

研究简报

## 电喷雾萃取电离质谱法检测 1-羟基芘

李雪<sup>\*1,2</sup> 陈焕文<sup>2</sup> 傅家谟<sup>1,3</sup> 盛国英<sup>3</sup> 于志强<sup>3</sup>

<sup>1</sup>(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)

<sup>2</sup>(东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013)

<sup>3</sup>(中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640)

**摘要** 采用电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)分析致癌性环境有机污染物多环芳烃(PAHs)生物标志物 1-羟基芘(1-OHP),探究 1-OHP 在 EESI 源中电离的可行性,考察 ESI 溶剂和样品溶液组成对方法灵敏度的影响,初步建立 1-OHP 的 EESI-MS 半定量分析方法。结果表明,溶液中 1-OHP 能够在 EESI 源中有效电离,生成准分子离子[M-H]<sup>+</sup>( $m/z$  217),并得到其二级质谱特征碎片离子[M-H-CO]<sup>+</sup>( $m/z$  189);水、甲醇、乙醇、正丙醇和正丁醇 5 种 ESI 溶剂中,使用甲醇时,离子峰  $m/z$  217 信噪比最大。样品溶液中甲醇含量越高,离子峰  $m/z$  217 强度越强。离子峰  $m/z$  217 强度与 1-OHP 浓度在 10~200  $\mu\text{g/L}$  内的线性相关性相对最好;相关系数( $R$ )0.982;相对标准偏差(RSD)为 3.4%~14.0%( $n=5$ );定量下限约为 10  $\mu\text{g/L}$ ( $S/N=10$ );单次检测时间小于 0.5 min。

**关键词** 电喷雾萃取电离源;质谱;1-羟基芘;多环芳烃;生物标志物

## 1 引言

电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)是目前国际先进的常压质谱技术之一<sup>[1~3]</sup>,能够在无需样品预处理情况下直接分析液体样品<sup>[4~7]</sup>。EESI 源是 EESI-MS 在常压环境下直接分析样品的关键。其工作原理为:带电的电喷雾(ESI)溶剂与中性样品溶液通过液滴之间的碰撞,将目标物萃取到带电液滴中,进一步脱溶剂后得到目标离子,进入质谱检测<sup>[8]</sup>。ESI 溶剂和样品溶液组成,与 EESI 过程密切相关,能够直接影响 EESI-MS 方法的灵敏度和选择性,是建立 EESI-MS 方法时应重点考察的因素<sup>[5,9,10]</sup>。

EESI-MS 方法具有无需前处理,耗时短(如单个食用油样品的分析时间小于 2 min<sup>[5]</sup>)等优点,有望解决环境分析等领域高通量样品分析的迫切需求。1-羟基芘(1-OHP)是致癌性环境有机污染物多环芳烃(PAHs)人体内暴露的重要生物标志物,被广泛用于评价多途径接触 PAHs 的人体内暴露水平,对 PAHs 分子流行病学研究意义重大。但现有 1-OHP 分析方法普遍存在前处理复杂且耗时等不足,无法满足研究中高通量样品的分析需求<sup>[11]</sup>。因此,本研究以 1-OHP 为目标物,以 EESI-MS 为分析手段,系统考察 ESI 溶剂和样品溶液的组成对方法灵敏度的影响,初步建立 1-OHP 的 EESI-MS 半定量分析方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

EESI 源(实验室自制)的结构和原理见图 1; LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪(LTQ-XL-MS,美国 Finnigan 公司),配 Xcalibur 数据处理系统。

1-OHP(98%,美国 Sigma-Aldrich 公司);甲醇

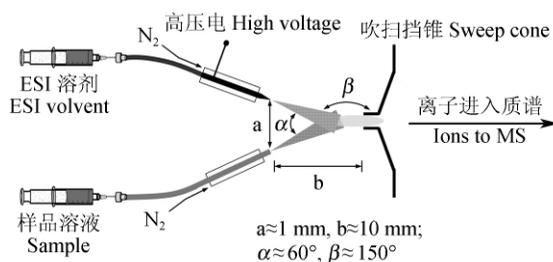


图 1 EESI-MS 工作原理简图

Fig. 1 Schematic diagram of an extractive electrospray ionization (EESI) source coupled to LTQ-XL-MS

2011-06-24 收稿;2011-10-10 接受

本文系中国博士后科学基金(No. 201004800580)、上海市博士后科研资助计划(No. 11R21413500)和江西省科技计划项目(No. 20111BBG70028-4)资助

\* E-mail: zlpamylee@gmail.com

(HPLC 级, 美国 Fisher 公司); 乙醇(分析纯, 广东西陇化工股份有限公司); 正丙醇和正丁醇(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 饮用纯净水。水、甲醇、乙醇、正丙醇和正丁醇的部分物理化学性质见表 1。

表 1 实验中使用的 5 种 ESI 溶剂的部分物理化学性质<sup>[12~15]</sup>

Table 1 Some chemico-physical properties of five ESI solvents used in experiment

溶剂 Solvent	蒸气压 Vapor pressure (kPa, 20 °C)	水溶性 Aqueous solubility (g/L)	表面张力 Surface tension (mN/m, 20 °C)	粘度 Viscosity (mPa·s, 20 °C)	质子亲和度 Proton affinity (kJ/mol)	$E_N^\ddagger$	偶极矩 Dipole (Debye)
水 Water	2.34	/	72.75	1.000	691.0	1.000	1.85
甲醇 Methanol	13.02	互溶 Miscible	22.50	0.590	754.3	0.762	1.69
乙醇 Ethanol	5.95	互溶 Miscible	22.39	1.200	776.4	0.654	1.69
正丙醇 <i>n</i> -Propanol	1.99	互溶 Miscible	23.71	1.938	786.5	0.617	1.68
正丁醇 <i>n</i> -Butanol	1.40	63.2	25.39	3.000	789.2	0.586	1.52

归一化极性参数  $E_N^\ddagger$  是由溶剂极性经验参数  $E_T(30)$  (kcal/mol) 归一化后得到;  $E_N^\ddagger$  范围为 0.000~1.000, 其中四甲基硅烷(极性最弱的溶剂)的  $E_N^\ddagger$  值为 0.000, 水(极性最强的溶剂)的  $E_N^\ddagger$  值为 1.000<sup>[12]</sup>。Normalized solvent polarity parameter  $E_N^\ddagger$  is derived from the empirical solvent polarity parameter  $E_T(30)$  (kcal/mol), and ranges from 0.000 for Tetramethylsilane (TMS), the least polar solvent, to 1.000 for water, the most polar solvent.

## 2.2 EESI-MS 条件

ESI 溶剂管路和样品溶液管路间的角度与距离, 及二者与质谱仪入口的角度和距离如图 1 示。ESI 电压 -4 kV; 雾化气(氮气, 纯度 99.999%) 压力 1.2 MPa; ESI 溶剂流速 3 mL/min; 样品溶液流速 5  $\mu$ L/min。负离子检测模式, 离子传输管温度 400 °C, 质量数扫描范围  $m/z$  55~300; 碰撞诱导解离(CID) 实验, 碰撞气: 氦气, 母离子隔离宽度 2.0, 碰撞能量 40%。上述 EESI 和 MS 条件为预实验优化得到, 其它 MS 条件由 LTQ-XL-MS 自动优化得到。在样品分析过程中, 每个样品测定 4~6 次。

## 2.3 样品的制备

称取 10.0 mg 1-OHP 固体标样于 100 mL 容量瓶中, 加入甲醇溶解, 得到 100 mg/L 1-OHP 母液。将此母液用甲醇逐级稀释, 得到 1  $\mu$ g/L~10 mg/L 的 1-OHP 标准溶液。取 5  $\mu$ L 10 mg/L 1-OHP 标准溶液, 分别用体积比为 75:25, 50:50, 25:75 和 0:100 的甲醇-水混合溶液稀释后, 得到浓度为 50  $\mu$ g/L 的样品溶液。

## 3 结果与讨论

### 3.1 1-OHP 在 EESI 源中的电离

EESI-MS 分别分析 0, 200 和 500  $\mu$ g/L 的 1-OHP, 得到的 EESI-MS 质谱图(图 2a)。离子峰  $m/z$  217 的强度随 1-OHP 浓度升高而增强, 表明此峰为 1-OHP 电离产物。1-OHP 分子量为 218, 且分子中含有一个羟基, 因此初步断定  $m/z$  217 为 1-OHP 的准分子离子  $[M-H]^-$ 。一级质谱图中还可观察到离子峰  $m/z$  59, 89, 141, 171 和 255, 但其强度随 1-OHP 浓度升高而几乎没有变化, 表明上述离子峰为背景噪音。图 2a 表明, 1-OHP 能够在 EESI 源中电离, 且由于 EESI 源是一种软电离方式, 因此一级质谱图中仅能观察到 1-OHP 分子离子峰  $m/z$  217。

为进一步确定 1-OHP 是否有效电离, 以  $m/z$  217 为母离子, 进行 CID 实验, 得到  $m/z$  217 二级质

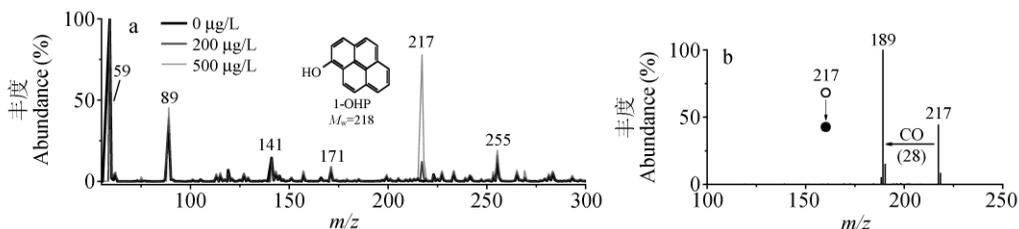


图 2 不同浓度下 1-OHP 水溶液在负离子检测模式下的 EESI-MS 质谱图(a)和 1-OHP 准分子离子  $[M-H]^-$  ( $m/z$  217) 的二级质谱图(b)

Fig. 2 EESI-MS spectra of 0, 200 and 500  $\mu$ g/L 1-hydroxypyrene (1-OHP) aqueous solutions under negative ion mode (a) and MS/MS spectrum of 1-hydroxypyrene (1-OHP) quasi-molecular ion  $[M-H]^-$  ( $m/z$  217) (b)

谱图(图 2b)。谱图中的主要离子峰  $m/z$  189, 与文献[16]报道的 1-OHP 二级质谱特征碎片离子一致, 是  $m/z$  217 失去一分子 CO 的产物, 证明溶液中的 1-OHP 能够在 EESI 源中有效萃取电离。

### 3.2 ESI 溶剂组成的影响

分别以水、甲醇、乙醇、正丙醇和正丁醇 5 种溶剂为 ESI 溶剂。这 5 种溶剂具有相同的官能团(羟基), 分子结构规律性变化, 溶剂极性依次减小(表 1), 有助于解析 ESI 溶剂对 1-OHP 的 EESI 过程的影响。实验表明, EESI-MS 分析 10  $\mu\text{g/L}$  1-OHP 水样, 以甲醇、乙醇和正丁醇为 ESI 溶剂时,  $S/N$  分别为 7, 5 和 3; 使用水和正丙醇为 ESI 溶剂时,  $S/N < 3$ 。如以  $S/N = 3$  为定性检出限, 则使用甲醇、乙醇和正丁醇为 ESI 溶剂时, 能够检出水样中 10  $\mu\text{g/L}$  1-OHP, 且使用甲醇时的电离效果最好, 乙醇和正丁醇次之; 使用水和正丙醇为 ESI 溶剂时, 未能检出水样中 10  $\mu\text{g/L}$  1-OHP。此外, 在 5 种 ESI 溶剂的水样 EESI-MS 谱图中, 可观察到的主要背景离子峰存在较大差别。

5 种 ESI 溶剂对 1-OHP 的萃取电离效果不同, 可能归因于 ESI 溶剂的物理化学性质差别(表 1)。谱图中观察到的  $m/z$  217 强度是 ESI 溶剂对样品中 1-OHP 萃取和电离综合作用的结果。如溶剂的分子间作用力、表面张力、极性影响初级带电液滴的产生, 进而影响后续的萃取电离过程; 溶剂的水溶性影响萃取过程; 溶剂的质子亲和力影响电离过程。

### 3.3 样品溶液组成的影响

以甲醇为 ESI 溶剂, 甲醇含量分别为 0, 25%, 50%, 75% 和 100% (V/V) 的 1-OHP 样品(图 3)的离子峰  $m/z$  217 的强度分别为 14, 230, 870, 2000 和 3000。上述结果表明, 以甲醇为 ESI 溶剂时, 提高样品溶液甲醇含量对 EESI 过程有促进作用, 可有效提高方法的灵敏度。

### 3.4 线性范围, 检出限, 分析速度及初步应用

EESI-MS 分析 1-OHP 梯度浓度加标溶液(溶剂为甲醇), 得到离子峰  $m/z$  217 强度 ( $I_{[M-H]^-}$ ) 随甲醇中 1-OHP 浓度(1~1000  $\mu\text{g/L}$ ) 的变化情况(图 4)。当 1-OHP 浓度在 1~400  $\mu\text{g/L}$  范围内时,  $I_{[M-H]^-}$  随 1-OHP 浓度升高而增强; 当 1-OHP 浓度高于 1000  $\mu\text{g/L}$  后,  $I_{[M-H]^-}$  强度几乎没有变化。当 1-OHP 浓度在 10~200  $\mu\text{g/L}$  内时, 对  $I_{[M-H]^-}$  与 1-OHP 浓度进行线性拟合, 相关系数  $R = 0.982$ ;  $RSD$  3.4%~14.0% ( $n = 5$ ); 定量下限约为 10  $\mu\text{g/L}$  ( $S/N = 10$ ), 单次检测时间小于 0.5 min, 整个分析流程耗时  $< 10$  min(重复测定样品 4~6 次), 远低于文献方法耗时( $> 1$  d)[15]。

采用 EESI-MS 分析实际加标尿样。图 5 为 5 mg/L 加标尿样的 EESI-MS 谱图, 其中  $m/z$  217 的

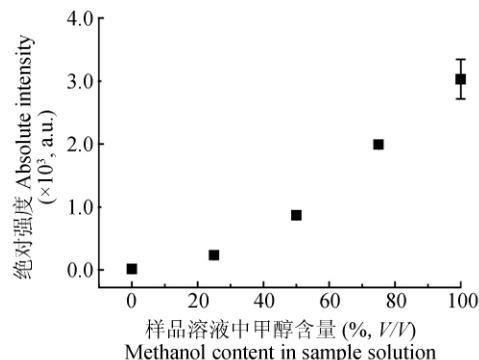


图 3 离子峰  $m/z$  217 强度随样品液甲醇含量的变化

Fig. 3 Variation of peak intensity at  $m/z$  217 with methanol content in aqueous solution

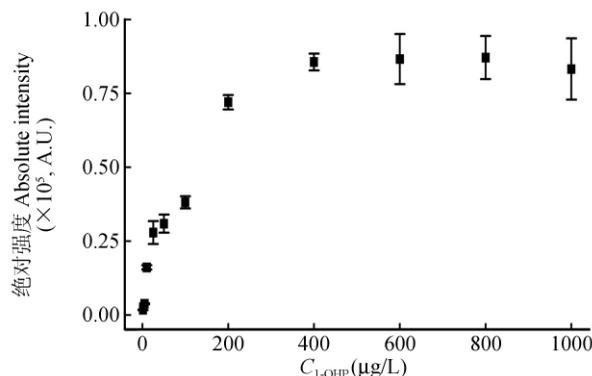


图 4 离子峰  $m/z$  217 强度随甲醇中 1-OHP 浓度(1~1000  $\mu\text{g/L}$ ) 的变化

Fig. 4 Variation of peak intensity at  $m/z$  217 to 1-OHP concentration in methanol (1~1000  $\mu\text{g/L}$ )

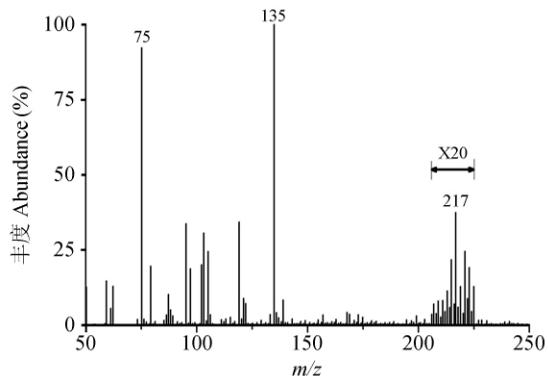


图 5 5 mg/L 加标尿样的 EESI-MS 质谱图

Fig. 5 EESI-MS spectrum of raw urine spiked with 5 mg/L 1-OHP

MS/MS 谱图与标样中 1-OHP 的主要特征碎片峰一致,表明 EESI-MS 可检测出实际尿中 1-OHP,但因尿样基质更为复杂,还存在干扰。

本研究是实现 EESI-MS 快速检测尿中羟基多环芳烃(OH-PAHs)的必要前期工作基础。研发 EESI-MS 快速检测尿中 OH-PAHs 的方法,能够为检测人体多途径接触 PAHs 的水平和内剂量提供一种快速的分析手段,有望解决 PAHs 分子流行病学研究中分析高通量样品的迫切需求。

## References

- 1 LI Jian-Qiang, ZHOU Yu-Fen, DING Jian-Hua, YANG Shui-Ping, CHEN Huan-Wen. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2008**, 36(9): 1300~1304  
李建强, 周瑜芬, 丁健桦, 杨水平, 陈焕文. *分析化学*, **2008**, 36(9): 1300~1304
- 2 Chen H W, Hu B, Zhang X. *Chin. J. Anal. Chem.*, **2010**, 38(8): 1069~1088
- 3 Harris G A, Galhena A S, Fernandez F M. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(12): 4327~5029
- 4 Chen H W, Venter A, Cooks R G. *Chem. Commun.*, **2006**, 19: 2042~2044
- 5 Law W S, Chen H W, Balabin R, Berchtold C, Meier L, Zenobi R. *Analyst*, **2010**, 135(4): 773~778
- 6 Chen H W, Yang S P, Li M, Hu B, Li J Q, Wang J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49(17): 3053~3056
- 7 DING Jian-Hua, YANG Shui-Ping, LIU Qing, WU Zhuang-Zhang, CHEN Huan-Wen, REN Yu-Lin, ZHENG Jian, LIU Qing-Jun. *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, 刘清珺. *高等学校化学学报*, **2009**, 30(8): 1533~1537
- 8 Law W S, Wang R, Hu B, Berchtold C, Meier L, Chen H W, Zenobi R. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(11): 4494~4500
- 9 Chen H W, Wortmann A, Zhang W H, Zenobi R. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46(4): 580~583
- 10 Ding J H, Gu H W, Yang S P, Li M, Li J Q, Chen H W. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(20): 8632~8638
- 11 Hansen A M, Mathiesen L, Pedersen M, Knudsen L E. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **2008**, 211(5-6): 471~503
- 12 Available from: <http://www.wikipedia.org/>
- 13 Reichardt C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. 3rd ed., Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2003**: 419~420
- 14 WANG Guang-Hui, XIONG Shao-Xiang. *Interpretation of Organic Mass Spectra*. 1st ed., Beijing: Chemical Industry Press, **2005**: 161~166  
王光辉, 熊少祥. *有机质谱解析*. 北京: 化学工业出版社, **2005**: 161~166
- 15 Available from: [http://www.kayelaby.npl.co.uk/general\\_physics/2\\_2/2\\_2\\_5.html](http://www.kayelaby.npl.co.uk/general_physics/2_2/2_2_5.html)
- 16 Xu X, Zhang J F, Zhang L, Liu W L, Weisel C P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2004**, 18(19): 2299~2308

## Detection of 1-Hydroxypyrene by Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry

LI Xue<sup>1,2</sup>, CHEN Huan-Wen<sup>\*2</sup>, FU Jia-Mo<sup>1,3</sup>, SHENG Guo-Ying<sup>3</sup>, YU Zhi-Qiang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>(Institute of Environmental Pollution and Health, School of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

<sup>2</sup>(Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, Nanchang 330013, China)

<sup>3</sup>(Guangdong Key Laboratory of Environmental Protection & Resource Utilization, State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract** A method for the detection of 1-hydroxypyrene (1-OHP) using extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS) has been investigated, including the ionization of 1-OHP in

a home-made EESI source, effects of the composition of ESI solvent and sample solvent on signal intensity, and semi-quantification analysis. The results indicated that, 1-OHP can be effectively extracted and ionized in the EESI source, producing the quasi-molecular ion  $[M-H]^{-}$  ( $m/z$  217) and MS/MS fragment ion  $[M-H-CO]^{-}$  ( $m/z$  189); when water, methanol, ethanol, *n*-propanol and *n*-butanol were used as ESI solvents, respectively, the highest signal to noise ratio ( $S/N$ ) was achieved while using methanol as ESI solvent; with the increase of methanol content in sample solution, the signal intensity increased significantly, and the signal intensity of  $m/z$  217 in methanol was more than 200 times higher than that in water. The signal intensity of  $m/z$  217 was linearly related with the concentration of 1-OHP in methanol within the concentration range of 10–200  $\mu\text{g/L}$ ; the correlation coefficient ( $R$ ) was 0.982, the relative standard deviations (RSD) were 3.4%–14.0% ( $n=5$ ), the quantitative detection limit (LOD) for 1-OHP in methanol was about 10  $\mu\text{g/L}$  ( $S/N=10$ ), and the analytical time of each detection was less than 0.5 min.

**Keywords** Extractive electrospray ionization; Mass spectrometry; 1-Hydroxypyrene; Polycyclic aromatic hydrocarbons; Biomarker

(Received 24 June 2011; accepted 10 October 2011)

## “2012 中国科学仪器发展年会”隆重召开

2012 年 3 月 22 日~23 日,中国科学仪器行业最高级别的峰会——“2012 中国科学仪器发展年会(ACCSI 2012)”在北京武青会议中心隆重召开。会议由中国仪器仪表行业协会、中国仪器仪表学会分析仪器分会、仪器信息网([www.instrument.com.cn](http://www.instrument.com.cn))联合主办,中国分析测试协会、我要测网([www.woyaoce.cn](http://www.woyaoce.cn))协办。500 余位嘉宾出席了本届年会。

ACCSI 2012 特别设置了“中国科学仪器企业 CEO 高峰论坛”,邀请了业内知名企业负责人分别就“2012 年中国科学仪器行业发展趋势”及“中国科学仪器企业发展之路”进行了充分的探讨。各位嘉宾针对“‘十二五’规划中,中国科学仪器行业发展机遇”、“2012 年中国科学仪器行业热点市场”;“制约中国科学仪器企业发展的瓶颈”、“2011 年中央财政首次设立的重大科学仪器设备开发专项如何在中国科学仪器产业发展中发挥作用”等问题发表了精彩观点。

本届年会的另一大亮点是首次举办了“科学仪器技术发展趋势论坛”,主办方特别邀请了高校科研院所等仪器用户单位的专家探讨了“国产仪器技术创新路在何方”、“‘十二五’期间我国科学仪器发展应重点关注的关键技术、共性技术和前沿技术”等问题,并盘点了近年来“最具潜力的仪器技术”、“发展速度最快的仪器技术”、“对人类健康影响最大的仪器技术”、“最受‘失意’的仪器技术”等九大仪器技术。

在此次年会举办的“仪器及分析测试行业人才培养圆桌会议”上,来自仪器公司及企业实验室单位、科研院所、检测机构的高管或 HR 针对本单位目前人才招聘的特点、存在问题,以及目前急需人才等方面做了主题发言;并就发展订单式人才培养,校企合作(企业大学与高校教育)的实习式模式,企业大学与院校教育如何更有效结合,仪器研发人才的匮乏问题,组织仪器及分析测试行业人才专项招聘会及网络招聘会等问题进行了探讨。

为了鼓励各厂商积极创新,推出满足中国市场需求的仪器新产品,“中国科学仪器发展年会”组委会每年都会组织“科学仪器优秀新产品”评选活动,该活动已成为历届年会业内厂商和用户最为关注的一个环节。本届年会共有 533 台仪器参与评选,最终有 23 台仪器获得“2011 年度科学仪器优秀新产品”称号。

自 2011 年开始,为了保护我们的环境和实验室人员的身体健康、节约成本、加强仪器厂商设计、生产低碳环保产品的理念,倡导广大用户使用低碳环保的仪器产品,仪器信息网特别举办了年度“绿色仪器”评选活动。本届年会从申报的 58 台具有节能减排理念的产品中共评选出 4 台仪器获得“2011 年度绿色仪器”称号。

此外,2012 中国科学仪器发展年会还评选了“2011 年度中国科学仪器与分析测试行业十大新闻”,颁发了“2011 年度最具影响力厂商”、“2011 年度最受关注仪器”、“2011 年度最佳网络营销奖”等奖项,以期更好的梳理和回顾 2011 年科学仪器行业的发展情况。