

羟基多环芳烃的电喷雾电离离子阱串联质谱检测

李雪^{1,2}, 方小伟², 李银萍¹, 陈焕文²

(1. 上海大学环境与化学工程学院, 环境污染与健康研究所, 上海 200444;

2. 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013)

摘要 采用电喷雾电离离子阱串联质谱检测了 1-/2-羟基萘、2-羟基芴、2-/3-/4-/9-羟基菲、6-羟基屈和 3-羟基苯并[a]芘等 9 种不同环数的羟基多环芳烃(OH-PAHs, 2~5 环), 考察了碰撞诱导解离操作参数活化值 Q 和相对碰撞能量对羟基多环芳烃各单体碎片离子产率的影响. 通过优化活化值 Q 和相对碰撞能量, 得到了 3-羟基苯并[a]芘的碎片离子, 提高了 1-羟基萘、2-羟基芴、3-/9-羟基菲和 6-羟基屈碎片离子的产率, 并发现活化值 Q 是电喷雾电离离子阱串联质谱检测不同环数 PAHs 的关键参数.

关键词 多环芳烃; 生物标志物; 羟基多环芳烃; 离子阱串联质谱; 碰撞诱导解离

中图分类号 O657 **文献标志码** A

多环芳烃(PAHs)是备受关注的致癌性环境有机污染物^[1]. PAHs可以在职业环境(如炼焦厂等)和日常生活(如烧烤、吸烟等)中通过呼吸、皮肤接触和饮食等方式进入人体,危害人体健康^[2]. 羟基多环芳烃(OH-PAHs)是PAHs在人体内的重要代谢产物,也是目前使用最广泛的PAHs内暴露生物标志物^[3,4],其在PAHs暴露及其健康风险评估研究中具有重要意义^[5].

电喷雾电离串联质谱(ESI-MS²)因具有选择性好、灵敏度高、检出限低及样品无需衍生化等特点,在现有的OH-PAHs检测技术中优势显著^[6,7].但在采用离子阱串联质谱(IT-MS²)和三重四级杆串联质谱(Tri Q-MS²)检测OH-PAHs如2-羟基芴(2-OHFlu)和羟基苯并[a]芘(OH-BaPs)时,仍存在无法获得碎片离子或碎片离子产率低等情况^[8-12],从而影响该方法的选择性和灵敏度.因此获取OH-PAHs碎片离子是进行串联质谱分析的必要前提.与Tri Q-MS相比,IT-MS更适用于多级质谱分析.在进行IT-MS²分析时,通过调节碰撞诱导解离(CID)的操作参数[活化值 Q (AQ)和相对碰撞能量(NCE)]可以提高碎片离子的产率^[13-16].其工作原理可概述为:在CID过程中,AQ与离子阱捕获母离子的能量有关,增大AQ可增强系统施加于母离子的能量,进而提高后续过程的碎裂概率;NCE与共振激发的电压相关,增大NCE可增强共振激发电压,提高母离子的平动动能,增加母离子与阱中阻尼气体(氦气)的碰撞次数,从而提高母离子内能及产生碎片离子的产率.

本文系统考察了采用ESI-IT-MS²检测9种不同环数OH-PAHs(2~5环)时,AQ和NCE对各单体碎片离子产率的影响.通过优化AQ和NCE,获得了3-OH-BaP的碎片离子,提高了2-OHFlu,1-OH-Nap,3-/9-OH-Phe和6-OH-Chr碎片离子的产率,并发现AQ是ESI-IT-MS²检测不同环数OH-PAHs的关键参数.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1-/2-OH-Nap和2-/3-/4-/9-OH-Phe(德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司);2-OHFlu(美国Sigma-Aldrich

收稿日期: 2013-05-07.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 21107066)、国家重大科学仪器设备开发专项(批准号: 2011YQ170067)、上海高校青年教师培养资助计划和上海大学创新基金资助.

联系人简介: 李雪,女,博士,助理研究员,主要从事新兴有机污染物分析方法及其健康风险评估研究.

E-mail: zlpamylee@gmail.com

陈焕文,男,博士,教授,博士生导师,主要从事有机质谱分析和仪器研究. E-mail: chw8868@gmail.com

公司); 6-OHChr(美国 AccuStandard 公司); 3-OHBaP(加拿大 Toronto Research Chemicals 公司); 上述 9 个化合物的结构见图 1. HPLC 级甲醇(美国 Fisher 公司); 高纯水(电阻率 18.2 M Ω · cm) 由 Barnstead Nanopure 纯水系统(美国 Thermo Scientific 公司) 制备. 准确称取适量 OH-PAHs 标准品, 溶解在甲醇中, 配成浓度为 50 μ g/L 的 OH-PAHs 单体标准溶液.

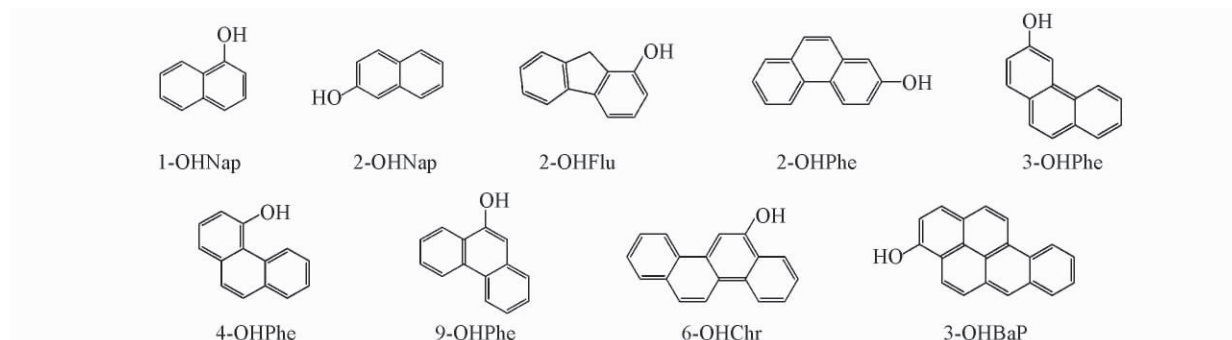


Fig. 1 Nine OH-PAHs(2- to 5-ring) investigated in the study

ESI 源为本实验室自制^[17,18], 其结构如图 2 所示; LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪(LTQ-XL-MS) 配备 Xcalibur 数据处理系统(美国 Finnigan 公司); KQ3200 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司).

1.2 ESI-IT-MS² 条件

ESI 溶剂管路与质谱仪入口的角度和距离示于图 2. ESI 电压 -4 kV; 离子传输管温度 400 $^{\circ}$ C; 雾化气为氮气(纯度 99.999%) , 压力 1.4 MPa; ESI 溶剂流速 3 μ L/min.

IT-MS²: 负离子检测模式; 扫描范围 m/z 50 ~ 350; 碰撞气为氦气(离子阱内压力 1.23×10^{-3} Pa); 母离子隔离宽度 m/z 2.0; 活化时间 30 ms; 其它 MS 条件由 LTQ-XL-MS 自动优化得到.

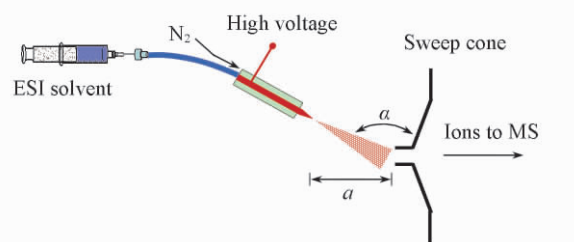


Fig. 2 Schematic diagram of the ESI source
 $a \approx 10$ mm; $\alpha \approx 150^{\circ}$.

2 结果与讨论

2.1 OH-PAHs 的 ESI-IT-MS² 检测结果

采用 IT-MS 分析了 9 种 OH-PAHs 单体标准溶液. 结果表明, OH-PAHs 各单体产生的母离子仅为去质子化分子离子 $[M - H]^{-}$, 并无其它碎片离子. 1-/2-OHNap, 2-OHFlu, 2-/3-/4-/9-OHPhe, 6-OHChr 和 3-OHBaP 在质谱图中的分子离子峰分别为 m/z 143, 181, 193, 243 和 267.

对各单体的准分子离子 $[M - H]^{-}$ 进行 MS² 分析, 并通过调整 CID 操作参数 AQ 和 NCE 得到碎片离子; 各单体在 MS² 谱图中的碎片离子均为母离子 $[M - H]^{-}$ 中性丢失一分子 CO (m/z 28) 后生成的 $[M - H - CO]^{-}$ 离子 [图 3(A) 和 (B)]. 1-/2-OHNap, 2-OHFlu, 2-/3-/4-/9-OHPhe, 6-OHChr 和 3-OH-

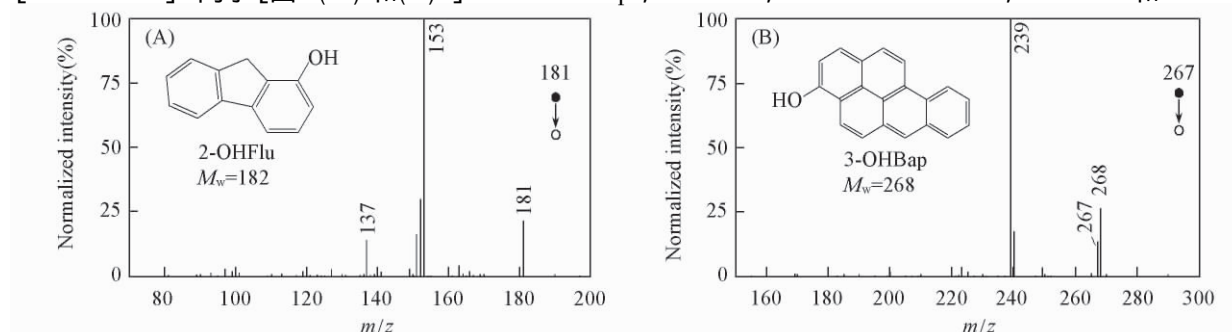


Fig. 3 ESI-IT-MS² spectra of 2-OHFlu at NCE = 40% while AQ was set to 0.35(A) and 3-OHBaP at NCE = 30% while AQ was set to 0.40(B)

BaP 的 $[M - H]^-$ 离子在 MS^2 谱图中的碎片离子峰分别为 m/z 115, 153, 165, 215 和 239.

与 Tri Q- MS^2 相比, IT- MS^2 可以得到 3-OHBaP 和 2-OHFlu 的碎片离子(图 3), 进而提高了 MS^2 检测 3-OHBaP 和 2-OHFlu 的灵敏度和特异性. 3-OHBaP 是致癌性最强的 PAHs——BaP 的生物标志物^[12], 2-OHFlu 是吸烟人群 PAHs 暴露的特异性生物标志物^[19].

2.2 AQ 和 NCE 对检测的影响

进一步考察了 IT- MS^2 检测 OH-PAHs 时, AQ 和 NCE 对 OH-PAHs 各单体碎片离子产率的影响. 鉴于 9 种 OH-PAHs 的实验结果相似, 仅以 3-OHBaP 为例进行说明. 3-OHBaP 母离子及其碎片离子强度随 AQ 和 NCE 的变化情况如图 4 所示.

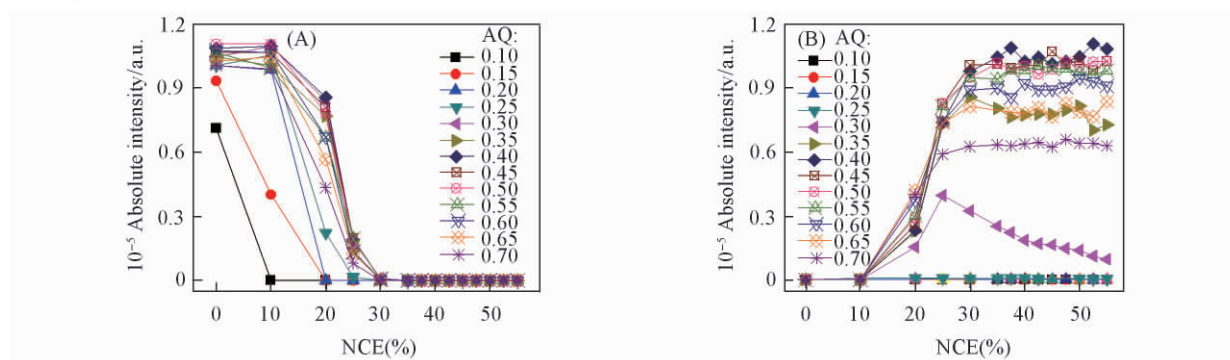


Fig. 4 Intensity variation of 3-OHBaP: parent ion at m/z 267 (A) and fragment ion at m/z 239 (B) with different AQ and NCE values

当 $AQ = 0.10 \sim 0.25$, $NCE \leq 25\%$ 时, 无碎片离子产生, 同时母离子 (m/z 267) 强度随着 NCE 的升高而减弱; $NCE = 25\% \sim 55\%$ 时, 仍未观察到碎片离子, 且 m/z 267 已无法检出.

当 $AQ = 0.30$, $NCE \leq 10\%$ 时, 无碎片离子产生, 同时, m/z 267 强度随着 NCE 的升高几乎不变; $NCE = 20\% \sim 25\%$ 时, 在 m/z 239 处出现碎片离子峰, 且其强度随着 NCE 的升高而增大; $NCE = 25\% \sim 55\%$ 时, m/z 239 强度随着 NCE 的升高缓慢减小.

当 $AQ = 0.35$, $NCE \leq 25\%$ 时, m/z 239 和 267 的强度随着 NCE 的变化趋势与 $AQ = 0.30$ 时一致; $NCE = 30\% \sim 55\%$ 时, m/z 239 的强度随着 NCE 的升高保持不变. 当 $AQ = 0.40 \sim 0.70$ 时, m/z 239 和 267 的强度随着 NCE 的变化趋势与 $AQ = 0.35$ 时完全一致, 只是在各 AQ 值下 m/z 239 强度的最高值随着 AQ 变化. 当 $AQ = 0.35$ 时, m/z 239 强度的最高值为 2.86×10^3 ; 当 $AQ = 0.40 \sim 0.55$ 时, m/z 239 强度随着 AQ 的升高保持不变, 但高于 $AQ = 0.35$ 时的强度 ($3.36 \times 10^3 \sim 3.64 \times 10^3$); 当 $AQ = 0.55 \sim 0.70$ 时, m/z 239 强度的最高值随着 AQ 的提高而减小, 如 $AQ = 0.70$ 时, m/z 239 强度的最高值已降至 2.20×10^3 .

综上, 当 $AQ = 0.10 \sim 0.25$ 时, 仅提高 NCE 无法得到碎片离子; $AQ = 0.25 \sim 0.40$ 时, 提高 NCE 可以得到碎片离子, 且 m/z 239 强度的最高值随着 AQ 的升高而增大; $AQ = 0.40 \sim 0.55$ 时, m/z 239 强度的最高值随着 AQ 的升高几乎不变; $AQ = 0.55 \sim 0.70$ 时, 仍可得到碎片离子, 但其强度的最高值随着 AQ 的升高开始减小.

由 9 种 OH-PAHs 单体以及 1-OHPyr^[20] 碎片离子强度最高值随 AQ 的变化还可以看出, 各单体分子离子均在 AQ 升高至一定程度时才开始产生碎片离子; 另一方面, 进一步提高 AQ, 碎片离子强度先显著增强, 然后趋于稳定, 最后出现降低趋势(图 5).

以上结果表明: (1) 在采用 ESI-IT- MS^2 检测 OH-PAHs 时, AQ 是获取 OH-PAHs 碎片离子的关键参数, 因为仅当 AQ 大于某一阈值时, OH-PAHs 各单体分子离子才能发生碎裂. Jacques 等^[12] 采用 ESI-IT- MS^2 (LCQ IT-MS) 分析 4 种 OH-BaPs 时, 未能得到 OH-BaPs 的碎片离子, 其原因可能是 AQ 设定值低于阈值所致; (2) 对于不同环数的 OH-PAHs, 使其分子离子发生碎裂需要设定的 AQ 阈值并不相同, 如对于 2-OHFlu, 当 $AQ > 0.20$ 时, 其母离子开始产生碎片离子; 对于 2-/3-/4-/9-OHPhe, 1-OHPyr, 6-OHChr 和 3-OHBaP, 当 $AQ > 0.25$ 时, 各单体的分子离子开始产生碎片离子; 对于 1-/2-OHNap, 则

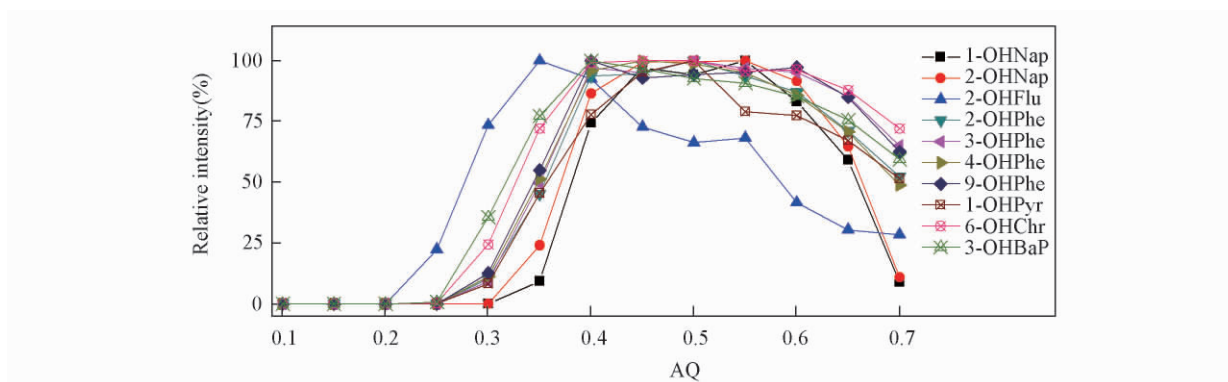


Fig. 5 Relative intensity variation of OH-PAHs with different AQ values

是当 $AQ > 0.30$ 时,才开始产生碎片离子; (3) OH-PAHs 碎片离子强度和 AQ 非线性相关, AQ 过大或过小都会降低 OH-PAHs 单体碎片离子强度,甚至无法得到碎片离子,因此进行 IT-MS²分析时,需要对 AQ 进行优化。

产生上述结果的原因可能是在 CID 过程中 AQ 控制的是共振激发的射频频率, AQ 较低时,系统施予母离子的能量相对较低,母离子无法蓄积发生解离所需的内能; AQ 较高时,母离子能够蓄积解离所需的内能,因此更容易产生碎片离子;但当 AQ 过高时,碎片离子无法在离子阱中稳定存在,导致碎片离子强度降低。

离子阱中可以稳定存在的最低 m/z 离子和 AQ 存在如下关系:

$$\text{Lowest } m/z = [\text{Parent mass}] \times [AQ] / 0.908 \quad (1)$$

另外, LTQ IT-MS 的 AQ 默认值是 0.25,如果在建立分析方法时直接采用仪器默认值,将无法得到大部分 OH-PAHs 的碎片离子(如 OH-Naps, OH-Phes, 1-OHPyr, 6-OHChr 和 3-OHBaP),或者导致碎片离子产率较低(如 2-OHFlu)。

3 结 论

采用 ESI-IT-MS² 检测了 9 种不同环数(2~5 环)的 OH-PAHs,获得 3-OHBaP 和 2-OHFlu 等 OH-PAHs 单体的碎片离子,并发现 IT-MS² 的 CID 操作参数 AQ 是实现其检测不同环数 OH-PAHs 的关键。

参 考 文 献

- [1] Vijayalakshmi K. P., Suresh C. H., *J. Comput. Chem.*, **2008**, 29(11), 1808—1817
- [2] Niu H. Y., Cai Y. Q., Wei F. S., Mou S. F., Jiang G. B., *Prog. Chem.*, **2006**, 18(10), 1381—1390(牛红云,蔡亚岐,魏复盛,年世芬,江桂斌. 化学进展, **2006**, 18(10), 1381—1390)
- [3] Campo L., Rossella F., Pavanello S., Mielzynska D., Siwinskad E., Kapkae L., Bertazzia P. A., Fustinonia S., *Toxicol. Lett.*, **2010**, 192(1), 72—78
- [4] Kang R. H., Wang Y. S., Yang H. M., Li G. R., Tan X., Xue J. H., Zhang J. Q., Yuan Y. K., Shi L. F., Xiao X. L., *Anal. Chim. Acta*, **2010**, 658(2), 180—186
- [5] Shen H. L., Gu Z. W., Wu Y. Q., *Biological Monitoring and Biomarker—Basic Theory and Practice, 2nd Ed.*, Peking University Medical Press, Beijing, **2006**, 15(沈惠麒,顾祖维,吴宜群. 生物监测和生物标志物——理论基础及应用,第二版,北京:北京大学医学出版社, **2006**, 15)
- [6] Beyer J., Jonsson G., Ported C., Krahe M. M., Ariese F., *Environ. Toxicol. Phar.*, **2010**, 30, 224—244
- [7] Ding C. M., Jin Y. L., Lin S. B., *Chin. J. Anal. Chem.*, **2012**, 40(3), 397—402(丁昌明,金银龙,林少彬. 分析化学, **2012**, 40(3), 397—402)
- [8] Xu X., Zhang J. F., Zhang L., Liu W. L., Weisel C. P., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2004**, 18(19), 2299—2308
- [9] Jacob P. III, Wilson M., Benowitz N. L., *Anal. Chem.*, **2007**, 79(2), 587—598
- [10] Onyemauwa F., Rappaport S. M., Sobus J. R., Gajdosova D., Wu R., Waidyanatha S., *J. Chromatogr. B*, **2009**, 877(11/12), 1117—1125
- [11] Ramsauer B., Sterz K., Hagedorn H. W., Engl J., Scherer G., McEwan M., Errington G., Shepperd J., Cheung F., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 399, 877—889

- [12] Jacques C. , Jamin E. L. , Perdu E. , Duplan H. , Mavon A. , Zalko D. , Debrauwer L. , *Anal. Bioanal. Chem.* , **2010** , 396 , 1691—1701
- [13] Schwartz J. C. , Senko M. W. , Syka J. E. P. , *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* , **2002** , 13(6) , 659—669
- [14] Jauregui O. , Moyano E. , Galceran M. T. , *J. Chromatogr. A* , **2000** , 896(1/2) , 125—133
- [15] Creese A. J. , Cooper H. , *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* , **2007** , 18(5) , 891—897
- [16] March R. E. , *Int. J. Mass Spectrom.* , **2000** , 200(1—3) , 285—312
- [17] Ding J. H. , Yang S. P. , Liu Q. , Wu Z. Z. , Chen H. W. , Ren Y. L. , Zheng J. , Liu Q. J. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2009** , 30(8) , 1533—1537(丁健桦, 杨水平, 刘清, 吴转璋, 陈焕文, 任玉林, 郑健, 刘清瑀. 高等学校化学学报, **2009** , 30(8) , 1533—1537)
- [18] Ding J. H. , Wang X. X. , Zhang H. , Pan S. S. , Luo M. B. , Li J. Q. , Chen H. W. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2011** , 32(8) , 1714—1781(丁健桦, 王兴祥, 张慧, 潘素素, 罗明标, 李建强, 陈焕文. 高等学校化学学报, **2011** , 32(8) , 1714—1781)
- [19] Helen G. S. , Goniewicz M. L. , Dempsey D. , Wilson M. , Jacob P. III , Benowitz N. L. , *Chem. Res. Toxicol.* , **2012** , 25(4) , 952—964
- [20] Li X. , Fang X. W. , Yu Z. Q. , Sheng G. Y. , Wu M. H. , Fu J. M. , Chen H. W. , *Anal. Methods* , **2013** , 5 , 2816—2821

Detection of Hydroxylated Metabolites of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Electrospray Ionization Ion Trap Tandem Mass Spectrometry

LI Xue^{1,2*} , FANG Xiao-Wei² , LI Yin-Ping¹ , CHEN Huan-Wen^{2*}

(1. Institute of Environmental Pollution and Health , School of Environmental and Chemical Engineering , Shanghai University , Shanghai 200444 , China;

2. Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation , East China Institute of Technology , Nanchang 330013 , China)

Abstract Hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons(OH-PAHs) are the mostly widely used biomarker of carcinogenic PAHs to assess health risk caused by exposure to PAHs. Among present strategies used for detecting OH-PAHs , electrospray ionization tandem mass spectrometry(ESI-MS²) shows advantages in both high sensitivity and selectivity; however , fragment ions cannot be obtained for some OH-PAHs (e. g. 3-OHBaP , 2-OHFlu) . In this work , ESI-MS² analysis of nine OH-PAHs(2- to 5-rings) was achieved with ion trap MS²(IT-MS²) ; by optimizing collision-induced dissociation conditions of activation Q(AQ) and normalized collision energy(NCE) , 3-OHBaP and 2-OHFlu were effectively fragmented meanwhile fragmentation efficiencies of other seven OH-PAHs were also improved. AQ was proven to be the critical parameter for fragmenting OH-PAHs when IT-MS² is used.

Keywords Polycyclic aromatic hydrocarbon; Biomarker; Hydroxylated metabolite of polycyclic aromatic hydrocarbon; Ion trap tandem mass spectrometry; Collision-induced dissociation

(Ed. : I, K)