

利用高分辨率 GC/Q-TOF 在大麻油中 鉴定出的化合物建立天然产物精确质量 谱库

作者

Sofia Nieto 和 Matthew Curtis
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了基于大麻 CBD 油全二维 GC × GC 数据为 GC/Q-TOF MS 创建天然产物精确质量谱库。与一维 (1D) 气相色谱分离相比，全二维 GC × GC 方法能够对复杂基质实现更好的色谱分离。GC × GC 方法对于正确鉴定化合物和提取干净的谱图是必要的，因为谱库是直接通过大麻 CBD 油样品构建的。本研究还提供了使用 GC/Q-TOF 电子电离 (EI) 天然产物谱库的靶向和非靶向筛查工作流程示例。

前言

无论是作为直接使用的产品还是将其用于生产另一种产品，大麻和 CBD 油在全球许多地方的应用越来越普遍。大麻植株（大麻苜蓿）是一种极其丰富的自然资源，常用作纺织纤维和建筑材料以及其他用途^[1, 2]。大麻中产生的具有潜在生物活性的各类化学物质包括大麻素、萜烯和黄酮类化合物^[3]。大麻和大麻产品化学分析的一个重要方向是探索不同大麻品种的化学组成，以鉴定具有特定化学性质的化合物。

源自大麻的浓缩 CBD 油是一种复杂的样品，通常在简单的 1D 配置下会产生 350–560 个色谱峰。因此，全二维 GC × GC 方法可能有利于确保单个组分的色谱分离，而高分辨率精确质量 GC/MS 有助于降低化合物鉴定的不确定性。本应用简报介绍了如何使用 Agilent 7250 GC/Q-TOF 为这些样品类型开发基于保留指数 (RI) 的 EI 精确质量谱库，其目的是缩短整个数据分析时间，并重点关注这类样品中的独特成分。

实验部分

样品和提取

本研究中使用的样品包括用于狗粮的五种不同品种的大麻 CBD 油。

数据采集和数据处理

使用高分辨率 7250 GC/Q-TOF MS 分析了 CBD 油样品和大麻提取物。使用 Zoex ZX2 热调制器（图 1）和 Agilent 7890B 气相色谱在一维气相色谱以及全二维 GC × GC 配置下分离样品。使用 Agilent J&W DB-5ms 超高惰性 30 m 色谱柱采集一维气相色谱数据。GC × GC 配置采用 Agilent DB-5ms 超高惰性 30 m 色谱柱作为第一维色谱柱，使用 2.8 m Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱作为第二维色谱柱。数据在 EI 模式下以 70 eV 采集。数据采集参数详见表 1。根据烷烃分子量标准品计算 RIs，以帮助进行化合物鉴定和谱库优化。

使用 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.2 的安捷伦未知物分析软件工具、Agilent MassHunter 定性分析软件 10 和 GC Image GC × GC 软件 2.9 对 GC/Q-TOF 数据进行处理。使用 NIST 17 和 NIST 20 谱库进行初始化合物鉴定。

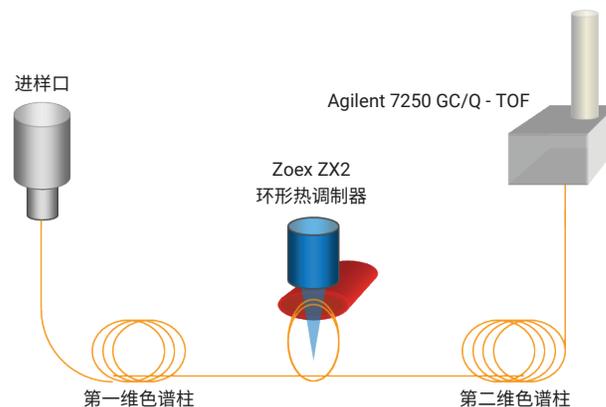


图 1. Zoex ZX2 热调制器的示意图

表 1. 数据采集参数

GC 和 MS 条件	2D	1D
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF	
GC	Agilent 7890B GC	
进样口	多模式进样口，4 mm 安捷伦超高惰性进样口衬管，单锥，带玻璃毛	
进样口温度	280 °C	
进样量	1 µL	
色谱柱	第一维：Agilent J&W DB-5ms 超高惰性柱，30 m × 0.25 mm，0.25 µm	Agilent J&W DB-5ms 超高惰性柱，30 m × 0.25 mm，0.25 µm
	第二维：Agilent J&W DB-HeavyWAX，2.8 m × 100 µm，0.1 µm	-
柱温箱升温程序	60 °C（保持 5 min）； 以 3 °C/min 升至 290 °C， 保持 25 min	60 °C（保持 5 min）； 以 4 °C/min 升至 300 °C， 保持 7 min
载气	氮气	
色谱柱流速	1 mL/min，恒流模式	
调制周期	6 s	-
冷射流流速	13 L/min	-
热射流温度	300 °C	-
热射流持续时间	320 ms	-
传输线温度	280 °C	
四极杆温度	150 °C	
离子源温度	200 °C	
电子能量	70 eV	
发射电流	5 µA	
谱图采集速率	50 Hz	5 Hz
质量数范围	m/z 40–650	

结果与讨论

创建天然产物的精确质量谱库

本研究的目的是创建一个基于大麻 CBD 油样品的全面的精确质量个人化合物数据库与谱库 (PCDL), 用于在标准 1D GC 配置下进行高置信度快速筛查。为了实现这些复杂样品的充分色谱分离, 使用全二维 GC × GC 配置采集数据。使用一维配置分析同一组样品, 以验证精确质量谱库和筛查方法。

使用 GC Image GC × GC 软件实现 GC × GC 数据的可视化, 并使用 NIST 17 和 NIST 20 谱库初步鉴定化合物。使用从 C₈ 到 C₃₀ 的烷烃分子量标准品计算第一维科瓦茨 RIs, 并用于其他化合物鉴定。在 2D 图上, 可以清楚地看到不同化合物类别的分离 (图 2)。

通过确认化合物的化学类别, 2D 保留时间 (RT) 显著提高了化合物鉴定的可信度。

此外, 还使用碎片离子的精确质量和准确同位素比, 通过减少可能的元素组成来提高 CBD 油样品成分鉴定的可信度。使用 MassHunter 定性分析软件对化合物谱图进行碎片分子式标注 (图 3A)。在基于各个离子的元素组成将实测 m/z 自动转换为理论值后, 将注释的谱图导出到 PCDL (图 3B)。当无法明确鉴定异构体时, 将为化合物分配一个索引分子式而不是名称。目前的 PCDL 包含大约 350 种化合物的谱图, 其中 260 多个条目分配了名称和结构。

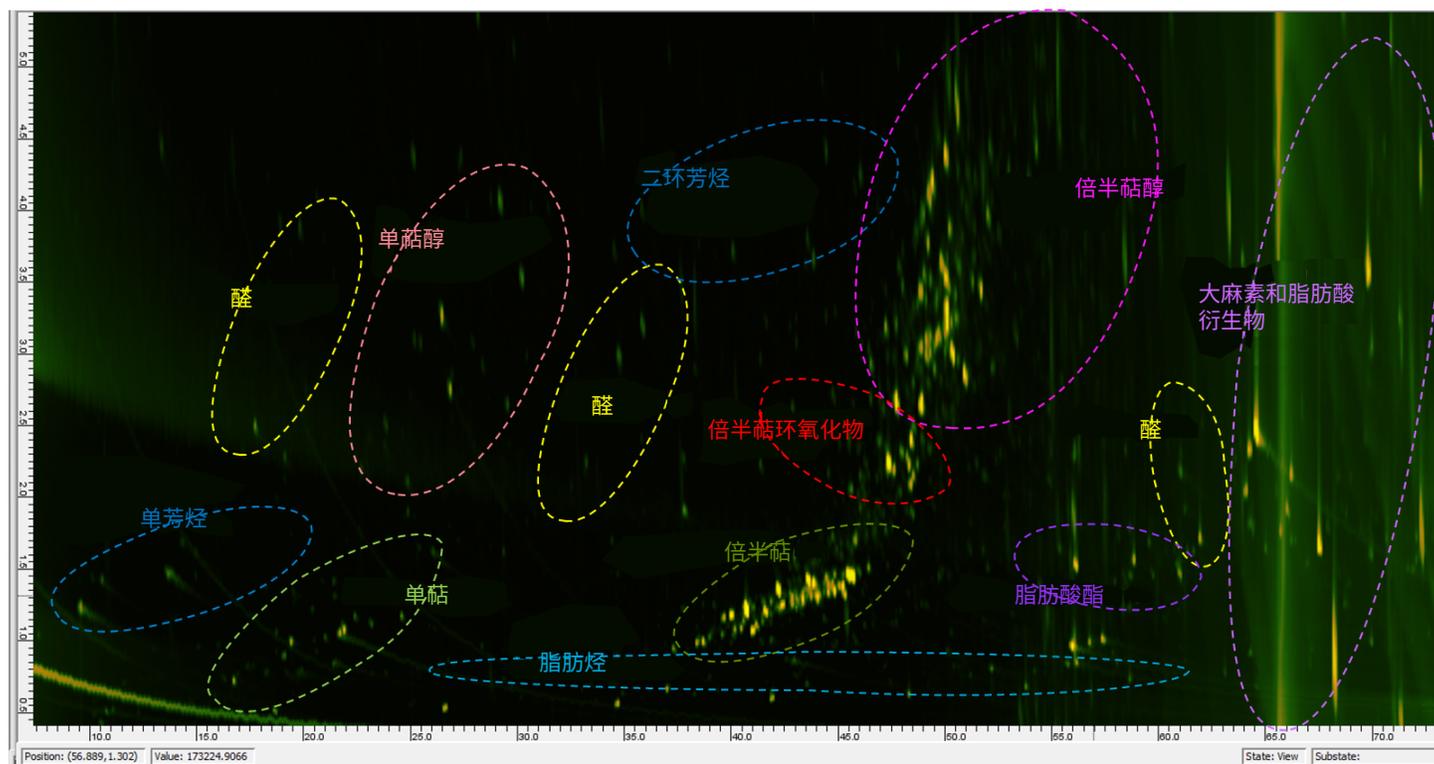
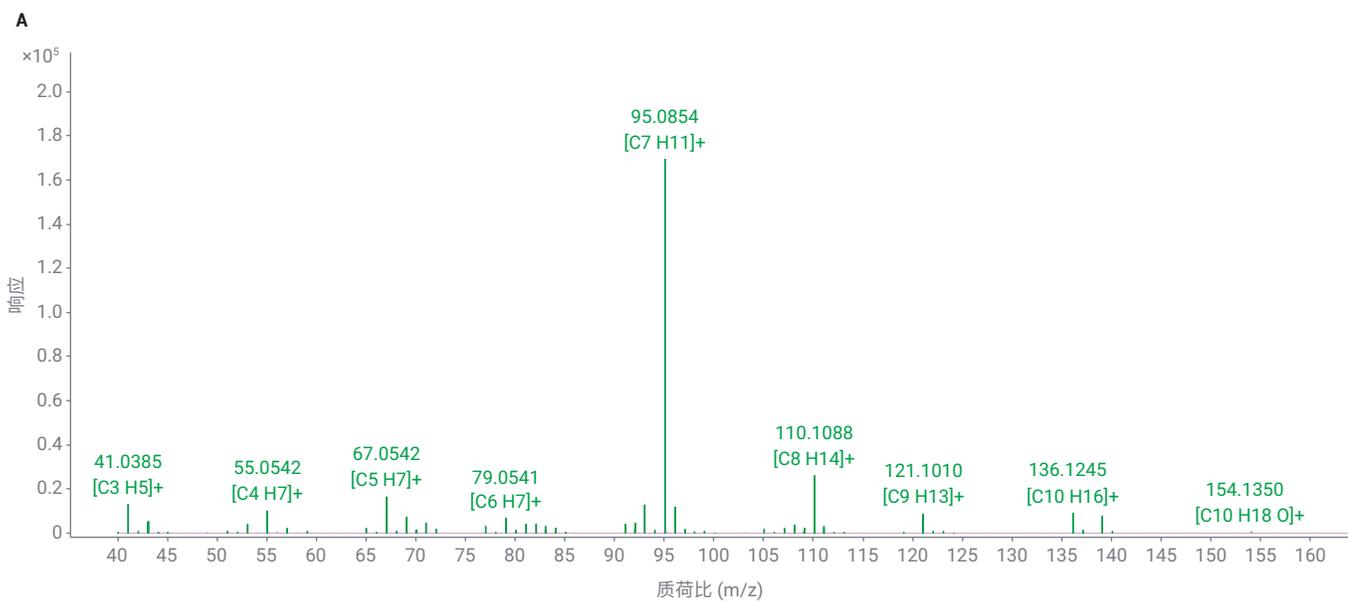


图 2. CBD 油样品的 GC × GC/Q-TOF 色谱图上的化合物类别



B

Name	Fomula	Mass	Retention Time	Retention Index	Cation	Anion	CAS
C11H18-1	C11H18	150.14085	15.03	1134			
C10H16O-2	C10H16O	152.12012	15.13	1137			
cis-2-Nonenal	C9H16O	140.12012	15.508	1147			
Acetic acid, 2-propylpentyl ester	C10H20O2	172.14633	15.535	1148			
C11H18-2	C11H18	150.14085	15.7	1152			
C10H14-4	C10H14	134.10955	15.735	1153			
5-Methylundecane	C12H26	170.20345	15.85	1156			
n-Pentyl benzene	C11H16	148.1252	15.9	1157			
Dihydrocarvone	C10H16O	152.12012	15.9	1157	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7764-50-3
trans-2-Nonenal	C9H16O	140.12012	15.99	1160	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	18829-56-6
endo-Borneol	C10H18O	154.13577	16.45	1171	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	507-70-0
C10H16O-4	C10H16O	152.12012	16.58	1175	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	00-00-0

+EI MS1 QTOF FV=70

Abundance

m/z

图 3. (A) 谱图的碎片分子式标注是创建高质量精确质量谱库的重要步骤。(B) 大麻和天然产品的 PCDL 包括保留时间和保留指数。所有谱图都具有碎片离子的理论 m/z

PCDL 中不同化合物类别的分布情况，包括那些尽可能确定了其分子式的化合物，如图 4 所示。单萜类、倍半萜类和各种醇几乎占 PCDL 中谱图总数的一半。

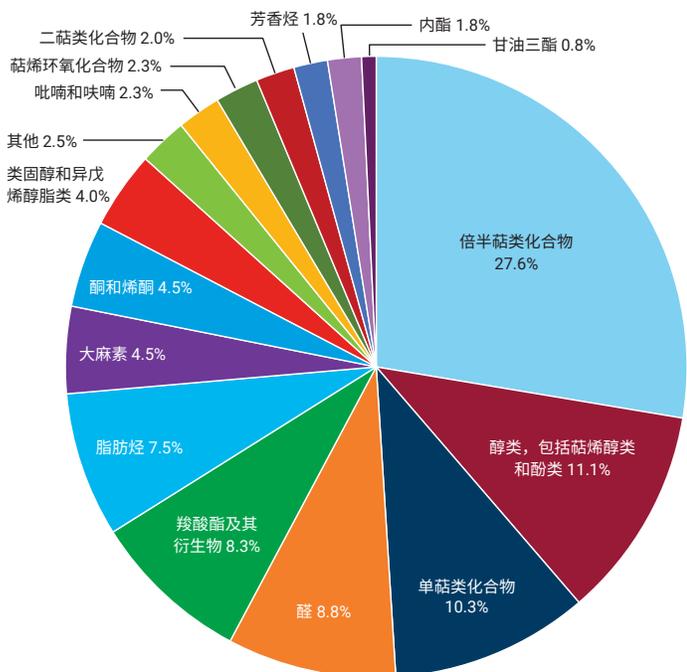


图 4. PCDL 中的化合物类别

使用精确质量谱库的靶向和非靶向工作流程

使用从大麻 CBD 油样品中采集的天然产物 PCDL 和 1D GC/Q-TOF 数据评估了靶向和非靶向工作流程。在未知物分析软件中进行非靶向分析 (图 5)。使用精确质量的解卷积算法 (SureMass) 从基质中分离单个组分，并使用新的天然产物 PCDL 进行化合物鉴定。值得注意的是，尽管 1D 和 2D GC 方法之间柱温箱升温程序存在差异，但观察到的组分和匹配结果之间的 RIs 差异很小 (图 5B)。

使用 GC 筛选算法，在 MassHunter 定量分析软件中进行靶向筛查 (图 6)。如果有标准品，该工作流程有助于同时进行疑似物筛查和靶向定量分析。这种方法的另一个优点是用户可以逐个化合物设置参数，从而实现高灵活性。每个工作流程的筛查条件都经过了单独优化，以尽可能减少假阳性和假阴性结果。

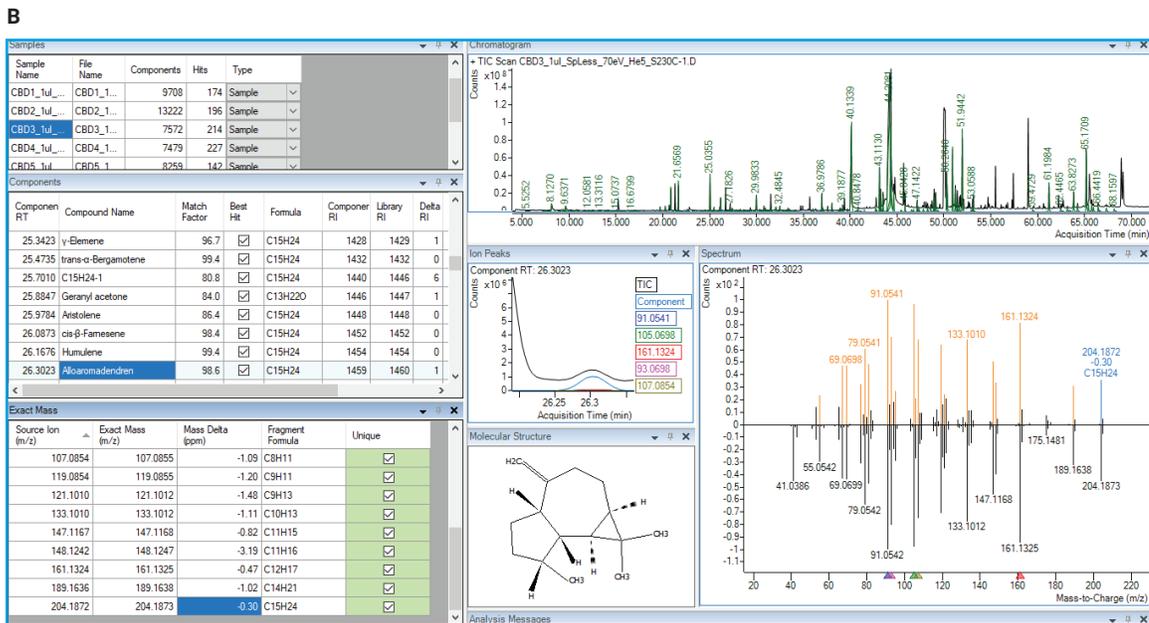
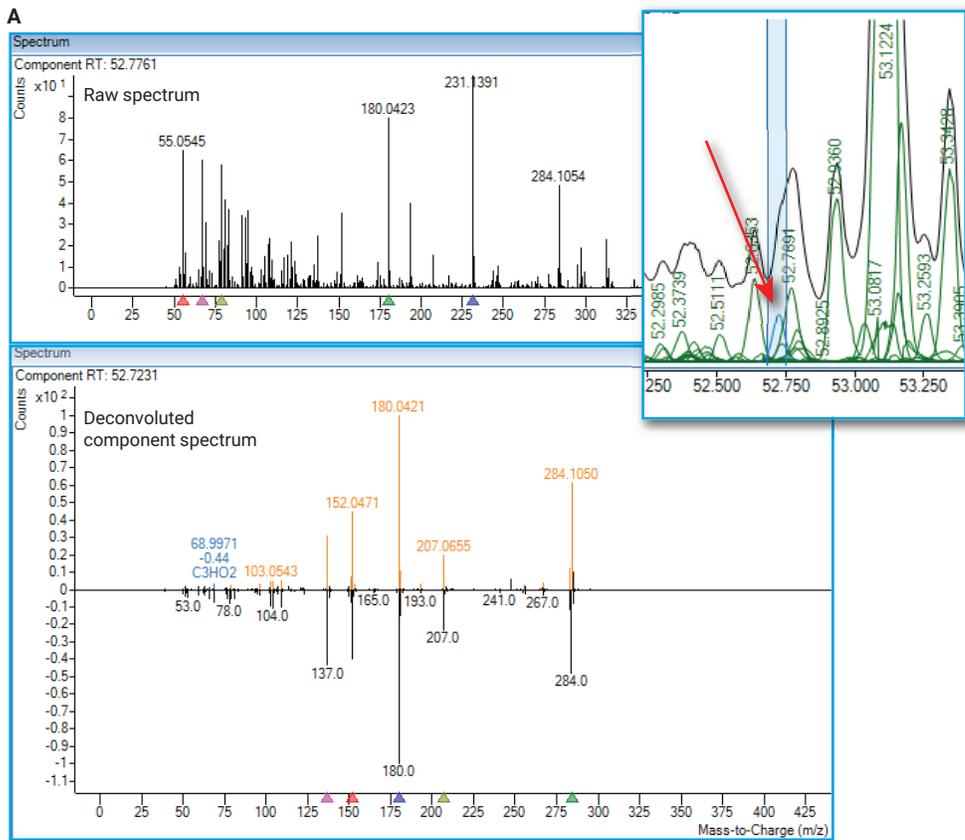


图 5. Agilent MassHunter 未知物分析软件中的非靶向筛查。(A) SureMass 是一种精确质量解卷积算法，可有效提取单个组分的谱图。(B) ExactMass 功能通过检查谱图中的精确质量离子是否符合匹配结果的分子式子集来帮助避免假阳性

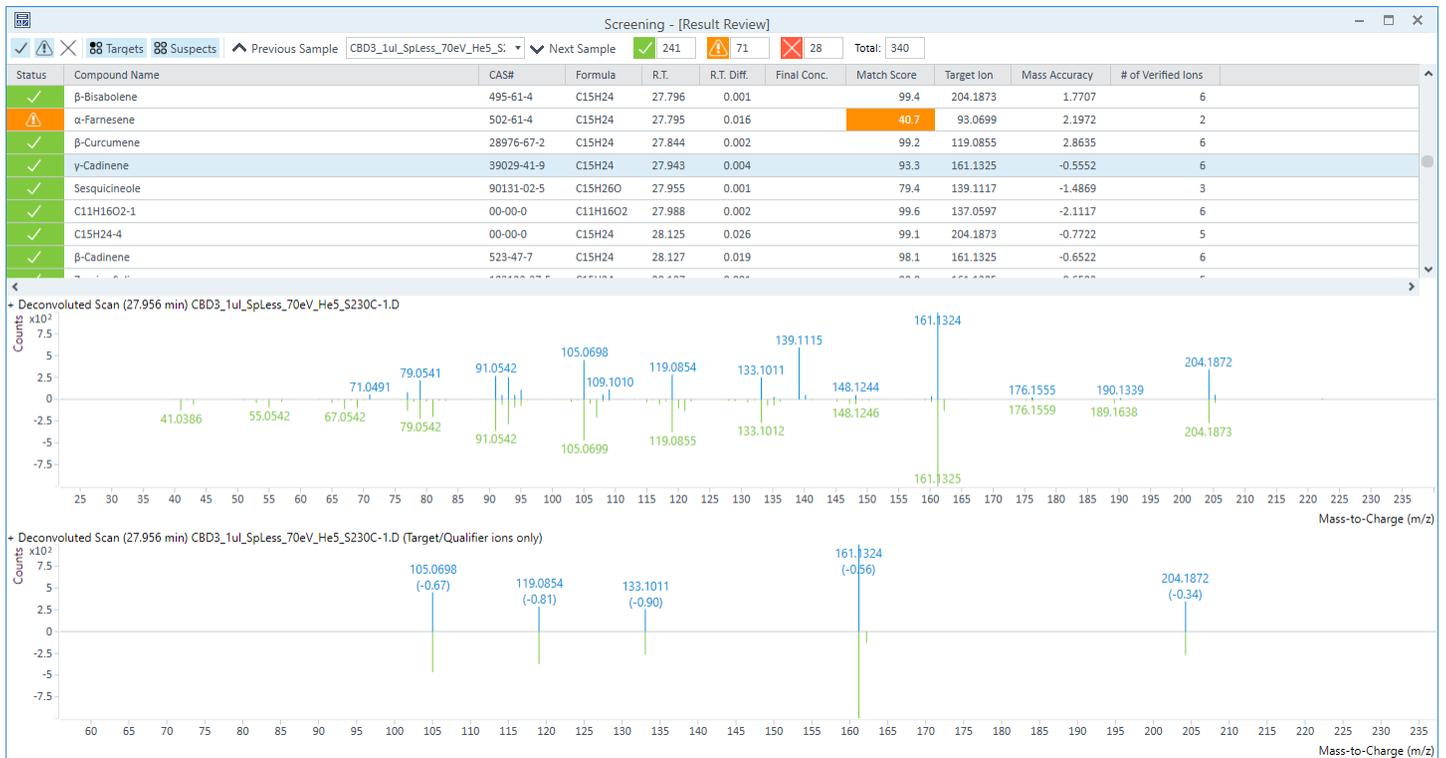


图 6. Agilent MassHunter 定量分析软件中的靶向筛查汇总窗口

在这两种情况下，检测到的大多数实际匹配结果（通过手动验证确认）都获得了 > 80 的高谱库匹配得分 (LMS)（表 2 和表 3）。当使用非靶向方法时，与靶向筛查相比，LMS < 80 的实际匹配结果数明显更高。但是，当使用靶向筛查时，大多数实际匹配结果的 LMS > 90。LMS 阈值是筛查方法的关键参数之一；因此，记住这两种方法之间的这一差异并针对各个应用分别对其进行优化可能会有所帮助。

总体而言，使用精确质量天然产物 PCDL 的靶向和非靶向筛查工作流程鉴定出了相似数量的化合物（表 4），尽管靶向筛查在所有样品中鉴定出的实际匹配结果数略高一点。

表 2. 通过 LMS 在 CBD 油和大麻样品中进行非靶向筛查获得的确认化合物的百分比

匹配得分	CBD1	CBD2	CBD3	CBD4	CBD5	CBD6	大麻提取物
> 90	45.4	48.5	42.5	39.2	41.5	49.3	45.2
80-90	20.1	20.4	24.8	24.2	24.6	23.3	18.3
< 80	34.5	31.1	32.7	36.6	33.8	27.4	36.5

表 3. 通过 LMS 在 CBD 油和大麻样品中进行靶向筛查获得的确认化合物的百分比

匹配得分	CBD1	CBD2	CBD3	CBD4	CBD5	CBD6	大麻提取物
> 90	69.0	63.8	71.4	76.3	64.4	63.1	50.4
80-90	20.5	19.1	16.9	12.1	16.7	20.9	23.9
< 80	10.5	17.0	11.7	11.6	19.0	16.0	25.6

表 4. 在靶向与非靶向筛查方法中鉴定的实际匹配结果数

工作流程/样品名称	CBD1	CBD2	CBD3	CBD4	CBD5	CBD6	大麻提取物
靶向筛查	187	201	230	233	169	172	112
非靶向筛查	174	196	214	227	142	146	104

结论

本应用简报介绍了使用 GC × GC/Q-TOF MS 分析大麻 CBD 油样品，为大麻材料和其他天然产物创建新的精确质量谱库。该谱库旨在用于一维 GC/Q-TOF 数据，并可应要求免费提供。靶向和非靶向工作流程均可使用天然产物 PCDL，且靶向筛查方法的灵敏度略高。

免责声明

安捷伦产品和解决方案旨在帮助实验室进行大麻质量控制和安全检测（在国家/地区法律允许的情况下使用）。

参考文献

1. Andre, C. M.; Hausman, J.; Guerriero, G. Cannabis Sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 19. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019
2. Gallily, R.; Yekhtin, Z.; Hanus, L.O. The Anti-Inflammatory Properties of Terpenoids from Cannabis. *Cannabis Cannabinoid Res.* **2018**, *3(1)*, 282–290. DOI: 10.1089/can.2018.0014
3. Flores-Sanchez, I. J.; Verpoorte, R. Secondary Metabolism in Cannabis. *Phytochem. Rev.* **2008**, *7*, 615–639.

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE00519179

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2022
2022年11月2日，中国出版
5994-5468ZH-CN