

A Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszék tömegspektrometriás laboratóriumának újabb eredményei

KUKI Ákos, NAGY Lajos, DEÁK György, NAGY Miklós, ZSUGA Miklós és KÉKI Sándor*

**Debreceni Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék, Egyetem tér 1., 4010 Debrecen, Magyarország*

1. Bevezetés

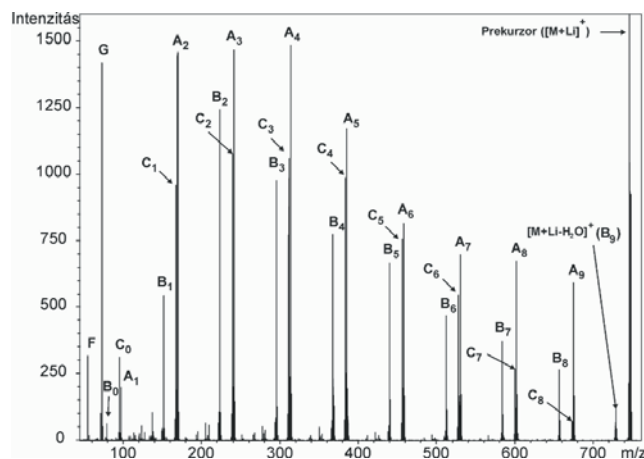
A Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén 1999-ben szerveződött tömegspektrometriás laboratórium bonyolult szerkezetű, különleges tulajdonságú, szintetikus, illetve természetben előforduló makromolekulák szerkezetének felderítésére. A laboratórium rövidesen kiterjesztette kutatási területét az élettani, farmakológiai jelentőséggel bíró kistömegű szerves molekulák vizsgálatára is. Mivel a tömegspektrometria ionok tömeg/töltés hányadosának (m/z) meghatározását jelenti, ezért lényeges a megfelelő ionizációs technika megválasztása, amely a vizsgálandó anyag kémiai szerkezetétől, összetételétől és móltömegétől függ. Laboratóriumunk folyamatos fejlesztésének köszönhetően mára öt lágyionizációs módszer közül választhatjuk ki az adott szerkezetazonosítási feladatra a legmegfelelőbbet. Az ESI (ElectroSpray Ionization), APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization), APPI (Atmospheric Pressure Photoionization) és DART (Direct Analysis in Real Time) ionforrással rendelkező quadrupole-time-of-flight (QTOF) tömegspektrométerrel nagy felbontású, MS és MS/MS méréseket végezhetünk. A tömegspektrométert HPLC eszközzel összekapcsolva LC-MS vizsgálatra is lehetőségünk van. A MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) TOF tömegspektrométerünk alapvető eszköz a bio- és polimerkémiai szerkezetkutatásban. Vizsgálati lehetőségeinket egy GC-MS műszer terjeszti ki. A komplex vizsgálatokhoz további hat nagy értékű szerkezetvizsgáló berendezés áll rendelkezésre (gázkromatográf, 2 db gélpemeációs kromatográf, fényszórás fotométer, diódasoros UV-VIS fotométer, mechanikai vizsgálóberendezések). A Nemzeti Innovációs Hivatal Nemzeti Kutatási Infrastruktúra Felmérés és Útiterv (NEKIFUT) Irányító Testülete döntése alapján laboratóriumunk „Komplex anyag- és szerkezetvizsgáló laboratórium, DE Alkalmazott Kémiai Tanszék” elnevezéssel megkapta a stratégiai jelentőségű kutatási infrastruktúra (SKI) minősítést.

Jelen közlemény a különböző ionizációs módszerek alkalmazására mutat be példákat, és ezáltal keresztmetszetet nyújt a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén működő tömegspektrometriás laboratórium kutatási területeiről és eredményeiről.

2. Politetrahydrofurán (PTHF) ütközés kiváltotta disszociációjának vizsgálata

A poliéterek családjába tartozó politetrahydrofuránnak számos jelentős ipari alkalmazása van (textilipar, poliuretán gyártás).¹ Mivel a PTHF felhasználása a jövőben várhatóan tovább növekszik, fontos olyan analitikai módszerek

kidolgozása, amelyek alkalmasak a PTHF szerkezetének egyértelmű felderítésére. Az elektroprolasztásos ionizációs ionforrású tömegspektrometriás (ESI MS) vizsgálatok alkalmasak a poliéterek ismétlődő egysége és végcsoportja tömegének, valamint átlag molekulatömegeinek meghatározására.² Továbbá a laboratóriumunkban rendelkezésre álló kvadrupól-repülési idő (QTOF) készülékkel tandem tömegspektrometriás (MS/MS) vizsgálatokat is végezhetünk, amelyekkel az ütközés kiváltotta disszociáción (fragmentáción) keresztül további szerkezeti információkat nyerhetünk a polimerekről.^{3,4}



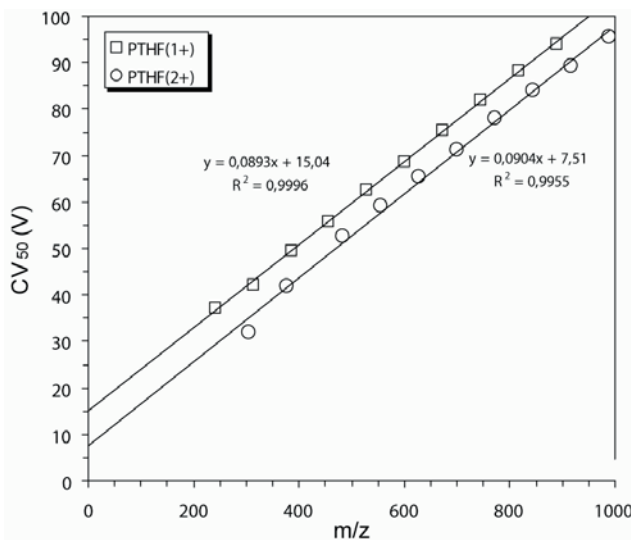
1. Ábra. 10 ismétlődő egységből álló lítiummal egyszeresen ionizált politetrahydrofurán ($[\text{PTHF}_{10} + \text{Li}]^+$) ESI-MS/MS spektruma 95 eV ütközési energiánál. Az ismétlődő egységek számát indexben tüntetettük fel. A megjelölt tömegcsúcsok m/z értékei az egyes sorozatok esetén: $A = 25 + 72x$, $B = 79 + 72x$, $C = 95 + 72x$ ($x =$ az ismétlődő egységek száma), illetve 55, 73, 745 és 727 az F, G, $[\text{M} + \text{Li}]^+$ és $[\text{M} + \text{Li} - \text{H}_2\text{O}]^+$ ionok esetén.

Célunk volt lítiummal ionizált, egyszeresen és kétszeresen töltött politetrahydrofurán fragmentációs tulajdonságainak vizsgálata, valamint annak tanulmányozása, hogy milyen hatással van az ütközési energia változtatása az MS/MS spektrumra.⁵ Az 1. ábrán a 10 ismétlődő egységből álló $[\text{PTHF} + \text{Li}]^+$ MS/MS spektruma látható. A termékionok között három sorozatot azonosítottunk (A, B és C), melyek megfeleltethetők sorrendben a hidroxil, vinil és aldehid végcsoportoknak. Érdekes, hogy két további termékion tudtunk azonosítani az MS/MS spektrumban $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}^+$, illetve C_4H_7^+ elemi összetétellel (G, illetve F).

Kétszeresen töltésű politetrahydrofurán $[\text{PTHF} + 2\text{Li}]^{2+}$ MS/MS vizsgálatok hasonló egyszeresen töltésű termékion sorozatok képződését tapasztaltuk, mint egyszeresen töltésű PTHF

*K.S. Tel.: +36 52 512900/22455; fax: +36 52 518662; e-mail: keki@tigris.unideb.hu

esetén, azonban megjelentek a kétszeres töltésű termékionok, valamint az egyszeres töltésű prekursor ion is.



2. Ábra. A CV_{50} értékek m/z függése egyszeres (PTHF(1+)) és kétszeres töltésű (PTHF(2+)) politetrahidrofuran esetén.

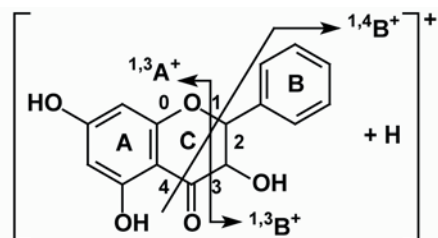
Különböző lánchosszúságú PTHF molekulák esetén tanulmányoztuk a prekursor ion disszociálatlan hányadának (Survival Yield) ütközési energia függését.⁶ A 2. ábrán az 50%-os fragmentációhoz tartozó ütközési energiát / ütközési feszültséget (CV_{50}) ábrázoltuk az m/z függvényében egyszeres, illetve kétszeres töltésű PTHF esetén. A 2. ábrán látható, hogy mind egyszeres, mind kétszeres töltésű PTHF esetén lineáris korrelációt találtunk a CV_{50} és az m/z értékek között. A lineáris CV_{50} vs. m/z függés gyakorlati jelentősége az, hogy lehetővé teszi olyan ütközési feszültséget, illetve ütközési energia egyszerű meghatározását és beállítását, amely ahhoz szükséges, hogy a szerkezeti azonosításhoz megfelelő fragmentációt kapjunk. A 2. ábrán megfigyelhető továbbá, hogy az egyszeres töltésű PTHF esetén a CV_{50} értékek kissé nagyobbak, mint a kétszeres töltésűek esetén, jelezve ezzel, hogy azonos m/z értéknél a kétszeres töltésű PTHF azonos mértékű fragmentálásához kevesebb energia szükséges.

3. A máriatövisben megtalálható, farmakológiai szempontból jelentős, (+)-Szilibin fragmentációjának vizsgálata atmoszférikus nyomású kémiai ionizációs (APCI) körülmények között

A gyógyászatban egyre nagyobb jelentősége van a különböző flavanolinánoknak, amelyeket elterjedten használnak különböző májbetegségek kezelésére, valamint rákos megbetegedések megelőzésére kiváló gyökfogyó és antioxidáns hatásuknak köszönhetően.⁷⁻⁹ A flavanolinánok előfordulnak különböző növényekben, amelyekből extrakcióval kinyerhetők. Az egyik, gyógyászati szempontból egyre jelentősebb, növény a máriatövis, amelynek az extraktumában, a szilimariban, a fő hatóanyag a (+)-szilibin [(2R, 3R)-3,5,7-trihidroxi-2-[(2R, 3R)-3-(4-hidroxi-3-metoxi)-2-hidroxi-metil-1,4-benzodioxán-6-il]-4-kromanon]. A szilibin flavanon-3-ol,

valamint 1,4-benzodioxán gyűrűt tartalmaz, és megtalálható a forgalomban lévő készítményekben is. A máriatövisből kinyert szilimarinnal extraktum mintegy 30 %-a azonban nem ismert. Ezeknek, az anyagoknak az azonosításával új hatóanyagok, gyógyszerek kifejlesztése valósulhat meg, azonban ehhez pontosan ismerni kell a szilibin analitikáját, mivel az azonosításra váró anyagok, várhatóan, a szilibinhez hasonló szerkezettel rendelkeznek.

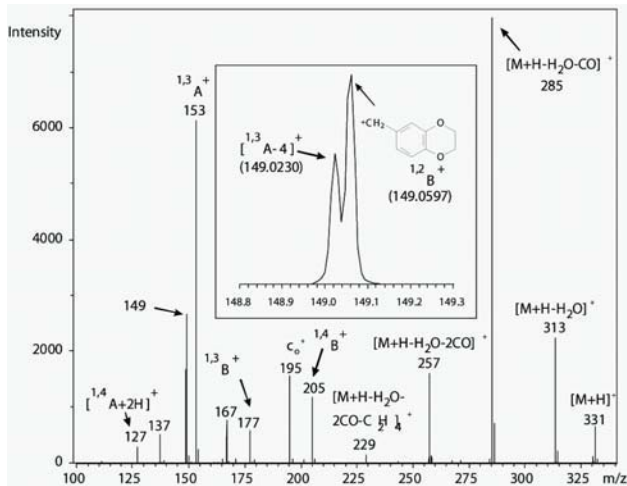
Munkánk során a szilibin (1), deutero-szilibin (2), (1,4-benzodioxolanyl)-3,5,7-trihidroxi-4-kromanon (3), 3,5,7-trihidroxi-2-fenil-4-kromanon (4) és krizin (5) fragmentációját vizsgáltuk atmoszférikus nyomású kémiai ionizációs (APCI) körülmények között. A vizsgált minták APCI-MS tömegspektrumában protonnal képzett addukt ionok jelentek meg, amelyek könnyen fragmentálódtak. A kapott MS/MS spektrumokban víz és CO molekulák lehasadása mellett, a 3. ábrán szereplő nomenklatura^{10, 11} szerinti, fragmenseket is azonosítottuk.



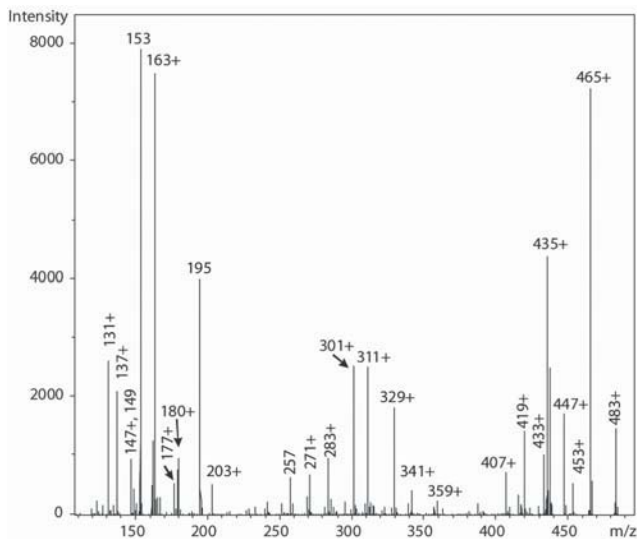
3. Ábra. A C-gyűrű hasadásával képződő fragmensek nomenklaturája.

A 3. minta MS/MS tömegspektrumában (4. ábra) a víz (m/z 313), illetve két CO molekula egymást követő lehasadása (m/z 285 és 257) mellett a 3. ábrán szereplő fragmensek is megjelennek. Megfigyelhető C_2H_4 molekula kihasadása is (m/z 229), amely valószínűleg a benzodioxán gyűrű fragmentációjából származik. Az MS/MS spektrumok alapján megállapítottuk, hogy az $^{1,3}B^+$, $^{1,4}B^+$ és $^{1,2}B^+$ fragmens ionok a 3. minta esetében jóval nagyobb intenzitásúak voltak, mint a 4. minta esetében. Ez azt mutatja, hogy előbbi esetben az említett fragmensek stabilitása nagyobb. Megjelent az MS/MS tömegspektrumában m/z 195 értéknél a c_0^+ fragmens ion, amely a 2-es szénatomon lévő szubsztituens fragmentációjával (3-as mintánál benzodioxán, 4-es mintánál benzol) keletkezik. A 4. ábra kinagyított részletén az m/z 149-nél megjelenő duplacsúcs látható. A megjelenő két fragmens egyértelmű azonosítására és a fragmentációs útvonalak feltérképezésére pszeudo-MS³ méréseket végeztünk.

Az m/z 285 termékion pszeudo-MS³ spektrumában megjelentek az m/z 257, valamint az m/z 149 termékionok, ugyanakkor nem jelentkezett duplacsúcs, a tömegspektrumában csak az $[^{1,3}A-4]^+$ termékion jelent meg. Másrészt az m/z 257 pszeudo-MS³ tömegspektrumában nem jelent meg az m/z 149-es csúcs, ez azt mutatja, hogy az m/z 285-ből az m/z 149 és az m/z 257 termékionok párhuzamosan képződnek. Az m/z 205-nél megjelenő ion fragmentációja során m/z 149-nél kimutattuk a $^{1,2}B^+$ iont, valamint bizonyítottuk, hogy a C-gyűrű fragmentációja során a $^{1,4}B^+ \rightarrow ^{1,3}B^+ \rightarrow ^{1,2}B^+$ sorozatos fragmentáció következik be.



4. Ábra. A 3. minta APCI-TOF MS/MS tömegspektruma.



5. Ábra. Szilibin APCI-TOF MS/MS tömegspektruma.

A szilibin fragmentációja során nagyszámú termékion jelent meg a tömegspektrumban (5. ábra). A + jellel ellátott ionok esetén a deuterio-szilibin tömegspektrumában egy m/z értékkel nagyobb értéket kaptunk, ami arra utal, hogy ezek az ionok a benzodioxán gyűrűt tartalmazzák, vagy annak a fragmentációjából származnak.

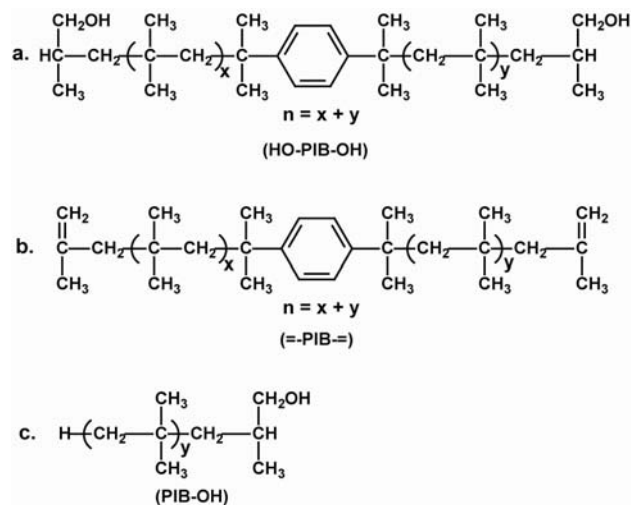
A spektrum három részre osztható, a nagyobb m/z értékeknél víz, szén-monoxid és formaldehid tömegvesztések, illetve ezek együttes előfordulása figyelhető meg. A tömegspektrum középső részében az $^{1,2}B^+$ ionokat, illetve a 2-metoxi-fenol lehasadásával keletkező ionokat azonosítottuk. A kisebb m/z értékeknél megjelenő ionok a C-gyűrű hasadásához, illetve a 2-metoxi-fenol egységet tartalmazó termékionokhoz rendelhetőek. Az 5. ábrán m/z 180 értéknél gyök ion jelentkezik, amely a szilibin C-gyűrűjének retro-Diels-Alder (RDA) hasadásával keletkezik és a 2-metoxi-fenol egységet is tartalmazza. A mérési eredmények alapján, a szilibin esetében, közel 30 termékiont azonosítottunk, meghatároztuk a fragmentáció mechanizmusát és feltérképeztük a fragmentációs útvonalakat.¹²

4. Atmoszférikus nyomású fotoionizációs tömegspektrometria (APPI-MS) alkalmazása apoláros polimerekre

Az apoláros polimerek, például poliizobutilén és polietilén, nem vizsgálhatók az előző fejezetekben ismertetett lágyionizációs módszerekkel (ESI, APCI). A 2000-es évek elején kifejlesztett atmoszférikus nyomású fotoionizációs technikával (APPI, Atmospheric Pressure PhotoIonization) lehetővé vált az apoláros molekulák lágy ionizációs tömegspektrometriás analízise.^{13,14} Tömegspektrometriás laboratóriumunkban kiterjedt kutatásokat folytattunk az APPI alkalmazási lehetőségeire, különös tekintettel az apoláros polimerek vizsgálatára.¹⁵⁻¹⁸ Különböző poliizobutilén és polietilén származékok APPI tömegspektrometriás vizsgálati lehetőségeit tanulmányoztuk. Atmoszférikus nyomású fotoionizációs ionforrású kvadrupól-repülési idő tömegspektrometriás (APPI-Qq-TOF MS) méréseket végeztünk pozitív és negatív ion módban egy MicroTOF-Q (Bruker Daltonik, Németország, Bréma) típusú Qq-TOF tandem MS készüléken. Az APPI ionforrás egy PhotoMate, kripton kisüléssel lámpával van felszerelve (Syagen Technology, Kanada, Tustin), amely 4:1 intenzitásarányban 10,0 és 10,6 eV energiájú UV-fotonokat bocsát ki. A fejezet további részében néhány eredményünket ismertetjük.

APPI MS mérések pozitív ion módban (APPI(+)-MS)

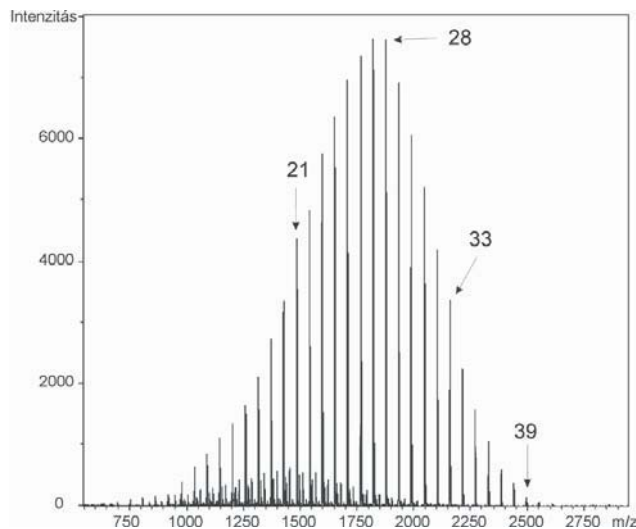
Különböző poliizobutilén (PIB) származékokat (6. ábra) vizsgáltunk oldószerként tetrahydrofuránt, hexánt, illetve klórtartalmú oldószereket alkalmazva. A pozitív APPI MS spektrumok alapján megállapítottuk, hogy az ionizáció során a polimer molekulák protonálódtak, azaz $[M+H]^+$ ionok képződtek. Azonban a spektrumban a legvalószínűbb csúcs jelentősen kisebb m/z értéknél jelent meg, mint ahogy az a GPC-vel (gélpermeációs kromatográfia) mért átlag molekulasúly alapján várható volt. Továbbá az APPI(+)-MS intenzitás eloszlása is torzult, a kisebb m/z értékek irányába. Ezek az eltérések PIB fragmensek jelenlétét jelzik. Mindezekből következik, hogy bár az APPI(+)-MS nem a legkedvezőbb módszer az intakt PIB láncok vizsgálatára, de nagyon hasznos lehet MS/MS mérések esetén, mivel a protonált adduktok jól fragmentálhatók.



6. Ábra. Poliizobutilén származékok szerkezete: a, dihidroxil telekelikus poliizobutilén; b, diolefin telekelikus poliizobutilén; c, hidroxil telekelikus poliizobutilén.

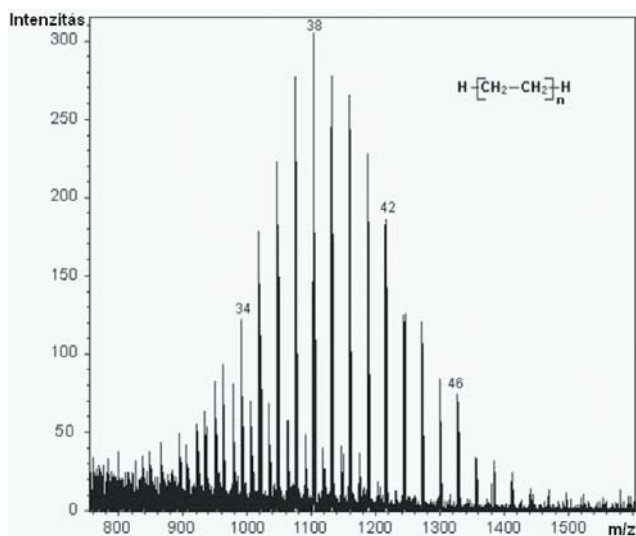
APPI MS mérések negatív ion módban (APPI(-)-MS)

Negatív ion módban klórozott oldószerek (CCl_4 , CHCl_3 , és CH_2Cl_2) esetén mindhárom PIB származéknál kitűnő tömegspektrumot kaptunk. Az APPI(-)-MS spektrumok alapján megállapítottuk, hogy a PIB származékok a klorid ionnal adduktot képeztek, azaz $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ ionok képződtek.



7. Ábra. A diolefin telekelikus poliizobutilén (=PIB=) negatív ion módú atmoszférikus nyomású fotoionizációs tömegspektruma (APPI(-)-MS). Oldószer CCl_4 0,067 v/v toluol dopant tartalommal. A =PIB= koncentrációja a mintaáramban 0,5 mM, a teljes mintaáram 225 $\mu\text{l}/\text{min}$. Az egyes csúcsok felett lévő számok az izobutilén ismétlődő egységek számát jelentik.

A 7. ábrán a =PIB= APPI(-)-MS tömegspektruma látható CCl_4 vivőárammal, toluol jelenlétében. A tömegspektrumban szomszédos csúcsok távolsága megfelel a 6. ábrán jelölt ismétlődő egység tömegének, az egyes csúcsok felett lévő számok pedig az ismétlődő egységek számát jelentik. A 7. ábrán látható PIB oligomer eloszlás 700-tól 2600 m/z értékig terjed, amely két határ megfelel a 7, illetve 41 izobutilén egységet tartalmazó oligomernek.



8. Ábra. Polietilén standard $[\text{H}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{H}]$ APPI(-)-MS spektruma. Mérési körülmények: PE koncentráció: 0,2 mg/ml toluolban oldva, mintaáram: 25 $\mu\text{l}/\text{min}$ (toluol), CCl_4 áram: 200 $\mu\text{l}/\text{min}$. Az egyes csúcsok felett lévő számok az ismétlődő egységek számát jelentik.

Hasonló eredményeket kaptunk kis molekulatömegű polietilén (LP-PE) negatív ion módú APPI MS mérésekor. A 8. ábrán példaként egy polietilén standard CCl_4 vivőárammal, toluol jelenlétében felvett APPI(-)-MS tömegspektruma látható, ahol szintén megfigyelhetők az egymástól azonos, a monomeregység tömegének megfelelő távolságra lévő jellegzetes polimer csúcsok. Hangsúlyozzuk, hogy a vizsgált polietilén nem tartalmazott telítetlen kötést, illetve heteroatomokat, igazolva ezzel, hogy az APPI módszer alkalmas apoláros polimerek vizsgálatára is.

5. Valós idejű közvetlen analízis ionizációs tömegspektrometria (DART-MS) alkalmazásai

A MALDI és a klasszikus atmoszférikus nyomású porlasztásos módszerek (ESI, APCI, APPI) esetén az analit általában csak hosszadalmas mintaelőkészítés után vezethető be az ionforrásba. Az utóbbi 5-6 évben kifejlesztett környezeti (ambient) ionizációs technikák alkalmazásával a minták természetes állapotukban, a mintaelőkészítési lépések kihagyásával vizsgálhatók. A deszorpciós elektroporlasztásos ionizáció (DESI, Desorption ElectroSpray Ionization, 2004)¹⁹ és a valós idejű közvetlen analízis (DART, Direct Analysis in Real Time, 2005)²⁰ kifejlesztése óta a tömegspektrometriának ez a területe rohamosan fejlődik. A valós idejű közvetlen analízis ionizációs mechanizmusa az APCI-hoz hasonló, a plazmából kinyert metastabil gázrészecskék – általában gerjesztett hélium atomok – reagálnak a levegőben lévő vízzel, oxigénnel vagy egyéb vegyületekkel létrehozva ezáltal a reaktív ionizáló részecskéket.

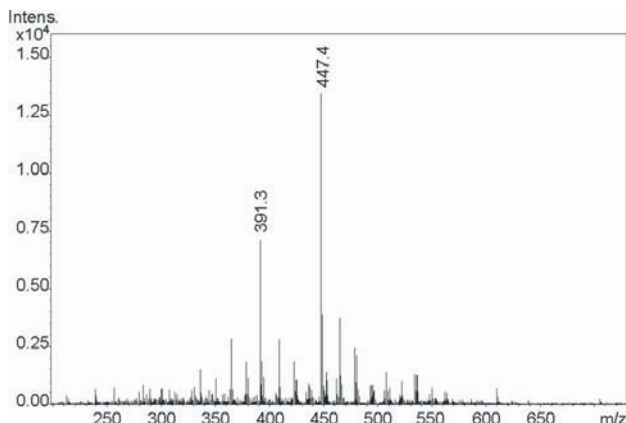
Laboratóriumunkban valós idejű közvetlen analízis ionforrású kvadrupól – repülési idő tömegspektrometriás (DART-Qq-TOF MS) méréseket végeztünk pozitív ion módban egy DART SVP (IonSense, USA, Massachusetts, Saugus) ionforráshoz kapcsolt MicroTOF-Q (Bruker Daltonik, Németország, Bréma) típusú Qq-TOF tandem MS készülékkel. A továbbiakban két példát mutatunk a DART-MS és DART-MS/MS alkalmazására.

PVC használati tárgyak ftálsav-észter lágyító tartalmának meghatározása DART-MS/MS vizsgálatokkal

A ftálsav észter lágyítókat a PVC mechanikai tulajdonságainak javítására használják. Sajnos ezen anyagoknak az emberi szervezetre kifejtett hatása nem tisztázott, így felhasználásukat az Európai Unió és az Amerikai Kongresszus is korlátozta^{21,22}. Tömegspektrometriás laboratóriumunkban a valós idejű közvetlen analízis ionizációs tömegspektrometria (DART-MS), illetve tandem tömegspektrometria (DART-MS/MS) alkalmazásával gyors és hatékony módszert fejlesztettünk ki a különböző ftalát lágyítók kimutatására és azonosítására.

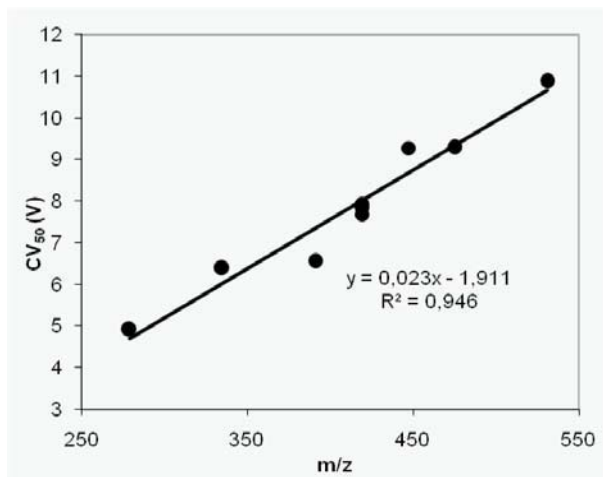
9. ábrán példaként bemutatjuk egy PVC igazolványtok DART-MS spektrumát. A mintát az ionforrás gázáramába helyezve néhány másodperc elteltével megjelennek a spektrumban a ftálsav-észter lágyítókhöz tartozó – a 9. ábrán m/z értékkel megjelölt – tömegcsúcsok. A lágyítók egyértelmű azonosításához MS/MS mérés is szükséges, hiszen például az $m/z=447$ értéknél megjelenő tömegcsúcs tartozhat a didecil-ftaláthoz és nonil-undecil-ftaláthoz is. A 9.

ábrán megjelölt csúcsokat MS/MS mérésel beazonosítottuk, így $m/z=391$ értéknél di(2-ethylhexil)-ftalátot, illetve $m/z=447$ értéknél didecil-ftalátot detektáltunk.



9. Ábra. A műanyag igazolványtok DART MS spektruma. Pozitív mód, 250 °C, He ionizáló gáz.

A DART-MS és DART-MS/MS mérést, illetve az adatok kiértékelését szinte teljes mértékben automatizáltuk, és így mintánként egy percnél rövidebb analízisidőt értünk el. Az automatizálást egy saját fejlesztésű szoftvermodullal valósítottuk meg, melynek működése két kulcstényezőn alapul: egyrészt a ftálsav-észter lágyítók azonosításán, amely a protonált prekursor ionból képződött karakterisztikus fragmens ionok alapján történik, másrészt az MS/MS vizsgálathoz a megfelelő ütközési energia kiválasztásán. Az egyes lágyítók esetén az ütközési energia egy egyszerű kétpontos kalibrációval beállítható, hiszen – ahogy az a 10. ábrán is látható – lineáris összefüggést találtunk az 50%-os fragmentációhoz szükséges ütközési energia^{5,6} és a ftálsav-észter lágyítók tömege között.



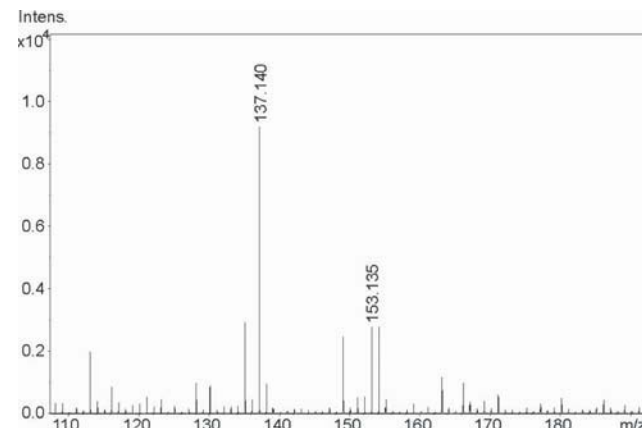
10. Ábra. A CV_{50} értékek m/z függése ftalát-észter lágyítók esetén.

Összetett biológiai rendszerek DART MS analízise

A 11. ábrán bemutatott tömegspektrumot kaptuk, amikor egy citrom héjának egy darabkáját helyeztük az DART ionforrás kilépő nyílása és a tömegspektrométer bemenet közé. A bejelölt két csúcs a jó tömegegyezés alapján két illóolaj komponensnek, a limonénnek és a citrálnek felel

meg. A protonált limonén számított tömege 137,132 Da, mért tömege 137,140 Da, míg protonált citrál számított tömege 153,127 Da, mért tömege 153,135 Da.

A DART MS alkalmas vékonyréteg kromatogramok mintaelőkészítés nélküli, közvetlen analizésére is.



11. Ábra. Citromhéj DART MS spektruma. Pozitív mód, 250 °C, He ionizáló gáz.

6. Összegzés

Folyamatosan fejlődő műszeres infrastruktúrájának, tudományos eredményeinek, valamint az alap, mester és doktori képzésben betöltött szerepének köszönhetően a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén működő tömegspektrometriás laboratórium az utóbbi évtizedben a magyarországi polimerkutató egyik vezető műhelyévé vált. Kiterjedt kutatásokat végeztünk olyan tandem tömegspektrometriás analitikai módszerek kidolgozására, amelyek alkalmasak a poliéterek szerkezetének egyértelmű felderítésére. Tömegspektrometriás módszert dolgoztunk ki az apoláros poliizobutilén és polietilén vizsgálatára. Eredményeink alapján a módszer alkalmazható egyéb apoláros polimer pl. a polipropilén vizsgálatára is. Ezen módszer kidolgozásának ipari jelentősége is van, hiszen a legnagyobb mennyiségben előállított polietilén és polipropilén kismolekula tömegű frakciói fragmentáció nélkül vizsgálhatók. DART-MS/MS technika alkalmazásával gyors analitikai módszert dolgoztunk ki a PVC használati tárgyak ftálsav-észter lágyító tartalmának meghatározására. Laboratóriumunkban jelentős eredményeket értünk el továbbá a kistömegű szerves, illetve biológiai eredetű molekulák tömegspektrometriás vizsgálata területén is, különböző gyógynövények hatóanyag tartalmát vizsgáltuk tömegspektrometriás módszerekkel, valamint a gyógyszerkémiai fontos szerepet játszó molekulák fragmentációját tanulmányoztuk.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki az OTKA K-72524 és HURO/0901/058/2.2.2., illetve TAMOP-4.2.1./B-09/KONV-2010-0007 pályázatok által nyújtott anyagi segítségért.

Hivatkozások

- Dreyfuss, P. *Polytetrahydrofuran*. in *Handbook of Elastomers*; Bhowmick, A.K.; Stephens, L.H. Eds. Marcel Dekker: New York, **2000**; Chapter 27, p. 723-734.
- Wong, S. F.; Meng, C. K.; Fenn, J. B. *J. Phys. Chem.* **1998**, *92*, 546–550.
- Lattimer, R.P. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1992, *3*, 225-234.
- Memboeuf, A.; Nasioudis, A.; Indelicato, S.; Pollreisz, F.; Kuki, Á.; Kéki, S.; van den Brink, O., F.; Vékey, K.; Drahos, L. *Anal. Chem.* 2010, *82*, 2294-2302.
- Kuki, Á.; Nagy, L.; Memboeuf, A.; Drahos, L.; Vékey, K.; Zsuga, M.; Kéki, S. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2010, *21*, 1753-1761.
- Derwa, F.; Pauw, E. D.; Natalis, P. *Org. Mass Spectrom.* 1991, *26*, 117-118.
- Fehér, J.; Láng, I.; Nékám, K.; Müzes, Gy.; Deák, Gy. *Acta Med. Hung.* **1988**, *45*, 265-276.
- Láng, I.; Deák, Gy.; Nékám, K.; Müzes, Gy.; Gonzalez-Cabello, R.; Gergely, P.; Fehér, J. *Acta Med. Hung.*, **1988**, *45*, 287-296.
- Sharma, D.K.; Hall, H.I. *J. Nat. Prod.*, **1991**, *54*, 1298-1302.
- Fabre, N.; Rustan, I.; Hoffmann, Ed.; Quetin-Leclercq J. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2001**, *12*, 707-715.
- Ma, Y.L.; Li, Q.M.; Heuvel, H.V.; Claeys, M. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 1357-1364.
- Kéki, S.; Tóth, K.; Zsuga, M.; Ferenczi, R.; Antus, S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, *21*, 2255-2262.
- Syage, J. A.; Evans, M. D.; Hanold, K. A. *Am. Lab.* **2000**, *32*, 24–29
- Robb, D.; Covey, T.; Bruins, A. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3653–3659.
- Kéki, S.; Deák, G.; Mayer-Posner, F. J.; Zsuga, M. *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, *21*, 770-774.
- Kéki, S.; Török, J.; Nagy, L.; Zsuga, M. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, *19*, 656-665.
- Kéki, S.; Nagy, L.; Kuki, Á.; Zsuga, M. *Macromolecules* **2008**, *41*, 3772-3774.
- Nagy, L.; Pálfi, V.; Narmandakh, M.; Kuki, Á.; Nyíri, A.; Iván, B.; Zsuga, M.; Kéki, S. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 2342-2351.
- Takats, Z.; Wiseman, J.M.; Gologan, B.; Cooks, R.G. *Science (Washington, D. C.)*, **2004**, *306*, 471-473.
- Cody, R.B.; Laramée, J.A.; Durst, H.D., *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2297-2302.
- European Communities. Directive 2005/84/EC of the European Parliament and of the Council. *Off. J. Eur. Union* **2005**, L 344:40.
- 110th United States Congress. Consumer Product Safety Improvement Act (CPSIA) **2008**, Available: <http://www.cpsc.gov/cpsia.pdf>

Novel Results of the Mass Spectrometric Laboratory at Department of Applied Chemistry, University of Debrecen

At the Department of Applied Chemistry, University of Debrecen a mass spectrometric laboratory was established in 1999 for the structure determination of synthetic and natural macromolecules having complex structure and unique properties. The laboratory extended its research activities into the examination of small organic compounds having biological and pharmacological importance. As mass spectrometry is an analytical technique that measures the mass-to-charge ratio (m/z) of charged particles, it's very important to apply an appropriate ionization technique. In our laboratory we have five soft ionization technique available. The quadrupole-time-of-flight (QTOF) mass spectrometer equipped with ESI (ElectroSpray Ionization), APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization), APPI (Atmospheric Pressure Photoionization) and DART (Direct Analysis in Real Time) ion sources is capable of carrying out high resolution MS and MS/MS measurements. Linked to an HPLC, LC-MS experiments can also be performed. The MALDI TOF mass spectrometer is essential in biological and polymer-chemical structure determination. The scope of mass spectrometric studies was extended by the recent purchase of a GC-MS instrument. In addition, for complex structure determination studies we have six high value instruments (2 pcs. gas chromatograph, gel permeation chromatograph, light scattering photometer, fiber optic diode array spectrophotometer, mechanical testing machine). Our laboratory was certified as a strategic research infrastructure by the National Innovation Office of the Hungarian Government and became a part of the national R&D infrastructure network.

This report shows examples for the applications of the different ionization techniques and thus summarizes the latest scientific results of our research team.

The MS/MS behaviors of polytetrahydrofuranes (PTHF) have been extensively studied. It was found that the collision energy/voltage necessary to obtain 50% fragmentation (CV_{50}) was dependent linearly on the number of the repeat units, i.e., on the size, or the number of degrees of freedom (DOF).

The fragmentation behavior of (+)-silybin, (+)-deuterosilybin, and some of their flavanone-3-ol-type building blocks were investigated by atmospheric pressure chemical ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry in the positive ion mode (APCI(+)-QqTOF MS/MS). Silybin is one of the flavonolignans which can be derived from the milk thistle plant, *Silbum marianum*, and has hepatoprotective and anti-cancer properties. Based on the experimental results, a fragmentation mechanism as well as fragmentation pathways are proposed.

Atmospheric pressure photoionization mass spectrometric (APPI-MS) study on different types of polyisobutylene and polyethylene derivatives is reported. Analytical methods were developed for the mass spectrometric examination of these highly nonpolar polymers.

With a new ionization technique called direct analysis in real time (DART) ordinary objects can be analyzed in their native condition without time-consuming sample preparation steps. We successfully used DART-MS and DART-MS/MS to rapidly characterize e.g. plant parts, plastics, thin layer chromatography samples.