



**TURUN  
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen  
tiedekunta

# **SALDI-MS-kuvantamismassaspektrometrian käyttö luonnonyhdisteanalytiikassa**

Ekaterina Efimova

Kemia  
LuK-tutkielma  
Laajuus: 6 op

29.09.2025

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu  
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

**Pääaine:** Kemia

**Tekijä:** Ekaterina Efimova

**Otsikko:** SALDI-MS-kvanttamassaspektrometrian käyttö luonnonyhdisteanalytiikassa

**Ohjaajat:** Maarit Karonen, Juha-Pekka Salminen

**Sivumäärä:** 22 sivua

**Päivämäärä:** 29.09.2025

---

SALDI-MS eli pinta-avusteinen laserdesorptioionisaatiomassaspektrometria on nykypäivänä laajasti sovellettu tekniikka pienikokoisten yhdisteiden analysointiin. SALDI osittain pohjautuu MALDI:in eli matriisiavusteiseen laserdesorptio/ionisaatiomassaspektrometriaan, joka testattiin ensimmäisiä kertoja noin 40 vuotta sitten. MALDI:lla on useita eri käyttökohteita esimerkiksi biokemiassa ja lääketieteessä. Se on erityisen käytännöllinen raskaampien molekyylien, kuten erilaisten proteiinien, polymeerien ja muiden makromolekyylien, tarkastelussa. Pienikokoisten, alle 1000 Da painoisten yhdisteiden tarkasteluun se ei sovellu, koska orgaaninen matriisiaines, esimerkiksi sinappihappo, aiheuttaa taustakohinaa spektrissä pienellä massavarausalueella  $m/z$ . SALDI ratkaisee tämän ongelman, sillä siinä orgaaninen matriisi korvataan epäorgaanisella nanoluokan substraatilla.

Nanomateriaalit tai -partikkelit voidaan tehdä erilaisista metalleista, puolimetalleista tai hiiliyhdisteistä. Eräs suosituimpia materiaaleja on ollut titaanidioksidipohjainen nanosubstraatti varustettuna kultaisilla nanopartikkeleilla. Epäorgaanisten substraattien toivottuja ominaisuuksia ovat hyvä UV-absorptiokyky ja korkea molaarinen absorptiokerroin, hydrofobisuus, suuri pinta-ala suhteessa pieneen kokoon sekä potentiaalisesti matala sulamispiste ja lämpökapasiteetti. SALDI-MS-analyysien haasteellisin vaihe on edellä mainittujen substraattien valmistus, sillä yleistä valmista pohjaa ei ole vielä olemassa. Substraattien valmistus on monivaiheinen prosessi, jossa alustan ominaisuuksia parannellaan ja kehitetään usealla eri modifikaatiolla, ja lopuksi substraatti vielä karakterisoidaan.

SALDI-MS-analyysilaitteistossa käytetään usein MALDI:a ja lentoaikamassa-analysointia (MALDI-TOF-MS) sekä Nd:YAG-laseria aallonpituudella 355 nm. Tehokkaan substraatin ja hyvän laitteiston avulla on mahdollista visualisoida luonnonyhdisteitä erilaisissa näytteissä, kuten esimerkiksi hedelmäviipaleissa, lehdistä ja terälehdissä. Näytteen rakenne vaikuttaa siihen, kuinka paljon esikäsittelyä se vaatii. Valmis näyte voidaan painattaa substraattia vasten ja analysoimalla havainnollistaa yhdisteiden sijainnit, määrät ja esimerkiksi biosynteesireitit. Tulevaisuuden kehityskohteita ovat entistä nopeammat ja tehokkaat analyysit, sekä vähemmän aikaa vievät substraattien valmistusprosessit.

---

**Avainsanat:** alkaloidi, *C. roseus*, epäorgaaninen substraatti, flavonoidi, ionisaatio, laserdesorptio, MALDI-MS, massa-varaussuhde, matriisi, nanomateriaali, nanopartikkeli, painatus, pinta-avusteinen, SALDI-MS, terälehti, TiO<sub>2</sub>, TOF, vinblastiini, visualisointi

Bachelor's thesis

**Subject:** Chemistry

**Author:** Ekaterina Efimova

**Title:** SALDI-MS imaging mass spectrometry in natural compound analytics

**Supervisors:** Maarit Karonen, Juha-Pekka Salminen

**Number of pages:** 22 pages

**Date:** 29.09.2025

---

SALDI-MS or surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry is nowadays widely adapted in analysing small-weight molecular compounds. SALDI is partially based on MALDI or matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, which was evaluated for the first time around forty years ago. MALDI is widely used for example in biochemistry and medicine. It is practical especially in analysing heavier molecules, like proteins, polymer chains and other macromolecules. It is not applicable for analysing smaller compounds with molecular weight under one thousand Da, because organic matrix causes background noise in spectrum in low mass region  $m/z$ . SALDI solves this problem, because in SALDI organic matrix compound, for example sinapinic acid, is substituted with nano class inorganic substrate.

Nanomaterials or nanoparticles can be made from different metals, metalloids, or carbon compounds. One of the most popular compounds has been titanium dioxide based nanosubstrate with golden nanoparticles. Some of the desired properties for inorganic substrates are for example strong UV-absorption and high molar absorption coefficient, hydrophobicity, great area-to-size ratio and potentially low melting point and low heat capacity. The most challenging part in performing SALDI-MS analyses is the preparation of the substrates mentioned before, because there is not yet one general base. Preparation of substrates is multiple step process, which includes developing and improving qualities by several modifications. The substrate is also characterized in the end as well.

MALDI-TOF-MS and Nd:YAG laser with wavelength of 335 nm are often used as equipment for SALDI-MS analyses. With effective substrate and equipment, it is possible to visualize natural compounds in different samples, for example fruit slices, leaves, and petals. The texture and structure of sample affect its preparation. Prepared sample can be imprinted on to the substrate's surface and analysed. Thus, it demonstrates for example locations, intensities, and biosynthetic pathways of natural compounds. In the future it is expected that analyses shall become faster and more efficient, and the preparation processes of substrates shall be less time consuming.

---

**Key words:** alkaloid, *C. roseus*, flavonoid, inorganic substrate, ionization, laser desorption, MALDI-MS, mass-to-charge ratio, matrix, nanomaterial, nanoparticle, imprinting, petal, surface-assisted, SALDI-MS, TiO<sub>2</sub>, TOF, vinblastine, visualization

## Sisällys

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Johdanto</b> .....                                   | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>Laserdesorptioionisaatiomassaspektrometria</b> ..... | <b>3</b>  |
| 2.1      | MALDI-MS .....  | 3         |
| 2.2      | SALDI-MS.....   | 4         |
| 2.3      | Laitteisto ja toimintaperiaate .....                    | 6         |
| <b>3</b> | <b>SALDI-MS:n erilaisia sovelluksia</b> .....           | <b>8</b>  |
| 3.1      | Substraattien valmistus .....                           | 8         |
| 3.2      | Alkaloidien ja flavonoidien kuvantaminen.....           | 9         |
| 3.3      | Kasvien ja ruoka-aineiden kuvantaminen .....            | 13        |
| <b>4</b> | <b>Johtopäätökset</b> .....                             | <b>19</b> |
| <b>5</b> | <b>Lähdeluettelo</b> .....                              | <b>20</b> |

Lyhenteet:

|            |   |
|------------|---|
| AuNP       | kultainen nanopartikkeli (engl. golden nanoparticle)  |
| DAH        | diaryyliheptanoidi(t) (engl. diarylheptanoid(s))  |
| DHB        | 2,5-dihydrobentsoehappo (engl. 2,5-dihydroxybenzoic acid)   |
| CHCA       | alfasyano-4-hydroksikanelihappo (engl. alfa-cyano-4-hydroxycinnamic acid)                               |
| COF        | kovalenttiorgaaniset runkorakenteet (engl. covalent-organic frameworks)                                 |
| hPDA       | hydrofobinen polydopamiinimodifioitu (engl. hydrophobic polydopamine-modified)                          |
| LDI        | laserdesorptio/ionisaatio (engl. laser desorption ionization)   |
| MALDI      | matriisiavusteinen laserdesorptioionisaatio (engl. matrix-assisted laser desorption ionization)         |
| MOF        | metalliorgaaniset runkorakenteet (engl. metal-organic framework)  |
| MS         | massaspektrometri(a) (engl. mass-spectrometry)  |
| <i>m/z</i> | massa-varaussuhde (engl. mass-to-charge ratio)  |
| Nd:YAG     | neodyymillä seostettu yttrium-alumiini-granaatti-laser (engl. neodymium-doped yttrium aluminium garnet) |
| NMR        | ydinmagneettinen resonanssi (engl. nuclear magnetic resonance)  |
| NOBA       | 3-nitrobentsyylialkoholi (engl. 3-nitrobenzyl alcohol)  |
| NPOE       | nitrofenyylioktyylieetteri (engl. nitrophenyl octyl ether)  |
| PDMS       | plasmadesorptio massaspektrometria (engl. plasma desorption mass spectrometry)                          |
| SALDI      | pinta-avusteinen laserdesorptioionisaatio (engl. surface-assisted laser desorption ionization)          |
| SH-β-CD    | tioli-β-syklodekstriini (engl. thiol-β-cyclodextrine)   |
| SLD        | pehmeä laserdesorptio (engl. soft laser desorption)   |
| TDNT       | TiO <sub>2</sub> -nanoputki (engl. TiO <sub>2</sub> nanotube)   |
| TOF        | lentoaika (engl. time-of-flight)  |
| UFP        | ultrakevyt metallipuuteri (engl. ultra fine metal powder)   |
| UV         | ultravioletti (engl. ultraviolet)   |

# 1 Johdanto

SALDI-MS-kuvantamismassaspektrometriaa voidaan hyödyntää luonnonyhdisteanalytiikassa esimerkiksi visualisoidakseen yhdisteiden sijainnit ja biosynteesireitit kasvien eri osissa. Tämä soveltaminen on suhteellisen tuoretta nykypäivää, kun taas MALDI:a on käytetty jo pidemmän aikaa. Kyseisten massaspektrometritekniikoiden tärkeä historiallinen ajanjakso sijoittuu 1980-luvun loppupuolelle, jolloin kaksi tutkimusryhmää julkisti vuoronperään niinä päivinä uraauurtavia tutkimustuloksia. Franz Hillenkamp ja Michael Karas mainitsivat MALDI:n ensimmäistä kertaa vuonna 1985 (Karas et al., 1985), mutta vuonna 1987 ilmestyi heidän huomattavasti tunnetumpi tutkimusartikkelinsa (Karas et al., 1987). Tässä tutkimuksessa he testasivat LAMMA-1000-laitteella nestemäisen glyserolipohjan tilalla nestemäisiä 3-nitrobentsyylialkoholi (NOBA) ja nitrofenyylioktyylieetteri (NPOE) -matriiseja sekä kiinteitä tryptofaani- ja nikotiinihappopohjaisia substraatteja. He totesivat, että matriisi absorboi osittain laserin säteilyä näin pehmentäen sitä ja huomattavasti edesauttaen haihtumattomien yhdisteiden desorptiota.

Kesäkuussa 1988 Tanaka tutkimusryhmineen julkaisivat tutkimuksensa, jossa he esittivät vaikuttavia lentoaika-massaspektrometrilla saatuja tuloksia (Tanaka et al., 1988). Heidän tavoitteenaan oli analysoida isokokoisia orgaanisia yhdisteitä, sillä tähän mennessä kelpoisia tuloksia oli saatu ainoastaan molekyylipainoltaan suhteellisen kevyistä yhdisteistä. Heidän innovatiivinen UFP (ultra fine metal powder, ultrakevyt metallipuuteri) koostui 300 Å:n kokoisista kobolttipartikkeleista, jotka liuotettuna orgaaniseen liuottimeen ja lisättyinä tutkittavan yhdisteen sekaan mahdollistivat jopa 34 kDa:n painoisten yhdisteiden tulkitsemisen. Heidän oletuksenaan oli, että matalan lämpökapasiteetin, suuren pinta-alansa ja korkean fotoabsorption vuoksi UFP nopeutti näytteiden kuumenemistä ja täten helpotti molekyyli-ionien muodostumista. Käytännössä tutkimuksessa oli useampi edistyksellinen kohta: jopa 34 kDa painoisten yhdisteiden spektrien mittaaminen itsessään, mutta myös tulosten saaminen jopa kaksinkertaisella nopeudella ja tarkkuudella verrattuna aiemmin käytettyihin metodeihin. Metallipohjaisten nanopartikkeleiden yhdistäminen nestemäiseen matriisiin edesauttoi yhdisteiden ionisaatiota estäen samalla niiden hajoamista (Tanaka et al., 1988).

Tanakan ym. julkaisusta kului kuukausi, kun *Analytical Chemistry* -lehteen ilmestyi heinäkuussa vuonna 1988 Hillenkampin ja Karasin lyhyt kirje, josta myöhemmin tuli heidän viitatuin julkaisunsa (Karas & Hillenkamp, 1988). Kirjeessään he viittaavat Tanakan ym. tutkimustuloksiin, jotka oli tosiaan kirjeen kirjoittamisajankohtana ensiesitetty vasta

vuoden 1987 syyskuussa Osakan symposiumissa eikä virallista artikkelia ollut vielä yli puoleen vuoteen lähetetty tarkasteltavaksi. Vastapainoksi edellä mainitun tutkimusryhmän tuloksille Karas ja Hillenkamp esittävät ensimmäistä kertaa virallisia UVLD-tuloksia (engl. ultraviolet laser desorption) yli 10 000 Da:n painoisille bio-orgaanisille yhdisteille. Kirjeestä voi poimia muutaman tärkeän huomion – orgaaninen matriisiaine, tässä tapauksessa nikotiinihappo  $C_6H_5NO_2$  aiheuttaa vahvoja signaaleja matalalla  $m/z$ -alueella ja heidän jokaisessa saamassaan spektrissä esiintyy useasti varautuneita ioneja, mikä on LDI:lle (engl. laser desorption ionization) ensimmäistä laatuaan. Lisäksi LDI tuotti ioneja sellaisella  $m/z$ -alueella, mitä esimerkiksi PDMS (engl. plasma desorption mass spectrometry) ei ollut ennen onnistunut tekemään, ja kevyt taustan kohina ja matriisiaineksen piikit olivat ”vain 10–50 kertaa suurempia kuin näyteionien signaalit” (Karas & Hillenkamp, 1988).

Karas ja Hillenkamp ovat myöhemmin julkaisseet vielä useita eri artikkeleja koskien MALDI:a, muun muassa vuonna 1991 tärkeän kokoama-artikkelin, jossa käsiteltiin hyvin perusteellisesti tekniikan ja laitteiston toimintaperiaate (Hillenkamp et al., 1991). Koichi Tanaka sai vuonna 2002 kemian alan Nobel-palkinnon patentoidustaan SLD-tekniikastaan (engl. soft laser desorption), jossa hän hyödynsi epäorgaanista metalliainesta yhdessä orgaanisen matriisin kanssa (NobelPrize.org., 2025). Tunnustuksesta huolimatta Hillenkampin ja Karasin MALDI on tähän päivään mennessä ollut huomattavasti käytetympi ja käytännöllisempi tekniikka biomolekyylien tarkastelussa, ja Tanakan luoma pohja SALDI:lle vastikään rupeaa saamaan enemmän huomiota, tosin sen käyttö painottuu alkuperäisen ajatuksen vastaisesti pienikokoisten yhdisteiden analysointiin.

Sekä SALDI että MALDI ovat huomattavasti kehittyneet viimeisten neljänkymmenen vuoden aikana, ja molemmat ovat saaneet paljon uusia sovelluskohteita. Tähän mennessä MALDI on ollut huomattavasti tunnetumpi ja käytetympi tekniikka, minkä vuoksi tässäkin tutkielmassa käsitellään ensin juuri sitä. MALDI:n ymmärtäminen mahdollistaa syventymisen SALDI-MS:n käyttöön, käyttötarpeisiin ja -kohteisiin. Tutkielmassa käsitellään myös havainnollistavia esimerkkejä SALDI:n hyödyntämisestä juuri luonnonyhdisteanalytiikassa.

## 2 Laserdesorptioionisaatiomassaspektrometria

### 2.1 MALDI-MS

MALDI-MS eli matriisiavusteinen laserdesorptioionisaatiomassaspektrometria on hyvin laajasti käytössä oleva metodi, jolla on lukuisia eri käyttökohteita. Yksinkertaistettuna MALDI:ssa matriisille asetettu näyte altistetaan lasersäteilylle tietyllä intensiteetillä ja aallonpituudella, minkä ansiosta molekyylit ionisoituvat. Ionisoituneet molekyylit siirtyvät massa-analysaattoriin ja sieltä detektoriin, jolloin ne voidaan tunnistaa. Tätä käsitellään tarkemmin kappaleessa 2.3. MALDI:n käyttökohteita ovat esimerkiksi mikrobiologiassa ja lääketieteessä diagnostiikka ja mikro-organismien identifiointi; biokemiassa proteiinien tunnistaminen; orgaanisessa kemiassa makromolekyylien analysointi ja rakennetutkimukset; polymeerikemiassa polymeeriketjujen rakenneanalyysit, esimerkiksi funktionaalisten ryhmien sijainnit ja ketjujen rakenteet, polymeerien rakenneyksiköiden eli monomeerien lukumäärät ja kytkeytymiset sekä kopolymeerien eli erilaisista monomeereistä koostuvien polymeerien pääteryhmät (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017). Nykypäivänä MALDI on yhdistetty lähes aina lentoaikamassa-analysaattoriin eli TOF-MS. TOF:ssa varautuneet ionit tunnistetaan sen ajan perusteella, joka kuluu niiden siirtymiseen ionilähteestä detektoriin. Yksinään tätä metodia on vaikea hyödyntää, mutta yhdistettynä MALDI:iin resoluutio paranee monikertaisesti. TOF:n toimintaperiaatetta käsitellään myös tarkemmin kappaleessa 2.3.

Tehokas, taloudellinen ja onnistunut MALDI-analyysi vaatii tarkkaa näytteiden valmistelua ja oikeat ionisaatio-olosuhteet sekä matriisiaineksen valinnan. MALDI:ssa matriisiaineksenä käytetään nestemäistä tai kiinteää orgaanista yhdistettä, esimerkiksi sinappihappoa, CHCA:a (alfa-cyano-4-hydroxycinnamic acid) ja DHB:a (2,5-dihydroxybenzoic acid) (Gao et al., 2023). Matriisin tehtävänä on suojata näytettä mahdollisilta laserin aiheuttamilta haitoilta sekä edistää tutkittavan näytteen tasaista kiteytymistä, kun näiden seos levitetään MALDI-alustalle ja haihdutetaan liuottimet pois (Jin et al., 2025). Valitun orgaanisen yhdisteen toivottuja ominaisuuksia ovat hyvä UV-absorptiokyky, poolisuus ja tätä lisäävät funktionaaliset ryhmät sekä happoluonne, jotta matriisi voisi edistää ionisoitumista toimien protonin luovuttajana (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017). Matriisin valinnassa on huomioitava, että vaikka se täyttäisi kaikki edellä mainitut kriteerit, tietyt ominaisuudet voivat vaikuttaa negatiivisesti tutkimustuloksiin, minkä vuoksi yhdiste ei välttämättä sovellu matriisikäyttöön. Esimerkiksi tietyt yhdisteet saattavat polymerisoitua; proteiinikäsitelyssä

matalan proteiiniaffiniteetin matriisiaineet aiheuttavat enemmän epätoivottua fragmentaatiota; nestemäiset yhdisteet voivat aiheuttaa kontaminaatiota; jotkin yhdisteet voivat hajota jo ennen kiteytymistä (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017).

Oikean ionisaatiotekijän valinnalla on myös iso merkitys erityisesti synteettisten polymeerien analysoinnissa. Ionisaatiotekijää voidaan tarvittaessa käyttää parantamaan näytteen ionisaatiota matriisin rinnalla. Käytettäviä ionisaatiotekijöitä ovat erilaiset suolat, kuten hopea-, natrium- ja kaliumsuolat sekä kationit litium, natrium ja cesium. Ionisaatiotekijän valinta perustuu polymeerin rakenteellisiin ominaisuuksiin, kuten ketjun tyydyttyneisyyteen ja heteroatomeihin (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017).

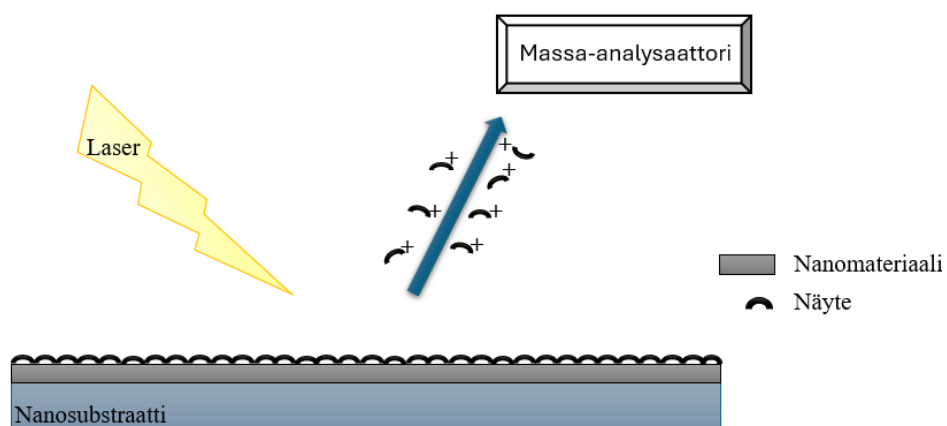
Näytteen esikäsittelyssä huomioitavaa on näytteen valmistelutekniikka, liuottimen valinta sekä näytteen ja matriisiaineksen suhde. Liuottimeksi soveltuu parhaiten sama liuos, jota hyödynnetään sekä näytteen että matriisin liuottamisessa, jotta segregaatioriski uudelleenkiteytymisvaiheessa minimoituu. Valmis näyteliuos voidaan levittää MALDI-alustalle spin coating -menetelmällä, jossa tasaisella nopeudella pyörivä substraattialusta kerrostetaan näyteliuoksella samalla haihduttaen liuotinta, jolloin näyte-matriisiseos muodostaa ohuen kalvon substraatin pinnalle (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017). Muita tapoja ovat muun muassa vakuumin avulla nopeutettu kiteyttäminen, sähkösumutus sekä kerrostaminen. Jälkimmäisessä ensimmäisen kerroksen muodostaa matriisi, toisen ionisaatiotekijä ja kolmannen varsinainen näyte, ja tämä tekniikka soveltuu hyvin erityisesti proteiinien analysointiin (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017).

## **2.2 SALDI-MS**

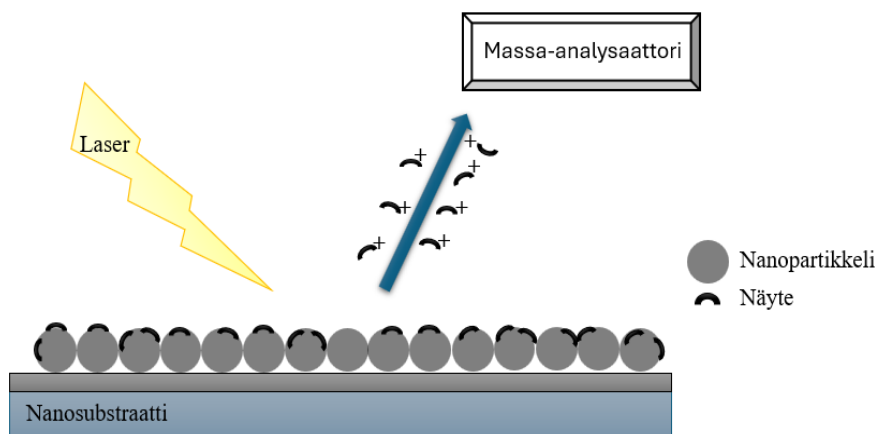
Sekä MALDI:n että SALDI:n alkuperäinen tarkoitus oli keskittyä isompien molekyylien tarkasteluun, ja siihen suuntaan teknologia onkin kehittynyt. Nykypäivänä SALDI-MS:n potentiaali pienikokoisten yhdisteiden analysoinnissa on suurena mielenkiinnon kohteena, minkä vuoksi Tanakan metodia on sovellettu ja kehitetty edelleen (Tanaka et al., 1988). SALDI-analyysit suoritetaan MALDI-MS-laitteistolla, mihin palataan tarkemmin kappaleessa 2.3. Näytteiden sekä matriisiaineksen valinta ja esivalmistelut kuitenkin poikkeavat huomattavasti MALDI:sta, mikä tekee SALDI:sta oman tekniikkansa ja avaa uusia mahdollisuuksia.

Verrattuna edeltäjäänsä, SALDI:ssa käytetään epäorgaanista matriisiainesta eli substraattia, mikä vähentää epätoivottua taustakohinaa spektrissä pienellä massa-varausalueella ja näin helpottaa pienikokoisten yhdisteiden tulkitsemista. Matriisiaines koostuu nanoluokan

materiaaleista, ja soveltuvia sekä testattuja nanomateriaaleja ovat erilaiset metallit, kuten kulta, hopea, platina ja titaani sekä näiden oksidit; puolimetalleista pii eli silika ja tämän oksidi; metalliorganiset runkorakenteet (engl. metal-organic framework MOF) ja kovalenttiorganiset runkorakenteet (engl. covalent-organic framework COF) (Jin et al., 2025; X. N. Wang & Li, 2022). Näiden lisäksi hiilipohjaiset nanomateriaalit yksinään tai yhdistettynä edellä mainittuihin materiaaleihin ovat osoittautuneet lupaaviksi aineiksi (S. Chen et al., 2013). Yhdisteiden ainutlaatuiset ominaisuudet erottavat nämä materiaalit toisistaan ja antavat toisille etulyöntiaseman toisiinsa nähden (X.-N. Wang et al., 2020). Edellä mainituista aineista voidaan luoda lukuisia eri nanoalustoja eli substraatteja, kuten esimerkiksi nanolankoja, -putkia, -hiutaleita ja -filmejä. Nämä substraatit voidaan karkeasti jakaa nanomateriaaleiksi ja nämä edelleen nanopartikkeleiksi riippuen siitä, onko aineksella fyysisesti partikkelimuotoa vai ei. Substraatin olomuoto vaikuttaa näytteiden esikäsittelyyn (Song & Cheng, 2020). Esimerkiksi nanomateriaalit peitetään tasaisella näytekerroksella, jolloin itse näyte absorboi lähes täysin kaikki laserin fotonit (kuva 1). Nanopartikkelit puolestaan sekoitetaan näytteen sekaan, jolloin ftoniabsorptiota tapahtuu sekä näytteeseen, että substraattiin (kuva 2). Jos fotonit absorboituvat lähes kokonaan analysoitavaan näytteeseen, näiden DI ei välttämättä vaadi lämmön siirtoa. Mikäli fotonit läpäisevät tasaisen näytekerroksen ja pääsevät nanomateriaaliin asti, tai tarkoituksenmukaisesti absorboituvat seoksen nanopartikkeleihin, substraatin absorptiokertoimella ja lämpöenergian siirrolla on vaikutusta ionisaation tehokkuuteen (Song & Cheng, 2020).



**Kuva 1.** Nanomateriaali peitettyä tasaisella näytekerroksella.



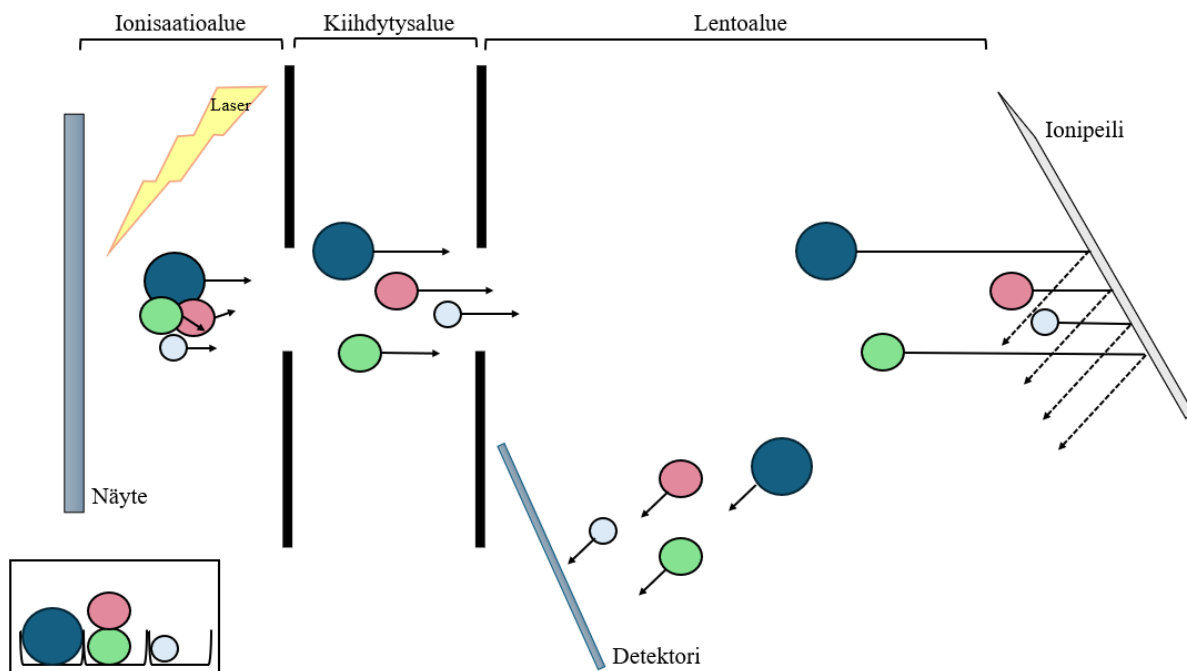
*Kuva 2. Nanopartikkelit sekoitettuna näytteen kanssa.*

Nanopartikkeleiden toivottujen ominaisuuksien kärkipäässä ovat suuri pinta-ala suhteessa pieneen kokoon sekä hyvä UV-absorptiokyky. Monissa tutkimuksissa viitataan siihen, että näytteiden vahva ionisaatio liittyy lämpöprosesseihin. Pinta-alaa voidaan kasvattaa muokkaamalla substraatin rakennetta huokoisemmaksi (X.-N. Wang et al., 2020). Muita hyviä substraattien ominaisuuksia ovat matala lämpökapasiteetti, matala sulamispiste ja korkea fotoabsorptio (Song & Cheng, 2020). Korkea molaarinen absorptiokerroin ja heikko sitoutuminen näyteaineeseen ovat myös joissain tutkimuksissa parantaneet ionisaatiota. Toisaalta juuri näytteen ja substraatin välinen energian- ja lämmönsiirto voi olla tärkeä tekijä SALDI-MS:ssä. Potentiaalisia ehdotettuja ionisaatiomekanismeja ovat esimerkiksi virittyneen protonin siirto ja kationin liittyminen. Ionisaatiotehokkuutta voi parantaa esimerkiksi plasmonien tiettyyn suuntaan vahvistama sähkömagneettinen kenttä (D. Chen et al., 2023). Lisäksi lämmön keskittyminen tietylle alueelle nanosubstraatin päälle edesauttaa ionisaatiota. Näiden tietojen perusteella esimerkiksi plasmoniset kultaiset nanopartikkelit AuNP:t sekä titaanidioksidista  $\text{TiO}_2$  tehty nanosubstraatti ovat yhdessä lupaava ja tehokas SALDI-MS-alusta.

### 2.3 Laitteisto ja toimintaperiaate

Sekä MALDI- että SALDI- analyysit suoritetaan MALDI-MS-laitteistolla, eli SALDI ei vaadi kokonaan uutta teknologiaa vaan valmiin laitteiston asetukset voidaan säätää jokaista analyysiä varten. Laserina käytetään usein esimerkiksi Nd:YAG-laseria eli neodyymillä seostettua yttrium-alumiini-granaatti-laseria aallonpituudella 355 nm. Molekyylit ionisoidaan

kohdistamalla laser näytteeseen, joka sädetetään tietyllä intensiteetillä. Protonoituneet ionit liikkuvat varautuneessa kentässä kohti lentoaikamassa-analysaattoria, erottuen toisistaan massa-varaussuhteen  $m/z$  perusteella. TOF:ssa ionit identifioidaan niiden lentoajan perusteella – samanlaisesti varautuneilla ioneilla on yhtä suuri kineettinen energia ja niiden kiihdytys sähkömagneettisessa kentässä on teoreettisesti samanlainen (Hosseini & Martinez-Chapa, 2017). Raskaat ionit kulkevat matkan hitaammin kuin kevyemmät ionit. TOF:ssa hyödynnetään usein heijastusmoodia lineaarisen moodin sijasta, eli ennen detektoriin päätymistä ionit heijastetaan ionipeilin avulla vastakkaiselta seinältä kohti detektoria, jolloin lentomatka kaksinkertaistuu (Pusch et al., 2003; SepSolve Analytical, 2025). Heijastaminen parantaa resoluutiota muuttamalla ionien liikerataa ja tasoittamalla näiden etäisyyksiä ja nopeuksia. Kuvasta 3 voi huomata, että samankokoiset ionit päätyvät ionipeilin ansiosta tarkoituksenmukaisesti yhtä aikaa detektoriin, vaikka alussa laserin säteily aiheutti niissä erilaista liikettä (kuva 3).



**Kuva 3.** Lentoaikamassaspektrometrin toimintaperiaate.

### 3 SALDI-MS:n erilaisia sovelluksia

#### 3.1 Substraattien valmistus

Edellisessä kappaleessa mainittiin useita eri materiaaleja, joista voi kehittää erilaisia nanoalustoja SALDI-MS-analyysijä varten. SALDI-MS soveltuu hyvin luonnonyhdisteiden tarkasteluun, ja monien luonnonaineiden erikoistuneet metaboliitit kiinnostavat esimerkiksi farmakologisten ominaisuuksiensa vuoksi. Primäärisillä metaboliiteilla on merkittävä rooli kasvin kasvu- ja kehitysvaiheessa, kun taas erikoistuneita metaboliitteja tarvitaan ympäristön ja kasvin vuorovaikutukseen (Taglioni et al., 2025). SALDI-MS on lupaava tekniikka näiden yhdisteiden tarkasteluun ja biosynteesireittien havainnollistamiseksi, minkä vuoksi onkin luotu erilaisilla ominaisuuksilla varusteltuja ja modifioituja substraatteja parantamaan luonnonyhdisteiden detektiota ja analyysitarkkuutta.

Kappaleessa 2.3. todettiin, että  $\text{TiO}_2$  ja AuNPs voisivat olla toimivia substraatteja. Esimerkiksi Wang tutkimusryhmineen kehitti SALDI-MS-substraatiksi kultaisilla nanopartikkeleilla immobilisoidun huokoisen titaanidioksidinanofilmin AuNPs-FPTDF (engl. functionalized porous  $\text{TiO}_2$  film). Sen avulla oli mahdollista tutkia luonnonyhdisteiden jakaantumista näitä tuottavan kasvin kukan terälehdissä (X.-N. Wang et al., 2020). Filmin huokoisuus saatiin aikaiseksi käyttämällä kvaternääristä ammoniumsulua. Suolalla on tärkeä rooli AuNPs:n asettumisessa nanofilmiin. TDF:n huokoisuus ja huokoisten määrä oli riippuvaista käytetyn suolan, tässä tapauksessa setrimoniumbromidin 50 mg/ml etanoliliuoksen, määrästä. Ammoniumyhdisteet stabiloivat AuNP:t, vähentävät näiden aggregaatiota ja nopeuttavat niiden kiinnittymistä filmin pintaan. Huokoisen pinnan mahdollistama partikkeleiden tiivis asettuminen parantaa DI:tä, näytteiden spesifisyyttä ja detektion herkkyyttä. Dutkiewicz työryhmineen käytti puolestaan substraattina kemiallisesti modifioitua  $\text{TiO}_2$ -nanolankalevyä (Dutkiewicz et al., 2021). Nanolangat valmistettiin käyttämällä hiottua titaanilevyä, joka ensiksi käsiteltiin emäksisellä liuoksella ja sitten pestiin vedellä. Levyn pintaan saatiin kiteinen rakenne 600 °C asteessa lämpökäsittelyn avulla, jonka jälkeen pinta altistettiin  $\text{Ar/O}_2$ :lle ja muokattiin triklorosilaanien avulla.  $\text{Ar/O}_2$ -altistus suoritettiin, jotta levyn pinnalle saatiin hydroksyyliiryhmät Si:n kiinnittymistä varten. Lisäksi käsittely puhdisti pintaa poistamalla mahdollista orgaanista ainesta pinnalta, mikä olisi voinut häiritä massaspektrometrisiä analyysijä ja massaspektrien tulkitsemistä. Työryhmä raportoi, että käsittelyjen jälkeen  $\text{TiO}_2$ -nanolankalevyn pinta muokkautui sopivammaksi MS-

kuvantamista varten (Dutkiewicz et al., 2021). Se muuttui muun muassa huomattavasti hydrofobisemmaksi sekä sen selektiivisyys tiettyjä aineita kohtaan parani. Chen työryhmineen puolestaan hyödynsi AuNP-hPDA-TDNT eli plasmonisilla kultaisilla nanopartikkeleilla vuoratuun polydopamiinimodifioidun TiO<sub>2</sub>-nanoputken (D. Chen et al., 2023). Ultraäänellä sonikoidut titaanilevyt upotettiin NaF- ja Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- elektrolyyttiliuokseen ja anodisoitiin, minkä jälkeen titaanilevyn pinnalle muodostui nanoputkirakenne. Nanoputket päällystettiin polydopamiini (PDA) -kerroksella lämmittämällä substraattia 10 mM Tris-puskuriliuoksen ja dopamiinihydrokloridin vesiliuoksessa. PDA-TDNT:n hydrofobisuus varmistettiin käsittelemällä pinta triklorosilaanien avulla ja lopuksi pinta sumutettiin vielä AuNP-suspensiolla (D. Chen et al., 2023).

### 3.2 Alkaloidien ja flavonoidien kuvantaminen

Kappaleessa 3.1. mainittuja substraatteja sovellettiin onnistuneesti *Cantharanthus roseuksen* SALDI-MS-kuvantamisessa. *C.roseus* eli ruusukatara tai punatalvio on muun muassa luonnollinen vinblastiinin ja tämän prekursorien tuottaja (Dutkiewicz et al., 2021). Vinblastiini on luonnon syntetisoima, nykypäivänä esimerkiksi Hodgkinin lymfooman hoidossa käytetty syöpälääke (Jyrkkiö et al., 2014). Käytännössä näytteiden eli terälehtien kuvantaminen toteutettiin saman kaavion mukaan: näyteterälehdet puristettiin manuaalisesti puristimella käyttäen yhden tonnin painetta kahden pinnan väliin niin, että oikea puoli painettiin kiinni substraattiin, ja toiselle puolelle laitettiin esimerkiksi pehmopaperia tai silikalevy keräämään ylimääräistä puristuksen aikana erottuvaa nestettä, (Dutkiewicz et al., 2021; X.-N. Wang et al., 2020). Analysoiminen oli mahdollista aloittaa melko nopeasti, sillä puristus kesti vain kahden minuutin ajan, minkä jälkeen näytekasvi poistettiin levyn pinnalta ja painatusjälki voitiin analysoida (Dutkiewicz et al., 2021). Pinta altistettiin SALDI-MS-laitteistossa lasersäteilylle, ja ionisoituneet yhdisteet siirtyivät detektoitaviksi. Substraattien paranneltu hydrofobisuus vaikutti selkeästi tuloksiin, sillä hydrofiilisemmillä substraateilla otettujen näytteiden resoluutio oli huonompi. Myös näiden massaspektrit olivat vaikeammin tulkittavissa. *C. roseuksen* kuvantamismassaspektrometriassa havaittiin substraattien avulla useita eri yhdisteitä, muun muassa runsaasti flavonoideja ja alkaloideja. Kaikki tulokset on esitetty taulukossa 1.

**Taulukko 1.** SALDI-MS:n avulla visualisoidut erikoistuneet metaboliitit *C. roseus* -kukan terälehdissä. + = vähäinen määrä, ++ = kohtalainen määrä, +++ = runsaasti

| Detektoitu yhdiste  | Luokittelu                    | Ionisaatio          | <i>m/z</i> | Intensiteetti | Sijainti                 | Viitteestä  |
|---------------------|-------------------------------|---------------------|------------|---------------|--------------------------|---|
| Arginiini           | Aminohappo                    | [M+H] <sup>+</sup>  | 175.1      | +++           | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)                              |
| Monosakkaridi       | Yksinkertainen hiilihydraatti | [M+Na] <sup>+</sup> | 203.1      | +++           | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)<br>(X.-N. Wang et al., 2020) |
| Skopoletiini        | Kumariini                     | [M+K] <sup>+</sup>  | 231.0      | ++            | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)                              |
| Kemferoli           | Flavonoli/flavonoidiaglykoni  | [M-H] <sup>-</sup>  | 285.0      | +++           | Koko pinta-ala           | (X.-N. Wang et al., 2020)                           |
| Kversetiini         | Flavonoli/flavonoidiaglykoni  | [M-H] <sup>-</sup>  | 301.0      | +++           | Terälehdien kärki        | (X.-N. Wang et al., 2020)                           |
| Isoramnetiini       | Flavonoli/flavonoidiaglykoni  | [M-H] <sup>-</sup>  | 315.1      | +++           | Terälehdien kärki        | (X.-N. Wang et al., 2020)                           |
|                     |                               | [M+H] <sup>+</sup>  | 317.1      | ++            |                          | (D. Chen et al., 2023)                              |
| Iminiumkatarantiini | Indolialkaloidi               | [M+H] <sup>+</sup>  | 335.2      | ++            | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)                              |
|                     |                               | [M+H] <sup>+</sup>  | 335.2      | +++           | Terälehdien kärki        | (Dutkiewicz et al., 2021)                           |
| Katarantiini        | Terpeeni indolialkaloidi      | [M+H] <sup>+</sup>  | 337.2      | ++            | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)                              |
|                     |                               | [M+H] <sup>+</sup>  | 337.2      | ++            | Terälehdien kärki        | (Dutkiewicz et al., 2021)                           |
|                     |                               | [M+Na] <sup>+</sup> | 359.2      | ++            | Terälehdien<br>ulkoreuna | (X.-N. Wang et al., 2020)                           |
| Gelsemiini          | Indolialkaloidi               | [M+Na] <sup>+</sup> | 345.2      | +++           | Terälehdien kärki        | (D. Chen et al., 2023)                              |
| Serpentiini         | Terpeeni indolialkaloidi      | [M+H] <sup>+</sup>  | 349.2      | +++           | Terälehdien kärki        | (Dutkiewicz et al., 2021)                           |
| Johimbiini          | Indolialkaloidi               | [M+H] <sup>+</sup>  | 355.1      | ++            | Terälehdien kärki        | (X.-N. Wang et al., 2020)                           |
| Vinposetiini        | Vinka-alkaloidi               | [M+H] <sup>+</sup>  | 351.2      | ++            | Koko pinta-ala           | (D. Chen et al., 2023)                              |

|   |                                 |                                      |                         |              |   |  |
|---|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|--------------|---|--|
|   |                                 | $[M+Na]^+$                           | 373.2                   | ++           | Terälehdien<br>ulkoreuna                      | (X.-N. Wang et al., 2020)  |
| Vinkamiini                                  | Monoterpenoidi indoliaalkaloidi | $[M+K]^+$                            | 393.2                   | ++           | Koko pinta-ala                                | (D. Chen et al., 2023)   |
| Astragaliini                                | Flavonoidi                      | $[M+H]^+$                            | 449.1                   | +++          | Terälehdien kärki                             | (D. Chen et al., 2023)   |
| Vindoliini                                  | Vinka-alkaloidi                 | $[M+H]^+$<br>$[M+Na]^+$              | 457.2<br>479.2          | +<br>+       | Terälehdien kärki<br>Terälehdien<br>ulkoreuna | (Dutkiewicz et al., 2021)<br>(X.-N. Wang et al., 2020)                           |
| Kversetiini-3- $\beta$ -D-<br>glukosidi     | Flavonoli/flavonoidiaglykoni    | $[M-H]^-$<br>$[M+K]^+$               | 463.1<br>503.1          | ++<br>++     | Koko pinta-ala<br>Terälehdien kärki           | (X.-N. Wang et al., 2020)<br>(D. Chen et al., 2023)                              |
| Kaempferoli-3-(6-<br>ramnosidi-glukosidi)   | Flavonoli/flavonoidiaglykoni    | $[M-H]^-$                            | 593.2                   | ++           | Koko pinta-ala                                | (X.-N. Wang et al., 2020)  |
| Rutiini                                     | Flavonoidi                      | $[M-H]^-$                            | 609.1                   | ++           | Terälehdien kärki                             | (X.-N. Wang et al., 2020)  |
| Isoramnetiini-3-(6-<br>ramnosidi-glukosidi) | Flavonoidi                      | $[M-H]^-$                            | 623.2                   | ++           | Terälehdien kärki                             | (X.-N. Wang et al., 2020)  |
| Kversetiini-3-(2,6-<br>ramnosidi-glukosidi) | Flavonoli/flavonoidiglykosidi   | $[M-H]^-$                            | 755.2                   | +            | Terälehdien kärki                             | (X.-N. Wang et al., 2020)  |
| Iminium-<br>anhydrovinblastiini             | Vinka-alkaloidi                 | $[M]^+$                              | 791.4                   | +            | Terälehdien kärki                             | (D. Chen et al., 2023)   |
| Anhydrovinblastiini                         | Vinka-alkaloidi                 | $[M+H]^+$<br>$[M+Na]^+$<br>$[M+K]^+$ | 793.4<br>815.4<br>831.4 | +<br>++<br>+ | Terälehdien kärki<br>Terälehdien<br>ulkoreuna | (Dutkiewicz et al., 2021)<br>(X.-N. Wang et al., 2020)<br>(D. Chen et al., 2023) |

|              |                 |                     |       |    |                          |                           |
|--------------|-----------------|---------------------|-------|----|--------------------------|---------------------------|
|              |                 |                     |       |    | Terälehdien kärki        |                           |
| Vinblastiini | Vinka-alkaloidi | [M+Na] <sup>+</sup> | 833.4 | +  | Terälehdien kärki        | (D. Chen et al., 2023)    |
|              |                 | [M+Na] <sup>+</sup> | 833.4 | ++ | Terälehdien<br>ulkoreuna | (X.-N. Wang et al., 2020) |

Taulukossa 1 on kuvattu *C. roseus* terälehdistä löytyneet yhdisteet, niiden intensiteetit ja jakautumiset terälehdien eri osissa. Kuten taulukosta voidaan huomata, joitain yhdisteitä havaittiin jokaisessa tutkimuksessa, ja osa yhdisteistä raportoitiin vain kerran. Tuloksissa on lievää vaihtelua – esimerkiksi anhydrovinblastiini jakaantui tutkituissa terälehdissä eri alueille ja intensiteeteissä oli vaihtelua (D. Chen et al., 2023; Dutkiewicz et al., 2021; X.-N. Wang et al., 2020). Wangin tutkimusryhmä totesi, että kukan terälehdissä tietyt metaboliitit esiintyivät protonoituneina, yhdesti varautuneina ioneina positiivisessa moodissa, ja nämä yhdisteet tunnistettiin vinka-alkaloideiksi (X.-N. Wang et al., 2020). Yhdesti varautuneet deprotonoituneet ionit negatiivisessa moodissa tunnistettiin erilaisiksi flavonoidiaglykoneiksi ja flavonoidiglykosideiksi. Taulukossa 1 esitettyjen vinka-alkaloidien heterogeeninen jakaantuminen ja niiden etäisyys suhteessa toisiinsa sekä konsentraatio viittaavat tietynlaiseen anhydrovinblastiinin biosynteesireittiin (Dutkiewicz et al., 2021). Wang työryhmineen havaitsivat myös vinblastiinin ( $m/z$  833,4) keskivahvaa esiintymistä terälehtien sivu- ja ulkoreunoilla, kun taas Dutkiewicz työryhmineen eivät saaneet kuvantamistuloksia kyseisestä yhdisteestä (Dutkiewicz et al., 2021; X.-N. Wang et al., 2020). Tutkimustuloksissa raportoidaan vinblastiinin siirtyneen substraatin pinnalle, mutta sitä ei ole havaittu painatuksen kuvantamisessa (Dutkiewicz et al., 2021). Mahdolliseksi syiksi ehdotetaan muun muassa yhdisteen matalaa konsentraatiota ja liian suurta molekyylipainoa SALDI-MS-analyyseissa.

### 3.3 Kasvien ja ruoka-aineiden kuvantaminen

Kappaleessa 3.2. käsiteltiin punatalvion terälehtien kuvantamista, sillä kyseinen kasvi sisältää poikkeuksellisen paljon mielenkiintoisia ja lääketieteellisestikin hyödyllisiä yhdisteitä. SALDI-MS:n soveltamisen kohteet eivät kuitenkaan rajoitu yhden lajin tarkasteluun, vaan sen avulla on analysoitu esimerkiksi puiden, hedelmien, kasvien ja ravintokasvien sisältämiä yhdisteitä (D. Chen et al., 2023; Faleva et al., 2024; X. N. Wang & Li, 2022).

Faleva työryhmineen tutkivat diaryyliheptanoidien (DAH:en) esiintymistä hieskoivun *Betula pubescens* nilassa eli floemissa (Faleva et al., 2024). DAH:t ovat kasvien erikoistuneita metaboliitteja, joista tunnetuin lienee maustekurkuman sisältämä kurkumiini. DAH:t ovat rakenteeltaan valtaosin substituoituja, joko syklisiä tai lineaarisia 1,7-difenyyliheptaaneja. Faleva työryhmineen tekivät kaarnasta erotetusta nilasta konsentroituja uutteita, joiden fenolisten yhdisteiden kokonaisuuspitoisuus määritettiin käyttäen perinteistä Folin-Ciocalteu-reagenssia, ja lisäksi yksittäisten DAH:en rakenteet arvioitiin ennen MS-analyysijä 2D-

NMR:llä. SALDI-substraattina käytettiin hiilipohjaista nanopäällystettyä, joka levitettiin alustalle käyttäen apuna sähkösumutusta ja vakuun kiteytymisen nopeuttajana (Faleva et al., 2024). Lisäksi tarvittaessa käytettiin ionisaation parantamiseksi litiumtrifluoroasetatin metanoliliuosta, joka tutkittavan näytteen tavoin levitettiin hiilinanostalustan päälle ja ilmakeivattiin kahden minuutin ajan. Tuloksissa raportoidaan, että LDI yksinään tai litiumionienkin avustuksella ei saa aikaan selkeitä DAH-yhdisteiden piikkejä spektrissä, kuten ei myöskään muiden kevyiden alle 700 Da:n painoisten yhdisteiden. Epäorgaanisen substraatin lisäys puolestaan paransi yleisesti signaalien intensiteettejä jopa 50-kertaisesti, sekä toi esiin muun muassa  $[M+Li]^+$ -addukteina havaitut platyfyllonolin ( $m/z$  321) ja sentrolobolin ( $m/z$  307). Nämä DAH:eihin kuuluvat yhdisteet oli identifioitu aiemmin NMR:n avulla, ja SALDI-MS:n avulla saatiin onnistuneesti esiin myös näiden fragmentaatiot (Faleva et al., 2024).

Wang ja Li kuvansivat perunan ja vihermintun (*Mentha spicata*) yhdisteitä kultaisilla nanopartikkeleilla varustetun tioli- $\beta$ -syklodekstriini  $TiO_2$ -nanolangan AuNPs/SH- $\beta$ -CD- $TiO_2$ -avulla (X. N. Wang & Li, 2022). Substraattilla todettiin olevan samoja etuja kuten muillakin epäorgaanisilla substraateilla verrattuna esimerkiksi perinteiseen DHB:n, eli huokoinen ja suuri pinta-ala, hyvä UV-absorptioikyky tarvittavalla aallonpituusalueella, lähes huomaamaton taustakohina spektrissä ja detektioherkkyys. Kuten kappaleessa 3.2. kuvatun punatalvion tapauksessa, vihermintun ja perunan mukuloiden tuottamat yhdisteet saatiin kuvannettua ja identifioitua hyvin tarkasti. Perunan mukuloiden tutkiminen paljasti sen sisältämiä erilaisia glykoalkaloideja. Yksittäisten yhdisteiden lisäksi vihermintun lehden suonitusta kuvattiin tarkasti. Taulukossa 2 on esitetty keskeisimmät vihermintusta löytyneet erikoistuneet metaboliitit. Kaikkia neljää flavonien deprotonoitunutta tuotetta oli määrällisesti enemmän, yhdisteet jakautuivat tasaisemmin lehteä pitkin ja niiden intensiteetti oli huomattavasti korkeampi kuin rosmanolin, rosmariinihapon ja disakkaridin.

**Taulukko 2.** Erikoistuneet metaboliitit vihermintun *M. spicata* lehdistä. + = vähäinen määrä, ++ = kohtalainen määrä, +++ = runsaasti (X. N. Wang & Li, 2022)

| # | Detektoitu yhdiste  | Luokittelu                    | Ionisaatio          | <i>m/z</i> | Intensiteetti |
|---|---------------------|-------------------------------|---------------------|------------|---------------|
| 1 | Luteolini           | Flavoni                       | [M-H] <sup>-</sup>  | 285.0      | +++           |
| 2 | Krysoeroili         | Flavoni                       | [M-H] <sup>-</sup>  | 299.1      | +++           |
| 3 | Disakkaridi         | Yksinkertainen hiilihydraatti | [M+K] <sup>+</sup>  | 381.1      | +             |
| 4 | Rosmanoli           | Polyfenoli                    | [M+Na] <sup>+</sup> | 369.2      | +             |
| 5 | Rosmariinihappo     | Polyfenoli                    | [M+Na] <sup>+</sup> | 383.1      | +             |
| 6 | Luteoliniglukosidi  | Flavoni                       | [M-H] <sup>-</sup>  | 447.1      | ++            |
| 7 | Luteolinirutinosidi | Flavoni                       | [M-H] <sup>-</sup>  | 593.1      | +++           |

Kasvien lehti- ja kukkien terälehtinäytteiden esivalmistelu sekä käsittely eroavat kasvien ja hedelmien käsittelystä. Hedelmät ovat esimerkiksi rakenteeltaan pehmeämpiä ja nestepitoisempia kuin lehdet, joten liian voimakas painatus tuhoaa rakenteet. Ohuet kasvinosat eivät vaadi poikkileikkaamista, kun taas hedelmät ja kasvikset täytyy halkaista. Chenin työryhmäntutkimus havainnollistaa hyvin näytteiden eroavaisuudet: *C. roseus* ja *G. biloba* -kasvien lehtiä painettiin AuNP-hPDA-TDNT-substraattia vasten 20 minuutin ajan paineella 8 MPa; *J. integerrima* ja *C.roseus* -kukkiä painettiin viiden minuutin ajan paineella 20 MPa; leikatut ja pyyhekuivatut mansikka- ja kirsikkatomaattiviipaleet painettiin kevyesti substraattia vasten ainoastaan viiden sekunnin ajan (D. Chen et al., 2023). Lyhyt painatusaika on riittävä yhdisteiden siirtymistä varten hedelmänäytteestä substraatin pinnalle. Taulukossa 3 on esitetty mansikasta ja kirsikkatomaatista havaitut yhdisteet.

**Taulukko 3.** Erikoistuneet metaboliitit mansikka- ja kirsikkatomaatti- *S. lycopersum* näytteissä. + = vähäinen määrä, ++ = kohtalainen määrä, +++ = runsaasti (D. Chen et al., 2023)

| Detektoitu yhdiste     | Luokittelu                       | Ionisaatio          | <i>m/z</i> | Intensiteetti | Lähde                         |
|------------------------|----------------------------------|---------------------|------------|---------------|-------------------------------|
| Adeniini               | Aminohappo                       | [M+H] <sup>+</sup>  | 136.1      | ++            | Mansikka                      |
| Glutamiini             | Aminohappo                       | [M+Na] <sup>+</sup> | 169.1      | +             | Kirsikkatomaatti              |
|                        |                                  | [M+K] <sup>+</sup>  | 185.0      | +++           | Mansikka                      |
| Glutamiinihappo        | Aminohappo                       | [M+Na] <sup>+</sup> | 170.0      | ++            | Kirsikkatomaatti              |
| Asparagiini            | Aminohappo                       | [M+K] <sup>+</sup>  | 171.1      | +++           | Mansikka                      |
| Askorbiinihappo        | Vitamiini                        | [M+H] <sup>+</sup>  | 177.0      | +++           | Mansikka                      |
| 4-hydroksi-soleusiini  | Aminohappo                       | [M+K] <sup>+</sup>  | 186.1      | +             | Kirsikkatomaatti              |
| 4-hydroksi-kanelihappo | Aromaattinen<br>karboksyylihappo | [M+Na] <sup>+</sup> | 187.0      | +++           | Mansikka                      |
| Pentoosi               | Monosakkaridi                    | [M+K] <sup>+</sup>  | 189.0      | ++            | Mansikka                      |
| 4-hydroksifenyylihappo | Monokarboksyylihappo             | [M+K] <sup>+</sup>  | 191.0      | +             | Kirsikkatomaatti              |
| Isoferuulihappo        | Aromaattinen<br>karboksyylihappo | [M+H] <sup>+</sup>  | 195.1      | +             | Mansikka                      |
|                        |                                  | [M+K] <sup>+</sup>  | 233.0      |               |                               |
| Monosakkaridi          | Yksinkertainen<br>hiilihydraatti | [M+Na] <sup>+</sup> | 203.1      | +++           | Mansikka,<br>kirsikkatomaatti |
| Fenyylialaniini        | Aminohappo                       | [M+K] <sup>+</sup>  | 204.0      | +++           | Mansikka,<br>kirsikkatomaatti |

|                            |                                  |                     |       |    |                  |
|----------------------------|----------------------------------|---------------------|-------|----|------------------|
| Etyyliparabeeni            | Parabeeni                        | [M+K] <sup>+</sup>  | 205.0 | ++ | Kirsikkatomaatti |
| Etyylikafeatti             | Hydroksikanelihapon<br>esteri    | [M+Na] <sup>+</sup> | 231.1 | +  | Kirsikkatomaatti |
| Arglabiini                 | Seskviterpeenilaktoni            | [M+Na] <sup>+</sup> | 269.1 | ++ | Mansikka         |
| Pelargonidiini             | Antosyanidiini                   | [M-Cl] <sup>+</sup> | 271.1 | +  | Mansikka         |
| Sytarabiini                | Pyrimidiininukleosidi            | [M+K] <sup>+</sup>  | 282.1 | +  | Kirsikkatomaatti |
| Guanosiini                 | Nukleosidi                       | [M+K] <sup>+</sup>  | 322.1 | +  | Kirsikkatomaatti |
| Disakkaridi                | Yksinkertainen<br>hiilihydraatti | [M+Na] <sup>+</sup> | 365.1 | ++ | Mansikka,        |
|                            |                                  | [M+K] <sup>+</sup>  | 381.1 |    | kirsikkatomaatti |
| Klorogeenihappo            | Fenolinen happo                  | [M+Na] <sup>+</sup> | 377.1 | +  | Kirsikkatomaatti |
| 3,5,-Dikaffeoyylikinihappo | Fenolinen happo                  | [M+Na] <sup>+</sup> | 539.1 | +  | Kirsikkatomaatti |

Mansikan ja kirsikkatomaatin sisältämät yhdisteet saatiin onnistuneesti kuvannettua, huolimatta vaikeasta tekstuurista ja nestepitoisista näytteistä. SALDI-MS:n avulla oli mahdollista päätellä paitsi yhdisteiden intensiteetit ja sijainnit, myös näiden kertyminen tiettyihin kudoksiin. Esimerkiksi kirsikkatomaatissa fenyylialaniini ja sakkaridit jakautuivat tasaisesti, mutta glutamiini painottui tomaatin mesokarppiin (engl. mesocarp) ja glutamiinihappo lokulaarikudokseen (engl. locular tissue). Myös mansikassa sakkaridit ja useat aminohapot jakautuivat tasaisesti kaikkialle, kun taas pelargonidiiniä kertyi ulkokalvolle (engl. skin) ja kortikaalikudokseen (engl. cortical tissue) (D. Chen et al., 2023).

Kappaleessa 3 esitetyt tutkimustulokset havainnollistavat hyvin sen, kuinka tarkasti SALDI-MS:n avulla voi kuvantaa luonnonyhdisteitä niiden alkuperäisessä lähteessä. Sopivan substraatin valmistus vaatii eniten työaika, kun taas näytteiden esivalmistelu ja itse analysointi tapahtuu nopeasti.

## 4 Johtopäätökset

Luonnonyhdisteiden karakterisointi ja kuvantaminen parantavat ymmärrystämme luonnon toiminnasta, lajien vuorovaikutuksista ja ilmiöiden syy-seuraussuhteista. Tähän tarvitaan jatkuvasti kehittyviä metodeja ja tekniikoita, ja SALDI-MS on yksi näistä. Alun perin hieman erilaiseen tarkoitukseen kehitetylle metodille löytyi nykypäivänä mielenkiintoisia sovelluskohteita. Aikanaan kookkaampien yhdisteiden tulkitsemiseen luotu metodi sai merkittävän roolin pienikokoisten yhdisteiden tarkastelussa. Tästä todisteena ovat lukuisat tutkimukset, joissa esimerkiksi kasvien eri osia tai hedelmiä on onnistuneesti kuvannettu ja analysoitu niiden sisältämät yhdisteet. SALDI-MS-tekniikkaa on myös sovellettu edellisestä aiheesta poiketen jopa esimerkiksi sormenjälkien, lääkeaineiden ja väriaineiden karakterisointiin (Amin & Al-Hetlani, 2021; Cheng et al., 2016; Guinan et al., 2015). Toisaalta nämäkin teemat ovat vahvasti kytköksissä luontoon, sillä monet väriaineet ja lääkeaineet päätyvät ympäristöön sitä muuttaen ja vahingoittaen.

SALDI-MS:n etuja ovat orgaanisen matriisin sijasta käytettävä epäorgaaninen substraatti, joka poistaa spektrin taustakohinaa alhaisella  $m/z$ -alueella mahdollistaen näin pienikokoisten molekyylien havaitsemisen. SALDI-MS ei vaadi omaa laitteistoa, vaan analyysit voidaan helposti suorittaa MALDI-MS-laitteistolla. SALDI-MS-substraatti tehdään erikseen jokaista analyysiä varten, sillä tällä hetkellä ei ole olemassa varsinaista universaalia tai kaupallista substraattia. Näin ollen, tutkimukset keskittyvät paitsi näytteiden käsittelyyn ja tulosten analysointiin, myös sopivan substraatin luomiseen. Nykypäivänä harvaa enää miellyttää yksinkertainen  $\text{TiO}_2$ -nanopohja. Tämän sijasta pyritään luomaan entistä herkempiä ja tehokkaampia substraatteja, joilla on muun muassa mahdollisimman suuri pinta-ala suhteessa kokoon sekä paranneltu huokoisuus, hydrofobisuus ja UV-absorptiokyky. Tulevaisuudelta voikin odottaa helpommin, nopeammin ja edullisemmin valmistettavia tehokkaampia ja monipuolisempia substraatteja, joista osa voisi jopa esimerkiksi saada patentin ja päätyä yhteiseen käyttöön. Tämä olisi lupaava edistysaskel kohti nopeampia ja entistä tarkempia SALDI-MS-analyysejä.

## 5 Lähdeluettelo

- Amin, M. O., & Al-Hetlani, E. (2021). Development of Efficient SALDI Substrate Based on Au–TiO<sub>2</sub> Nanohybrids for Environmental and Forensic Detection of Dyes and NSAIDs. *Talanta*, 233, 122530. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122530>
- Chen, D., Xu, Y., Huang, Y., Chen, Y., Zhao, Y., Yan, B., Zhu, X., Chen, Z., Xu, H., Yin, Z., & Wu, X. (2023). Mapping Molecular Signatures in Plant Leaves, Flowers, and Fruits by a TiO<sub>2</sub> Nanotube-Based Plasmonic Chip for Imprint Mass Spectrometry Imaging. *ACS Agricultural Science and Technology*, 3(1), 119–130. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.2c00254>
- Chen, S., Zheng, H., Wang, J., Hou, J., He, Q., Liu, H., Xiong, C., Kong, X., & Nie, Z. (2013). Carbon Nanodots as a Matrix for the Analysis of Low-Molecular-Weight Molecules in Both Positive- And Negative-Ion Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry and Quantification of Glucose and Uric Acid in Real Samples. *Analytical Chemistry*, 85(14), 6646–6652. <https://doi.org/10.1021/ac401601r>
- Cheng, Y. H., Zhang, Y., Chau, S. L., Lai, S. K. M., Tang, H. W., & Ng, K. M. (2016). Enhancement of Image Contrast, Stability, and SALDI-MS Detection Sensitivity for Latent Fingerprint Analysis by Tuning the Composition of Silver-Gold Nanoalloys. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(43), 29668–29675. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b09668>
- Dutkiewicz, E. P., Su, C. H., Lee, H. J., Hsu, C. C., & Yang, Y. L. (2021). Visualizing Vinca Alkaloids in the Petal of *Catharanthus roseus* Using Functionalized Titanium Oxide Nanowire Substrate for Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Imaging Mass Spectrometry. *Plant Journal*, 105(4), 1123–1133. <https://doi.org/10.1111/tpj.15092>
- Faleva, A. V., Ul'yanovskii, N. V., Chernobelskaya, S. A., Anikeenko, E. A., Falev, D. I., & Kosyakov, D. S. (2024). Application of SALDI Mass Spectrometry to the Rapid Screening of Diarylheptanoids in Plant Extracts. *Journal of Analytical Chemistry*, 79(13), 1942–1950. <https://doi.org/10.1134/S1061934824701120>
- Gao, C., Wang, Y., Zhang, H., & Hang, W. (2023). Titania Nanosheet as a Matrix for Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Analysis and Imaging. *Analytical Chemistry*, 95(2), 650–658. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c01878>
- Guinan, T., Ronci, M., Vasani, R., Kobus, H., & Voelcker, N. H. (2015). Comparison of the Performance of Different Silicon-Based SALDI Substrates for Illicit Drug Detection. *Talanta*, 132, 494–502. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.09.040>
- Hillenkamp, F., Karas, M., Beavis, R. C., & Chait, B. T. (1991). Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Biopolymers. *Analytical Chemistry*, 63(24), A1193–A1202.

- Hosseini, S., & Martinez-Chapa, S. O. (2017). Principles and Mechanism of MALDI-ToF-MS Analysis. *SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology*, 9789811023552, 1 – 19.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-10-2356-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2356-9_1)
- Jin, Y., Yan, J., Cai, Z., & Lin, Z. (2025). Advances in Nanomaterials for Surface-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry: Applications in Small Molecule Analysis Over the Past Five Years. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 183). Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.118102>
- Jyrkkiö, S., Mokka, M., & Vasala, K. (2014). *Hodgkinin lymfooma*. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 2014;130(9):913-20. <https://www.duodecimlehti.fi/duo11637>
- Karas, M., Bachmann, D., Bahr, U., & Hillenkamp, F. (1987). Matrix-Assisted Ultraviolet Laser Desorption of Nonvolatile Compounds. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 78, 53–68. [https://doi.org/10.1016/0168-1176\(87\)87041-6](https://doi.org/10.1016/0168-1176(87)87041-6)
- Karas, M., Bachmann, D., & Hillenkamp, F. (1985). Influence of the Wavelength in High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectrometry of Organic Molecules. *Analytical Chemistry*, 57(14), 2935–2939. <https://doi.org/10.1021/ac00291a042>
- Karas, M., & Hillenkamp, F. (1988). Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10000 Daltons. *Analytical Chemistry*, 60(20), 2299–2301.  
<https://doi.org/10.1021/ac00171a028>
- NobelPrize.org. (2025, August 27). *The Nobel Prize in Chemistry 2002*.  
<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2002/summary/>
- Pusch, W., Flocco, M., Leung, S.-M., Thiele, H., & Kostrzewa, M. (2003). Mass Spectrometry-Mased Clinical Proteomics. *Pharmacogenomics*, 4, 463–476.  
<https://doi.org/10.1517/phgs.4.4.463.22753>
- SepSolve Analytical. (2025, August 27). *What is TOF-MS?*  
<https://www.sepsolve.com/techniques/what-is-tof-ms.aspx>
- Song, K., & Cheng, Q. (2020). Desorption and Ionization Mechanisms and Signal Enhancement In Surface Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry (SALDI-MS). *Applied Spectroscopy Reviews*, 55(3), 220 – 242. <https://doi.org/10.1080/05704928.2019.1570519>
- Taglioni, E., Capriotti, A. L., Cerrato, A., Laganà, A., Montone, C. M., Piovesana, S., & Cavaliere, C. (2025). Recent Applications of Supercritical Fluid Chromatography in the Analysis of Polyphenols. *Journal of Chromatography A*, 1758.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2025.466198>
- Tanaka, K., Waki, H., Ido, Y., Akita, S., Yoshida, Y., Yoshida, T., & Matsuo, T. (1988). Protein and Polymer Analyses Up to m/z 100 000 by Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2(8), 151 – 153.  
<https://doi.org/10.1002/rcm.1290020802>

Wang, X. N., & Li, B. (2022). Monolithic Gold Nanoparticles/Thiol- $\beta$ -cyclodextrin-Functionalized TiO<sub>2</sub> Nanowires for Enhanced SALDI MS Detection and Imaging of Natural Products. *Analytical Chemistry*, 94(2), 952–959. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c03764>

Wang, X.-N., Tang, W., Gordon, A., Wang, H.-Y., Xu, L., Li, P., & Li, B. (2020). Porous TiO<sub>2</sub> Film Immobilized with Gold Nanoparticles for Dual-Polarity SALDI MS Detection and Imaging. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(38), 42567–42575. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c12949>