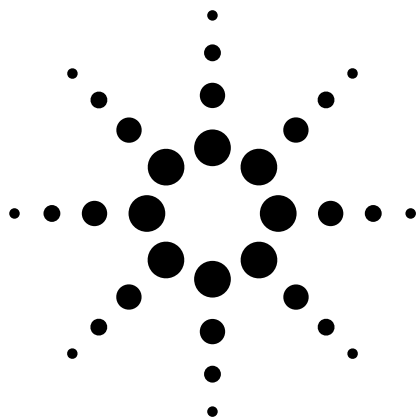




安捷伦台式液相 / 离子阱质谱 联用仪可提高分析灵敏度

液相 / 离子阱质谱
应用简报 5988-2870CHCN

前言

离子阱质谱仪自问世以来，就成为分析领域必不可少的工具。她可以进行多级质谱分析用于结构解析，同时还可以得到高灵敏度的定量分析结果。基于全扫描的质谱 / 质谱功能的定量分析可以大大减少假阳性和缩短方法开发的时间。利用全扫描的质谱 / 质谱子离子流程图，可以直接选择定量离子用于定量分析。

在本文中，利用全扫描的质谱 / 质谱进行大鼠血清中精神抑制药，安甲宁(alprazolam)的定量分析。大气压电离源(API)接口的改进提高了分析灵敏度，降低了检测限(LOD)和定量检测限(LOQ)。

实验条件

所有的实验都是在 1100 液相 / 离子阱质谱(LC/MSD Trap SL)上进行的，其中液相包括二元泵，自动进样器，柱温箱和真空在线脱气机。离子阱质谱采用的是正离子模式的电喷雾电离源(ESI)。

1100液相 / 离子阱质谱(LC/MSD Trap SL)的在离子光学方面作了改进，如图 1 所示。毛细管和锥孔体的排列和间距作了改进。扁平的单锥孔体代替了双锥孔体设计，同时增加了真空隔板。这些改进增加了进入离子光学的离子数，提高了灵敏度。灵敏度的提高降低了定量检测限。



Agilent Technologies

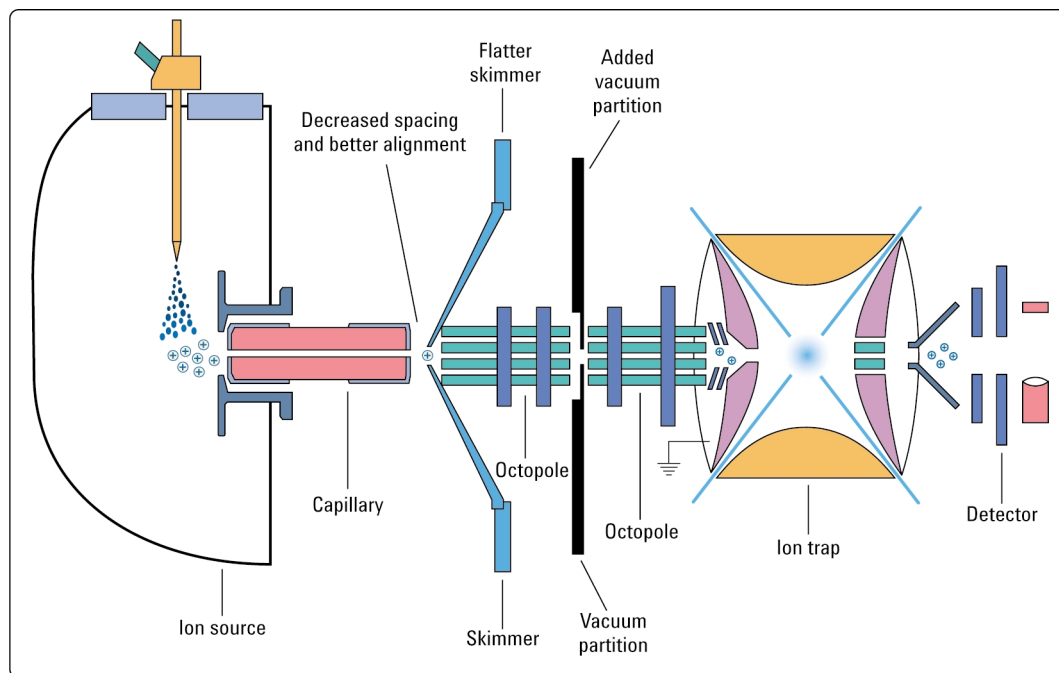


图1. 液相/离子阱质谱 (LC/MSD Trap SL) 的离子光学

新的离子光学设计可以实现在全质量范围内获得更高的灵敏度。这对于如肽图测定和代谢物鉴定都很有价值。

配制如下的浓度,用于建立标准曲线,0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250和500 ng/ml。在一天内每一个水平,重复六次。

在0.5毫升大鼠血清中加入1克碳酸钾。经涡流振荡,样品加入8毫升甲基叔丁基醚(MTBE),振荡五分钟,然后离心。有机相转移至试管中,在氮气下吹干,再用0.5毫升50:50的甲醇:水的溶液定容。最后加入安甲宁(alprazolam)和内标氘代安甲宁(alprazolam-d₃)。

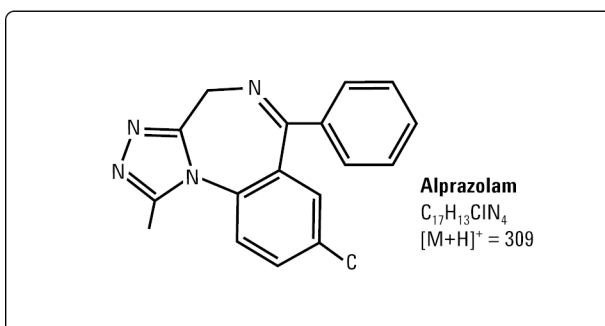


图2. 安甲宁(alprazolam)的结构, 分子式和质荷比

分析方法

液相 / 质谱 / 质谱

色谱柱:	ZORBAX SB-C18, 150 x 2.1 mm,
流速:	400 μ l/min
进样体积:	5 μ l
流动相:	A = 5 mM 醋酸铵溶液 B = 乙腈
梯度:	梯度 25% B 5 分钟, 在 4 分钟内至 90%B, 保持 0.5 分钟

质谱条件

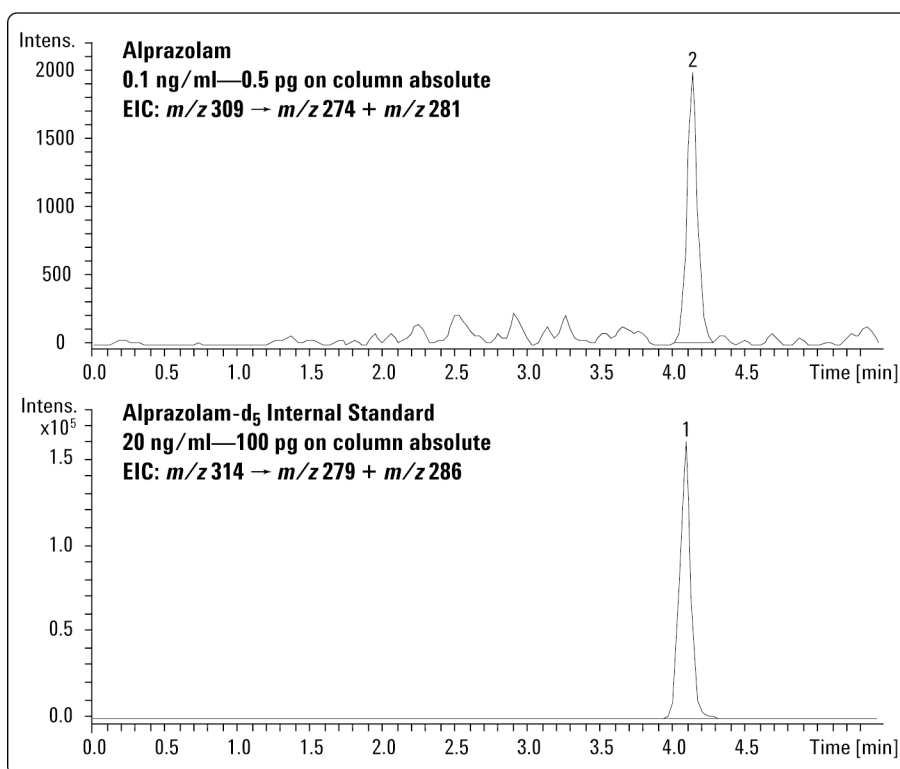
电离源模式:	电喷雾电离源
干燥气:	12 L/min
雾化气压力:	10 psi
干燥气温度:	365°C
锥型体 1:	15 V
毛细管出口补偿:	60 V
平均(average):	2
ICC:	on
最大积聚时间:	250 ms
目标(target):	7500
离子化模式:	正离子化
分离离子峰宽:	m/z 1.5
碰撞断裂振幅:	1.4 V

结果与讨论

十二个安甲宁(alprazolam)校正标样(0.1–500 ng/ml)用于定量分析,以评价 LC/MSD Trap SL 离子阱质谱的性能。

图3为安甲宁(alprazolam), 0.1 ng/ml (相当于0.5 pg 绝对进样量和氘代安甲宁(alprazolam)-d₅, 0.1 ng/ml 的萃取离子流图。这些谱图是在全扫描质谱/质谱中的两个最强的离子加和得到(如图 4 所示), 分析物, m/z 274+ m/z 281, 内标物, m/z 279+ m/z 286。在这个浓度水平上,可以得到 10:1 的信噪比。

图 3. 为安甲宁(alprazolam), 0.1 ng/ml (相当于 0.5 pg 绝对进样量和氘代安甲宁(alprazolam)-d₅ 的萃取离子流图



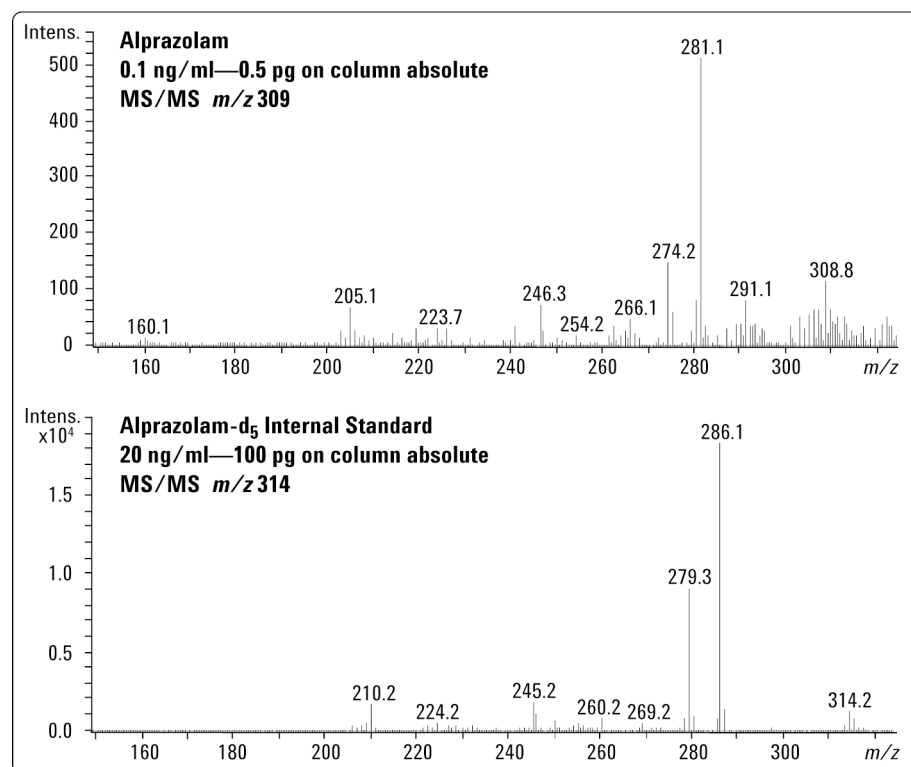


图4. 为安甲宁(alprazolam), 0.1 ng/ml (相当于0.5 pg绝对进样量和氘代安甲宁(alprazolam)- d_5 的质谱/质谱图

图5所示, 为大鼠血清添加标物, 浓度是0.25 ng/ml (相当于1.25 pg的绝对柱上进样量)和氘代安甲宁(alprazolam)- d_5 , 浓度是20 ng/ml的萃取离子流图。如图3所示, 图5的谱图也是由在全扫描质谱/质谱中的两个最强的离子加和得到的。在此浓度水平上, 可以得到25:1的信噪比。

全范围的校正曲线如图7所示。校正曲线是等重线性回归曲线, 色谱柱上分析物的绝对量(pg)与分析物/内标物的面积比为x,y轴。线性相关系数是0.9987。

在一天之内, 每一个浓度水平, 6次重复结果总结于表格1中。除了最低的浓度水平, 0.5 pg, 其相对标准偏差是23.7%之外, 所有的精度都在15%之内, 而且信噪比大于10:1。

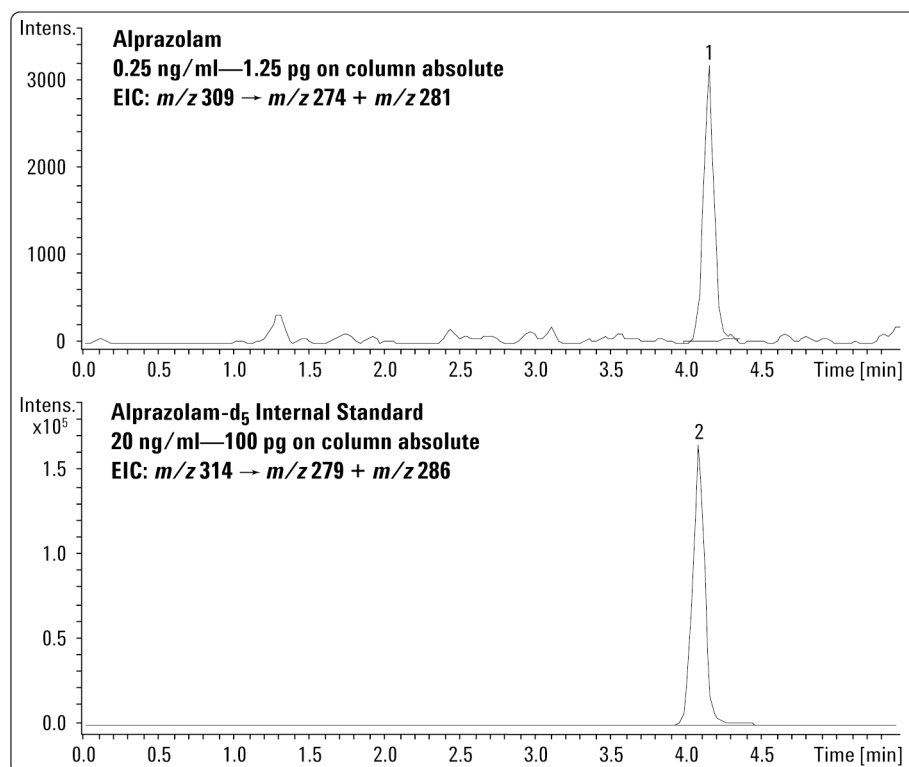
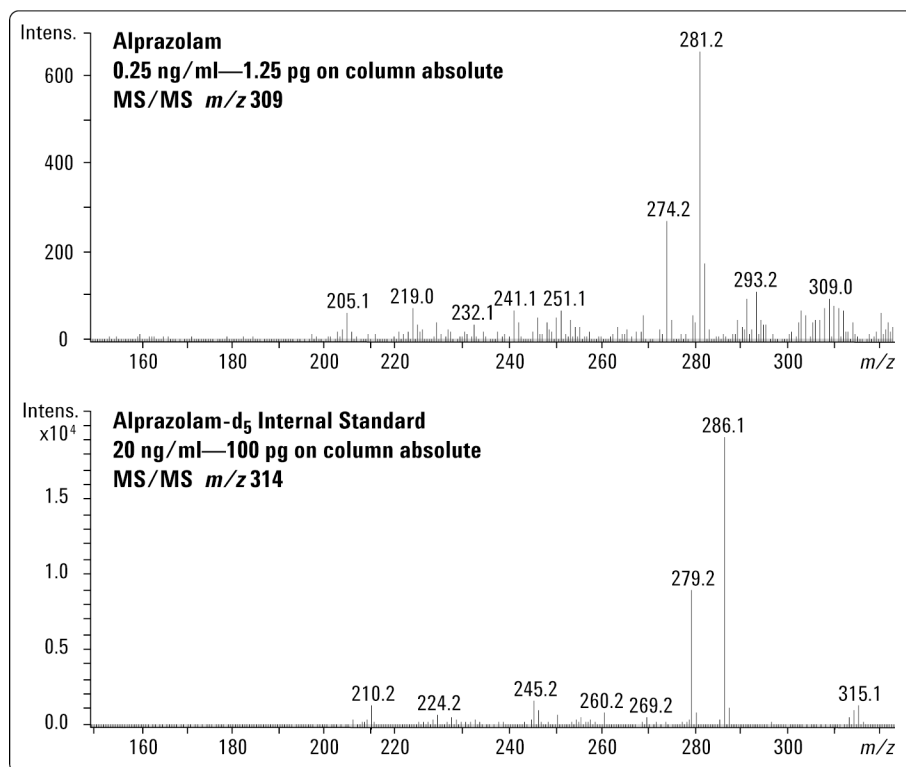


图 5. 为安甲宁(alprazolam), 0.25 ng/ml (相当于 1.25 pg 绝对进样量) 和氘代安甲宁(alprazolam)- d_5 的萃取离子流图

图 6. 为安甲宁(alprazolam), 0.25 ng/ml (相当于 0.5 pg 绝对进样量) 和氘代安甲宁(alprazolam)- d_5 的质谱/质谱图



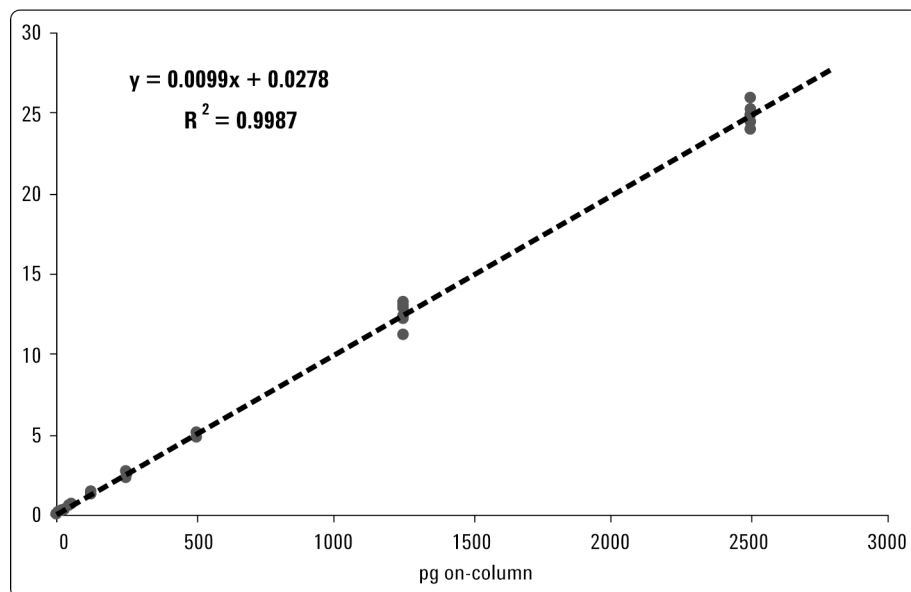


图 7. 大鼠血清中的安甲宁
(alprazolam)的校正曲线

结论

安捷伦 1100 LC/MSD Trap SL 的新型大气压电离源大大提高了灵敏度。其检测限可达 fg 水平，即使在如大鼠血清这样的复杂基质中也可以进行低至 pg 级的定量分析。

表 1. 大鼠血清中的安甲宁(alprazolam)的分析精确度(一天内, n=6)

Amount on-column (pg)	% RSD
0.5	23.7
1.25	10.5
2.5	3.5
5	5.7
12.5	5.8
25	1.1
50	4.9
125	2.4
250	3.7
500	2.4
1250	4.9
2500	2.4

作者

Linda L. Lopez, Alex Mordehai, Steven M. Fischer, Charles W. Russ, Bryan Miller, and Frank Kuhlmann are scientists at Agilent Technologies in Palo Alto, CA.

www.agilent.com/chem

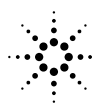
安捷伦科技公司对本材料可能存在的错误或与装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本资料中的信息，如有改变，恕不另行通知。

安捷伦科技公司版权所有，2001

2001 月 11 月 28 日中国印刷

出版号: 5988-2870CHCN



Agilent Technologies