

# MassWorks™结合 GC/MS 测定毒鼠强的分子式

李卫建，弓俊杰，欧阳伟明

(北京绿绵科技有限公司，北京 100080)

单四极杆气质联用仪因其价格便宜，操作简单，灵敏度高，适用于多种类型化合物，便携甚至可以移动使用等特点，已成为许多领域的一件常规分析仪器。借助谱库检索（如 NIST 谱库）该类仪器广泛用于已知化合物的常规分析，由于其相对的单位质量分辨和不具有串联质谱功能，该类仪器往往还不满足未知化合物或新化合物定性分析的要求。由文献报导可知，即使是单位质量分辨的质谱也可以获得很高的质量精度，这使得我们对未知物或其碎片的元素组成进行分析成为可能，并且大大促进了代谢物或者其他化合物的鉴定分析能力。化合物的元素组成鉴定是 qTOF 或 FTMS 等高分辨质谱系统的代表性功能，但这类仪器使用和维护成本较高。在不改变硬件系统基础上，更精细和全面的第三方质谱校正软件，可以帮助我们在常规的单位质量分辨仪器上获得必要的高质量精度。MassWorks™软件在 GC/MS 的应用中，仪器自带的校正标样（如 PFTBA），可以直接用于校正方法，获得目标物的准确质量和分子式；此外，由于 EI 离子化方式广泛应用于 GC/MS 系统，在很多情况下，分子离子碎裂成一些明显的碎片离子，通过对这些离子的高精确质量测定可获得非常准确的分子离子和碎片结构的额外信息<sup>[1-5]</sup>。

本文以毒鼠强为例，阐述了 MassWorks™软件在 Agilent GC/MS 用谱图准确度结合其测定的精确质量数识别未知物分子式的方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和材料

Agilent GC/MS 6890 / 5975 联用仪。美国 Cemo Bioscience 公司 Massworks™ 质谱分子式识别软件。以气质调谐液全氟三丁胺（PFTBA）作为校正液，样品在 8.7 min 的未知峰为被测对象。

### 1.2 仪器条件

采用原始扫描（raw scan）模式采集质谱数据，扫面范围 40-550 m/z，扫描速率 2<sup>2</sup>，阈值为“0”；离子源温度：230℃，四级杆温度：150℃。采用内标法采集样品和校正品的数据，200℃等温分离，4-12 min 采集样品数据，目标物在 8.7 min 出峰；12 min 打开校正阀，13.5min 关闭校正阀，采集 PFTBA 数据，12-13.5 min 期间将倍增器（EMV）调至 400V，以避免 PFTBA 信号饱和。

### 1.3 数据处理：

图 1 是样品和 PFTBA 的 TIC 图，并对 TIC 图中一段时间的 PFTBA 进行了标记。MassWorks™软件（Cemo Bioscience）可以用标记的 PFTBA 平均质谱图为准，对质谱图进行校正，建立校正函数，图 2 是 PFTBA 的标准质谱图，PFTBA 丰富的碎片分布，可以对从 40-550 Da 全部的质谱图进行校正。MassWorks™独特的校正技术同时对质量轴和质谱峰形（谱图准确度）进行校正，这是在低分辨质谱上测定准确质量的关键，且谱图准确度尤其重要。将建立的校正应用于未知物质谱图校正（图 3 即校正流程图），即可得到目标物的准确质量数，以目标物单同位素峰准确质量可以获得质量数相似的全部可能待选化学式列表；以谱图准确度对列表中的化学式重新进行排序，以实现未知物分子式的精准识别。谱图准确度由目标校正后质谱图与理论质谱图的相似度计算所得。

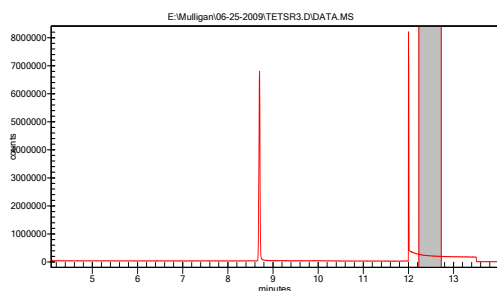


图 1 是样品和 PFTBA 的 TIC 图

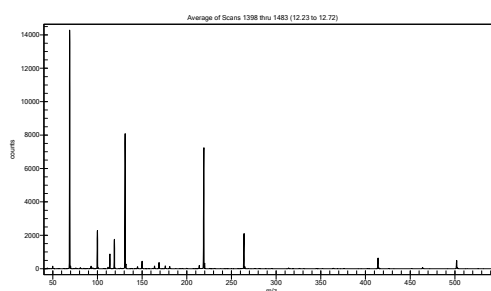


图 2 PFTBA 的标准质谱图

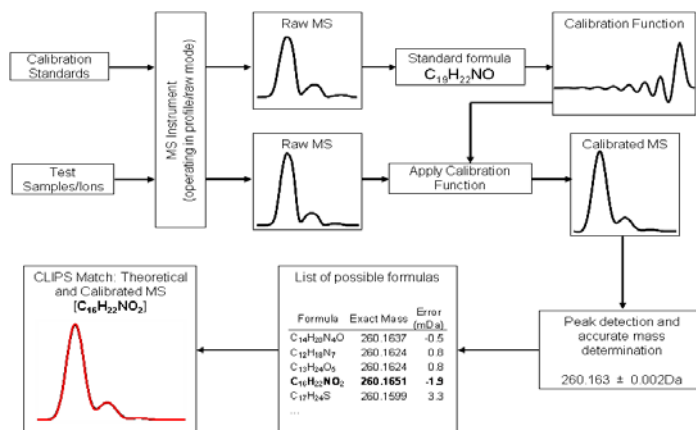


图 3 MassWorks™ 校正流程图

## 2 结果

MassWorks™软件以第 1372 至 1446 个扫描(RT=12.08-12.51min)的平均质谱图为基准, 建立校准函数。图 4 是 PFTBA 的校正结果报告, 报告列出了 PFTBA 全部 10 个碎片离子的元素组成和准确质量, 同时给出了校正离子质量误差和谱图准确度(校正后质谱图与理论质谱图的相似度), 10 个碎片离子的质量误差均小于 3mDa, 谱图准确度均高于 99.1%; 谱图准确度高于 99.0%表明校正离子信号与误差的比率高于 100:1, 说明校正离子的信号不存在显著饱和现象且无显著的杂质干扰, 信号与噪音的比率远高于 100:1。

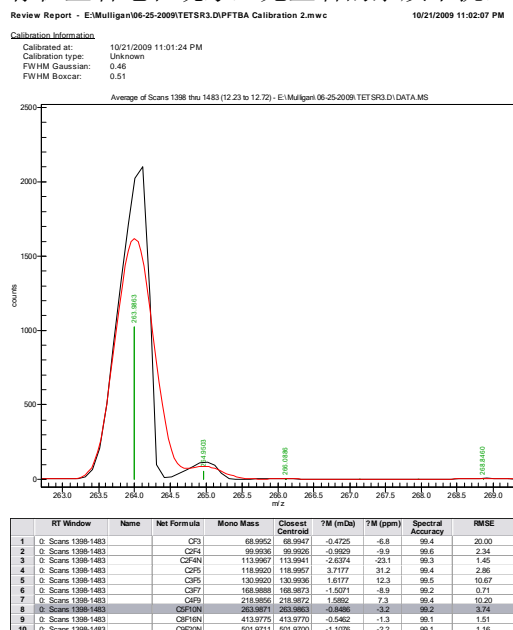
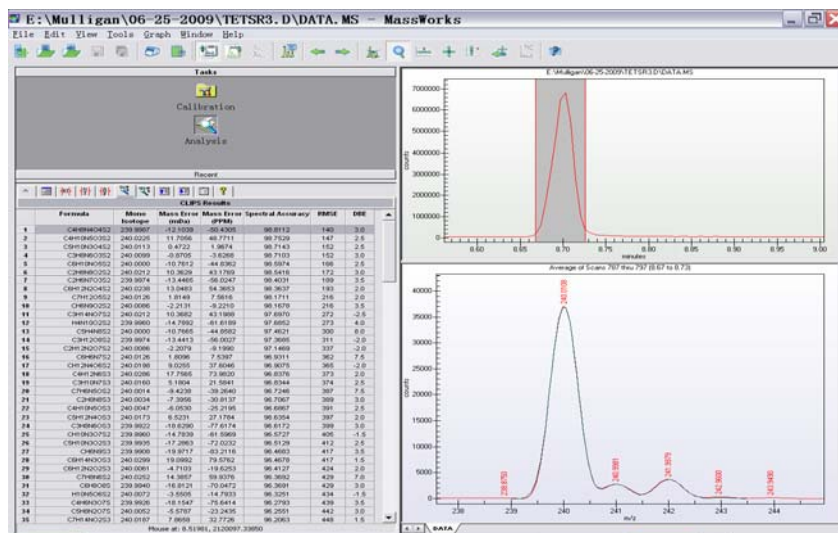


图 4 PFTBA 的校正结果

图 5 CLIPS 检索条件

用建立的校正函数对保留时间 8.7min 的未知峰进行校正, 按图 5 中设定的条件对质谱图中质量数最大的离子 240Da 用 CLIPS 进行检索,  $C_4H_8N_4O_4S_2$  化学式的理论质谱图与未知物离子的校正质谱图几乎完全匹配, 具有最高谱图准确度 98.7%而排在全部 147 个待选化学式的第一位(图 6)。后续的盲样测试结果, 验证了  $C_4H_8N_4O_4S_2$  即为未知物(高毒性的灭鼠剂毒鼠强)的分子式。



### 3 结论

本文以毒鼠强为例阐述了在低分辨气质联用仪 (GC/MS) 上运用 MassWorks™ 软件独特的质量校正和峰形校正技术测定未知物准确质量和分子式的过程。尽管 MassWorks™ 测定的准确质量数并不是每个离子均小于 5ppm, 但软件综合利用准确质量和谱图准确度两项指标可以实现分子式的准确识别。无论 NIST 谱库中是否含有, MassWorks™ 在低分辨 GC/MS 上均可对这些未知物进行准确质量测定和分子式识别。

### 文献

1. Wang Y, Prest H. *Chromatography*, **2006**, 27(3), 135.
2. Gu M, Wang Y, Zhao X, Gu Z, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, 20, 764–770
3. Wang Y, Gu M. *Spectroscopy (MS Supplement)*, May, 2008.
4. Sparkman O. D.; Jones P. R., Curtis M, *LCGC*, May, 2009.
5. Erve J. C. L.; Gu, M.; Wang, Y.; DeMiao, W.; Talaat, R. E., *JASMS*, **2009**, 20(11), 2058.

## Identification Tetramine' Formulas by MassWorks Combination of Unit-resolved Mass Spectrometry

Li Weijian, Gong Junjie, Ouyang Weimin  
(Lumiere Tech Ltd ,Beijing 100080)

**Abstract:** This application example demonstrates that the comprehensive mass spectral calibration involving both mass and peak shape enables formula determination on the GC/MSD system. The MassWorks™ calibration can be conveniently established using the on-board PFTBA tune standard through infusion measurement within the same GC/MS data acquisition. While the mass accuracy achievable on the system may not be the industry standard 5ppm for all ions at different m/z values, the combination of mass accuracy and Spectral Accuracy can indeed achieve formula determination on a real chromatographic time scale. Not only can this formula ID capability be applied to unknown identifications where there is no available library spectrum to compare with through conventional library search, it can also be utilized as an independent confirmation of library search results through formula ID of either the molecular ion or its fragment ions.

**Key words:** MassWorks™, accurate mass, mass spectral calibration ,Formula determination, unit mass resolution.