Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології
Nanosystems, Nanomaterials, Nanotechnologies
2012, т. 10, № 3, сс. 533–541

© 2012 ІМФ (Інститут металофізики
ім. Г. В. Курдюмова НАН України)
Надруковано в Україні.
Фотокопіювання дозволено
тільки відповідно до ліцензії

PACS numbers: 34.50.Gb, 34.50.Rk, 68.49.Sf, 82.30.Fi, 82.50.Hp, 82.80.Ms, 82.80.Rt

Особливості йоноутворення поліолів у мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/йонізацією

Н. С. Настасієнко, Т. В. Фесенко, С. В. Снегір, В. О. Покровський

Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України,
вул. Генерала Наумова, 17,
03164 Київ, Україна

У роботі представлено результати мас-спектрометричних досліджень поліолів, а саме, сорбіту, ксиліту та маніту, методами лазерної десорбції/йонізації (ЛДЙ), матричностимульованої лазерної десорбції/йонізації (МАЛДЙ) та графітоактивованої лазерної десорбції/йонізації (ГАЛДЙ). Встановлено, що йоноутворення цих поліолів відбувається шляхом приєднання катіонів натрію та калію до невтральної молекулі поліолу в позитивній моді, а в неґативній — відщепленням протона. Порівняння масспектрометричних даних, одержаних різними методами, довело, що використання графіту як матриці в методі ГАЛДЙ є найбільш ефективним для дослідження поліолів. Цей ефект спричинений польовою десорбцією поліолів, що відбувається внаслідок лазерного опромінення нанорозмірних дефектів поверхні графіту.

The results of mass spectrometry investigation of polyols, namely, sorbitol, koenlinite, and mannitol obtained by means of laser desorption/ionization (LDI) mass spectrometry, matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry, graphite-assisted laser desorption/ionization (GALDI) mass spectrometry, are presented. As revealed, the formation of positive ion of polyols occurs by means of association with sodium and potassium cations, while formation of negative ion is the result of polyols' deprotonating. Comparison of mass spectrometry data obtained by various methods proves that application of graphite as the matrix in GALDI MS is the most efficient method for polyols' investigation. This effect is associated with field desorption of polyols caused by the interaction of laser irradiation with nanoscale defects of graphite surface.

В работе представлены результаты масс-спектрометрических исследований полиолов, а именно, сорбита, ксилита и маннита, методами лазерной десорбции/ионизации (ЛДИ), матричностимулированной десорбции/ионизации (МАЛДИ) и графитоактивированной лазерной десорбции/ионизации (ГАЛДИ). Установлено, что ионообразование этих полио-

лов происходит путём присоединения катионов натрия и калия к нейтральной молекуле полиола в позитивной моде, а в негативной — отщеплением протона. На основании масс-спектрометрических данных, полученных разными методами, установлено, что использование графита в качестве матрицы в методе ГАЛДИ является наиболее эффективным для исследования полиолов. Этот эффект вызван полевой десорбцией полиолов, которая происходит вследствие лазерного облучения наноразмерных дефектов поверхности графита.

Ключові слова: сорбіт, ксиліт, маніт, мас-спектрометрія, лазерна десорбція/йонізація.

(Отримано 14 листопада 2011 р.)

1. ВСТУП

Поліоли — вуглеводневі спирти, які мають загальну формулу ROH, в яких гідроксильні групи приєднані до насичених атомів вуглецю, як це показано на рис. 1, *а*. Широке застосування поліолів у медицині, фармацевтичній та харчовій промисловості, в біотехнології пов'язане, в першу чергу, з їх біосумісністю та високою термічною та хемічною стійкістю [1–4]. Основними умовами успішного застосування поліолів є всебічне дослідження їх фізико-хемічних властивостей та подальше розроблення метод контролю при їх промисловому використанні.

Однією з найсучасніших метод дослідження структури та фізико-хемічних властивостей органічних сполук у широкому діяпазоні мас є метода мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/йонізацією [5]. Відомо, що поліоли в методі МАЛДЙ використовуються при дослідженні ферментативних перетворень глюкози [6] в якості стимулятора процесу йоноутворення гідрофобних білків [7], а також як стандарт для кількісного визначення глюкози [8]. Мас-спектрометричні дослідження поліолів наразі вимагають значних зусиль у процесі приготування проби. Відомо, що єдиним способом одержання інтенсивного сиґналу сорбіту в методі МАЛДЙ, є його дериватизація шляхом реакції з глюцидилтриметиламоніум хльоридом [9]. З літератури відомі лише поодинокі [6] випадки використання йонних матриць для дослідження поліолів, що спричинено низькою ефективністю цієї методи Тому метою даної роботи було дослідження процесів десорбції/йонізації поліолів методою графітоактивованої лазерної десорбції/йонізації (ГАЛДЙ) у порівнянні з ЛДЙ та МАЛДЙ. Відомо, що активатором процесів «м'якої» десорбції/йонізації досліджуваних сполук є графітовмісний матеріял підкладки [10], що вперше було продемонстровано для дослідження синтетичних полімерів полістиролу, полібутадієну та поліізопрену [11].

Наявність нанорозмірних дефектів графітовмісної поверхні при їх взаємодії з лазерним опроміненням може стимулювати польову десорбцію/йонізацію досліджуваних сполук, зокрема і поліолів.

2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

У роботі використовували поліоли: сорбіт (ВАТ «ICN Макробіофарм», Росія), ксиліт («Акрос», Бельгія), маніт (Китай). Вимірювання виконували на часопролітному мас-спектрометрі Autoflex II (Bruker Daltonics Inc., Німеччина), обладнаному азотним лазером з $\lambda = 337$ нм. Мас-спектри одержували в позитивній та неґативній моді визначення йонів. На основі експериментальних досліджень, час затримки екстракції йонів було встановлено на рівні 10 нс. Прискорювальний потенціял був рівний 20 кеВ. Інтенсивність опромінення лазером було зафіксовано на рівні 100 мДж/см^2. З метою одержання достовірних даних формування вислідного мас-спектру відбувалося шляхом нагромадження йонного сиґналу з 10 різних зон у межах нанесеного зразка.

Вихідні розчини сорбіту, ксиліту та маніту концентрацією 5 мг/мл та об'ємом 1 мкл були нанесені на необроблену та оброблену грифелем олівця поверхню стандартної крицевої підкладки. Випаровування розчинника відбувалося при кімнатній температурі протягом 30–40 хв. У роботі було застосовано грифель олівця твердістю *B* (ECONOMIX, Корея).

Для виконання досліджень методою МАЛДЙ було використано насичений (40 мг/мл) розчин матриці 2,5-дигідроксибензойної кислоти (ДГБ) в 50% водно-ацетонітрильному розчині. Концентрація досліджуваних сполук у водному розчині була рівна 5 мг/мл. На поверхню металевої підкладки зразок наносили двома різними методами [12]. Перша метода передбачала пошарове нанесення розчинів матриці та зразка, тоді як другим було нанесення суміші матриці та зразка. Кращі спектри було одержано у випадку другого способу нанесення, що виявлялося в більшій інтенсивності сиґналів та більшому співвідношенні сиґнал/шум, що співпадає з дослідженнями [12].

3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

На підставі одержаних методою ЛДЙ мас-спектрів було встановлено, що методу може бути застосовано лише для дослідження сорбіту та ксиліту. Для маніту аналогічні мас-спектри одержати не вдалося. В мас-спектрах позитивних йонів сорбіту (рис. 1, *б*) було виявлено присутність піків високої інтенсивности з m/z рівним 205 та 221. Вони були інтерпретовані як йони асоціяти молекуль сорбіту

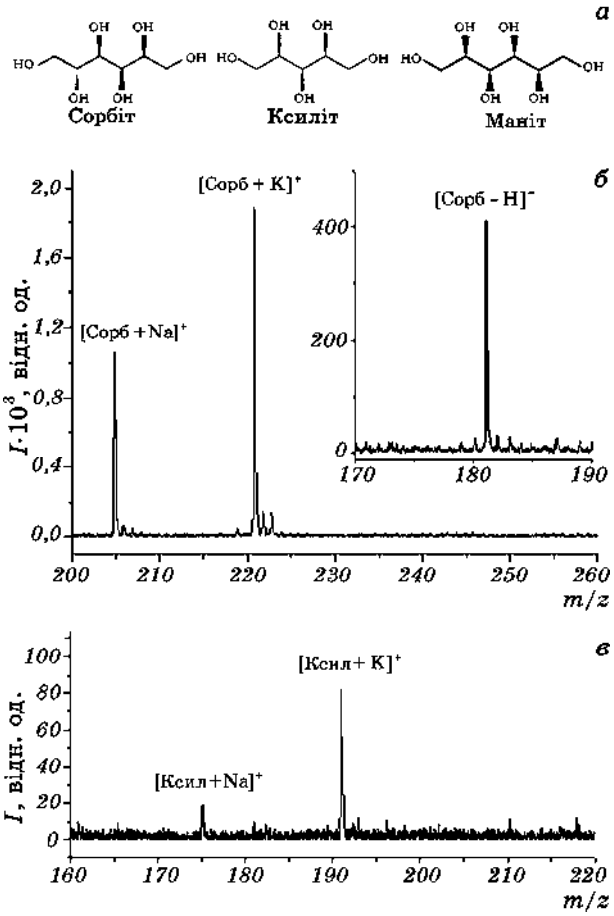

Рис. 1. Структурні формули сорбіту, маніту та ксиліту (*а*). Фраґменти мас-спектрів сорбіту для позитивних та неґативних йонів (*б*); фраґмент мас-спектру позитивних йонів ксиліту (*в*), одержаних методою ЛДЙ. Вставка відповідає фраґменту мас-спектру для неґативних йонів сорбіту.

та лужних металів натрію і калію. Така реакція йоноутворення характерна, як для безматричних метод мас-спектрометрії з ЛДЙ, так і для МАЛДЙ [13]. Протонованої форми сорбіту не було виявлено, що свідчить про відсутність реакції протонавання в йонному джерелі мас-спектрометра, що узгоджується зі спостереженнями інших авторів [6, 8]. Мас-спектер для неґативних йонів сорбіту містив пік з m/z, рівним 181, і був інтерпретований як $[M_{сорбіт} - H]^-$.

Одержані мас-спектри ксиліту для позитивних йонів характеризувалися наявністю піків з m/z рівними 175 та 191. Як і у випадку сорбіту, йоноформування відбувалося за рахунок асоціяції молекуль та йонів лужних металів. Слід, зазначити, що інтенсивність

йонів асоціятів з лужними металами для сорбіту на порядок вища ніж для ксиліту, що, можливо, викликане впливом структури молекулі ксиліту на процес його асоціяції з йоном металу. Неґативних йонів для ксиліту методою ЛДЙ МС зафіксовано не було.

Для дослідження процесів протонодонорних та протоноакцепторних реакцій поліолів в йонне джерело мас-спектрометра було введено в якості матриці додатковий реаґент — 2,5-дигірдроксибензойну кислоту. Ця сполука є хемічно інертною до поліолів. Одержані МАЛДЙ мас-спектри (рис. 2) в позитивній моді для всіх досліджених поліолів характеризувалися наявністю піків асоціятів по-

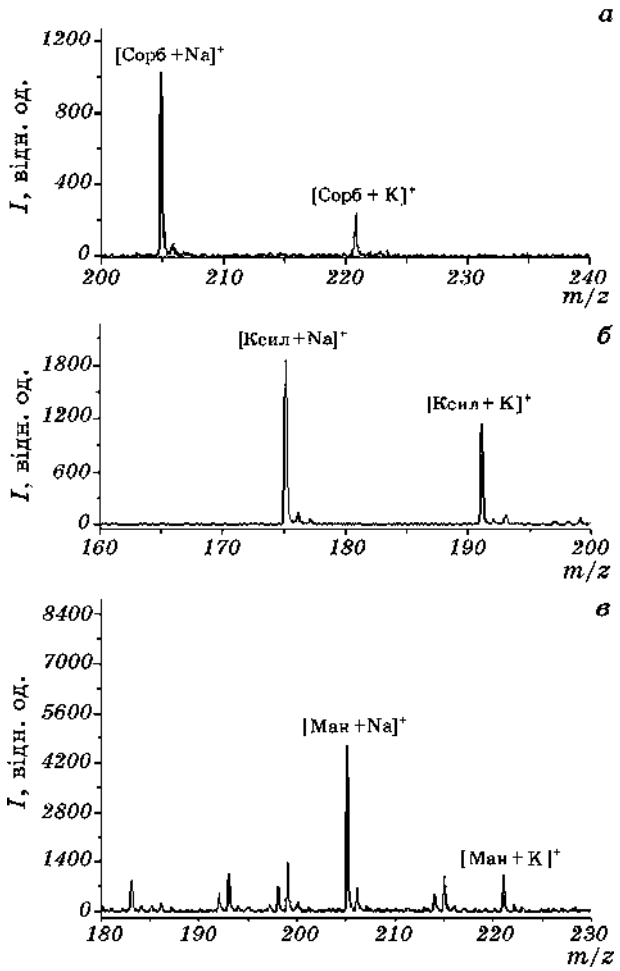

Рис. 2. Фраґменти мас-спектрів позитивних йонів для сорбіту (*а*), ксиліту (*б*) та маніту (*в*), одержаних методою МАЛДЙ, при використанні 2,5-дигідроксібензойної кислоти в якості матриці.

ліолів з Na^+ та K^+. Встановити присутність піків протонованих форм поліолів на одержаних мас-спектрах із застосуванням даної матриці не вдалося. Аналогічно, не було виявлено депротонованих форм досліджуваних молекуль поліолів. Натомість в мас-спектрах присутні піки йонів $[ДГБ + H]^+$, $[ДГБ + 2H]^+$ та $[ДГБ - H]^-$, що свідчить про наявність протонодонорних та протоноакцепторних реакцій за участю молекуль ДГБ.

Отже, незважаючи на присутність в йонному джерелі масспектрометра донорів протонів та їх акцепторів, процеси йонізації поліолів відбуваються шляхом асоціяції з йонами лужних металів. Це свідчить про переважну спорідненість досліджуваних молекуль до йонів лужних металів у порівнянні з протонами. Зокрема відомо, що середнє значення енергії спорідненості натрію та калію для більшости сполук лежить в діяпазоні 150–170 кДж/моль та ≈50 кДж/моль, відповідно [13, 14]. Таким чином, одержані результати свідчать, що поліоли не схильні до процесу протонавання. Присутність протонів в йонному джерелі мас-спектрометра, на нашу думку, може пригнічувати процес депротонавання поліолів, результатом чого є повна відсутність відповідних піків для неґативних йонів, у порівнянні з методою ЛДЙ та ГАЛДЙ.

Слід відзначити, що застосування матриці в певній мірі ускладнює інтерпретацію одержаних мас-спектрів через наявність піків, що відповідають фраґментам та самоасоціятам ДГБ матриці. У випадку маніту їх інтенсивність більша, для сорбіту — дещо менша. В мас-спектрах ксиліту піків матриці в обраному діяпазоні не виявлено.

З метою уникнення неґативних аспектів використання матриці в мас-спектрометричних дослідженнях використовують в якості останньої і вуглецевмісну поверхню [10, 11]. З одержаних масспектрів ГАЛДЙ, наведених на рис. 3, видно, що всім дослідженим вуглеводневим спиртам притаманний процес утворення асоціятів з йонами Na^+ та K^+. При цьому інтенсивність цих піків для всіх поліолів перевищує інтенсивність аналогічних сиґналів мас-спектрів, одержаних методами ЛДЙ та МАЛДЙ. Також було виявлено значно кращу відтворюваність спектру, що свідчить про більш рівномірний розподіл молекуль досліджуваних сполук по графітовмісній поверхні.

У мас-спектрах неґативних йонів для досліджених поліолів зафіксовано присутність йонів $[M_{сорбіт} - H]^-$ (m/z 181), $[M_{ксиліт} - H]^-$ (m/z 151) та $[M_{маніт} - H]^-$ (m/z 181). Хоча рівень фону в одержаних масспектрах досить високий, досліджуваний діяпазон мас, який представляє інтерес при ідентифікації використаних поліолів, не містить сторонніх сиґналів чи сиґналів, які відповідають графітовмісній поверхні. Цей факт свідчить про значну методичну перевагу даної методи над іншими, зокрема, над МАЛДЙ та ЛДЙ.

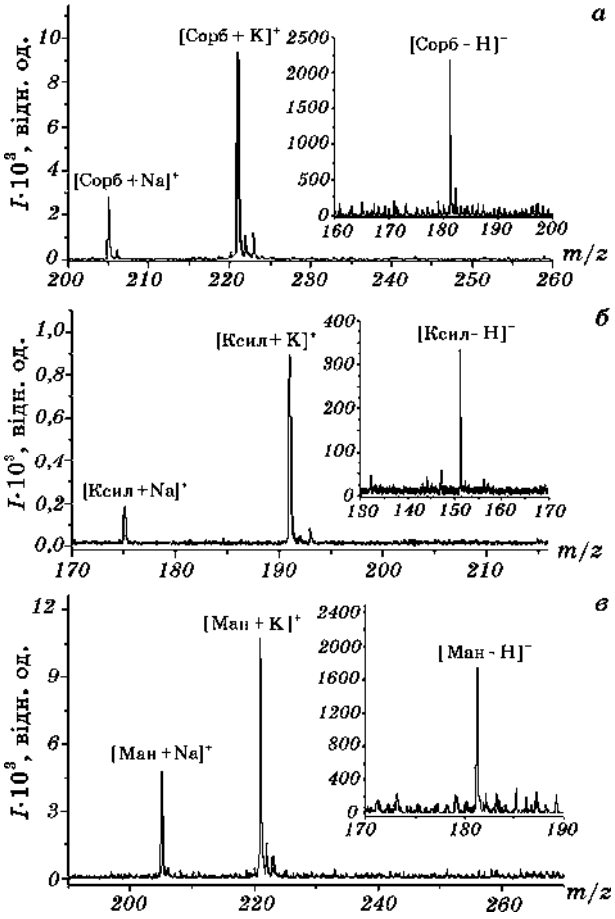

Рис. 3. Фраґменти мас-спектрів позитивних йонів для сорбіту (*а*), ксиліту (*б*) та маніту (*в*), одержаних методою ГАЛДЙ. Вставки відповідають фраґментам мас-спектрів для неґативних йонів відповідних сполук.

Таким чином одержані мас-спектрометричні результати свідчать, про низку переваг використання методи ГАЛДЙ порівняно з методами ЛДЙ та МАЛДЙ. В першу чергу потрібно відзначити, що метода ГАЛДЙ не є чутливою до структури молекулі, в порівнянні з ЛДЙ, про що свідчить інтенсивність відповідних піків у масспектрах ГАЛДЙ в порівнянні з ЛДЙ. Для всіх досліджених сполук інтенсивність відповідних піків мас-спектрів має один порядок. Більш того, використання вуглецевмісної поверхні, на відміну методи МАЛДЙ, дає можливість досліджувати процеси йоноутворення поліолів у неґативній моді.

Метода ГАЛДЙ передбачає більш просту підготовку проби, чим МАЛДЙ. У випадку використання вуглецевмісної поверхні спосте-

рігали більш рівномірний розподіл молекуль поліолів по поверхні підкладки, що виявлялося у відтворюваності мас-спектрів від точки до точки, порівняно з іншими застосованими методами. Порівняння мас-спектрів, одержаних різними методами, вказує на те, що мас-спектри, одержані методою ГАЛДЙ, характеризуються більш високою відносною інтенсивністю сиґналів. Така властивість притаманна даному виду йонізаційних підкладок для всіх досліджуваних сполук і пояснюється існуванням процесу польової десорбції [10], яка стимулює процес десорбції/йонізації. Взаємодія лазерного опромінення довжиною хвилі 337 нм призводить до збурення локального електромагнетного поля в околі нанорозмірних дефектів вуглецевмісної поверхні [10].

4. ВИСНОВКИ

У роботі досліджено поліоли (сорбіт, ксиліт та маніт) за допомогою метод ЛДЙ, ГАЛДЙ та МАЛДЙ. Виявлено, що безвідносно до застосовних мас-спектрометричних метод дослідження поліолів процесу їх фраґментації не відбувається. Виявлено, що процес формування позитивних йонів поліолів відбувається за рахунок утворення йонів-асоціятів з лужними металами Na та K, тоді як для неґативних йонів — шляхом відщеплення протона. Встановлено, що процес десорбції/йонізації та величина йонного струму залежить від природи поверхні, на яку нанесено зразок. Виявлено, що використання масспектрометричної методи із лазерною десорбцією/йонізацією із застосуванням графітовмісних поверхонь є найбільш ефективним при мас-спектрометричному вивченні поліолів.

Показано, що в мас-спектрах МАЛДЙ поліолів інтенсивність сиґналу, який відповідає йон-молекулярному асоціяту з Na, завжди вищий за сиґнал асоціяту з K, тоді як в мас-спектрах ЛДЙ та ГАЛДЙ, інтенсивність йон-молекулярного асоціяту з Na завжди менша за інтенсивність сиґналу для йон-молекулярного асоціяту з K. Дане спостереження вимагає додаткових мас-спектрометричних досліджень із використанням квантово-хемічних розрахунків.

Роботу виконано в Центрі колективного користування «Масспектрометричний комплекс з лазерною десорбцією/йонізацією» Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. И. К. Кочетков, А. Ф. Бочков, Б. А. Дмитриев и др., *Химия углеводов* (Москва: Химия: 1967).
2. А. Н. Карамышев, *Фармакологическая регуляция обменных процессов*, вып. 8: 88 (1972).

3. H. M. Derbyshire, Y. Feldman, C. R. Bland et al., *J. Pharm. Sci.*, **91**, No. 4: 1080 (2002)
4. A. Gombas, P. Szabo-Revesz, G. Regdon, Jr., and I. Erõs, *J. Therm. Anal. and Calorimetry*, **73**: 615 (2003).
5. А. Т. Лебедев, *Масс-спектрометрия в органической химии* (Москва: Бином. Лаборатория знаний: 2003).
6. D. Bungert, S. Bastian, D. M. Heckmann-Pohl et al., *Biotechnol. Lett.*, **26**: 1025 (2004).
7. R. R. Ogorzalek Loo and J. A. Loo, *Anal. Chem.*, **79**, No. 3: 1115 (2007).
8. G. A. Grant, S. L. Frison, J. Yeung et al., *J. Agric. Food Chem.*, **51**: 6137 (2003).
9. T. Andreas, V. Christophttmann, K. Min-Jung et al., *J. Mass Spectrom.*, **37**: 963 (2002).
10. С. В. Снегір, *Лазерно-десорбційна мас-спектрометрія комплексів біметалів з органічними лігандами на поверхні вуглецевмісних матеріалів* (Дисер. ... канд. фіз.-мат. наук) (Київ: ІХП НАН України: 2009).
11. C. Black, G. Poile, and J. Langley, *Rapid Comm. Mass Spectrom.*, **20**: 1053 (2006).
12. S. C. Goheen, K. L. Wahl, J. A. Campbell, and W. P. Hess, *J. Mass Spectrom.*, **32**: 820 (1997).
13. J. Zhang, R. Knochenmuss, E. Stevenson et al., *J. Mass Spectrom.*, **13**: 273 (2002).
14. J. S. Klassen, S. G. Anderson, A. T. Blades et al., *J. Phys. Chem.*, **33**: 14218 (1996).