• 研究论文 •

单液滴萃取衍生化技术用于烟气中小分子醛类物质的分析

朱逢君^a 张菁^{*,a} 郑赛晶^b 刘百战^b 郭寅龙^{*,a}

(^a中国科学院上海有机化学研究所 上海质谱中心 上海 200032)

(^b上海烟草(集团)公司 上海 200082)

摘要 本实验利用单液滴衍生化萃取技术(EDSD), 并与基质辅助激光解吸-傅立叶变换离子回旋共振质谱方法(MALDI-FTICR-MS)结合起来, 建立了一种用于分析烟气中小分子醛类物质的方法. 选择吉拉尔特试剂 T 作为衍生化试剂, 烟气中的小分子醛类物质可以形成季铵盐, 其在 MALDI-FTMS 中的灵敏度显著提高. 采用上述方法实现了对单口烟气中乙醛和丙烯醛的含量的分析. 该分析方法易于实现自动化, 为检测卷烟烟气中小分子醛类物质提供了一种简单、快速、准确的分析方法.

关键词 单液滴衍生化萃取; 吉拉尔特试剂 T; 烟气; 醛类; 定量

Determination of Small Molecular Aldehydes in Cigarette Smoke by Extraction and Derivatization in Single Drop

Zhu, Fengjun^a Zhang, Jing^{*,a} Zheng, Saijing^b Liu, Baizhan^b Guo, Yinlong^{*,a}

(^a Shanghai Mass Spectrometry Center, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

(^b Shanghai Tobacco Group Company, Shanghai 200082)

Abstract Extraction and derivatization in single drop (EDSD) coupled to matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (MALDI-FTICR-MS) was utilized to determine small molecular aldehydes in single puff smoke. Through employing Girard's reagent T as derivatization reagent, small molecular aldehydes (SMAs) transformed into quaternary ammonium salt, and the sensitivity of analysis for SMAs was significantly improved. Using this method, acetaldehyde and acrolein in single puff smoke were easily determined. This approach with an automatic potential provided a simple, rapid, and accurate procedure for the determination of SMAs in smoke.

Keywords extraction and derivatization in single drop; Girard's reagent T; cigarette smoke; aldehyde; quantification

卷烟中的低级醛类(主要指甲醛, 乙醛和丙烯醛等)物质具有纤毛毒性, 在卷烟抽吸过程中不同程度地刺激感官系统和呼吸系统, 长期吸入这些物质会对人体造成严重的危害^[1,2]. 从吸烟与健康角度出发, 烟气中小分子醛类物质的分析研究具有重要的意义^[3,4].

目前环境中醛类物质的定性定量研究较多使用 GC/MS 或者 HPLC/MS 方法^[5,6]. 近年来, 高分辨质谱方

法的应用十分广泛^[7,8], 其中基质辅助激光解吸离子化-傅立叶变换离子回旋共振质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, MALDI-FTMS)具有简便、快速、高分辨率和高灵敏度的优点^[9], 已被广泛应用于各种有机化合物的分析研究^[10-15]. 小分子醛类物质在常温下呈气体状态, 在溶液中具有很强的挥发性, 当置于

* E-mail: zhangjing@sioc.ac.cn; ylguo@sioc.ac.cn

Received February 22, 2012; accepted April 19, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 20902104, 21072215, 21172250).

国家自然科学基金(Nos. 20902104, 21072215, 21172250)资助项目.

MALDI 靶上时, 容易随溶剂的挥发而挥发. 并且, 当 MALDI-FTMS 用于小分子化合物的分析时, 在谱图的低分子范围内存在基质的杂峰^[16]. 在用 HPLC/MS 方法分析挥发性醛类物质的过程中, 2,4-二硝基苯肼^[17,18]等常被用作衍生化试剂与醛反应生成大分子物质以稳定这些小分子醛类物质.

单液滴微萃取(Single-Drop Microextraction, SDME)是一种集分离、提取、富集于一身的样品前处理技术, 在小分子化合物分析中的优势凸现^[19]. Sun 等^[20]把这种技术应用于烟草碱性化合物的分析中. Yiannis 等^[21]在 SDME 过程中应用了衍生化手段. Yin 等^[22]提出了单液滴萃取衍生化技术(Extraction and Derivatization in Single Drop, EDSD), 与 MALDI-FTMS 方法结合, 建立了一种用于分析烟气中甲醛和丙烯醛的方法.

本实验选取吉拉尔特试剂 T 作为衍生化试剂, 利用 EDSD 技术, 对烟气中的小分子醛类物质进行了快速、有效、高选择性的定性和定量分析.

1 材料与方法

1.1 试剂

甲醛溶液(分析纯, 37.0%~40.0%, HPLC 方法定量为 30%)、乙醛溶液(分析纯, 40%)、苯甲醛(分析纯)购于上海凌峰化学试剂公司. 丙烯醛(分析纯)购于成都科龙化工试剂厂. 吉拉尔特试剂 T 购于 Sigma 公司. 四丁基溴化铵购于上海凌峰化学试剂公司. 甲醇(色谱纯)购于 Sigma 公司. 2,5-二羟基苯甲酸(DHB)购于 Sigma 公司. 实验用卷烟为市售某品牌卷烟.

1.2 仪器

烟气的收集采用改装的单通道吸烟机 JJD-200, 由中国烟草总公司郑州烟草研究院提供^[23].

质谱分析采用 IonSpec 4.7 T 高分辨基质辅助激光解吸离子化-傅立叶变换离子回旋共振质谱仪, 配备 355 nm Nd:YAG 激光, 激光的照射脉冲时间为 500 ms, 能量通过狭缝控制, 激光强度为 32%~65%, 正离子模式扫描范围为 100~300 aum, 离子捕获模式为 N₂ 碰撞冷却, 经四级杆到达检测池, 四级杆交流射频波辐射值为 70 V, 频率为 126000 Hz, 采样次数为 1 次, 校正标准为 PEG 400.

1.3 实验方法

1.3.1 萃取溶液的配制

A 溶液: 200 mg/mL DHB 50%甲醇溶液; B 溶液: 200 mg/mL 吉拉尔特试剂 T 甲醇/水($V:V=2:1$)溶液(含 10%乙酸); C 溶液: 0.01 mg/mL 四丁基溴化铵甲醇溶液;

D 溶液: A 溶液, B 溶液, C 溶液以 10:1:1 ($V:V:V$) 比例混合, 作为萃取溶液.

1.3.2 标准曲线的制作

取一系列不同浓度的小分子醛溶液, 放置于水浴(60 °C)中加热 20 min. 用 10 μ L 的微量进样器吸取 2 μ L 的萃取溶液, 插入顶空瓶中, 推出溶剂使其悬挂于针尖成为一个液滴进行萃取. 萃取 30 s 后, 液滴吸回针筒, 把微量进样器拔出顶空瓶. 然后取 1 μ L 直接把萃取溶液滴加在 MALDI 靶上, 待液滴变干后, 直接进行质谱分析.

1.3.3 单口烟气样品的制备

卷烟在温度(22 ± 1) °C 和湿度(60 ± 2)% 的环境下平衡 48 h. 吸烟机条件: 1 puff/min, 持续时间 2 s, 抽吸体积 35 mL. 在开始吸烟之前, 装有 2 μ L 萃取溶液的微量注射器插入烟气收集装置内. 推出溶剂使其悬挂于针尖成为一个液滴, 同时吸烟过程开始. 抽吸过程、萃取过程和衍生过程同时进行. 在下一个抽吸到来之前, 在萃取的同时快速更换收集管. 待萃取结束后, 吸回液滴, 取出针头, 直接将萃取溶液滴加到 MALDI 靶上, 待液滴变干后, 直接进行质谱分析.

2 结果与讨论

2.1 吉拉尔特试剂 T 的衍生化反应

吉拉尔特试剂 T 属于酰肼类物质, 可以与醛类或酮类化合物反应形成腙, 由于其本身含有季铵结构, 因此在电喷雾离子化(ESI)或基质辅助激光解吸离子化(MALDI)过程中很容易检测. 吉拉尔特试剂 T 最初被用作甾体的衍生化试剂^[24,25], 随后逐步被用到寡糖^[26,27]、核苷^[28]等物质的衍生化, 来改善离子化效果.

受此启发, 本实验选择吉拉尔特试剂 T 对小分子醛类化合物进行衍生化, 通过 MALDI-FTMS 进行检测, 观察到了相应的衍生化产物的信号, 如图 1 所示, m/z 144, 158, 170, 220 分别为甲醛、乙醛、丙烯醛、苯甲醛与吉拉尔特试剂 T 反应产物的信号, 可见吉拉尔特试剂 T 对小分子醛类化合物有很好稳定作用, 同时衍生化产物在 MALDI-MS 中具有较高的离子化效率, 因此有效地克服了由于样品挥发性强、离子化效率较低而造成检测困难的问题, 具体的衍生化反应示意图见图 2.

2.2 EDSD 方法的优化

2.2.1 衍生化试剂与基质的配比

实验中发现萃取溶液中 MALDI 基质 DHB 与吉拉尔特试剂 T 的混合比例对于实验结果影响很大, 因此选择了不同比例的衍生化试剂与基质的混合物进行考察,

图1 代表性小分子醛类的 ESD/MALDI-FTMS 图谱

(a) 甲醛; (b) 乙醛; (c) 丙烯醛; (d) 苯甲醛

Figure 1 ESD/MALDI-FTMS mass spectrum of representative small molecular aldehydes

(a) formaldehyde, (b) acetaldehyde, (c) acrolein, (d) benzaldehyde

图2 代表性小分子醛类化合物与吉拉尔特试剂 T 反应的示意图

Figure 2 The reactions between representative small molecular aldehydes and Girard's reagent T

发现当 DHB 与吉拉尔特试剂 T 按照 1:1 ($V:V$) 混合时, 在 MALDI-FTMS 图谱中观察不到小分子醛类的信号, 而按照 10:1 ($V:V$) 混合时, 得到的图谱效果最好, 由此确定了萃取溶液中 MALDI 基质 DHB 与吉拉尔特试剂 T 的混合比例为 10:1 ($V:V$).

2.2.2 乙酸的加入

实验中发现适量的乙酸加入萃取溶液中, 可以明显提高萃取衍生化的效率, 从而提高方法的灵敏度. 通过考察, 最终确定在 B 溶液中加入 10% 的乙酸可以得到最佳的效果.

2.2.3 萃取液的溶剂配比

吉拉尔特试剂 T 在水中的溶解性最佳, 在甲醇中溶解性较差, 然而在 MALDI 点样过程中, 如果水的比例过大, 则不利于样品点的挥干, 结晶效果不好, 从而降低质谱信号. 通过考察, 最终确定 B 溶液的最佳溶剂配比为甲醇:水:乙酸溶液(6:3:1).

2.2.4 其它条件

实验中对萃取体积、温度和时间也分别进行了考察, 最终确定了萃取体积为 2 μL , 萃取温度为 60 $^{\circ}\text{C}$, 萃取时间为 30 s, 可以获得满意的萃取效率.

2.3 ESDS/MALDI-FTMS 方法对小分子醛类化合物的定性分析

实验中,选取了一些常见的小分子醛类,用吉拉尔特试剂 T 作为衍生化试剂,利用 MALDI-FTMS 方法进行检测,同时进行了准确质量的测定,表 1 为小分子醛类的准确质量测定结果,误差都在 5 ppm 以内。

表 1 代表性小分子醛类的准确质量测定结果

Table 1 Exact mass measurement results of representative small molecular aldehydes

序号	测定值 (<i>m/z</i>)	醛类名称	元素组成	理论值 (<i>m/z</i>)	误差
1	144.1130	甲醛	C ₆ H ₁₄ N ₃ O ⁺	144.1131	-0.69
2	158.1284	乙醛	C ₇ H ₁₆ N ₃ O ⁺	158.1288	-2.53
3	170.1294	丙烯醛	C ₈ H ₁₆ N ₃ O ⁺	170.1288	3.52
4	184.1450	巴豆醛	C ₉ H ₁₈ N ₃ O ⁺	184.1444	3.25
5	220.1448	苯甲醛	C ₁₂ H ₈ N ₃ O ⁺	220.1444	1.82

2.4 ESDS/MALDI-FTMS 方法的灵敏度

实验中,配制了不同浓度梯度的乙醛、丙烯醛和苯甲醛的甲醇溶液,以测试该方法的检测限。当 3 种醛的浓度分别为 500, 800 和 500 ng/mL 时,信噪比(*S/N*)分别为 5.6, 5.2 和 7.3。

2.5 ESDS/MALDI-FTMS 方法的线性

本实验中,四丁基溴化铵^[10]被选作内标物加入到萃取溶液中。四丁基溴化铵是一种季铵盐,难挥发,在烟气成分中不存在,既可以确保在萃取过程中稳定地存在于萃取液滴中,又不会干扰烟气成分的分析。同时它的分子离子峰(*m/z* 242)与被分析物的分子离子峰相近,并且它的信号非常强而且稳定,适合作为本实验的内标化合物。

为了提高方法的准确性和可靠性,选取样品点内 5 个采样点的平均值进行计算。标准曲线的制作是以醛与内标的信号比作为纵坐标,以醛的浓度($\mu\text{g/mL}$)作为横坐标。实验表明,乙醛、丙烯醛和苯甲醛的线性良好($R^2 > 0.994$),如表 2 和图 3 所示。

表 2 代表性小分子醛类的线性

Table 2 Linear regression of representative small molecular aldehydes

小分子醛类	方程	R^2	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
乙醛	$Y = -0.0088 + 0.1121X$	0.9999	3~300
丙烯醛	$Y = -0.0091 + 0.0117X$	0.9972	4~20
苯甲醛	$Y = 0.1310 + 0.1360X$	0.9993	1~20

图 3 代表性小分子醛类的标准曲线

Figure 3 Linear regression curves of representative small molecular aldehydes

2.6 单口烟气中小分子醛类化合物的 ESDS/MALDI-FTMS 定量分析

根据本小组以前的报道^[22],在测定烟气中醛类化合物含量的过程中,第一口烟气的醛的含量的相对标准偏差(RSD)最大,之后的逐口烟气的醛的含量的重现性较好,因此在本实验中均选用第 3 口烟气进行测试,每种醛平行测定 3 次,具体结果见表 3,这与文献报道的结果^[22]基本一致。

3 结论

本实验利用单液滴衍生化萃取技术(EDSD),并与

表3 单口烟气中小分子醛类含量测定结果

Table 3 Determination of small molecular aldehydes in single puff smoke

小分子醛类	单口烟气含量/ μg				相对标准偏差(RSD)
	第1次	第2次	第3次	平均值	
乙醛	23.27	22.18	21.41	22.29	4.2%
丙烯醛	17.53	15.36	16.44	16.44	6.6%

MALDI-FTMS 方法结合起来, 建立了一种用于分析烟气中小分子醛类物质的方法. 选择吉拉尔特试剂 T 作为衍生化试剂, 烟气中的小分子醛类物质可以形成季铵盐, 其在 MALDI-FTMS 中的灵敏度显著提高. 在 EDSD 过程中, 衍生化试剂和 DHB 的混合物同时起到三种作用: 第一, 富集了烟气中的小分子醛类物质; 第二, 与目标物反应生成衍生化产物; 第三, 作为 MALDI-FTMS 的混合基质, 形成了一种连贯的样品前处理-MALDI 点样操作, 从而提供了一种简单、快速、可行的分析检测卷烟烟气中小分子醛类物质的方法. 采用上述方法实现了对单口烟气中乙醛和丙烯醛的含量的分析.

References

- Arts, J. H. E.; Rennen, M. A. J.; Heer, C. D. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2006**, 44, 144.
- Miyake, T.; Shibamoto, T. *J. Chromatogr. A* **1995**, 693, 376.
- Possanzini, M.; Palo, V. D.; Cecinato, A. *Atmos. Environ.* **2002**, 36, 3195.
- Gilbert, N. L.; Guay, M.; Miller, J. D.; Judek, S.; Chan, C. C.; Dales, R. E. *Environ. Res.* **2005**, 99, 11.
- Dong, J. Z.; Moldoveanu, S. C. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1027, 25.
- Wang, T. L.; Tong, H. W.; Yan, X. Y.; Sheng, L. Q.; Yang, J.; Liu, S. M. *Chromatographia* **2005**, 62, 631.
- Nie, A. Y.; Lu, H. J.; Yang, P. Y.; He, F. C. *Chin. J. Chem.* **2011**, 29, 171.
- Liu, W. L.; Liu, S.; Li, H. L.; Song, F. R.; Liu, Z. Q.; Liu, S. Y. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, 25, 973.
- Wang, H. Y.; Xu, Z.; Zhao, Z. X.; He, X. S.; Guo, Y. L. *J. Chromatogr. B* **2011**, 879, 1166.
- Cheng, Z. H.; Guo, Y. L.; Wang, H. Y.; Chen, G. Q. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 555, 269.
- Xu, Z.; Yao, S. J.; Wei, Y. L.; Zhou, J.; Zhang, L.; Wang, C. H.; Guo, Y. L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, 19, 1849.
- Xu, Z.; Wang, H. Y.; Huang, S. X.; Wei, Y. L.; Yao, S. J.; Guo, Y. L. *Anal. Chem.* **2010**, 82, 2113.
- Wang, H.; Wang, H. Y.; Zhang, L.; Zhang, J.; Guo, Y. L. *Anal. Chim. Acta* **2011**, 690, 1.
- Cai, T. T.; Zhang, L.; Wang, H. Y.; Zhang, J.; Guo, Y. L. *Anal. Chim. Acta* **2011**, 706, 291.
- Wang, H.; Wang, H. Y.; Zhang, L.; Zhang, J.; Leng, J. P.; Cai, T. T.; Guo, Y. L. *Anal. Chim. Acta* **2011**, 707, 100.
- Zhang, J.; Wang, H. Y.; Guo, Y. L. *Chin. J. Chem.* **2005**, 23, 185.
- Potter, W.; Lamotte, S.; Engelhardt, H.; Karst, U. *J. Chromatogr. A* **1997**, 786, 47.
- Chi, Y. G.; Feng, Y. L.; Wen, S.; Lu, H. X.; Yu, Z. Q.; Zhang, W. B.; Sheng, G. Y.; Fu, J. M. *Talanta* **2007**, 72, 539.
- Wu, H. F.; Lin, C. H. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, 20, 2511.
- Sun, S. H.; Cheng, Z. H.; Xie, J. P.; Zhang, J. X.; Liao, Y. X.; Wang, H. Y.; Guo, Y. L. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, 19, 1025.
- Yiannis, C. F.; Constantine, D. S. *Anal. Chim. Acta* **2007**, 599, 76.
- Xie, J. P.; Yin, J.; Sun, S. H.; Xie, F. W.; Zhang, X.; Guo, Y. L. *Anal. Chim. Acta* **2009**, 638, 198.
- Xie, J. P.; Sun, S. H.; Wang, H. Y.; Zong, Y. L.; Nie, C.; Guo, Y. L. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, 20, 2573.
- Shackleton, C. H. L.; Chuang, H.; Kim, J.; de la Torre, X.; Segura, J. *Steroids* **1997**, 62, 523.
- Higashi, T.; Shimada, K. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 378, 875.
- Naven, T. J. P.; Harvey, D. J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, 10, 829.
- Gouw, J. W.; Burgers, P. C.; Trikoupi, M. A.; Terlouw, J. K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, 16, 905.
- Hong, H. Z.; Wang, Y. S. *Anal. Chem.* **2007**, 79, 322.

(A1202221 Lu, Y.)