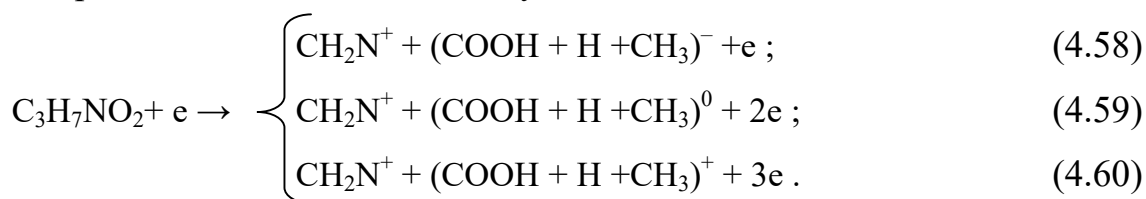
Така проміжна структура пов'язана з тим, що в іоні $C_2H_4N^+$ між атомами N та C формуються подвійні зв'язки, у той час як порядок зв'язку між

атомами вуглецю (C–C) становить 0,846. Отже, цей зв'язок є найбільш слабким у проміжній циклічній структурі, і розрив його є найбільш ймовірним. При цьому атом C1 проходить *sp*-гібридизацію. Тому можна стверджувати, що найбільш імовірний канал реакції буде такий:

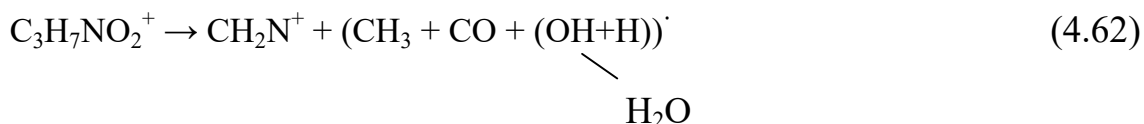
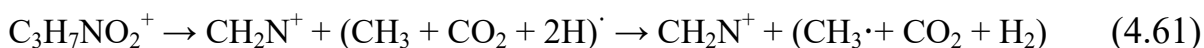


Іон масою 28 а.о.м. є другим за інтенсивністю у спектрі фрагментів вихідної молекули, при чому він супроводжується сателітними піками масами 27 а.о.м. та 29 а.о.м. Ділянка мас-спектру молекули DL-аланіну в області мас 26,5–29,5 а.о.м. була представлена вище на рис. 4.24.

Очевидно, що усі три піки у даному мас-спектрі мають роздвоєну форму, тобто, принаймні два іони роблять свій внесок у кожний з піків, що спостерігалися експериментально. Пік при 27 а.о.м. можна однозначно пов'язати з виходом іона C_2H_3^+ (або, менш ймовірно, іона HCN^+). Подвійний пік при 29 а.о.м. завдячує своєю появою двом іонам – HCO^+ та NH_2CH^+ , хоча тут перевагу слід віддати саме іону HCO^+ . Що ж стосується іона масою 28 а.о.м., його можна ідентифікувати як спільний внесок іонів CH_2N^+ , C_2H_4^+ та CO^+ . Утворення іона CH_2N^+ може відбуватися по таким схемам:



Крім того, він може також утворюватися за такими каналами:



Найбільш стабільна структура вказаного вище фрагмента: Н13–С1–N2–Н6. Відмітимо, що атоми С і N при цьому проходять *sp*-гібридизацію.

4.5 Утворення фрагментів однакового хімічного складу з різних молекул амінокислот

Як видно з аналізу отриманих у роботі результатів, деякі з досліджених молекул амінокислот, незважаючи на різний хімічний склад, утворюють при фрагментації цілий ряд нейтральних та іонних фрагментів хімічного складу. Порівняння динаміки їх виходу та механізмів їх утворення складає значний інтерес при дослідженні процесів дисоціативної іонізації молекул амінокислот. Далі ми проаналізуємо результати виконаних нами досліджень цієї цікавої проблеми.

Нагадаємо, що молекули гліцину, аланіну та метіоніну можуть бути представлені як сполуки COOH-CHR-NH_2 , де R означає -H, $-\text{CH}_3$ або $\text{C}_2\text{H}_4\text{-S-CH}_3$ у випадку гліцину, аланіну та метіоніну, відповідно. Це дозволяє очікувати, що під впливом низькоенергетичного електронного випромінювання можуть утворюватися кілька фрагментів з однаковою масою. Формально такими фрагментами можуть бути NH_2 ($m = 16$ а.о.м.), CH_2N ($m = 28$ а.о.м.), CH_3N ($m = 29$ а.о.м.), COOH ($m = 45$ а.о.м.), COOHС ($m = 57$ а.о.м.) і COOH-CH-NH_2 ($m = 74$ а.о.м.). Вони можуть бути заряджені як позитивно, так і негативно, або ж взагалі не мати заряду. Нагадаємо, що при проведенні експериментальних досліджень ми не мали можливості вимірювати значення m/z негативно заряджених іонів, а також енергію появи таких фрагментів, тому отримані для них у даній роботі результати базуються тільки на теоретичних міркуваннях.

Не дивно, що у мас-спектрах вищезгаданих амінокислот відсутній фрагмент NH_2^+ ($m=16$ а.о.м.), оскільки піки мас-спектрів зумовлені фрагментацією молекули шляхом дисоціації тих зв'язків, які енергетично більш сприятливі, тобто утворені іони є найбільш стабільні. Дійсно, стабільність фрагмента NH_2^+ дуже низька порівняно з нейтральним, негативно та позитивно зарядженими фрагментами (див. табл. 4.29).

Таблиця 4.29.

Енергія зв'язку на атом(еВ) для фрагментів з різним значенням заряду

Фрагмент	Заряд		
	-1	0	1
NH ₂	3.43	3.38	0.83
COOH	4,13	4,45	1.31
CH ₄ N	3.94	4.12	3.06
CH ₃ N	3.94	4.24	2.63

Фрагмент	Заряд		
	-1	0	1
CHO	4,02	3,63	0,93
CH ₆ N	4,20	4,32	3,71
C ₄ H ₁₀ NS	4,24	4,28	3,94
C ₂ H ₄ NO ₂	4,71	4,63	3,82
C ₂ HO ₂	4,78	4,34	2,14
C ₃ H ₇	4,35	4,56	3,90
C ₂ H ₃ NO	4,53	4,73	3,60
C ₂ H ₄ NO ₂	4,71	4,63	3,82
C ₂ H ₃ NO	3,58	3,71	1,25
C ₄ H ₁₀ NS	4,25	4,28	3,93

Отже, аміно-фрагмент може бути отриманий як інший продукт, коли він має негативний заряд або є нейтральним. Наші результати ілюструють наведені вище випадки. Як приклад, коли фрагменти C₃H₅⁺ або C₅H₈OS⁺ з'являються з молекули метіоніну, також утворюється фрагмент (NH₂ + CH₃S + CH₂)⁰ або (NH₂ + OH)⁰. У той час, у випадку молекули гліцину іони NH₂⁻ й C₂H₃O₂⁺ можуть утворитися у реакції фрагментації з дуже низькою ймовірністю. На це вказує відсутність піка *m* = 59 а.о.м. у спектрі

молекули аланіну, коли фрагмент NH_2 утворюється разом з іоном $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2^+$ ($m = 61$ а.о.м.). Цей процес результат добре узгоджується з даними роботи [135].

Аналізуючи появу фрагментів з масами $m = 28$ та 29 а.о.м., потрібно приділити особливу увагу утворенню фрагмента масою $m = 30$ а.о.м., оскільки цей фрагмент присутній як у спектрах гліцину, так і метіоніну, та фрагментів з масами $m = 28$ та 29 а.о.м. пов'язаних з цим фрагментом. Очевидно, простежити процес їх утворення та вивчити можливі механізми їх фрагментації є цікавим.

На рис. 4.4 та 4.12 зображено порогові ділянки функції виходу іонних фрагментів CH_2N^+ ($m=28$ а.о.м.) та CH_4N^+ ($m=30$ а.о.м.), які утворилися у процесі дисоціативної іонізації молекул гліцину та метіоніну. Представлені криві демонструють подібну поведінку в порогових ділянках дисоціативних функцій іонізації та відрізняються тільки у нахилах кривих та абсолютних значеннях потенціалів появи іонних фрагментів. На жаль, відсутність даних інших досліджень з енергії появи фрагментів метіоніну (на відміну від гліцину [64]) не дозволяє нам зробити простий порівняльний аналіз утворення фрагментів. Проте, нижче ми наведемо деякі теоретичні міркування про енергію появи фрагментів вихідних молекул та можливі механізми їх утворення. Два подібні піки в мас-спектрах гліцину та метіоніну зумовлені утворенням фрагмента з $m = 30$ а.о.м. Імовірними фрагментами, які відповідають цьому піку, можуть бути іони CH_4N^+ та CH_2O^+ . Як показано вище, перший фрагмент може мати два ізомери: NH_2CH_2^+ і CH_3NH^+ . При цьому поява другого ізомера (CH_3NH^+) видається менш ймовірною з урахуванням його термодинамічної нестабільності [136]. Що стосується появи фрагмента CH_2O^+ з молекули гліцину або метіоніну, то його поява потребує істотної енергії, отже імовірність утворення цього іона набагато менша, ніж іона CH_4N^+ .

Згідно з результатами наших експериментальних досліджень, енергія появи для фрагмента CH_4N^+ при дисоціації молекули гліцину становить $10,1 \pm 0,1$ еВ. Схема реакції утворення фрагмента CH_4N^+ :



Тобто іоний фрагмент CH_4N^+ утворюється за рахунок розриву зв'язку С–С електронним ударом.

У випадку дисоціації молекули метіоніну, процес появи іону CH_4N^+ є складнішим, у порівнянні з гліцином, оскільки для його утворення необхідно щоб додатково відбувся процес перегрупування атомів водню.

Згідно з нашими дослідженнями, фрагмент $m=30$ а.о.м. може утворитися різними шляхами, а саме:



або



та



Значення енергій появи, що відповідають реакціям (4.64)–(4.69) наведені у таблицях 4.30 та 4.31. Цікаво, що сполука $(\text{CH}_3\text{N} + \text{H})$ є найбільш стійкою в тих випадках, коли атом Н утворює зв'язок з CH_3N^+ , тобто коли утворюється фрагмент CH_4N^+ . Як згадувалося вище, у випадку гліцину цей фрагмент CH_4N^+ утворюється через розрив простого С–С зв'язку електронним ударом, тоді як у випадку метіоніну процес фрагментації додатково супроводжується приєднанням атома водню до фрагменту CH_3N^+ . Останній процес відбувається з випромінюванням енергії. Так, значення енергії складає 6,12 еВ, у випадку, коли атом водню відділяється від

фрагмента C_3H_7S (реакції типу (4.64)-(4.66)) та 7,85 еВ, коли він відділяється від фрагмента $COOH$ (реакції типу (4.67), (4.68)).

Можна помітити, що для розщеплення молекули метіоніну на аніон $(COO + C_3H_7S)^-$ та катіон CH_4N^+ (див. реакцію (4.67)), фрагменти утворюються через міграцію атома водню з гідроксильної групи до атома вуглецю. Не дивно, що зазначена енергія є вищою, ніж для молекули гліцину, оскільки у випадку молекули метіоніну повинен відбутися розрив відповідного зв'язку (див. реакції (4.63) і (4.67)).

Згідно з нашими даними, значення енергії появи фрагмента CH_4N^+ з молекули метіоніну становить $11,0 \pm 0,1$ еВ. З урахуванням енергії, що виділяється при приєднанні атома водню, розраховані значення енергії появи за реакціями (4.64) та (4.67) і у випадку незмінної геометрії фрагментів, становлять 12,13 еВ та 9,30 еВ відповідно. Середнє значення розрахованої енергії появи складає 10,72 еВ, що досить добре співпадає з отриманою експериментально величиною. Безумовно, це дозволяє нам стверджувати, що обидва процеси (4.64) та (4.67) можливі.

Таблиця 4.30.

Енергії появи (еВ) фрагментів (CH_3N+H) та $(COOH+C_3H_6S)$ молекули метіоніну.

Заряд фрагмента ($CH_3N + H$)	Заряд фрагмента ($COOH + C_3H_6S$)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
1	-1	18,25	6,75
1	0	19,43	8,95
1	1	27,96	16,45

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

Таблиця 4.31.

Енергії появи (eV) фрагментів (CH₃N+H) та (COO+C₃H₇S) молекули метіоніну.

Заряд фрагмента (CH ₃ N + H)	Заряд фрагмента (COO + C ₃ H ₇ S)	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
1	-1	17,15	5,86
1	0	20,14	9,08

^a, ^b – див. примітки до табл. 4.2.

Пік фрагмента CH₄N⁺ ($m = 30$ а.о.м) у мас-спектрах гліцину, аланіну та метіоніну супроводжується сателітними піками із масами $m=28$ і $m=29$ а.о.м. Фрагмент з масою $m=29$ а.о.м. може відповідати ізобарним іонам COH⁺ або CH₃N⁺.

Згідно з результатами теоретичних розрахунків, можна стверджувати, що у випадку метіоніну фрагмент COH не може бути сформований, тому що сполука C₄H₁₀NS + O немає можливості утворитися внаслідок того, що імовірність одночасного розриву зв'язків C-O та C-S дуже низька. Тому, імовірно, фрагмент з $m = 29$ а.о.м. може бути катіоном CH₃N⁺. Як згадувалося вище, вихід цього фрагмента може бути пов'язаним з каналами дисоціації (4.64)–(4.67), коли CH₃N⁺ не утворює зв'язок з атомом водню. Незважаючи на те, що утворення фрагмента CH₃N⁺ відбувається за мінімальної кількості структурних змін, на відміну від іонів з масами $m = 30$ а.о.м. і $m = 28$ а.о.м., інтенсивність піка $m = 29$ а.о.м. у мас-спектрі є дуже низькою. Така схема розподілу інтенсивності піків у мас-спектрі підтверджує гіпотезу про те, що причиною такого розпаду молекулярного іону є не локалізація заряду в гетероатомі (азот у випадку гліцину, та сірка у випадку метіоніну) з подальшим розривом зв'язків, найближчих до гетероатома, а саме стабільність продуктів дисоціації. Розрахунки значень енергій зв'язків дозволяють визначити, що із ряду фрагментів: CH₄N⁺, CH₃N⁺, CH₂N⁺, найбільш стійким є CH₄N⁺.

Значення енергій появи фрагментів CH_3N^+ та C_2H_4^+ представлені в табл. 4.31, 4.32. За результатами теоретичних розрахунків, найнижча енергія появи CH_3N^+ буде тоді, коли молекула метіоніну буде поділена на пару іонний фрагментів за такою реакцією:



Слід зазначити, що розрахована нами енергія появи для фрагмента CH_3N^+ вище, як мінімум, на 3,48 еВ, ніж для фрагмента $(\text{CH}_3\text{N} + \text{H})^+$. На підставі цих результатів ми передбачаємо, що дисоціація молекули метіоніну з утворенням фрагмента $(\text{CH}_3\text{N} + \text{H})^+$ більш імовірна, ніж у випадку виходу фрагмента CH_3N^+ .

Для молекули гліцину утворення іонного фрагмента CH_3N^+ відбувається при затраченій мінімальній енергії:



Проведений нами аналіз розподілу заряду для групи фрагментів $(\text{CHO}_2 + \text{H})$ показує, що мінімальному значенні енергії відповідає процес утворення CH_2O_2 . Таким чином, розрив С-С зв'язку, що супроводжується міграцією атома водню з аміногрупи в атом кисню карбонільної групи, є найбільш імовірним каналом утворення фрагмента CH_3N^+ .

Таблиця 4.32.

Енергії появи (еВ) фрагментів CH_3N та $(\text{CHO}_2 + \text{C}_3\text{H}_7\text{S})$ молекули метіоніну.

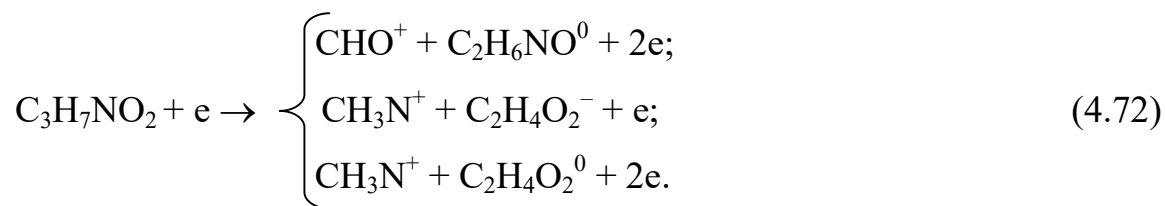
Заряд фрагмента CH_3N	Заряд фрагмента $(\text{CHO}_2 + \text{C}_3\text{H}_7\text{S})$	Незмінна геометрія молекули ^а	Змінна геометрія молекули ^б
1	-1	14,20	–
1	0	15,49	10,23
1	1	24,03	–

^{а, б} – див. примітки до табл. 4.2.

Для молекул, які були описані вище, позитивно заряджені іони CH_3N^+ та CH_2N^+ можуть бути утворені у результаті вторинної дисоціації через

депротонування іона CH_4N^+ . При цьому іон CH_2N^+ може додатково утворюватися через депротонування CH_3N^+ .

Зазначена вторинна дисоціація експериментально нами не спостерігалася для молекули аланіну. Поява на мас-спектрі подвійного піка $m = 29$ а.о.м. обумовлена утворенням двох іонів CHO^+ та CH_3N^+ . Ізобарні іонні фрагменти з $m = 29$ а.о.м. можуть бути утворені такими реакціями дисоціації:



Стабільність фрагмента CHO^+ нижче, ніж іона CH_3N^+ , що і пояснює той факт, чому пік $m = 29$ а.о.м. не ставиться у відповідність фрагменту CHO^+ для молекул гліцину та метіоніну. Але у випадку молекули аланіну, дане припущення не підтверджується експериментально і не може бути пояснено.

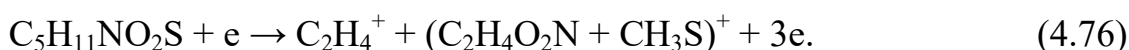
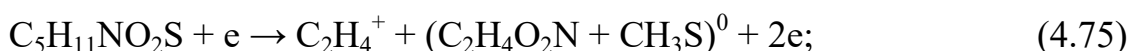
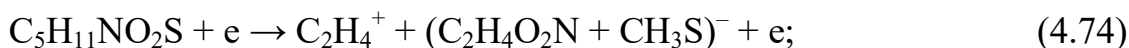
Необхідно підкреслити, що мас-спектри молекул гліцину та метіоніну (див. рис. 4.1 та 4.9) містять дифузний пік з максимумом при $m^* \sim 26,1$ а.о.м., що обумовлено відривом нейтрального фрагмента масою $m = 2$ а.о.м., тобто відбувається вторинна фрагментація іона CH_4N^+ . Реакцію цього процесу можна записати так:



Через цю дегідратацію, коли стабільна молекула водню утворюється як продукт дисоціації, фрагмент з відношенням $m/z = 29$ також складний.

Як вже було сказано раніше, у випадку фрагментації молекули гліцину фрагмент з масою $m=28$ а.о.м. відповідає катіону CH_2N^+ . Цей пік є другим за відносною інтенсивністю у мас-спектрі гліцину. У той же час для метіоніну фрагмент із масою $m=28$ а.о.м. відповідає двом ізобарним фрагментам – CH_2N^+ та C_2H_4^+ .

Можливі канали дисоціації молекули метіоніну з утворенням фрагменту $C_2H_4^+$ є такими (енергії появи див. у табл. 4.33):



Важливо звернути увагу на енергію, що виділяється внаслідок швидкої зміни геометрії структури фрагмента $C_2H_4^+$ (рис. 4.28). Значення цієї енергії складає 2.44 еВ. Отже, якщо врахувати енергію, що виділилася, іон $C_2H_4^+$, найімовірніше, буде утворюватися у каналі (4.74).

Таблиця 4.33.

Енергії появи (еВ) фрагментів C_2H_4 та $(C_2H_4O_2N + CH_3S)$ молекули метіоніну.

C_2H_4 заряд фрагмента	$(C_2H_4O_2N + CH_3S)$ заряд фрагмента	Незмінна геометрія молекули ^a	Змінна геометрія молекули ^b
1	-1	13,62	9,52
1	0	16,96	10,98
1	1	10,89	2,22

^{a, b} – див. примітки до табл. 4.2.

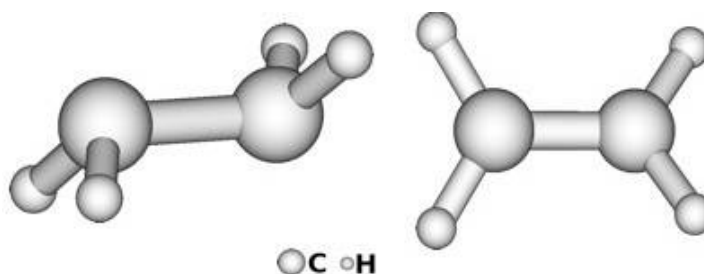
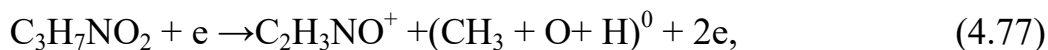


Рис. 4.28. Геометрична структура фрагмента C_2H_4 , одразу після утворення з молекули метіоніну (зліва), та після досягнення рівноважного стану (справа).

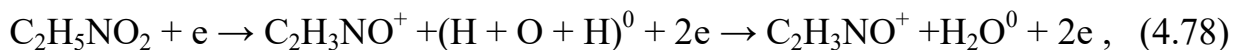
Поява піків масами $m = 44$ а.о.м. і $m = 42$ а.о.м. в експериментальних мас-спектрах аланіну та метіоніну є досить несподіваною. Цікаво, що для обох молекул пік $m = 44$ а.о.м. може бути пов'язаний з утворенням фрагмента $C_2H_6N^+$, його поява у мас-спектрі аланіну описана вище. Однак, нам не вдалося встановити канал дисоціації, за яким утворюється цей фрагмент з молекули метіоніну: розраховане значення енергії появи цього фрагмента,

на 5 еВ менше, ніж виміряне. У випадку метіоніну для того, щоб утворився фрагмент $C_2H_6N^+$, необхідно розірвати принаймні два С-С зв'язки, при тому, що атом водню утворює зав'язок із материнським фрагментом C_2H_5N .

Нами також дане пояснення механізму утворення фрагмента $COONH$ ($m=57$ а.о.м.). Відповідний пік спостерігається тільки в мас-спектрі метіоніну, хоча його інтенсивність невисока. Цей пік ідентифікується як $C_3H_7N^+$ ($m=57$ а.о.м.), а його наявність у мас-спектрі пояснюється тим, що піки у мас-спектрах обумовлені фрагментацією молекули з розщепленням тих зв'язків, які забезпечують найбільш стабільний катіон. Тобто $C_3H_7N^+$ є більш стабільним, ніж $COONH$ (C_2HO_2) (його енергія зв'язку 2,14 еВ у табл. 4.29). Таким чином, ця нестабільність може бути причиною того, що мас-спектри аланіну та гліцину не містять пік масою $m=57$ а.о.м. який відповідає фрагменту $COONH$. Проте теоретичні розрахунки доводять, що у випадку аланіну іон $C_2H_3NOH^+$ такої маси $m = 57$ а.о.м. може бути утворений за каналом дисоціаціативної іонізації аланіну:



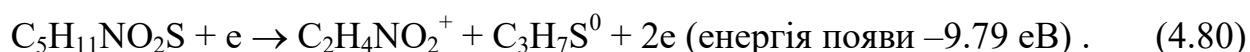
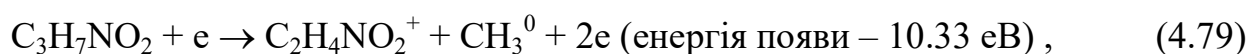
Стабільність фрагмента $C_2H_3NO^+$ вища, і, як наслідок, значення енергії появи (11,23 еВ) становить на 6 еВ менше, ніж для фрагмента C_2HO_2 . Крім того, стабільність фрагмента $C_2H_3NO^+$ вища, ніж у інших фрагментів, утворених при фрагментації молекули аланіну. Подібний випадок має місце у молекулі гліцину, оскільки при проведенні теоретичних розрахунків нами було показано, що найбільш енергетично ймовірним каналом є:



Тобто, у цьому випадку утворюються фрагмент $C_2H_3NOH^+$ та молекула води. Обчислене значення енергії появи для цього фрагмента становить 9,38 еВ, що менше, ніж у випадку інших реакцій.

Прогнозовані нами фрагменти $C_2H_3NO_2$ ($m = 73$ а.о.м.) та $C_2H_4NO_2$ ($m = 74$ а.о.м.) не спостерігаються в мас-спектрах досліджуваних молекул. У

випадку молекули гліцину фрагмент $m = 74$ а.о.м., скоріш за все утворюється у процесі депротонування молекули, тоді як у випадку молекул аланіну та метіоніну, цей фрагмент може утворитися у процесі відділення відповідної R-групи (CH_3 та $\text{C}_2\text{H}_4\text{-S-CH}_3$). Наші теоретичні дані доводять такі найбільш імовірні канали формування фрагмента із співвідношенням $m = 74$ а.о.м.:



Відносно мале значення енергії появи, а також висока стабільність фрагмента (див. енергію зв'язку 3,82 eV у табл. 4.29) підтверджують припущення, що відповідний пік може бути присутнім у мас-спектрах обох молекул. Причина відсутності піку $m=74$ а.о.м. в отриманих нами мас-спектрах може бути пояснена хімічною стабільністю цього фрагмента (тобто, фрагмент має тенденцію приєднуватися до продуктів фрагментації).

4.6 Висновки до розділу

1. За результатами мас-спектрометричних досліджень фрагментації молекул амінокислот гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну при взаємодії з електроном ідентифіковано їх основні компоненти, що відповідають як материнським іонам вихідних молекул, так і їх іонним фрагментам. Виміряно енергії іонізації вихідних молекул та потенціали (енергії) появи їх основних фрагментів.
2. Проведено аналіз отриманих експериментальних результатів із використанням відповідних даних теоретичних розрахунків та встановлено основні механізми дисоціації вихідних молекул амінокислот,
3. Встановлено основні канали фрагментації молекули гліцину та показано, що вихід основного її фрагмента – іона CH_4N^+ – має ступінчастий характер і пов'язаний не лише з іонізацією з різних молекулярних орбіталей вихідної ("материнської") молекули, але і зі зміною заряду комплементарного фрагмента.
4. Вперше було спостережено появу двозарядного іонного фрагмента $\text{CH}_2\text{NHCO}^{2+}$ молекули гліцину. Вона зумовлена одночасним видаленням молекули води, та втратою вихідною молекулою двох електронів з незв'язуючих *n*-орбіталей атомів азоту та кисню гідроксильної групи.
5. Встановлено, що у випадку видалення *n_s*-електрона, тобто, при іонізації найвищої заселеної молекулярної орбіталі (НОМО) метіоніну, відбувається дисоціація її скелетних зв'язків.
6. Доведено, що основний канал дисоціативної іонізації молекули метіоніну електронним ударом відповідає розриву β -зв'язку відносно атома сірки і не пов'язаний з видаленням лише електрона неподіленої електронної пари атома сірки. Показано, що утворення іонного фрагмента $\text{C}_2\text{H}_5\text{S}^+$ відбувається через іонізацію третьої молекулярної орбіталі з наступною стабілізацією заряду на атомі сірки.

7. Показано, що для іонного фрагмента $C_2H_4N^+$ молекули аланіну масою 42 а.о.м. виявлено зміну структури геометрії вихідної молекули, запропоновано механізм цієї структурної зміни через проміжну циклічну структуру за схемою $CH_3-C-NH^+ \rightarrow CH_3-N-CH^+$. Показано, що три піки з масами 27, 28 та 29 а.о.м. мають подвійну форму, що свідчить про внесок двох іонів у кожний зі спостережуваних піків. У випадку фрагмента масою 28 а.о.м. два ізобарних піки у експериментальному мас-спектрі відповідають іонам $C_2H_4^+$ та CH_2N^+ . Експериментально підтверджено одночасний вихід ізобарних іонів H_2O^+ та NH_4^+ у процесі дисоціативної іонізації молекули аланіну.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Проведено комплексні експериментальні дослідження мас-спектрів молекул амінокислот гліцину, метіоніну, триптофану та аланіну, ідентифіковано їх основні компоненти, та виміряно енергії іонізації вихідних молекул та потенціали (енергії) появи їх основних фрагментів.
2. Вперше використовуючи іонізацію електронним ударом визначено потенціали утворення іонних фрагментів CH_2N^+ ($11,4 \pm 0,1$ eV), CH_4N^+ ($11,0 \pm 0,1$ eV), CH_4S^+ ($11,0 \pm 0,1$ eV), $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$ ($11,2 \pm 0,1$ eV) з молекули метіоніну.
3. Вперше, використовуючи отримані дані, проведено порівняння процесів утворення іонних фрагментів CH_2N^+ , CH_3N^+ , CH_4N^+ однакового хімічного складу з молекул гліцину, триптофану, метіоніну, та аланіну.
4. Вперше при дослідженні молекули гліцину та метіоніну було спостережено вихід двозарядних іонів $\text{C}_2\text{H}_3\text{ON}^{2+}$ та $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}^{2+}$, $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}^{2+}$ відповідно, утворення котрих є результатом дисоціації скелетного зв'язку двозарядного іону вихідної молекули, та супроводжується видаленням нейтральних фрагментів H_2O , NH_2 та CH_4S .
5. Доведено, що основний продукт дисоціативної іонізації молекули триптофану є позитивно заряджений іон $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}^+$ ($m=130$ а.о.м.) з енергією появи $9,1 \pm 0,1$ eV, який утворюється внаслідок простого розриву зв'язку $\text{C}_\alpha\text{--C}_\beta$ вихідної молекули.
6. Вперше виявлено, що при утворенні іонного фрагмента $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$ ($m=42$ а.о.м.) молекули аланіну відбувається зміна структури геометрії вихідної молекули, через проміжну циклічну структуру за схемою $\text{CH}_3\text{--C--NH}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{--N--CH}^+$.
7. Встановлено роль повільних електронів (енергією до 100 eV) у руйнуванні молекул амінокислот, основних складових молекул білків живих тканин організму людини, що є надзвичайно важливим

компонентом радіаційної терапії злоякісних утворень у людському організмі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Black, A. (eds.): The Molecular Origins of Life: Assembling Pieces of the Puzzle., Cambridge University Press (1998) 417p.
2. Delaye, L., Lazcano, A.: Prebiological evolution and the physics of the origin of life. *Physics of Life Reviews.* **2**, 47–64 (2005).
3. Meierhenrich, U.: Amino acids and the asymmetry of life. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag (2008) 241 p.
4. Hong-Fang, J., Liang, S., Hong-Yu, Z.: Low lying energy levels of amino acids and its implications for origin of life. *J. Mol. Struct. THEOCHEM.* **756**, 109–112 (2005).
5. Michael, B.D., O'Neill, P.A.: Molecular biology. A sting in the tail of electron tracks. *Science*, **287**, 1603p (2005).
6. Doolittle, R.F.: Redundancies in protein sequences, in: Fasman, G. D., Prediction of Protein Structures and the Principles of Protein Conformation, New York: Plenum, pp. 599–623 (1989).
7. Bald, I., Illenberger, E., Копыра, J.: Damage of DNA by low energy electrons (<3 eV). *Journal of Physics: Conference Series.* **373**, 012008–012016 (2012).
8. Hoffmann, E., Stroobant, V.: Mass spectrometry: principles and applications. – 3rd ed. (2007) 573 p.
9. Rosenshtock, H. M., Wallenstein, H. B., Warhaftig, A. L., Eyring, H.: Absolute Rate theory for Isolated Systems and the Mass Spectra of Polyatomic Moleculs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **38**, 667 p (1952).
10. THOMSOS, J.J.: XLII. Ionization by Moving Electrified Particles. *Philosophical magazine and journal of science.* 449-457 (1912).
11. Лебедев, А.Т.: Масс-спектрометрия в органической химии. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний (2003) 493 с.
12. Marcus, R. A.: Unimolecular Dissociations and Free Radical Recombination Reactions. *The Journal of Chemical Physics.* **20**, 359 (1952).

13. Longevialle, P.: Principes de la Spectrométrie de Masse des Substances Organiques, Masson, Paris (1981).
14. Stevenson, D. P.: Ionization and dissociation by electronic impact. The ionization potentials and energies of formation of *sec.*-propyl and *tert.*-butyl radicals. Some limitations on the method. Disc. Faraday Soc. **10**, 35 (1951).
15. Bleakney, W.: A New Method of Positive Ray Analysis and Its Application to the Measurement of Ionization Potentials in Mercury Vapor. Phys. Rev. **34**, 157 (1929)
16. Nier, A. O.: A Mass Spectrometer for Isotope and Gas Analysis. Rev. Sci. Instrum. **18**, 398 (1947);
17. Franzen, J.: Massenspektrometrie. International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics. **2**(1), 98–100 (1969).
18. Harrison, A.G.: Chemical ionization mass spectrometry. C.R.C. press (1983) 156 p.
19. Harrison, A.G.: Chemical ionization mass spectrometry. C.R.C. press (1992) 208 p.
20. Rosano, T.G., Meola, J.M., Wolf, B.C., Guisti, L.W., Jindal, S.P.: Benztropine Identification and Quantitation in a Suicidal Overdose. Journal of analytical toxicology. **18**(6), 348-53 (1994).
21. Bekey, H.D.: Field ionization mass spectrometry. Research/ Development. **20**, 26–9 (1969).
22. Lattimer, R. P., Schulten, H. R.: Field ionization and field desorption mass spectrometry: past, present, and future. Analytical Chemistry. **61**(21), 1201–1215 (1989).
23. Bekey, H.D.: Principles of Field Ionization and Field Desorption in Mass Spectrometry, Pergamon Press, Oxford (1977).
24. Karas, M., Bachmann, D., Bahr, U. and Hillenkamp, F.: Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds. Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes. **78**, 53 (1987).

25. Karas, M. and Hillenkamp, F.H.: Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons . *Anal. Chem.* **60**, 2229 (1988).
26. Hillenkamp, F., Karas, M., Ingeldoh, A., Stahl, B.: Matrix assisted UV-laser desorption ionization: a new approach to mass spectrometry of large molecules. In: Burlingame, A.L., McCloskey, J.A. (eds.) *Biological Mass Spectrometry*, Elsevier, Amsterdam, 49 p. (1990).
27. Stump, M.J., Fleming, R.C., Gong, W.H. et al.: Use of double-depleted ^{13}C and ^{15}N culture media for analysis of whole cell bacteria by MALDI time-of-flight and Fourier transform mass spectrometry. *Appl. Spectrosc. Rev.* **37**, 275 (2002).
28. Dreisewerd, K.: The Desorption Process in MALDI. *Chem. Rev.* **103**(2), 395–426 (2003).
29. Pasch, H., Schrepp, W.: *MALDI-TOF Mass Spectrometry of Synthetic Polymers*, Series: Springer Laboratory XVIII (2003).
30. Van Vaeck, L., Adriaens, A., Gijbels, R.: Static secondary ion mass spectrometry: (S-SIMIS) Part 1. Methodology and structural information. *Mass Spectrom. Rev.* **18** (1), 1–47 (1999).
31. Adriaens, A., Van Vaeck, L., Adams, F.: Static secondary ion mass spectrometry: (S-SIMIS) Part 2. Material sciences applications. *Mass Spectrom. Rev.* **18** (1), 48–81 (1999).
32. Barber, M., Bardoli, R.S., Sedgwick, R.D., Tyler, A.H.: Fast atom bombardment of solids (F.A.B.): a new ion source for mass spectrometry. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **7**, 325-327 (1981).
33. Fenselau, C., Yergey, J., Heller, D.: Particle induced desorption and the analysis of large molecules. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics.* **53**, 5-20 (1983).
34. Yamashita, M., Fenn, J.B.: Negative Ion Production with the Electrospray Ion Source. *Phys. Chem.*, **88**, 46–71 (1988).

35. Smith, R.D., Loo, J.A., Barinaga, C.J., Edmonds, C.D., Udseth, H.R.: Capillary zone electrophoresis and isotachopheresis – mass spectrometry of polypeptides and proteins based upon an electrospray ionization interface. *Journal of Chromatography A*. **480**, 211-232 (1989).
36. Kebarle, P., Tang, L.: From ions in solution to ions in the gas phase. The mechanism of electrospray mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **65**, 972A (1993).
37. Kuprowski, M. C., Boys, B. L., Konermann, L.: Analysis of Protein Mixtures by Electrospray Mass Spectrometry: Effects of Conformation and Desolvation Behavior on the Signal Intensities of Hemoglobin Subunits. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. **18**(7), 1279-1285 (2007).
38. Kauppila, T.J., Kuuranne, T., Meurer, E.C., Eberlin, M.N., Kotiaho, T., Kostiainen, R.: Atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. Ionization mechanism and the effect of solvent on the ionization of naphthalenes. *Anal. Chem.* **74**(21), 5470–5479 (2002).
39. Robb, D. B., Covey, T. R., Bruins, A. P.: Atmospheric Pressure Photoionization: An Ionization Method for Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **72**, 3653-3659 (2000).
40. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database. (<http://webbook.nist.gov>). Доступно 11 листопада 2018.
41. Syage, J.A.: Mechanism of $[M + H]^+$ formation in photoionization mass. *J Am Soc Mass Spectrom.* **15**(11), 1521-33 (2004).
42. Kauppila, T.J., Kotiaho, T., Kostiainen, R., Bruins, A.P.: Negative Ion-Atmospheric Pressure Photoionization-Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* **15**(2), 203-11 (2004).
43. Сысоев, А.А., Чупахин, М.С.: Введение в масс-спектрометрию. М., Атомиздат, 1977, 304 с.
44. Donnan, F. G.: Rays of positive electricity and their application to chemical analyses. By Sir J. J. Thomson, O. M. F.R.S. Second edition. London:

- Longmans, Green and Co. *Journal of the Society of Chemical Industry*. **42**(36), 861–861 (1923).
45. Масс-спектрометрия в органической химии: Учеб. пособие для вузов. М.: Высш. школа, 1979, 223 с.
46. Aulinger, F., Franke, G., Habfast, K., Kienitz, H., Spitteller, G.: *Massenspektrometrie verfasst von*. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics*. **2**(1), 98-100 (1969).
47. Helmut, S., Wolfgang, P.: Apparatus for separating charged particles of different specific charges. US Patent, 2939952, 1960
48. Stafford, G.C., Kelley, P.E., Syka, J.E.P., Reynolds, W.E., Todd, J.F.J.: Recent improvements in and analytical applications of advanced ion trap technology. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*. **60**, 85 (1984).
49. Wiley, W. C., McLaren, I. H.: Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution. *Review of Scientific Instruments*. **26**(12), 1150–1157 (1955).
50. Stephens, W. E.: A pulsed mass spectrometer with time dispersion. *Phys. Rev.* **69**, 691–691 (1946).
51. Cotter, R. J.: Peer Reviewed: The New Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal. Chemi.* **71**(13), 445–451 (1999).
52. Weickhardt, C., Moritz, F., Grottemeyer, J.: Time-of-flight mass spectrometry: State-of-the-art in chemical analysis and molecular science. *Mass Spectrom Rev.* **15**(3), 139-62 (1996).
53. Piyadasa, C. K. G., Hakansson, P., Ariyaratne, T. R., Barofsky, D. F.: A High Resolving Power Ion Selector for Postsource Decay Measurements in a Reflecting Timeof-flight Mass Spectrometer. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **12**, 1655–1664 (1998).

54. Shemesh, D., Chaban, G.M., Gerber, R.B.: Photoionization dynamics of glycine: The first 10 picoseconds. *J. Phys. Chem. A.* **108**(52), 1477–11484 (2004).
55. Shemesh, D., Gerber, R.B.: Different chemical dynamics for different conformers of biological molecules: Photoionization of glycine. *Journal of Chemical Physics.* **122**, 241104, (2005).
56. Lago, A. F., Coutinho, L. H., Marinho, R. R. T., Naves de Brito, A., de Souza, G. G. B.: Ionic dissociation of glycine, alanine, valine and proline as induced by VUV (21.21 eV) photons. *Chemical Physics.* **307**(1), 9–14 (2004).
57. Rogalewicz, F., Hoppilliard, Y.: Low energy fragmentation of protonated glycine. An ab initio theoretical study. *Int. J. Mass. Spectr.* **199**, 235–252 (2000).
58. O’Hair, R.A.J., Styles, M.L., Frink, B.T., Hadad, C.M.: The Fragmentation Pathways of Protonated Glycine: A Computational Study. *J Am. Soc. Mass Spectrom.* **11**, 687–696 (2000).
59. O’Hair, R.A.J., Blanksby, S., Styles, M., Bowie, J.H.: Characterization of [M–H] cations, radicals and anions of glycine in the gas phase: a combined experimental and ab initio study. *Intern. J. Mass Spectr.* vol. **182-183**, 203–211 (1999).
60. Herrera, B., Dolgounitcheva, O., Zakrzewski, V. G., Toro-Labbé, A., Ortiz, J. V. Conformational Effects on Glycine Ionization Energies and Dyson Orbitals. *The Journal of Physical Chemistry A.* **108**(52), 11703–11708 (2004).
61. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., de Simone, M., Prince, K.C., Carravetta, V.: Investigation of the amino acids glycine, proline and methionine by photoemission spectroscopy. *J. Phys. Chem. A,* **111**, 10998-11005 (2007).
62. Hu, Y., Bernstein, E. R.: Vibrational and photoionization spectroscopy of biomolecules: Aliphatic amino acid structures. *The Journal of Chemical Physics.* **128**(16), 164311 (2008).

63. Simon, S., Gil, A., Sodupe, M., Bertrán, J.: Structure and fragmentation of glycine, alanine, serine and cysteine radical cations. A theoretical study. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM.* **727**(1-3), 191–197 (2005).
64. Jochims, H.W., Schwell, M., Chotin, J.L., Clemino, M., Dulieu, F., Baumgartel, H., Leach S.: Photoion mass spectrometry of five amino acids in the 6–22 eV photon energy range. *Chemical Physics.***298**, 279–297 (2004).
65. Kreil, G.: d-amino acids in animal peptides. *Annual Review of Biochemistry.* **66**(1), 337–345 (1997).
66. Schwell, M., Jochims, H.W., Baumgartel, H., Dulieu, F., Leach S.: VUV photochemistry of small biomolecules. *Planetary and Space Science.* **54**, 1073–1085 (2006).
67. Kopyra, J., Abdoul-Carime, H.: Dissociation of gaseous zwitterion glycine-betaine by slow electrons. *J. Chem. Phys.* **132**, 204302 (2010).
68. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., de Simone, M., Prince, K.C.: Photofragmentation of guanine, cytosine, leucine and methionine, *Chemical Physics*, **334**(1–3), 53-63 (2007).
69. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., de Simone, M., Prince, K. C., Carravetta, V. An X-ray absorption study of glycine, methionine and proline. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena.* **155**(1-3), 47–53 (2007).
70. Gordon, M.L., Cooper, G., Morin, C., Araki, T., Turci, C.C., Kaznatcheev, K., Hitchcock, A.P.: *J. Phys. Chem. A.* **107**, 6144 (2003).
71. Kaznatcheyev, K., Osanna, A., Jacobsen, C., Plashkevych, O., Vahtras, O., Ågren, Hitchcock, A. P.: Innershell Absorption Spectroscopy of Amino Acids. *The Journal of Physical Chemistry A.* **106**(13), 3153–3168 (2002).
72. Láng, A., Füzéry, A. K., Beke, T., Hudáky, P., Perczel, A.: Potential energy curves, surfaces and hypersurfaces. A model to follow and understand the conformational transformations in amino acids. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM.* **675**(1-3), 163–175 (2004).

73. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., de Simone, M., Prince, K. C., Carravetta, V.: Photoemission and the shape of amino acids. *Chemical Physics Letters*. **442**(4-6), 429–433 (2007).
74. Powis, I., Rennie, E. E., Hergenbahn, U., Kugeler, O., & Bussy-Socrate, R.: Investigation of the Gas-Phase Amino Acid Alanine by Synchrotron Radiation Photoelectron Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*. **107**(1), 25–34 (2003).
75. Tian, S. X., & Yang, J. Ab initio photoionization dynamics of β -alanine. *The Journal of Chemical Physics*. **126**(14), 141103 (2007).
76. Bari, S., Sobocinski, P., Postma, J., Alvarado, F., Hoekstra, R., Bernigaud, V., Schlathölter, T.: Fragmentation of α - and β -alanine molecules by ions at Bragg-peak energies. *The Journal of Chemical Physics*. **128**(7), 074306 (2008).
77. Marinho, R. R. T., Lago, A. F., Homem, M. G. P., Coutinho, L. H., de Souza, G. G. B., Naves de Brito, A. Gas phase photoabsorption and mass spectra of l-alanine and l-proline in the soft X-ray region. *Chemical Physics*. **324**(2-3), 420–424 (2006).
78. Morita, M., Mori, M., Sunami, T., Yoshida, H., & Hiraya, A.: Ionic fragmentation processes of core-excited α -alanine in gas phase. *Chemical Physics Letters*. **417**(1-3), 246–250 (2006).
79. Feyer, V., Plekan, O., Richter, R., Coreno, M., Prince, K. C., Carravetta, V.: Core Level Study of Alanine and Threonine. *The Journal of Physical Chemistry A*. **112**(34), 7806–7815 (2008).
80. Ipolyi, I., Cicman, P., Denifl, S., Matejčík, V., Mach, P., Urban, J., ... Matejčík, Š.: Electron impact ionization of alanine: Appearance energies of the ions. *International Journal of Mass Spectrometry*. **252**(3), 228–233 (2006).
81. Tanaka, M., Kaneko, F., Koketsu, T., Nakagawa, K., Yamada, T.: Fragmentation and dimerization of aliphatic amino acid films induced by vacuum ultraviolet irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. **77**(10-12), 1164–1168 (2008).

82. Tian, Sh. Xi.: Conformation effects on the electronic structures of α -alanine. *J. Phys. Chem. A* . **110**, 3961–3966 (2006).
83. Cannington, P. H., Ham, N. S.: He(I) and He(II) photoelectron spectra of glycine and related molecules. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*. **32**(2), 139–151 (1983).
84. Tseng, C.-M., Dyakov, Y. A., Huang, H. C., Huang, K. Y., Lee, Y. T., Ni, C. K., Chiang, S.Y.: Photodissociation dynamics of tryptophan and the implication of asymmetric photolysis. *The Journal of Chemical Physics*. **133**(7), 074307 (2010).
85. Kadhane, U., Andersen, J. U., Ehlerding, A., Hvelplund, P., Kirketerp, M. B. S., Lykkegaard, M. K., Zettergren, H.: Photodissociation of protonated tryptophan and alteration of dissociation pathways by complexation with crown ether. *The Journal of Chemical Physics*. **129**(18), 184304 (2008).
86. Rizzo, T. R., Park, Y. D., Peteanu, L. A., Levy, D. H.: The electronic spectrum of the amino acid tryptophan in the gas phase. *The Journal of Chemical Physics*. **84**(5), 2534–2541 (1986).
87. Talbot, F. O., Tabarin, T., Antoine, R., Broyer, M., Dugourd, P.: Photodissociation spectroscopy of trapped protonated tryptophan. *The Journal of Chemical Physics*. **122**(7), 074310 (2005).
88. Abdoul-Carime, H., Gohlke, S., Illenberger, E.: Fragmentation of tryptophan by low-energy electrons. *Chemical Physics Letters*. **402**(4-6), 497–502 (2005).
89. Zhang, W., Carravetta, V., Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., Prince, K. C.: Electronic structure of aromatic amino acids studied by soft x-ray spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*. **131**(3), 035103 (2009).
90. Grégoire, G., Jouvét, C., Dedonder, C., Sobolewski, A. L.: On the role of dissociative $\pi\sigma^*$ states in the photochemistry of protonated tryptamine and tryptophan: An ab initio study. *Chemical Physics*. **324**(2-3), 398–404 (2006).

91. Ballistreri, A., Giuffrida, M., Maravigna, P., Montaudo, G.: Direct mass spectrometry of polymers. XIII. Thermal fragmentation processes in copoly- α -amino acids. *J. Polymer Sci.* **23**(6), 1731–1747 (1985).
92. Масс-спектрометр МИ 1201. Руководство по эксплуатации.: Завод электронных микроскопов, Сумы, 1973, 64 с.
93. Техническое описание СУР к масс-спектрометрам серии МИ 1201.: ОАО "СЕЛМИ", Сумы, 2008, 32 с.
94. Эстерман, И.: Техника молекулярных пучков. УФН. т. XXXII. вып. I, (1947).
95. Кудрявцев, Н.Н., Мазяр, О.А., Сухов, А.М.: Методы генерации молекулярных пучком. УФН. **163**(6), (1993).
96. Рафальсон, А.Э., Шерешевский, А.М.: Масс-спектрометрические приборы. Атомиздат, Москва, 1968г. 229с.
97. Селифонова, Е.И., Чернова, Р.К., Коблова, О.Е. Термогравиметрическое изучение L-а-аминокислот. Изв. Саратов. Унив. **8**(2), 23–28 (2008).
98. Freund, R. S., Wetzel, R. C., Shul, R. J., Hayes, T. R.: Cross-section measurements for electron-impact ionization of atoms. *Physical Review A.* **41**(7), 3575–3595 (1990).
99. Kohn, W., Sham, L. J.: Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review.* **140**(4A), A1133–A1138 (1965).
100. Devlin, F. J., Finley, J. W., Stephens, P. J., Frisch, M. J.: Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields: A Comparison of Local, Nonlocal, and Hybrid Density Functionals. *The Journal of Physical Chemistry.* **99**(46), 16883–16902 (1995).
101. Kendall, R.A. Dunning, Jr., T.H. Harrison, R.J.J.: Electron Affinities of the First-Row Atoms Revisited. Systematic Basis Sets and Wave Functions. *J. Chem. Phys.* **96**, 6796–6806 (1992).

102. Hevia, E., de Paz-Lugo, P., Cornish-Bowden, A., & Cárdenas, M. L.: A weak link in metabolism: the metabolic capacity for glycine biosynthesis does not satisfy the need for collagen synthesis. *Journal of Biosciences*. **34**(6), 853–872 (2009).
103. Zhong, Z., Wheeler, M. D., Li, X., Froh, M., Schemmer, P., Yin, M., Lemasters, J. J.: L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. **6**(2), 229–240 (2003).
104. Snegursky, A. V., Chipev, F. F., Zaviopulo, A. N., Shpenik, O. B.: Ion-pair production due to electron-impact dissociative ionization of sulfur hexafluoride molecule. *Radiation Physics and Chemistry*. **76**(3), 604–606 (2007).
105. Vukstich, V.S., Imre, A.I., Romanova, L.G., Snegursky, A.V.: Fragmentation of the glycine molecule by low-energy electrons. *J. Phys. B At. Mol. Phys.* **43**, 185208–185214 (2010).
106. Dehareng, D., Dive, G.: Vertical Ionization Energies of α -L-Amino Acids as a Function of Their Conformation: an Ab Initio Study. *International Journal of Molecular Sciences*. **5**(11), 301–332 (2004).
107. Manz, T. A.: Introducing DDEC6 atomic population analysis: part 3. Comprehensive method to compute bond orders. *RSC Adv.* **7**(72), 45552–45581 (2017).
108. Mulliken, R.S.: Electronic population analysis on LCAO–MO molecular wave functions. *J. Chem. Phys.* **23**, 1833–1840 (1955).
109. Löwdin, P.O., Sabin, J.R., Zerner, M.C., Karwowski, J., Karelson, M.: *Advances in quantum chemistry: Recent advances in computational chemistry*. vol. **28**. Academic Press Inc., New York, USA, 1997.
110. Schwell, M., Jochims, H.W., Baumgärtel, H., Dulieu, F., Leach, S.: VUV photochemistry of small biomolecules. *Planet Space Sci.* **54**, 1073–1085 (2006).

111. Maul, R., Preuss, M., Ortmann, F., Hannewald, K., Bechstedt, F.: Electronic Excitations of Glycine, Alanine, and Cysteine Conformers from First-Principles Calculations. *The Journal of Physical Chemistry A*. **111**(20), 4370–4377 (2007).
112. Junk, G.A., Svec, H.J.: The Mass Spectra of the α -Amino Acids. *J. Am. Chem. Soc.* **85**(7), 839–845 (1963).
113. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., de Simone, M., Prince, K. C., Carravetta, V.: Investigation of the Amino Acids Glycine, Proline, and Methionine by Photoemission Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*. **111**(43), 10998–11005 (2007).
114. Afrosimov, V. V., Basalaev, A. A., Berezovskaya, E. A., Panov, M. N., Smirnov, O. V., & Tulub, A. V.: Fragmentation of polyatomic ions produced by electron-loss collisions of butane and isobutane molecules with ions of kiloelectronvolt energy. *Technical Physics*. **51**(12), 1553–1562 (2006).
115. Johnstone, R.A.W.: *Mass Spectrometry for Organic Chemists*. Cambridge University Press, 1972, 174 p.
116. Tamuliene, J., Romanova, L. G., Vukstich, V. S., Snegursky, A. V.: Electron-impact and thermal fragmentation of amino acid molecules: Mechanisms and structure of the molecules. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. **279**, 128–134 (2012).
117. Biemann, K., Seibl, J., Gapp, F.: Mass spectra of organic molecules I. Ethyl esters. *Am. Chem. Soc.* **83**, 3795–3804 (1961).
118. Salzner, U., Baer, R.: Koopmans' springs to life. *J. Chem. Phys.* **131**(23), 231101–231104 (2009).
119. Tamuliene, J., Romanova, L. G., Vukstich, V. S., Snegursky, A. V. Mechanisms of the electron-impact-induced methionine molecule fragmentation. *Chemical Physics*. **404**, 74–81 (2012).

120. Vatsa, R. K., Majumder, C., Jayakumar, O. D., Kulshreshtha, S. K., Mittal, J. P. Multiphoton dissociation/ionisation of dimethyl sulphide (CH₃SCH₃) at 355 and 532 nm. *Journal of Chemical Sciences*. **113**(2), 129–138 (2001).
121. Methionine, Biosynthesis, Chemical Structure and Toxicity. New York: Nova Science Publishers (ed. A.V. Snegursky), 2013, 187 p.
122. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=6305. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6305> accessed 13 August 2018.
123. Pallaghy, P. K., Melnikova, A. P., Jimenez, E. C., Olivera, B. M., Norton, R. S.: Solution Structure of Contryphan-R, a Naturally Occurring Disulfide-Bridged Octapeptide Containing d-Tryptophan: Comparison with Protein Loops. *Biochemistry*. **38**(35), 11553–11559 (1999).
124. Hankes, L. V., Brown, R. R., Leklem, J., Schmaeler, M., Jesseph, J.: Metabolism of C¹⁴ Labeled Enantiomers of Tryptophan, Kynurenine and Hydroxykynurenine in Humans with Scleroderma. *Journal of Investigative Dermatology*. **58**(2), 85-95 (1972).
125. Thomson, J., Rankin, H., Ashcroft, G.W., Yates, C.M., McQueen, J.K., Cummings, S.W.: The treatment of depression in general practice: a comparison of L-tryptophan, amitriptyline, and a combination of L-tryptophan and amitriptyline with placebo. *Psychol Med*. **12**(4), 741-51 (1982).
126. Plekan, O., Feyer, V., Richter, R., Coreno, M., Prince, K. C.: Valence photoionization and photofragmentation of aromatic amino acids. *Molecular Physics*. **106**(9-10), 1143–1153 (2008).
127. Lepère, V., Lucas, B., Barat, M., Fayeton, J. A., Picard, V. J., Jouvét, C., Fujii, A.: Comprehensive characterization of the photodissociation pathways of protonated tryptophan. *The Journal of Chemical Physics*. **127**(13), 134313 (2007).
128. Liu, D.Q., Sun, M.: Formation of the [M – 1] + Ions of Methylindoles in APCI Mass Spectrometry. *ISRN Spectroscopy*, **2012**(1), (2012).

129. Hager, J., Ivanco, M., Smith, M., A., Wallace, S. C.: Two-color threshold photoionization spectroscopy of jet-cooled indole clusters. *Chem. Phys.* **105**, 397 (1986).
130. MacLennan, M. S., Sutherland, K. N., Orlova, G.: Fragmentations and proton-transfer mechanisms of gaseous radical-cationic tryptophan: A theoretical study. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM.* **822**(1-3), 21–27 (2007).
131. Doolittle, R.F.: Redundancies in protein sequences, in: *Prediction of Protein Structures and the Principles of Protein Conformation*. In: Fasman, G.D. (ed.) Plenum Press, New York, 1989 p.599–623, ISBN 0-306- 43131-9.
132. Regulla, D. F., & Deffner, U.: Dosimetry by ESR spectroscopy of alanine. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes.* **33**(11), 1101–1114 (1982).
133. Nagy, V., Puhl, J.M., Desrosiers, M.F.: An Absorbed-Dose/Dose-Rate Dependence for the Alanine-EPR Dosimetry System and Its Implications in High-Dose Ionizing Radiation Metrology. *J Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* **113**(2), 79–95 (2008).
134. Schilke, P., Walmsley, C.M., Millar, T.J., Henkel, C.: Protonated HCN in molecular clouds. *Astron. Astrophys.* **247**, 487–496 (1991).
135. Figard, B.J.: *Electron-Molecule Interactions of Amino Acids and Peptides*, Ph.D. Thesis, Oregon State University, (2007).
136. Vukstich, V.S., Imre, A.I., Romanova, L.G., Snegursky, A.V.: Fragmentation of the glycine molecule by low-energy electrons. *J. Phys. B.* **43**(18) 185208 (2010).

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced asparagine molecule fragmentation. *Eur. Phys. J. D.* **68**(5), 118-135 (2014).
2. Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Megela, I.G., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact induced fragmentation of proline molecule. *Tech. Phys. Lett.* **40**(10), 901–904 (2014).
3. Romanova, L.G., Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Production of Similar Fragments from the Glycine, Alanine, and Methionine Amino Acid Molecules under Low-Energy Electron Impact. *Acta Physica Polonica Series a.* **128**(1), 15-24 (2015).
4. Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced tryptophan molecule fragmentation. *The European Physical Journal D.* **69**(21), 1-10 (2015).
5. Snegursky, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L. G., Vukstich, V. S., Papp, A. V.: Chapter 5 Tryptophan Molecule Fragmentation in Collisions with Low-Energy Electrons in *New Developments in Tryptophan Research* (Ed. V. Hayes). Nova Science Publishers, pp.105-143. New York (2015).
6. Papp, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Demesh, S.S., Snegursky, A.V.: Fragmentation of tryptophan molecule by low-energy electron-impact. *J. Phys.: Conf. Ser.* **635**, 032048 (2015)
7. Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Papp, A., Shkurin, S., Baliulyte, L., Snegursky, A.: On the influence of low-energy ionizing radiation on the aminoacid molecule: proline. *The European Physical Journal D.* **70**(143),143-153 (2016).
8. Папп, О.: Модернізація системи автоматизації магнітного мас-спектрометра МІ-1201. *Наук. Вісн. Ужг. Унів. Сер. Фіз.* **29**, 128–133 (2016).
9. Вукстич, В.С., Романова, Л.Г., Мегела, И.Г., Папп, А.В., Снегурский, А.В.: Фрагментация молекулы валина электронным ударом. *Письма в ЖТФ.* **43**(9), 10–19 (2017).
10. Tamulienė, J., Romanova, L., Vukstich, V., Papp, A., Baliulytė, L., Snegursky, A.: The influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: valine. *Lith. Journ. Phys.* **58**(2), 135–148 (2018).
11. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V.: Production of similar fragments from the amino acid molecules by electron impact. In: *Book of Abstracts of 2nd Gen. Meet. COST action, XLIC*, p.77. Gdansk, 10–12 September 2014.
12. Папп, О.В., Вукстич, В.С., Романова, Л.Г., Мегела, И.Г., Снігурський, О.В.: Про вплив іонізуючого випромінювання на структуру біологічних

- молекул. Матер. міжн. конф. "Хімічна і радіаційна безпека", с. 87-88. Ужгород, 27–30 травня 2014 р.
13. Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Papp, A.V., Snegurskaya, T.A., Snegursky, A.V., Baliulite. L.: On the influence of low- and high-energy ionizing radiation on the amino acid molecule properties: Tryptophan. In: Book of Abstracts of 5th Int. Conf. Radiation interaction with materials: Fundamentals and applications, p. 29-32. Kaunas, 12-15 May, 2014.
 14. Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegursky, A.V.: Electron-impact-induced tryptophan molecule fragmentation. In: Matejčík, Š., Papp, P., Bogár, O.(eds) Contributed papers of the 6th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems. pp. 97-98. Bratislava, 9–12 July, 2014.
 15. Snegursky, A.V., Vukstich, V.S., Romanova, L.G., Tamuliene, J., Megela I.G., Papp, A.V., Baliulyte L.: On the influence of low- and high-energy ionizing radiation on the amino acid molecule structure: proline. In: Matejčík, Š., Papp, P., Bogár, O.(eds) Contributed papers of the 6th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems. pp. 254-256. Bratislava, 9–12 July, 2014.
 16. Папп, О.В.: Модернізація системи реєстрації та керування мас-спектрометра МИ-1201. Матеріали міжнародної конференції молодих учених та аспірантів ІЕФ-2015, с. 208–209. Ужгород, 18-22 травня 2015 р.
 17. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Tamuliene, J., Vukstich, V.S., Papp, A.V.: Proline molecule fragmentation by electron impact. In: Tőkési, K. (ed.) Book of Abstracts of 3rd XLIC General Meeting, p. 74. ATOMKI/ DE/ ELFT, Debrecen, 2015.
 18. Papp, A., Snegursky, A., Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Snegurskaya, T., Baliulyte, L. Shkurin, S.: Ionizing Radiation-Induced Defects in the Proline Aminoacid. In: Book of Abstracts of International Conference on Biological Sciences and Technology (BST2016) 3rd General, Guandzhou, China, pp. 153-156, 2016.
 19. Snegursky, A.V., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Snegurskaya, T.A., Papp, A.V., Shkurin, S., Magela, L.G.: Destruction of the glutamine amino acid molecule by high-energy (10 MeV) electrons. In: Book of Abstracts of 2nd COST XLIC Working Group 2 Meeting, p.62. Stockholm, 13–15 April 2016.
 20. Papp, A., Snegursky, A., Tamuliene, J., Romanova, L., Vukstich, V., Baliulyte, L.: Mass-spectrometric studies of the valine molecule fragmentation by electron impact. In: Extended Abstracts of the 12th European Conference on Atoms Molecules and Photons, p. 467. Goethe-Universität, Frankfurt, 5–9 Sept. 2016.
 21. Papp, A., Snegursky, A., Romanova, L., Snegurskaya, T., Vukstich, V.: Electron-impact-induced long-chain modified arylpiperazine molecule fragmentation. In: Book of abstracts of EGAS49, p. 201, July 17–21, Durham University, UK, 2017.
 22. Snegursky, A.V., Tamuliene, J., Romanova, L.G., Vukstich, V.S., Papp, A.V., Snegurskaya, T.A. On the influence of low-energy ionizing radiation on the

amino acid molecule: Glutamine In: Polášek, M., et al. (eds.) Book of Abstracts of 4th XLIC General Meeting, p. 90. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the CAS, Prague, 2017.