

3. Herzog C. P. Seiberg duality is an exceptional mutation, hep-th/0405118.
4. Katz S., Pantev T., Sharpe E. D-branes, orbifolds and Ext groups, hep-th/0212218.
5. Gaiotto D., Strominger A., Yin X. Superconformal black hole quantum mechanics, hep-th/0412322.
6. Грин М., Шварц Дж., Виттен Э. Теория суперструн. Т. 1. – Москва: Мир, 1990. – 520 с.

Институт ядерных исследований  
НАН Украины, Киев  
Институт космических исследований  
НАН Украины, Киев

Поступило в редакцию 12.10.2007

УДК 539.188;537.186

© 2008

Академік НАН України **О. Б. Шпеник, А. Н. Завілопуло,  
А. С. Агафонова, Л. Г. Романова**

## Мас-спектрометричні дослідження молекули глюкози

*By using a domestic mass-spectrometer MK7304 A, we have studied the yield of ions due to the ionization, including the dissociative one, of molecules of glucose at various temperatures. In the energy region of incident electrons from 5 to 30 eV, we have determined both the energy dependences of the cross-sections of creation of ion-fragments and the thresholds of their creation.*

Підвищений інтерес до вивчення складних молекул традиційними методами фізики електронних зіткнень пояснюється виключною важливістю цих молекул для процесів, що відбуваються у живих організмах. Глюкоза належить до групи органічних сполук, що відіграють важливу роль в життєдіяльності організму, тому всебічне вивчення властивостей цієї молекули є актуальним. У нашій лабораторії мас-спектрометричним методом проводяться систематичні дослідження однократної та дисоціативної іонізації молекул електронним ударом та визначення їх порогів [1]. Саме в області порогових енергій іонізації проявляється багато аспектів атомної та молекулярної структури, які є визначальними в дисипації енергії при взаємодії електронів з багатоатомними молекулами.

Нами розроблена методика дослідження іонізації складних молекул за допомогою вітчизняного мас-спектрометра MX-7304 А. У представленій роботі наведено експериментальні результати дослідження виходу іонів внаслідок іонізації, в тому числі дисоціативної, молекули глюкози в результаті зіткнень з електронами. При цьому основна увага приділялася вивченню мас-спектрів при різних температурах. Експериментальна апаратура створена на базі монопольного мас-спектрометра MX-7304 А виробництва SELMI [2]. Як відомо, джерело іонів серійних мас-спектрометрів типу MX7304 А та MX7304AM — це джерело з іонізацією речовини в газовій фазі, яка здійснюється електронним ударом з осциляцією електронів у статичному електричному полі. Особливістю джерела є те, що частина електронів проникає в область, обмежену сітковим анодом (область іонізації), і частина з них, взаємодіючи з пробою, іонізують її. Інші електрони досягають протилежного боку анода

і ті з них, що не зіштовхнулися з сіткою, потрапляють в область гальмівного поля і повертаються в область іонізації. Завдяки цьому збільшується ефективна довжина пробігу електронів в області іонізації.

Іони з області іонізації витягаються електричним полем, створеним різницею потенціалів між витягуючим електродом та анодом, формуються в пучок за допомогою фокусуєчого електрода та вводяться в мас-аналізатор. Монопольний мас-аналізатор, на відміну від квадрупольного, завдяки наявності додаткової границі, розділяє іони не лише ортогонально, але також і в напрямку введення в аналізатор. Таким чином, пучок іонів на виході з джерела іонів повинен бути паралельним, монокінетичним та направленим вздовж осі аналізатора.

Для покращення ефективності іонізації і отримання оптимальних режимів роботи джерела іонів та іонно-оптичної системи його роботу нами проаналізовано за допомогою програми SIMION [3]. Шляхом віртуального моделювання виявлено ряд недоліків серійного джерела іонів. Так, поля катода і відбивача глибоко проникають в область іоноутворення, істотно порушуючи симетричність, що приводить до відхилення іонів від осі. Для усунення цього ефекту розраховано і знайдено іншу точку розташування катодного вузла: катоди розміщені в площині, перпендикулярній осі іонізатора, на краю циліндричної частини основи анода. При цьому вони не витягають іони через міжвиткові зазори анода, а також не відхиляють електрони від осі при їх осцилюванні, оскільки осциляція електронів відбувається вище місця розміщення катодів. Експериментальне випробування роботи модернізованого катодного вузла показало, що корисний сигнал на колектор іонів збільшився в дев'ять разів.

Методика вимірів з автоматизованою системою реєстрації детально описана раніше [4]. Калібровка шкали енергій проводилася за початковими ділянками функції іонізації атомів Ag, Kr та Xe, а визначення потенціалів появи різних груп іонів-фрагментів — шляхом обробки порогової ділянки перерізу дисоціативної іонізації методом поліноміальної підгонки [5]. На відміну від серійного мас-спектрометра, де іонізація молекул фактично проходить в газовій комірці, ми застосували джерело ефузійного типу, яке створювало пучок молекул глюкози.

Джерело іонів працювало в режимі стабілізації електронного струму. Видалені з області взаємодії електронного та нейтрального пучків іони фокусуються іонно-оптичною системою на вхід аналізатора, розділяються за масами та детектуються системою реєстрації, що керується ЕОМ. Калібрування шкали мас та ідентифікація фрагментів молекули, що вивчалася, здійснювалося за мас-піками інертних газів He, Ar, Xe і Kr. Кінцевий спектр отримували шляхом віднімання з мас-спектра глюкози спектра залишкового газу.

Кристалічна D-глюкоза може існувати у двох стереоізомерних формах ( $\alpha$ -D- і  $\beta$ -D-глюкоза), які відрізняються просторовим положенням глікозидної гідроксильної групи. Власливості  $\alpha$ - і  $\beta$ -форм глюкози дещо відрізняються, тому нами було проведено термогравіметричні дослідження зразків. Оскільки кількість абсорбованої води залежить від способу отримання глюкози, то, виходячи з отриманої термограми досліджуваного зразка, за температурою плавлення  $83 \pm 2$  °C, що відповідає  $T_{пл}$  кристалогідрату  $C_6O_6H_{12} \cdot H_2O$ , чітко можна ідентифікувати його походження шляхом кристалізації з водного розчину. Внаслідок мутаротації, що проходить у водних розчинах глюкози, встановлюється рівновага ізомерів у співвідношенні  $\sim 36 : 64$  [6], тому неможливо ідентифікувати зразок як  $\alpha$ - або  $\beta$ -форму. За кривими термогравіметричного аналізу були з'ясовані інтервал температур зневоднення — 70–110 °C і температура плавлення кристалічної глюкози ( $147 \pm 2$  °C), що також вказує

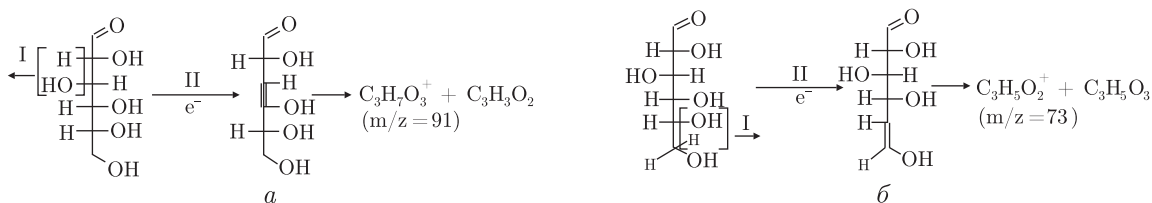


Рис. 1

на суміш  $\alpha$ - і  $\beta$ -ізомерів з переважанням  $\beta$ -форми. При  $T > 185$  °С починається процес незворотного розкладу глюкози.

Термогравіметричні дослідження дали можливість встановити робочий діапазон температур і розробити методику вимірів мас-спектрів при різних температурах. Методика експерименту полягала в отриманні мас-спектрів у температурному діапазоні 50–190 °С, температура джерела молекул встановлювалася за показами платинової резистивної термомпери з точністю  $\pm 0,1$  °С.

Особливістю мас-спектра молекули D-глюкози при  $E = 40$  еВ є наявність характерних груп ліній з інтервалом всередині групи 1 а. о. м. Найбільш інтенсивні лінії мас-спектра, що виділяються з цих груп, відповідають іонам-фрагментам:  $\text{CHO}^+$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3^+$ . Це свідчить про те, що дисоціативна іонізація молекули  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  проходить шляхом фрагментації глюкопіранозного кільця (у більшості випадків після втрати молекулою глюкози однієї або двох молекул води). Практично повна відсутність піку, що відповідає іону  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6^+$  вихідної молекули, можливо, пов'язана з гетероциклічною структурою молекули глюкози, каркас якої складається з п'яти атомів вуглецю та одного атома кисню. Можна уявити, що при зіткненні з електронами, в першу чергу, відщеплюється фрагмент молекули, що не входить до складу гетероциклу, а саме,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ . Висока інтенсивність піку, що відповідає цьому фрагменту ( $m/z = 43$ ), є непрямим підтвердженням переважно циклічної просторової конфігурації досліджуваної молекули.

Як приклад на рис. 1 показані ймовірні канали дисоціації молекули глюкози, наведеної у вигляді Фішерівських проекцій, при розриві зв'язку між С3 і С4 (де С1-6 — порядковий номер атома вуглецю в молекулі глюкози, починаючи з альдегідної групи). На першому етапі (I) в обох випадках проходить дегідратація молекули, причому втрата молекули води у випадку (а) проходить від атомів С2 і С3, а у випадку (б) — від атомів С5 і С6 (див. рис. 1). На другому етапі (II) проходить розрив вуглецевого каркасу між С3 і С4 у результаті розпаду вихідної молекули після електронного удару. Інтенсивність піку фрагмента-іона з  $m/z = 73$  у мас-спектрі глюкози є максимальною, що свідчить про перевагу другого каналу фрагментації.

За температурними залежностями інтенсивностей мас-піків у діапазоні енергій іонізуючих електронів вдалося відстежити еволюцію утворення фрагментів дисоціативної іонізації молекули глюкози. Так, на рис. 2 наведено залежності виходу іонів-фрагментів з найбільшою інтенсивністю у мас-спектрі в діапазоні температур 80–180 °С:  $\text{CHO}^+$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3^+$ . Можна допустити, що при підвищенні температури, внаслідок внутрішнього обертання навколо формально простого зв'язку, атоми в молекулі можуть мати значну кількість різноманітних просторових положень, які зумовлені змінами квантово-механічної взаємодії між сусідніми  $\sigma$ -зв'язками, кутового напруження внаслідок деформації кутів між зв'язками, напруження зв'язків внаслідок їх розтягнення або стиснення, дипольних взаємодій тощо. Відзначимо, що значення, співрозмірні з енергією зв'язку,

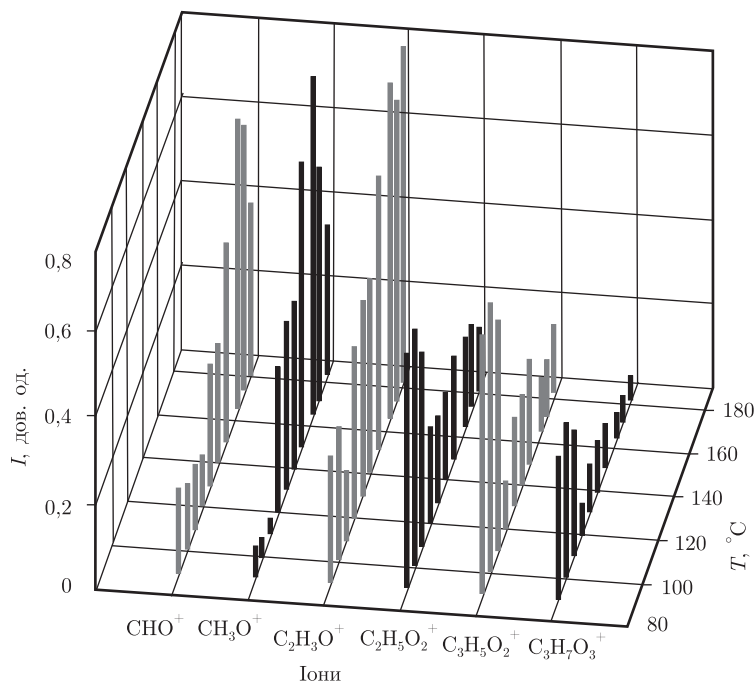


Рис. 2

досягаються лише при дуже високих температурах. Тим не менш, хоча кінетична енергія вузлових атомів, що відповідає термічній енергії, є лише середнім значенням, однак, згідно з законом Максвелла–Больцмана, кінетична енергія окремих часток може значно перевищувати цей середній показник. Тому, залежно від міцності зв'язків, їх розрив значною мірою спостерігається при відносно низьких температурах. У діапазоні температур 90–190 °C чітко видно динаміку зміни інтенсивності мас-піків від температури речовини в ефузійному джерелі. Характерною особливістю цих залежностей є зміна співвідношення крупних ( $m/z > 60$ ) та невеликих ( $m/z < 43$ ) фрагментів у бік збільшення виходу останніх при підвищенні температури. Інтенсивність піків крупних фрагментів помітно знижується при температурах вище 120 °C. На наш погляд, така поведінка може бути пов'язана або з розпадом частково дегідратованої молекули глюкози після електронного удару на більш ніж два фрагменти, або з вибірковою іонізацією невеликих фрагментів та її позитивною залежністю від температури.

Для визначення порогів появи іонів-фрагментів мас-спектрометр налаштовувався на визначену масу та вимірювалася порогова енергетична залежність виходу іонів-фрагментів. Нами експериментально виміряні початкові ділянки функції повної та дисоціативної іонізації досліджуваної молекули. Зауважимо, що для молекули глюкози відсутні літературні дані щодо процесів дисоціативної іонізації електронним ударом. Однак експерименти, проведені нами для інших молекул [1, 4], та їх порівняння з даними таблиць NIST [7, 8] дозволяють зробити висновок про коректність даної методики для визначення потенціалів появи іонів-фрагментів (порогів дисоціативної іонізації —  $E_{ap}$ ).

Для обробки енергетичних залежностей перерізу дисоціативної іонізації фрагментів застосовують певні процедури. До найбільш відомих належить процедура подвійного диференціювання початкових ділянок функцій іонізації за методом Лосінга з цифровою фільтра-

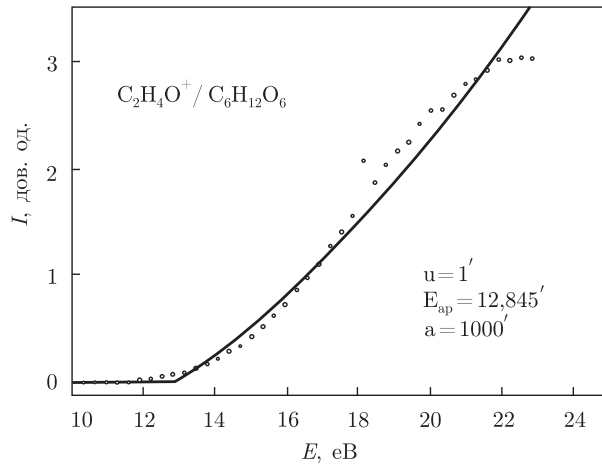


Рис. 3

цією і процедура апроксимації за методом найменших квадратів з використанням алгоритму Маркуардта–Левенберга, який запропонований у роботах групи Т. Мерка [5]. Суть останньої методики полягає у тому, що експериментально виміряна залежність перерізу іонізації (або дисоціативної іонізації) від енергії електронів поблизу порога апроксимується функцією

$$F(E) = \begin{cases} b, & E < E_{ap}, \\ b + c(E_e - E_{ap})^n, & E > E_{ap}. \end{cases} \quad (1)$$

Підгонка кривої здійснюється за чотирма основними параметрами: фоновим сигналом  $b$ , енергією появи іонного фрагменту  $E_{ap}$ , коефіцієнтом пропорційності  $c$  і показником експоненти  $p$  у пороговому законі Ваньє [9] для випадку однократної іонізації атомів. Алгоритм підгонки реалізований спеціальною комп'ютерною програмою, що дозволяє одержувати з великим числом ітерацій всі чотири параметри з урахуванням величини їх стандартних відхилень. Відзначимо, що енергія появи  $E_{ap}$  означає мінімальну енергію, яка витрачається на утворення відповідних іонів при дисоціації молекули.

Апаратна функція розподілу електронів за енергіями у наших розрахунках вважалася вільним параметром, який можна апроксимувати розподілом Гаусса з центром у точці  $E_{ap}$  і напівшириною  $\Delta E$ . У цьому випадку функція  $F(E)$  є згортокою функції з розподілом електронів за енергіями, тобто функцією вигляду

$$P(E) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\frac{(E-E_{ap})^2}{2\Delta E}} [b + c(E - E_{ap})^p] dE. \quad (2)$$

Така процедура дозволяє одержати ще і додаткову інформацію про реальну напівширину енергетичного розкиду електронів за енергіями.

Проаналізуємо одержані результати. Було виміряно енергетичні залежності порогових ділянок функції дисоціативної іонізації іонів-фрагментів молекули глюкози, які відповідають найбільш інтенсивним лініям у мас-спектрі (див. рис. 2), а саме, іонів-фрагментів  $\text{CHO}^+$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}^+$ . Характерним для всіх одержаних перерізів однократної іонізації материнської молекули глюкози і виходу її дочірніх іонів-фрагментів є плавне зростання перерізу в області енергій від

Таблиця 1. Порогові значення потенціалів прямої (виділений рядок) та дисоціативної іонізації молекули глюкози

Іон	$m/z$	$E_{ap}$ , eV
$\text{CH}_3^+$	15	$17,5 \pm 0,30$
$\text{C}_2\text{H}_3^+$	27	$16,45 \pm 0,25$
$\text{CHO}^+$	29	$15,24 \pm 0,30$
$\text{CH}_3\text{O}^+$	31	$14,83 \pm 0,25$
$\text{C}_3\text{H}_3^+$	39	$14,19 \pm 0,25$
$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$	42	$13,85 \pm 0,25$
$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$	43	$13,42 \pm 0,25$
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$	44	$12,84 \pm 0,25$
$\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2^+$	61	$13,89 \pm 0,25$
<b><math>\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6^+</math></b>	<b>180</b>	<b><math>10,12 \pm 0,35</math></b>

порогу до 25–30 eV з подальшим виходом на плато в області енергій у 3–4 порогових одиниці. На рис. 3 наведено порогову ділянку перерізу дисоціативної іонізації іона-фрагмента  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$ : суцільна крива отримана за спеціальним алгоритмом підгонки (її параметри наведені у правому куті рисунка). Отже, за пороговими ділянками енергетичних залежностей перерізу дисоціативної іонізації визначені пороги  $E_{ap}$  появи іонів-фрагментів, що виникають внаслідок дисоціативної іонізації молекули глюкози (див. табл. 1).

Таким чином, нами вперше в одному експерименті визначені енергія іонізації молекули  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  та пороги появи іонів-фрагментів, що виникають внаслідок дисоціативної іонізації. Проаналізовано найбільш вірогідні канали дисоціації молекули глюкози за умови розриву мінімальної кількості зв'язків, що призводять до появи фрагментів, які відповідають отриманому мас-спектру. Проведено дослідження мас-спектра глюкози при різних температурах, що дозволило простежити динаміку утворення фрагментів дисоціативної іонізації.

Автори вдячні С. С. Крафчику за виконання термогравіметричних досліджень та за участь в обговоренні, а також М. І. Мижиті за допомогу в проведенні експериментів. Особлива подяка проф. П. Барроу (P. Barrow) за ідею досліджень мас-спектрів при різних температурах.

Робота виконана при частковій фінансовій підтримці гранту CRDF No. UKC2-2832-UZ-06.

1. Завилопуло А. Н., Чипев Ф. Ф., Шпенік О. Б. Ионизация молекул азота, кислорода, воды и двуокиси углерода электронным ударом вблизи порога // Журн. техн. физики. – 2005. – **75**, № 4. – С. 19–24.
2. Монопольный масс-спектрометр MX7304A. Описание и инструкция по эксплуатации. – Сумы: SELMI, 2002.
3. Агафонова А. С., Сурков В. А. Джерело іонів для монопольного мас-спектрометра // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. – 2007. – Вип. 21. – С. 63–70.
4. Zaviropulo A. N., Shpenik O. B., Surkov V. A. Dynamic mass spectrometer studies of organic and inorganic molecules // Anal. Chem. Acta. – 2006. – **573–74**. – P. 427–431.
5. Fiegele T., Hanel G., Torres I. et al. Threshold electron impact ionization of carbon tetrafluoride, trifluoromethane, methane and propane // J. Phys. B. – 2000. – **33**. – P. 4263–4283.
6. Общая органическая химия / Под ред. Д. Бартона и У. Д. Оллиса Т. 11. Липиды, углеводы, макромолекулы, биосинтез / Под ред. Е. Хаслама. Пер. с англ. / Под ред. Н. К. Кочеткова. – Москва: Химия, 1986. – 132 с.
7. Hunter E. P., Lias S. G. Evaluated gas phase basicities and proton affinities of molecules: An update // J. Phys. Chem. Ref. Data. – 1998. – **27**, No 3. – P. 413–656.
8. NIST Chemistry WebBook, <http://www.webbook.nist.gov>.
9. Wannier G. H. Threshold law for multiple ionization // Phys. Rev. – 1955. – **100**. – P. 1180.