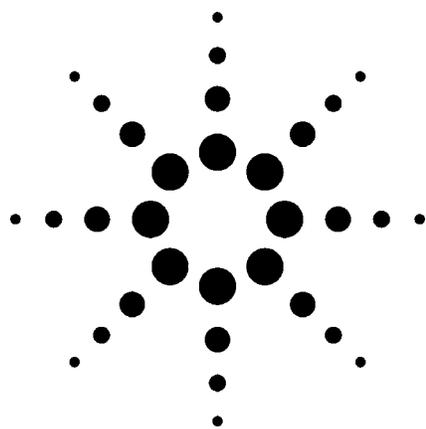


# 采用LC/TOF和LC/离子阱MS查找和确证鉴定沉淀物样品中的未知物



## 应用

法医、食品安全、环境保护

## 作者

Paul Zavitsanos  
安捷伦科技公司  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808-1610  
美国

## 摘要

本文介绍了飞行时间和离子阱质谱如何结合对未知化合物进行高度可靠的鉴定。飞行时间质谱提供了非常准确的母体化合物的质量，而离子阱质谱提供了碎片数据，两者结合将极大地减少了候选化合物数量，并增加了确证度。

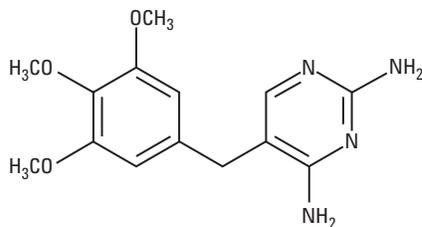
## 引言

未知有机化合物最好通过质谱图数据进行鉴定。离子阱质谱和飞行时间(TOF)质谱能够以平行方式采集质谱数据，具有很高的质谱灵敏度。串行扫描仪器，比如：三级四极杆和单级四极杆，其扫描模式不能提供像它们在选择离子监测(SIM)模式中那样高的色谱灵敏度。

高的质谱灵敏度在鉴定低含量未知物时是有优势的。电喷雾离子化(ESI)飞行时间的准确质量测定将大大增加鉴定的可信度，因为它限制了可能的候选化合物数量。质量测定的精密度和准确度越高，给定准确质量的可能化合物数量就越少。

MS/MS碎裂数据补充了准确的质量数据。当准确质量一致时，碎片数据通常能区分相同化合物的异构体。离子阱MS/MS在谱图区域非常灵敏，安捷伦先前的文献[1, 2, 3]描述了飞行时间的原理、技术和应用。

本文选择药物甲氧苄啶(trimethoprim) ( $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , 290.1379 Da)作为化合物实例来说明这一技术的应用。



## 实验部分

### LC条件

流动相 A=10 mM甲酸铵, @ pH 4.5  
B=乙腈(ACN)

梯度: 7分钟内从5% B到90% B, 在90% B处保持  
2分钟, 再在10分钟内返回到5% B

流速: 0.5 mL/min

色谱柱: ZORBAX XDB C-18, 2.1 mm x 50 mm, 3.5  $\mu$ m

### MS条件

仪器: Agilent LC/TOF正离子模式电喷雾(ESI)和Agilent LC/离子阱XCT正离子模式ESI, 依据实验而定

喷雾器压力: 55 psi

$V_{cap}$ : 3500 V

进样量: 2到20  $\mu$ L, 因样品而异

样品: 20种药物标准品  
沉积物样品: 甲醇/水溶液, 美国地质勘探局从湖中的沉积物中萃取得到。

## 结果 - TOF扫描

从20种药物混合物中选择甲氧苄啶做进一步检验。其色谱和质谱图示于图1(保留时间=2.11 min,  $(M+H)^+=291.1452m/z$ )。

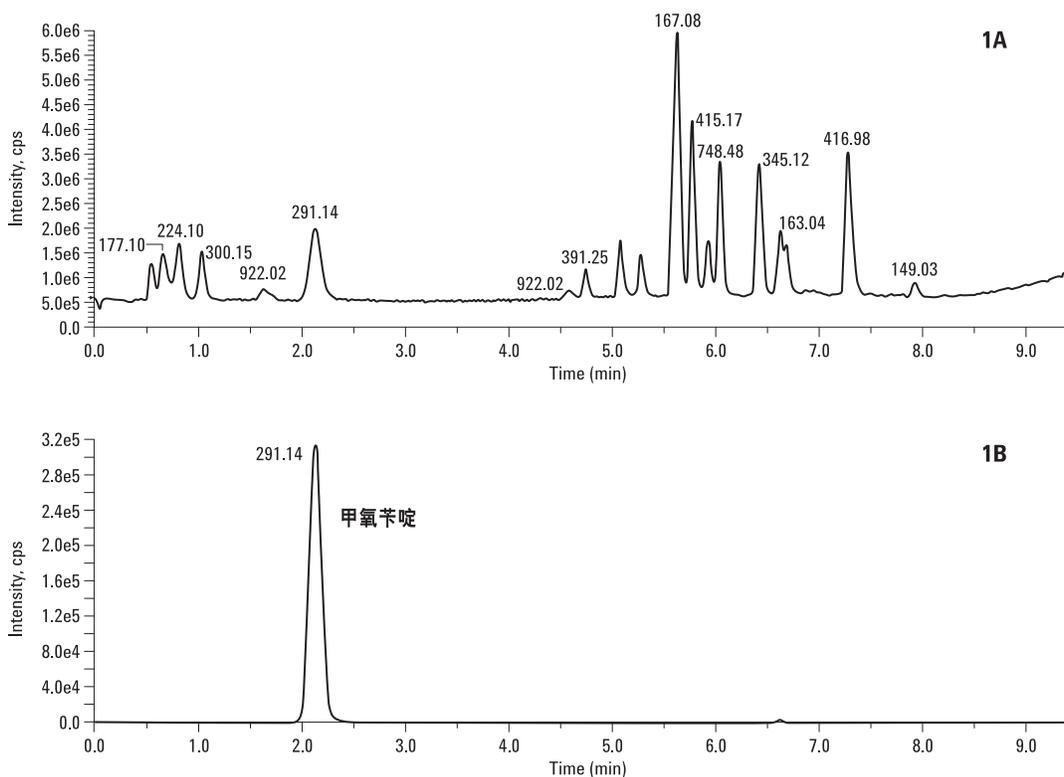


图1. 20种药物标样的总离子流色谱图(TIC)(1A)和提取离子色谱图(EIC), 291.12-291.16  $m/z$ 为甲氧苄啶(1B)。两个图使用正离子ESI TOF/MS得到(1B)的(EIC)。

## 沉积样品

根据图1所示的信息，开始时使用ESI TOF/MS对沉积样品萃取物中的甲氧苄啶进行分析。

沉积萃取物的TIC和EIC如图2所示。如果有甲氧苄啶，也完全隐藏在TIC(图2A)中，但EIC(291.12-291.16  $m/z$ ) (图2B)显示2.11min有个峰。保留时间(RT)和萃取离子质量与甲氧苄啶一致，同时，TOF能提供高分辨率、准确的质谱图。

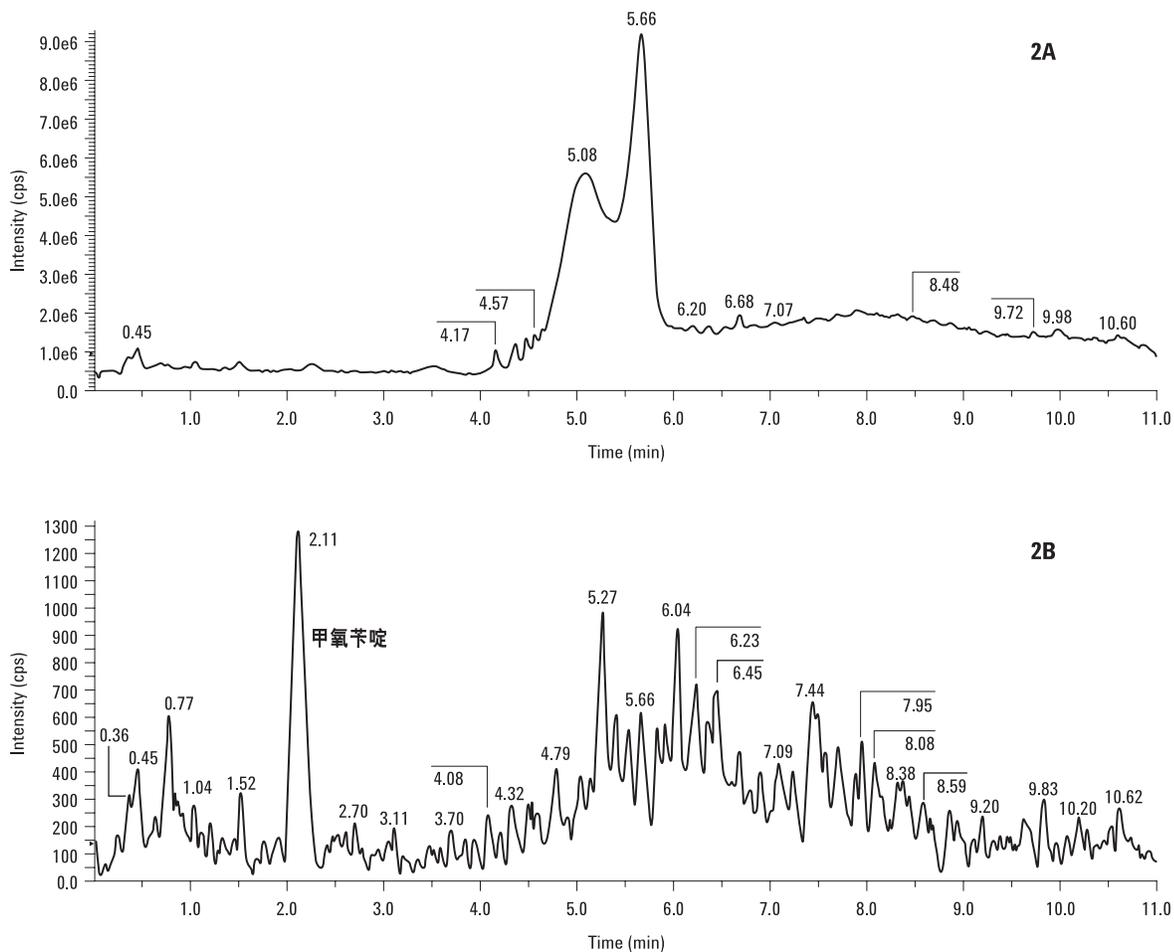


图2. 沉积物萃取物的TIC(2A)和EIC(2B)，离子萃取设定为291.12-291.16  $m/z$ 。

图3A为从平均质谱图(浅色条)中减去谱图背景(深色条)的结果,图3B显示准确的质谱图。即使在这么低的含量,TOF的分辨率和准确质量特征仍适用,不须对锁定质量阈值进行调整。

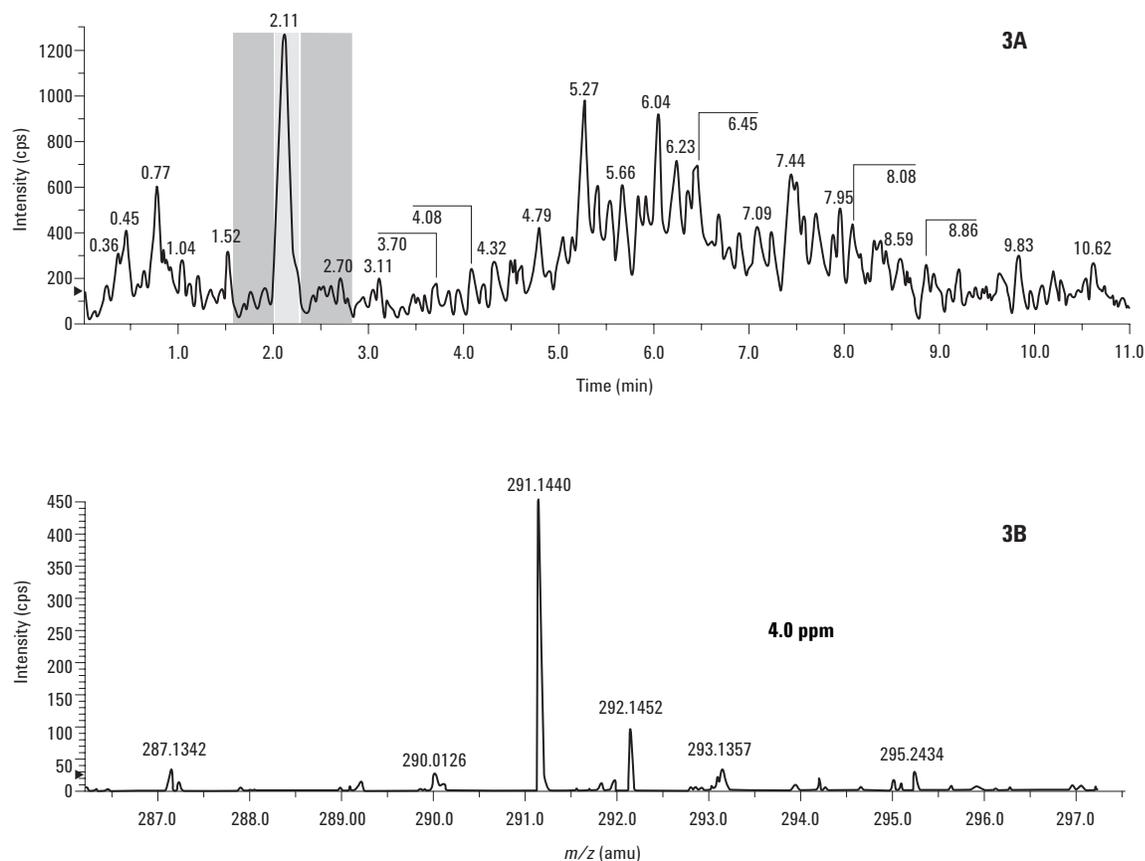


图3. 图3A为291.12-291.16  $m/z$ 区域的EIC, 而图3B为在减去图示相邻区域之后2.016-2.271 min范围内出现的峰的TOF。甲氧苄啶的实验和计算质量之间的相对差别为4.1267 ppm。

虽然保留时间和准确质量是鉴定甲氧苄啶的有力证据,但是还有必要检验与这个准确质量子相匹配的其他化合物[2],表1列出了满足所列质量(误差为5 ppm),在设定元素和组成限内所有理论上可能的化合物。

表1. 291.1440道尔顿的可能匹配化合物(误差在5 ppm之内)

分子式	化合物	计算质量	误差, m道尔顿	误差, ppm
$C_{13}H_{23}O_7$		291.1438300	0.1701800	0.5845210
$C_{12}H_{17}N_7O_2$		291.1438240	0.1755640	0.6030130
$C_9H_{20}N_8OCl$		291.1443120	-0.3116530	-1.0704410
$C_{12}H_{25}N_3OS_2$		291.1433580	0.6423160	2.2061760
$C_{14}H_{27}O_2S_2$		291.1447000	-0.7003800	-2.4056090
$C_{14}H_{19}N_4O_3$	甲氧苄啶	291.1451670	-1.1671320	-4.0087720

6个化合物满足5 ppm的误差，但根据图3B中对谱图的观察，未知物不可能含有氯，因此剩下5个候选化合物。

## 结果——离子阱确认

下一步就是确认。这里，相当标准的MS/MS技术能确认TOF数据。

使用安捷伦离子阱MS，采集了标样的正离子模式ESI MS数据。图4A所示为TIC图，图4B则是标称质量291  $m/z$ 处的EIC图。

采用安捷伦的离子阱XCT仪器通过分离和碎裂标称质量为291的母离子采集了MS/MS谱图。结果质谱图见图5。

图6为甲氧苄啶标样的萃取MS/MS色谱图。未知物显示了正确的保留时间，且与标称质量291的两种转变形式都一致，这应当很高地确证了甲氧苄啶。

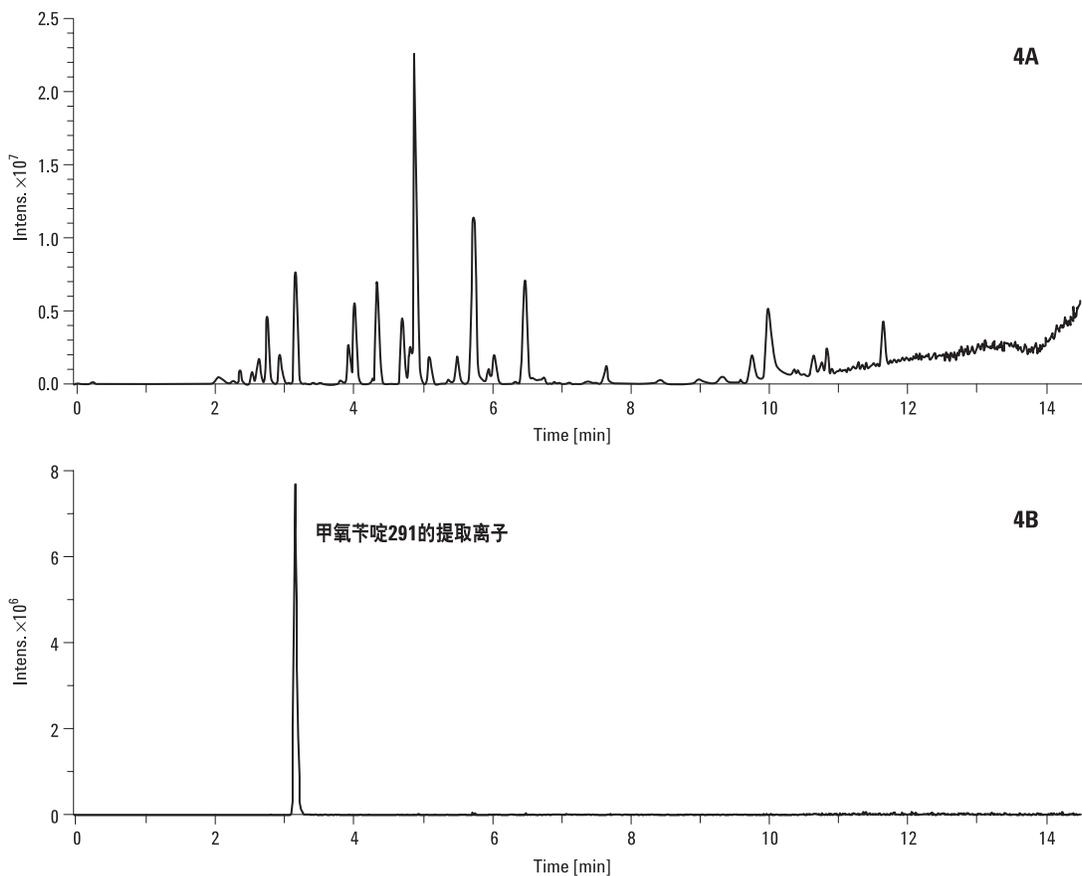


图4. 参比标准品的标准TIC图(4A)，以及目标离子291的EIC图(4B)，注意保留时间。

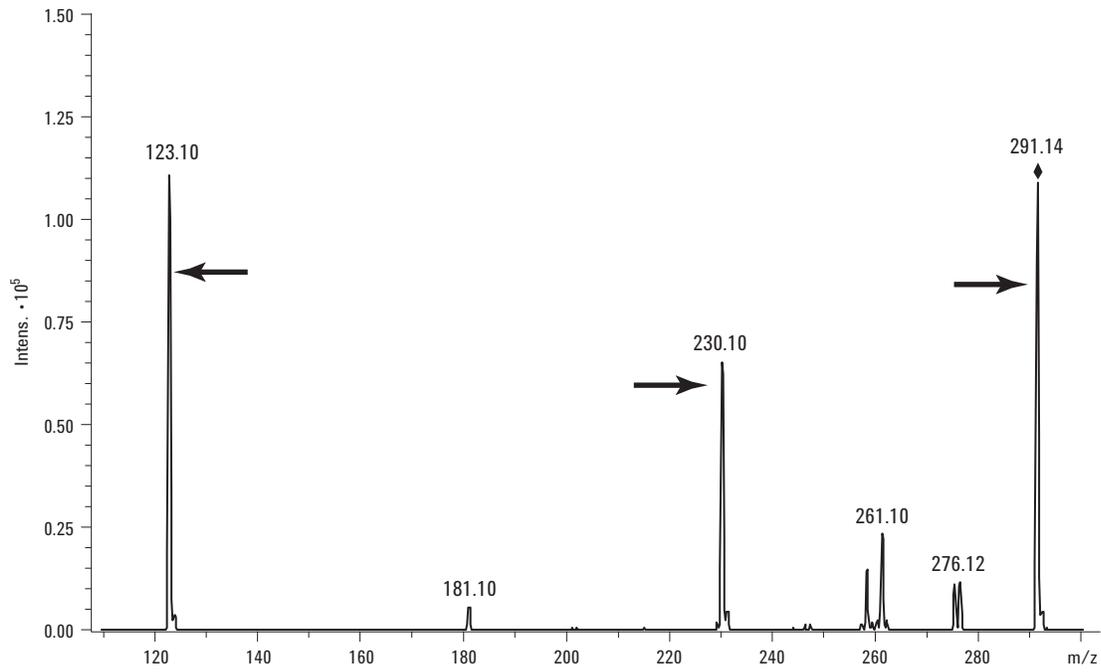


图5. 采用离子阱XCT得到的质量为291的MS/MS谱图。注意标出的母离子(291.14)和子离子(230.10和123.10)。

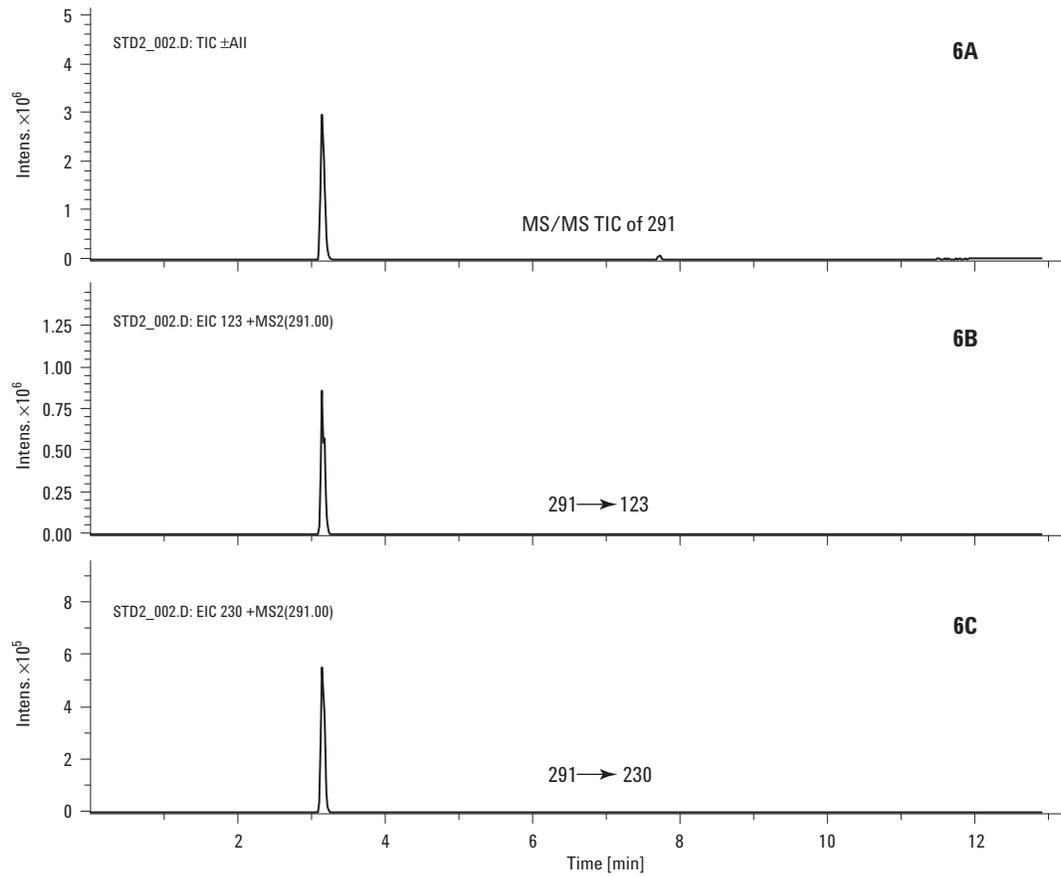


图6. 甲氧苄啶的确证，显示同样保留时间的母离子和子离子。

现在我们将这一知识应用于沉积物萃取样品的分析，见图7。图7显示了三个重叠的色谱图。最上面的色谱图是所有质量为291  $m/z$ 的产物的TIC。另外两个图说明甲氧苄啶特定的转换的291→123  $m/z$ 和291→230  $m/z$ ，只有一个化合物符合满足所有指标。

采用安捷伦的离子阱，可不必仅仅依靠色谱信号。即使在如此低的浓度，也可以采集到MS/MS谱图用于可靠的鉴定，如图8A和8B分别指示的峰1和峰2。质谱图显示只有峰2具有甲氧苄啶特有的291→230  $m/z$ 离子转换。

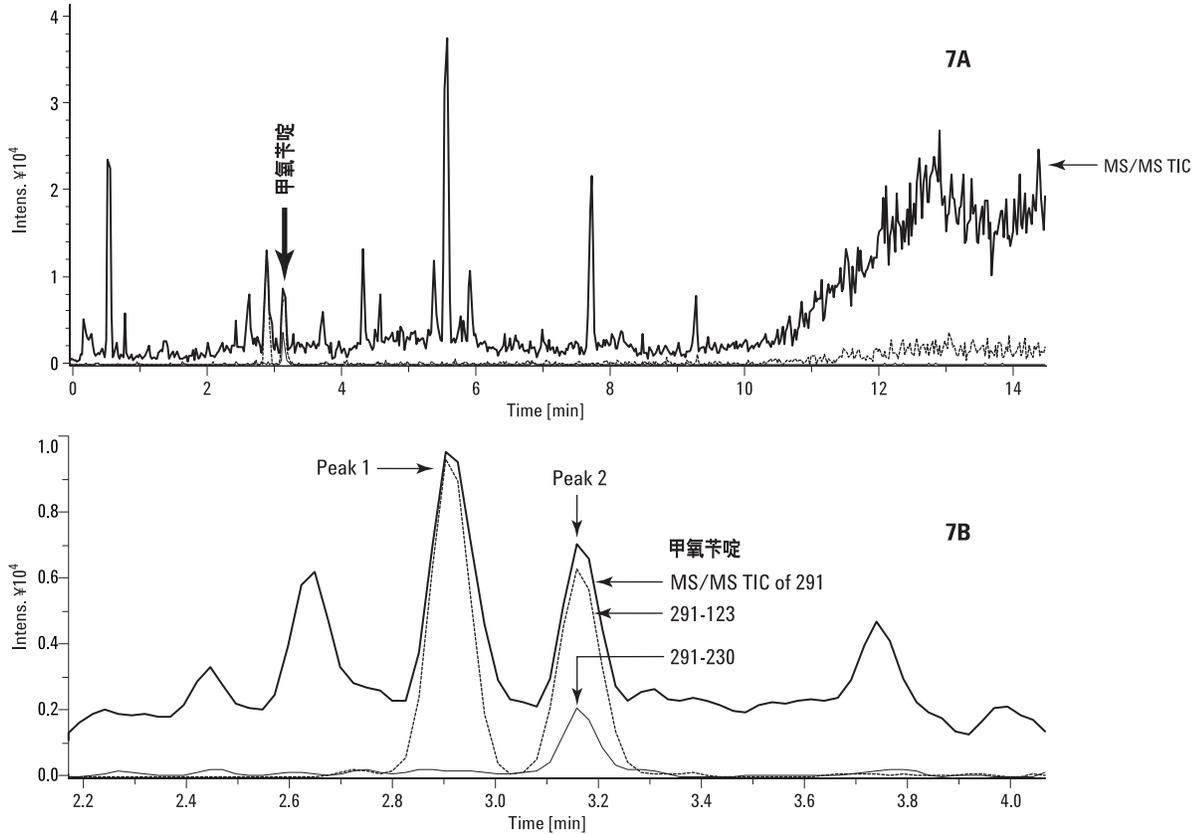


图7. 沉积物样品三个诊断离子的MS/MS色谱图。

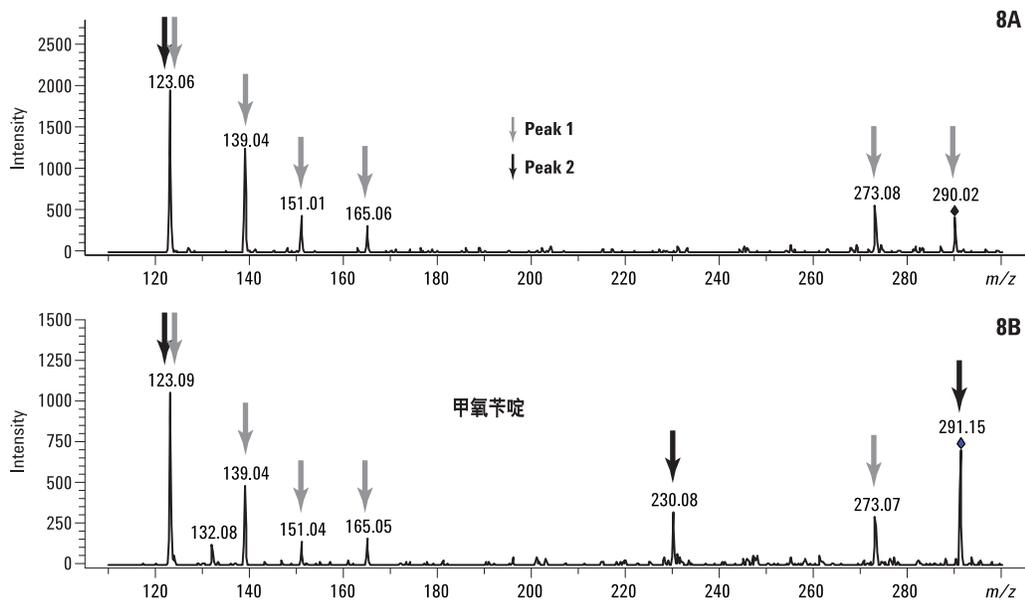


图8. 两个峰的质量色谱图。只有图8B显示有诊断离子230。所以，只有第二个峰是甲氧苄啶。

确信峰2是甲氧苄啶的原因有：

- 准确的甲氧苄啶质量数据，在5 ppm之内，保留时间与甲氧苄啶标样一致。
- MS/MS谱图包含与甲氧苄啶一致的离子。可以解释MS/MS谱图上未知物的离子。
- 所以，确信峰2是甲氧苄啶是最合理的。

## 结论

通过结合使用安捷伦创新性的LC/MS TOF和LC/MS离子阱XCT，可以实现对复杂基质中未知峰进行有效鉴定。

## 参考文献

1. J. Fjeldsted, "Time-of-Flight Mass Spectrometry," Agilent Technologies, publication 5989-0373EN, [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)
2. D. McIntyre, "Automated Empirical Formula Confirmation Using the Agilent LC/MSD TOF," Agilent Technologies, publication 5989-0625EN, [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)
3. D. McIntyre, "Using the Agilent LC/MSD TOF to Identify Unknown Compounds," Agilent Technologies, publication 5989-0626EN, [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

## 欲了解更多的信息

欲了解更多有关产品和服务方面的信息，请访问我们的网站[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)。

安捷伦对本出版物可能有的错误以及由此造成的相关损失不负任何责任。

对本出版物的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技，2004

中国印刷  
2004年4月22日  
5989-0815CHCN

