

PACS numbers: 34.50.Gb, 34.50.Rk, 68.49.Sf, 82.30.Fi, 82.50.Hr, 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 нейтральної молекули поліолу в позитивній моді, а в негативній — відщепленням протона. Порівняння мас-спектрометричних 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  $\text{RON}$ , 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-хімічних властивостей та подальше розроблення метод контролю при їх промисловому використанні.

Однією з найсучасніших метод дослідження структури та фізико-хімічних властивостей органічних сполук у широкому діапазоні мас є метода мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/йонізацією [5]. Відомо, що поліоли в методі МАЛДИ 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 сигналу сорбіту в методі МАЛДИ, є його дериватизація шляхом реакції з глюцидилтриметиламоніум хлоридом [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 методом графітоактивованої лазерної десорбції/йонізації (ГАЛДИ) у порівнянні з ЛДИ та МАЛДИ. Відомо, що активатором процесів «м'якої» десорбції/йонізації досліджуваних сполук є графітовмісний матеріал 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

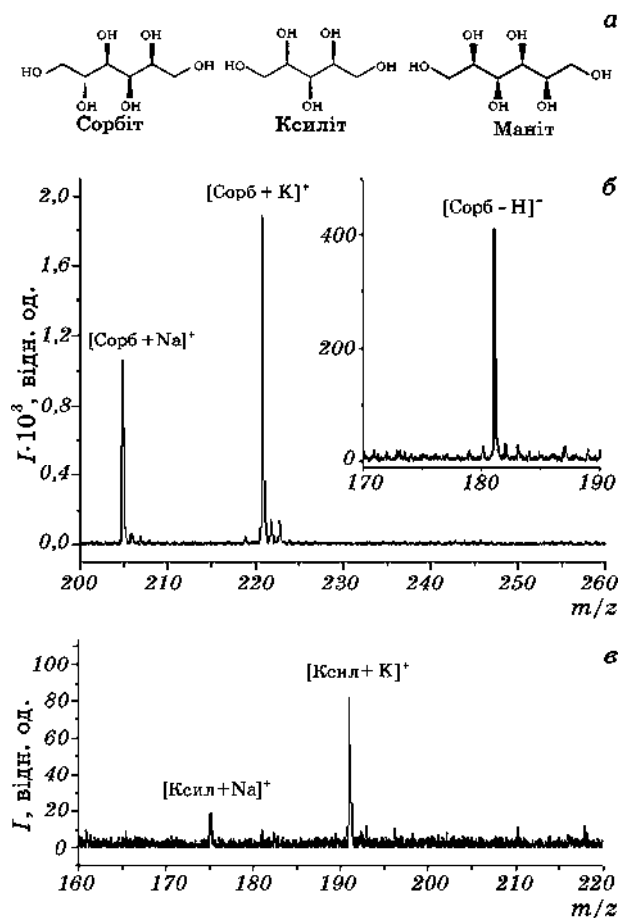
У роботі використовували поліоли: сорбіт (ВАТ «ІСН Макробиофарм», Росія), ксиліт («Акрос», Бельгія), маніт (Китай). Вимірювання виконували на часопротітному мас-спектрометрі Autoflex II (Bruker Daltonics Inc., Німеччина), обладнаному азотним лазером з  $\lambda = 337$  нм. Мас-спектри одержували в позитивній та негативній моді визначення йонів. На основі експериментальних досліджень, час затримки екстракції йонів було встановлено на рівні 10 нс. Пришвидшувальний потенціал був рівний 20 кеВ. Інтенсивність опромінення лазером було зафіксовано на рівні 100 мДж/см<sup>2</sup>. З метою одержання достовірних даних формування вислідного мас-спектру відбувалося шляхом нагромадження йонного сигналу 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 В (ECONOMIX, Корея).

Для виконання досліджень методом МАЛДІЙ 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 сигналів та більшому співвідношенні сигнал/шум, що співпадає з дослідженнями [12].

## 3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

На підставі одержаних методом ЛДІЙ 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 інтенсивності з  $m/z$  рівним 205 та 221. Вони були інтерпретовані як йони асоціати молекул сорбіту



**Рис. 1.** Структурні формули сорбіту, маніту та ксиліту (а). Фрагменти мас-спектрів сорбіту для позитивних та негативних йонів (б); фрагмент мас-спектру позитивних йонів ксиліту (в), одержаних методом ЛДІ. Вставка відповідає фрагменту мас-спектру для негативних йонів сорбіту.

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

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 асоціації молекул та йонів лужних металів. Слід, зазначити, що інтенсивність

йонів асоціатів з лужними металами для сорбіту на порядок вища ніж для ксиліту, що, можливо, викликане впливом структури молекули ксиліту на процес його асоціації з іоном металу. Негативних йонів для ксиліту методом ЛДІ МС зафіксовано не було.

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

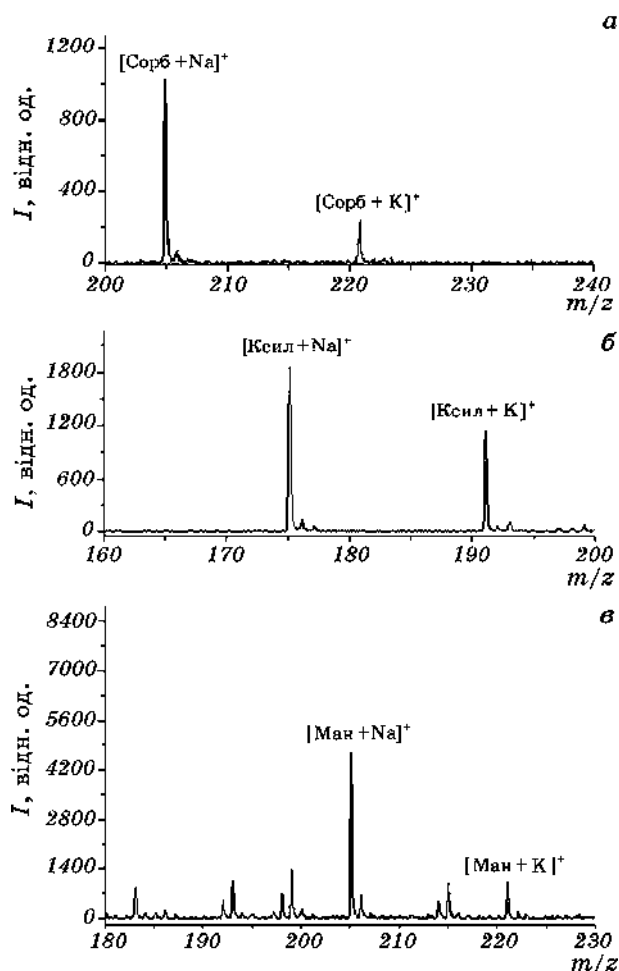


Рис. 2. Фрагменти мас-спектрів позитивних йонів для сорбіту (а), ксиліту (б) та маніту (в), одержаних методом МАЛДІ, при використанні 2,5-дигідроксибензойної кислоти в якості матриці.

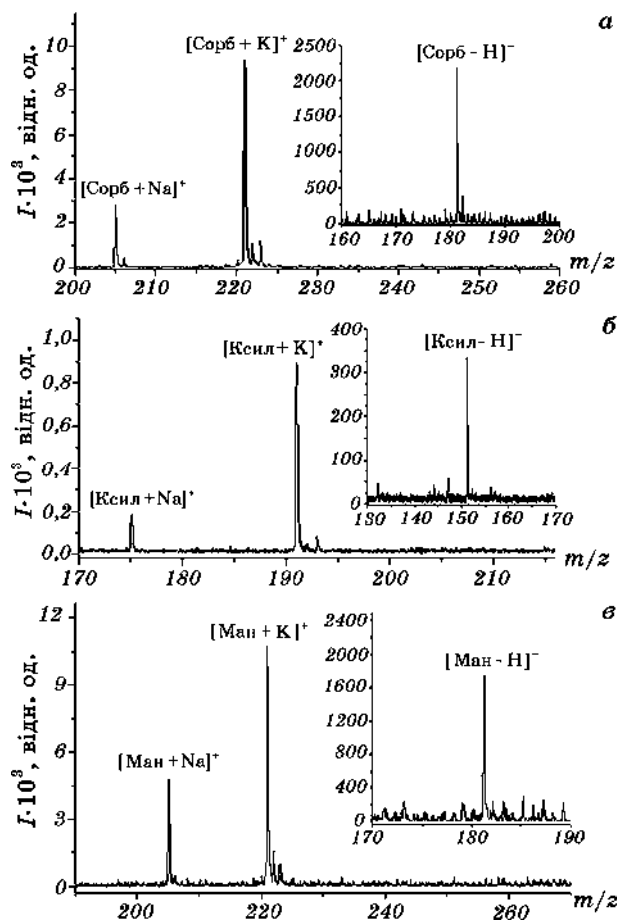
ліолів з  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$ . Встановити присутність піків протонованих форм поліолів на одержаних мас-спектрах із застосуванням даної матриці не вдалося. Аналогічно, не було виявлено депротонованих форм досліджуваних молекул поліолів. Натомість в мас-спектрах присутні піки йонів  $[\text{ДГБ}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

Отже, незважаючи на присутність в йонному джерелі мас-спектрометра донорів протонів та їх акцепторів, процеси йонізації поліолів відбуваються шляхом асоціації з йонами лужних металів. Це свідчить про переважну спорідненість досліджуваних молекул до йонів лужних металів у порівнянні з протонами. Зокрема відомо, що середнє значення енергії спорідненості натрію та калію для більшості сполук лежить в діапазоні 150–170 кДж/моль та  $\approx 50$  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 негативних йонів, у порівнянні з метою ЛДЙ та ГАЛДЙ.

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

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

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



**Рис. 3.** Фрагменти мас-спектрів позитивних йонів для сорбіту (а), ксиліту (б) та маніту (в), одержаних методом ГАЛДІ. Вставки відповідають фрагментам мас-спектрів для негативних йонів відповідних сполук.

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

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

рігали більш рівномірний розподіл молекул 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 методом ГАЛДІ, характеризуються більш високою відносною інтенсивністю сигналів. 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 льокального електромагнетного поля в околі нанорозмірних дефектів вуглецевмісної поверхні [10].

#### 4. ВИСНОВКИ

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

Показано, що в мас-спектрах МАЛДІ поліолів інтенсивність сигналу, який відповідає йон-молекулярному асоціату з Na, завжди вищий за сигнал асоціату з K, тоді як в мас-спектрах ЛДІ та ГАЛДІ, інтенсивність йон-молекулярного асоціату з Na завжди менша за інтенсивність сигналу для йон-молекулярного асоціату з K. Дане спостереження вимагає додаткових мас-спектрометричних досліджень із використанням квантово-хемічних розрахунків.

Роботу виконано в Центрі колективного користування «Мас-спектрометричний 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. Erős, *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. Christophmann, 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).