

Detecção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados (oxy-PAHs) em modo APCI com um espectrômetro de massa de quadrupolo único

Autor

Maria Grübner; Thermo Fisher Scientific, Germering, Alemanha

Palavras-chave

APCI, ionização química à pressão atmosférica, espectrometria de massas, espectrômetro de massa de quadrupolo único, cromatografia líquida de alta eficiência, ESI, ionização por electrospray, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados, oxy-PAHs, ISQ EM, Vanquish Flex UHPLC, LC-MS, UHPLC

Objetivo

Demonstrar as vantagens da detecção da espectrometria de massas por APCI (APCI-MS) de oxy-PAHs em comparação com a detecção da espectrometria de massas por ESI (ESI-MS) com o espectrômetro de massa de quadrupolo único Thermo Scientific™ ISQ™ EM

Vantagens da aplicação

- A APCI oferece um método de ionização alternativo à ESI padrão para compostos fracamente ionizáveis como os oxy-PAHs.
- Os valores de S/N geralmente são melhores com a APCI e menos adutos são formados.

Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) são poluidores ambientais onipresentes na água, plantas, alimentos, solos e atmosfera.¹⁻³ Esses compostos são constituídos por pelo menos dois anéis aromáticos fundidos e são gerados por processos de combustão incompleta de origem antropogênica e natural. Os PAHs e os seus derivados como PAHs oxigenados (oxy-PAHs), que também são formados por combustão ou, em reações secundárias, exibem toxicidade e carcinogenicidade severas. A nocividade combinada com a inevitável exposição humana por meio de adsorção cutânea, inalação e, mais importante, ingestão geram motivo para os inúmeros estudos ambientais e nutricionais que focam na análise de tais compostos em diversos materiais e na avaliação de risco para as pessoas e a natureza.¹⁻³

A separação cromatográfica do gás acoplada à espectrometria de massas (MS) é uma técnica frequentemente usada na análise do PAH.^{1,3,4} Entretanto, os grupos funcionais polares diminuem a volatilidade dos compostos para que os PAHs sejam detectados com menos sensibilidade ou precisem de derivatização.¹

Técnicas alternativas com base em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) são aplicadas ou com detecção óptica (UV e/ou fluorescência) ou com detecção por MS.^{4,5} Embora a ionização por electrospray (ESI) geralmente seja a técnica de ionização preferida na maiorias das aplicações de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS), a ionização química à pressão atmosférica se mostrou um modo superior na análise de oxy-PAH.^{4,6}

Esta nota de aplicação demonstra a capacidade do espectrômetro de massa de quadrupolo único em realizar a detecção da APCI-MS de seis compostos padrões de oxy-PAH (estruturas exibidas na figura 1) e uma comparação com a detecção da ESI-MS com o mesmo instrumento. A separação foi realizada com o sistema de UHPLC binário Thermo Scientific™ Vanquish™ Flex e uma coluna Thermo Scientific™ Hypersil™ Green PAH LC com uma fase estacionária feita sob medida especialmente para esses tipos de analitos.

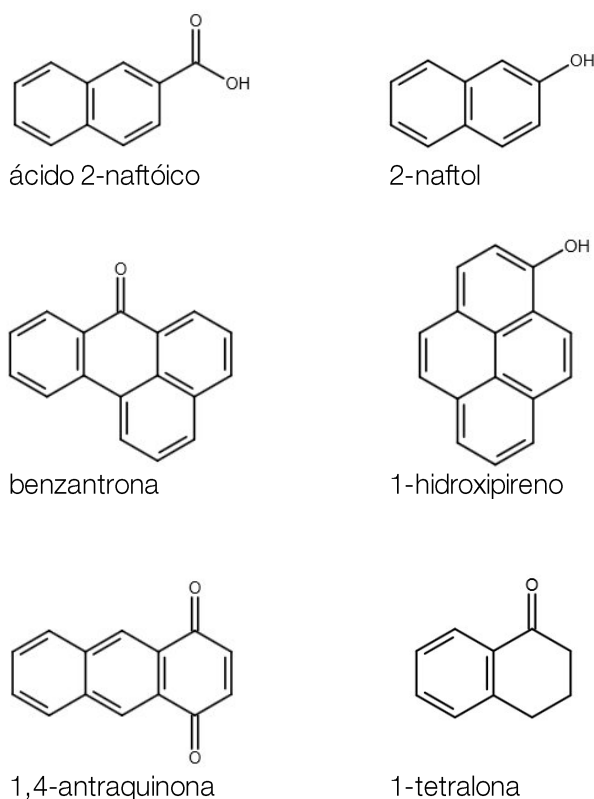


Figura 1. Estruturas dos seis oxy-PAHs analisados no presente trabalho

Experimental

Produtos Químicos

- Água deionizada, resistividade de 18,2 MΩ•cm ou superior (nº de peça N/A)
- Metanol Fisher Scientific™ grau LC/MS Optima™ (nº de peça A456-212)
- Os padrões sintetizados de ácido 2-naftóico, 2-naftol, benzantrona, 1-hidroxi-pireno, 1,4-antraquinona e 1-tetralona foram gentilmente cedidos pela Universidade Técnica de Munique (Thomas Letzel)

Instrumentação

Foi utilizado para a análise um sistema de UHPLC binário Vanquish Flex equipado com um espectrômetro de massa de quadrupolo único ISQ EM.

- Base do Sistema Thermo Scientific™ Vanquish™ Vanquish Horizon/Flex (nº de peça VF-S01-A-02)
- Bomba Binária Thermo Scientific™ Vanquish™ F (nº de peça VF-P10-A-01)
- Amostrador de Divisão Thermo Scientific™ Vanquish™ HT (nº de peça VH-A10-A-02)
- Compartimento de Coluna Thermo Scientific™ Vanquish™ H (nº de peça VH-C10-A-02)
- Detector de Comprimento de Onda Variável Thermo Scientific™ Vanquish™ (nº de peça VF-D40-A-01)
- Semi-Micro Célula de Fluxo de 2,5 µL, caminho óptico 7 mm (SST) (nº de peça 6077.0360)
- Espectrômetro de massa ISQ EM (nº de peça ISQEM-ESI-APCI)

Preparações dos padrões

As soluções padrões dos compostos padrões foram preparados em metanol a uma concentração de 1 mg/mL. Foi preparada uma solução de trabalho para injeção no sistema UHPLC-MS através da mistura de soluções padrões e diluição adicional com metanol, provendo uma concentração final de 10 µg/mL por analito.

Condições da cromatografia líquida

Coluna	Hypersil Green PAH, 150 × 2,1 mm, 3 µm (nº de peça 31103-152130)	
Fase móvel	A: Água B: Metanol	
Taxa de fluxo	0,35 mL/min	
Gradiente	Tempo (min)	%B
	0	25
	6	100
	8	100
	8,1	25
	11	25
Volume do misturador	50 + 150 µL	
Temperatura da coluna	40 °C (modo de ventilação forçado, velocidade da ventoinha 5)	
Temperatura do amostrador automático	20 °C	
Volume de injeção	1 µL	
Detecção UV	254 nm, 10 Hz, tempo de resposta 0,5 s	

Configurações da espectrometria de massas no modo APCI e ESI

Parâmetros da fonte da MS	Configuração APCI	Configuração ESI
Pressão do gás de impulso	30 psig	39,3 psig
Pressão do gás auxiliar	2 psig	4,4 psig
Pressão do gás de varredura	0 psig	0,5 psig
Temperatura do vaporizador	350 °C	200 °C
Tubo de transferência de íons temperatura	300 °C	300 °C
	5 µA/-5 µA	3000 V/-2000 V

Corrente/tensão da fonte

Parâmetros do método de MS

Tipo de método	Verificação completa e verificações SIM
Polaridade dos íons	Positiva e negativa
Faixa de massa	m/z 100–400
Tempo de residência	0,1 s
Tensão da fonte CID:	10 V20 V

Processamento de dados

O sistema de dados de cromatografia (CDS) Thermo Scientific™ Chromeleon™ 7.2.9 foi utilizado para a obtenção e processamento de dados.

Resultados e discussão

No presente trabalho, foi comparado o desempenho da detecção por MS em modo APCI e ESI para os seis compostos padrões de oxy-PAH (figura 1) sob condições de outra forma idênticas. A separação foi realizada com uma coluna dedicada que permitiu a separação na linha de base (resolução >2) para os compostos de ensaio e também para algumas impurezas visíveis no cromatograma UV, que são provavelmente alguns remanescentes da síntese (figura 2).

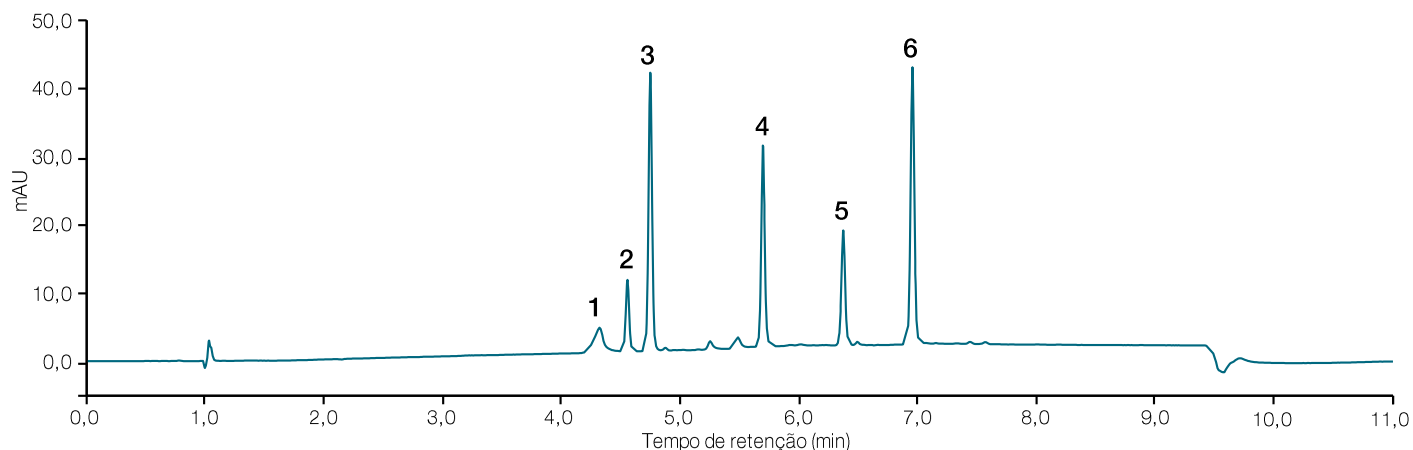


Figura 2. Cromatograma UV de separação de oxy-PAH (10 ng na coluna por analito); para obter a atribuição de picos, consultar a tabela 1.

Com o espectrômetro de massas ISQ EM, é fácil alternar de ESI para APCI em poucos minutos trocando a sonda da fonte e girando a agulha da APCI até chegar à posição correta com a respectiva alavanca. Como os mecanismos de ionização nos dois modos são explicitamente diferentes, em alguns casos os íons formados não são os mesmos.

A tabela 1 mostra uma visão geral das massas moleculares e da m/z detectada mais abundante dos seis oxy-PAHs sob as condições aplicadas. A maioria dos íons são formados como íons moleculares $[M+H]^+$ protonados no modo positivo e íons moleculares $[M-H]^-$ desprotonados no modo negativo, como é de se esperar com a experiência de ESI-MS. No entanto, o 1-hidroxipireno é detectado como íon molecular $[M]^+$ no modo positivo de ESI e a 1,4-antraquinona e a benzantrona são detectadas como íons $[M]^-$ no modo negativo de APCI, porém não são detectadas no modo negativo da ESI. O último caso se deve a um fenômeno bem conhecido chamado ionização negativa de captura de elétrons, que se observa na APCI para moléculas que carecem hidrogênio abstraível.⁶ As figuras 3 a 6 mostram os espectros nos modos APCI e ESI para os oxy-PAHs analisados.

O hidroxipireno é bem detectado nas duas polaridades e modos de ionização, enquanto que o ácido 2-naftóico, 2-naftol e 1-tetralona podem ser detectados tanto no modo APCI quanto no modo ESI, mas somente com uma polaridade realizando corridas de verificações completas. Com a verificação SIM do íon $[M+H]^+$, o naftol é ainda detectado no modo positivo de APCI. O íon $[M+H]^+$ de benzantrona se forma facilmente nos dois modos de ionização positiva, mas enquanto a APCI induz o íon $[M]^-$ no modo negativo, a detecção não é possível no modo negativo de ESI. A 1,4-antraquinona fornece bons sinais na polaridade positiva e negativa com a APCI, mas não é observável em nenhuma das verificações completas no modo ESI.

Somente com uma verificação SIM do íon $[M+H]^+$ ele foi detectável na forma de um pequeno sinal e, portanto, mal pode ser detectado sob as condições de ESI com a quantidade absoluta injetada de 10 ng na coluna. Além dos íons moleculares descritos, podem ser observadas algumas outras espécies, provavelmente adutos, com quantidades significativas nos espectros da ESI – no modo negativo para o ácido naftóico (m/z 365) e modo positivo para o hidroxipireno (m/z 247 e 301) e benzantrona (m/z 253 e 285) – enquanto que no modo APCI somente um único aduto foi observado para a tetralona (m/z 179).

Tabela 1. Visão geral da retenção de oxy-PAHs, massas moleculares e m/z mais abundante observado; t_R (UV): tempo de retenção no detector UV (vide figura 2), MW: peso molecular, +/-: modo positivo/negativo, n.d.: não detectado. m/z em parênteses é pouco detectável a partir de verificações completas, mas detectáveis em verificações SIM, os campos preenchidos em azul indicam os melhores resultados de detecção por MS para cada composto (consultar também a figura 4).

Nº	Composto	t_R (UV) [min]	MW [Da]	m/z APCI +	m/z APCI -	m/z ESI +	m/z ESI -
1	ácido 2-naftóico	4,33	172,2	n.d.	171 $[M-H]^-$	n.d.	171 $[M-H]^-$
2	2-naftol	4,56	144,2	(145) $[M+H]^+$	143 $[M-H]^-$	n.d.	143 $[M-H]^-$
3	1-tetralona	4,75	146,2	147 $[M+H]^+$	n.d.	147 $[M+H]^+$	n.d.
4	1,4-antraquinona	5,70	208,2	209 $[M+H]^+$	208 $[M]^-$	(209) $[M+H]^+$	n.d.
5	1-hidroxipireno	6,37	218,3	219 $[M+H]^+$	217 $[M-H]^-$	218 $[M]^+$	217 $[M-H]^-$
6	benzantrona	6,95	230,3	231 $[M+H]^+$	230 $[M]^-$	231 $[M+H]^+$	n.d.

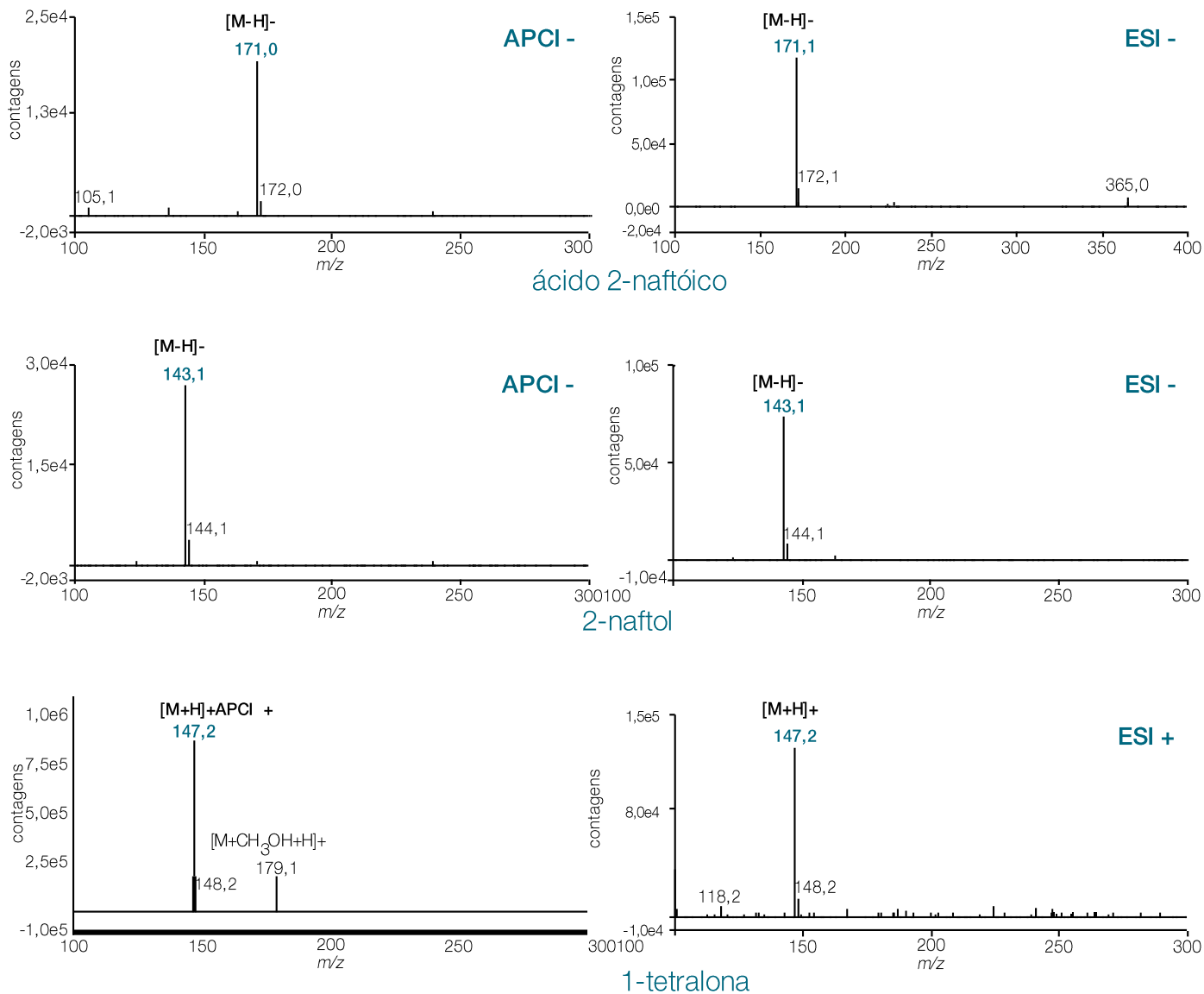


Figura 3. Espectros de fundo de massas subtraídas para os compostos de oxy-PAH analisados na APCI e ESI nos modos positivo (+) e negativo (-); os íons m/z mais abundantes estão marcados; os espectros de fundo foram obtidos a partir de áreas de branco próximas aos picos correspondentes.

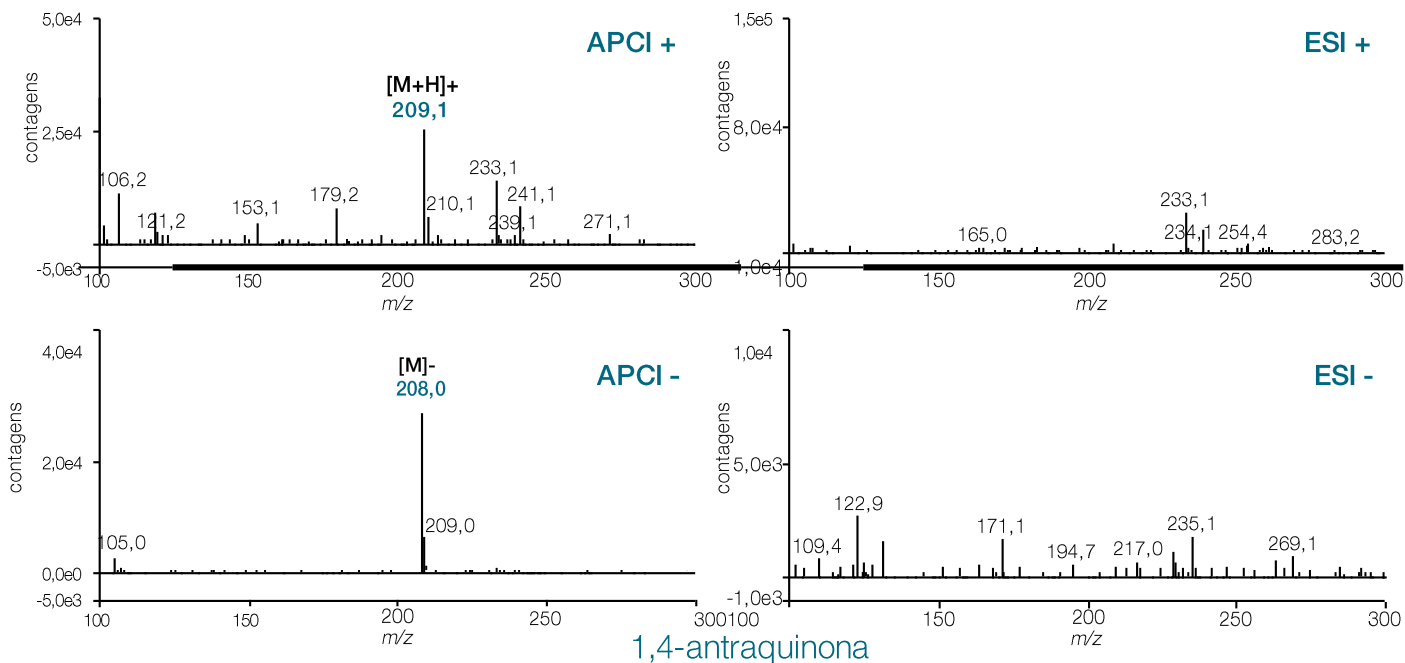


Figura 4. Espectros de fundo de massas subtraídas para 1,4-antraquinona na APCI e ESI nos modos positivo (+) e negativo (-); os íons m/z mais abundantes estão marcados; os espectros de fundo foram obtidos a partir de áreas de branco próximas aos picos correspondentes.

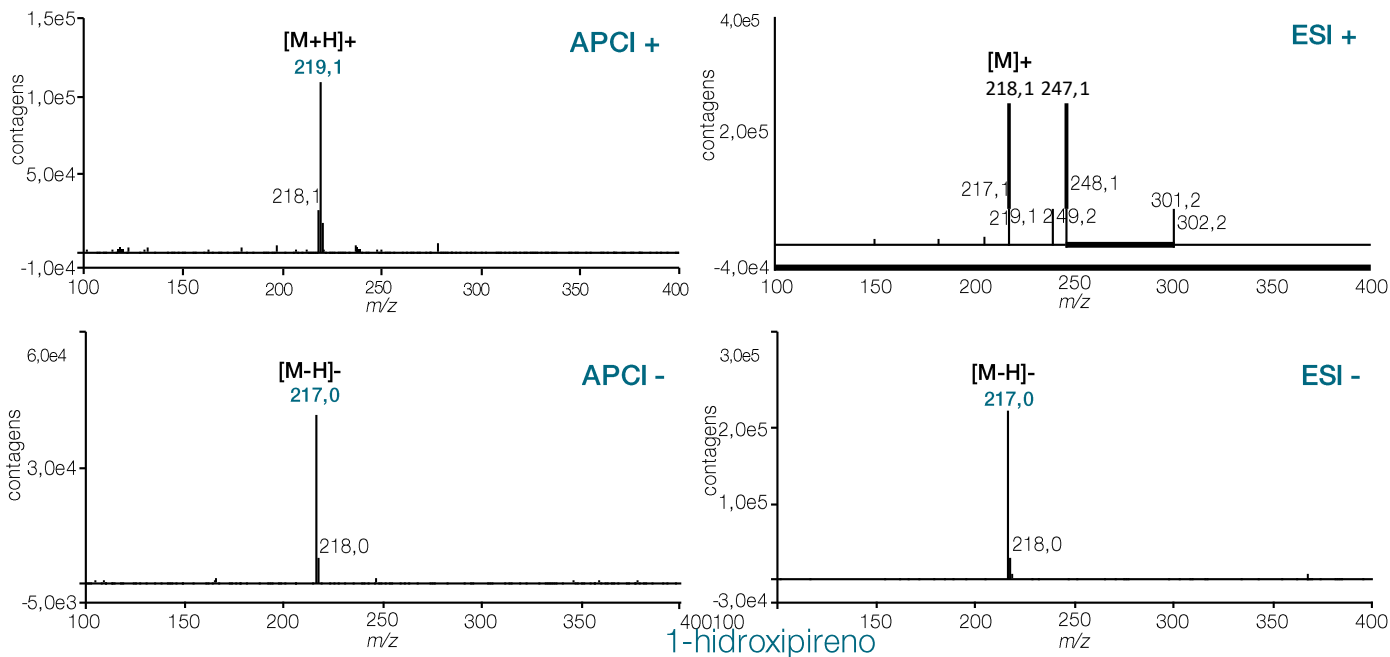


Figura 5. Espectros de fundo de massas subtraídas para 1-hidroxi-pireno na APCI e ESI nos modos positivo (+) e negativo (-); os íons m/z mais abundantes estão marcados; os espectros de fundo foram obtidos a partir de áreas de branco próximas aos picos correspondentes.

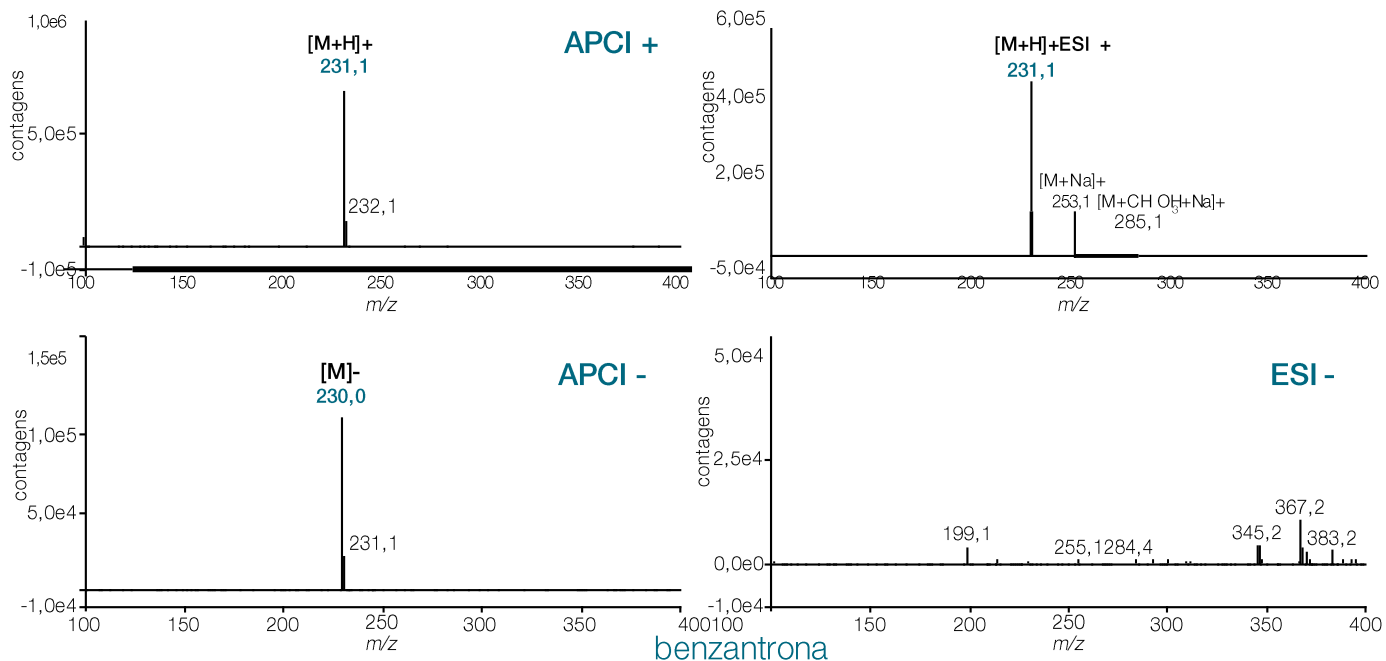


Figura 6. Espectros de fundo de massas subtraídas para benzantrona na APCI e ESI nos modos positivo (+) e negativo (-); os íons m/z mais abundantes estão marcados; os espectros de fundo foram obtidos a partir de áreas de branco próximas aos picos correspondentes.

Uma comparação das áreas de pico na MS e as relações sinal-ruído (S/N) do m/z mais abundante é mostrada na figura 7. Observando a parte C e D da figura 7 fica claro que a ESI na polaridade negativa exibe alguns benefícios em relação à APCI em termos de sensibilidade. As áreas de picos para os três compostos detectados na ESI em modo negativo são maiores do que na APCI em modo negativo. Entretanto, o S/N é somente maior em dois dos três componentes e com a APCI dois outros analitos foram detectados em modo negativo.

As partes A e B da mesma figura exibem uma ampla vantagem da APCI em modo positivo. As respostas de sinais são semelhantes ou maiores do que com a ESI, mas o S/N é melhor para todos os compostos detectados na APCI. Em suma, a APCI é uma melhor opção em relação ao modo ESI padrão para esses tipos de análises.

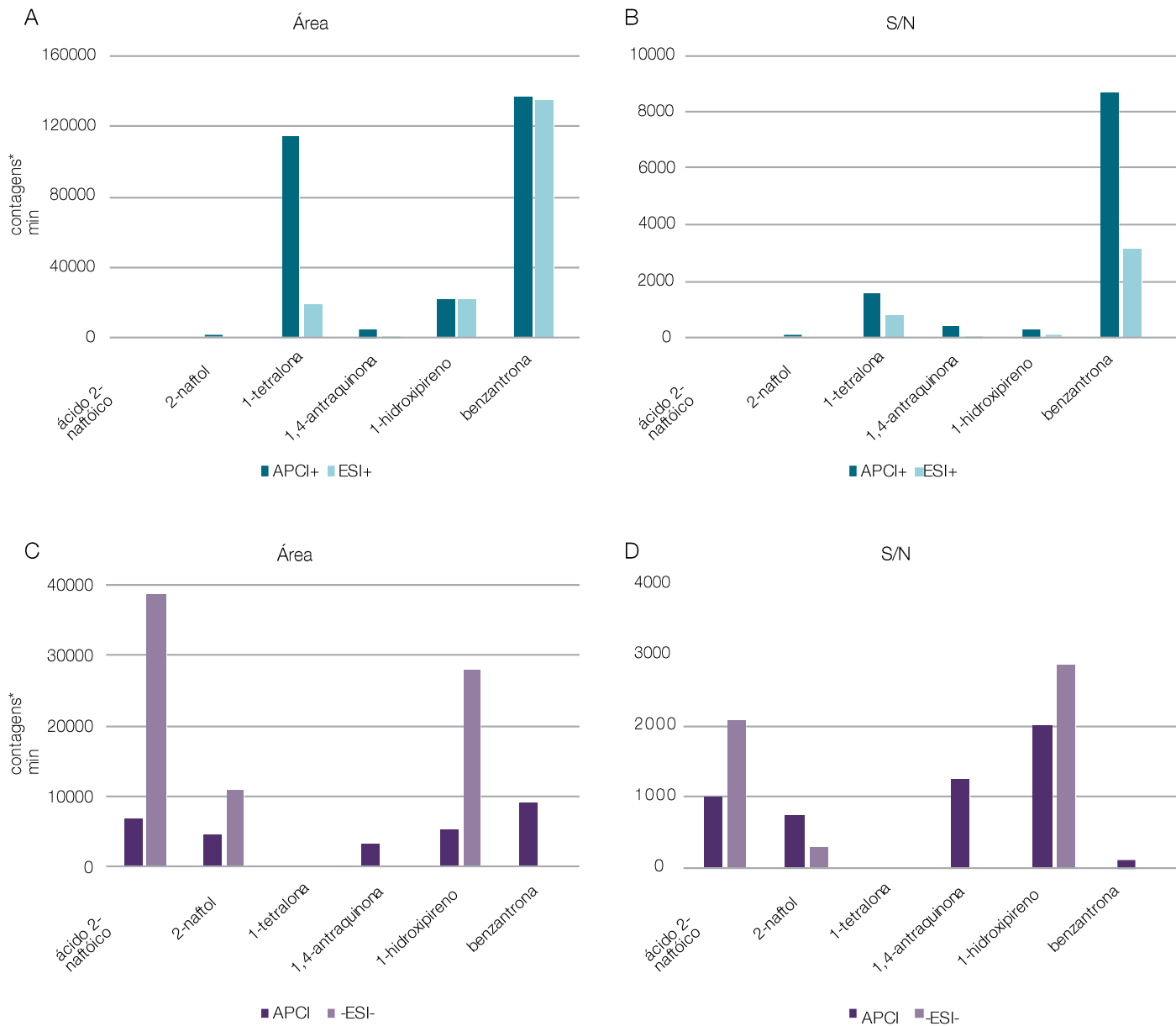


Figura 7. Comparação das áreas de picos por MS na APCI e ESI nos modos positivo (+) e negativo (-)

Conclusões

Embora o modo ESI padrão tenha apresentado sensibilidade de detecção maior para alguns analitos na polaridade negativa, o modo APCI é uma melhor opção para modo MS na aplicação atual pelos seguintes fatores:

- Todos os seis oxy-PAHs foram facilmente detectados no modo APCI, enquanto que no modo ESI um composto mal pôde ser detectado com $S/N \approx 12$.
- As moléculas com ausência de hidrogênio ácido, que não eram ionizáveis pela ESI em modo negativo, podiam ser ionizadas através da captura de elétrons na APCI em modo negativo.
- Os valores de S/N foram melhores com a APCI para a maioria dos analitos.
- Menos adutos formados no modo APCI.

Referências

1. Lundstedt, S. et al., Primeiro estudo de comparação cruzada da análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados (oxy-PAHs) e compostos aromáticos policíclicos heterocíclicos nitrogenados (N-PACs) em solos contaminados. *Trends Anal. Chem.* **2014**, *57*, 83-92.
2. Singh, L., Agarwal, T., Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos na dieta: Respeito pela saúde pública. *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, *79*, 160-170.
3. Walgraeve, C. et al., Desenvolvimento de um método analítico para determinar oxy-PAHs e PAHs em folhas de *Taxus baccata*, *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, *409*, 335-347.
4. Cochran, R.E., Smoliakova, I.P., Kubatova, A., Detecção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados e nitrogenados usando espectrometria de massas de alta resolução com ionização química à pressão atmosférica. *Int. J. Mass Spectrom.* **2016**, *397-398*, 6-17.
5. Kumar, S., Negi, S., Maiti, P., Técnicas biológicas e analíticas usadas para a detecção de hidrocarbonetos poliaromáticos. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*, 25810-25827.
6. Grosse, S., Letzel, T., Cromatografia líquida/espectrometria de massas com ionização à pressão atmosférica com mistura de líquidos pós-coluna para obter uma determinação eficiente de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos parcialmente oxidados. *J. Chrom. A* **2007**, *1139*, 75-83.

Saiba mais em thermofisher.com/ISQEM

ThermoFisher
SCIENTIFIC