

# 一种利用飞行时间或四极杆-飞行时间液质联用技术结合法医毒物学数据库对样品进行毒物筛查的应用工具包

## 应用文摘

法医和毒物学

### 作者

Peter Stone and Jerry Zweigenbaum  
Agilent Technologies, Inc.  
5301 Stevens Creek Blvd.  
Santa Clara, CA 95051  
USA

### 摘要

基于包含约 6700 个化合物精确质量数据库的安捷伦飞行时间(TOF)质谱或四极杆-飞行时间(Q-TOF)质谱仪，我们开发出一套进行法医毒物学物质筛查的工具包。这套 MassHunter 专业法医毒物数据库工具包旨在帮助用户对样品中大量可能的毒品或毒物成分进行检测和鉴别。这套系统允许用户根据自己的需要创建自定义的包含目标化合物保留时间的数据库，从而得到更小的，更特异的化合物组合。我们采用法医关注的几种毒品混合物测试了这套软件的有效性，另外还提供了常规毒品筛查分析的方法。



**Agilent Technologies**

## 前言

诸如飞行时间质谱 (TOF) 或四极杆-飞行时间质谱 (Q-TOF) 的高精确质谱系统, 由于其能够判定物质种类, 并且能够获得所含物质全谱数据的非靶向检测特性 (由于这些仪器具有全谱数据采集的非区分和非靶向特点), 越来越多地被用于法医和毒物的筛查、发现和确认。确实, 由于现代 TOF 或 Q-TOF 设备具有很高的准确性和灵敏度 (亚 2ppm 的精确度, pg 水平的柱上 (on-column) 灵敏度和高分辨率), 再加上功能强大的数据挖掘软件, 用户将可以更加容易地获得准确的结果以及进行高通量的样品检测。潜在的毒物数量巨大, 而根据分析的侧重领域, 有工作场所的滥用药物检测, 兴奋剂药物控制, 尸体毒物检测或者爆炸物检测。

精确单级质谱的质量测量可以准确确定单一同位素及同位素分布信息, 并可以建立法医、毒物目标分析物的数据库。以上的功能飞行时间质谱 (TOF) 或四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF) 都可以实现。相比之下, 串联四极杆液质, 即使用最灵敏的多反应监测功能(MRM)也只能进行靶向化合物的筛查和确认[1]。

本应用指南介绍了安捷伦 MassHunter 法医毒物数据库工具包用于毒品和毒物的筛查和鉴别分析, 数据库包含了 6700 个法医及毒物方面化合物的精确质量信息。这些内容来自世界顶级的实验室和数据信息库, 它包括了俗名, 单一同位素质量, 化合物分子式, CAS 及 Chemspider 编号, 化合物结构和国际理论化学和应用化学联合会 (IUPAC) 名称。作为 MassHunter 化学物库(PCDL) 的一项内置功能, 研究者除了化合物的精确质量数之外还可以通过软件界面添加不同色谱方法测得的化合物的保留时间, 进一步对化合物进行确认。这样就可以进行精确质量数保留时间检索 (AMRT)。此外, 用户可以同样地使用数据库进行非靶向化合物的筛查, 也可以自定义化合物数量较少的或更特异的数据库。客户订制的数据库可以编辑, 例如改变条目, 增加或删除条目, 以及半自动地进行某个组分某种方法的保留时间的更新[2]。用户可以根据液相色谱的保留时间建立各种不同的数据库。

本文通过几个筛查分析的例子展示了 MassHunter 法医和毒物数据库工具包在毒物筛查领域的典型应用。

## 实验部分

本文展示的结果都是使用安捷伦 6230 飞行时间液质联用仪结合 1200SL 系列液相色谱系统得到的。液相色谱系统由高压二元泵 (1312B), 在线真空脱气机(G1379B), 自动进样器(G1367D), 柱温箱 (G1316B)和配备 MassHunter 法医和毒物分析数据库工具包的 MassHunter 工作站[G6855AA]组成。

## 样品制备

打开用于液质校验的毒物混合测试标样[部件号 5190-0470]安瓿瓶(包括在法医和毒物分析工具包中[G6855AA]), 取 10  $\mu\text{L}$  1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (1 ppm) 标准溶液, 加 990  $\mu\text{L}$  液质级的甲醇稀释至 100  $\text{ng}/\text{mL}$  (100 ppb), 该标样将被用于方法的校验。

表 1 列出了用于液质校验的毒物测试混合标样[部件号 5190-0470]成分, 可见其涵盖广泛并能代表主要的毒物类型。

表 1. 液质校验的毒物测试混合标样[p/n 5190-0470]构成(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

化合物名	分子式	质量数
3,4-亚甲二氧基-N-乙基安非他命 (MDA)	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$	179.09463
3,4-亚甲二氧基-N-乙基安非他命 (MDEA)	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_2$	207.12593
三甲三唑安定 (阿普唑仑)	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClN}_4$	308.08287
氯硝西洋	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_3$	315.04107
可卡因	$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	303.14706
可待因	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	299.15214
四氢大麻酚 (THC)	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	314.22458
地西洋	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}$	284.07164
海洛因	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$	369.15762
二氢可待因酮	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	299.15214
氯羟安定	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$	320.01193
度冷丁 (哌替啶)	$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_2$	247.15723
美沙酮	$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}$	309.20926
甲基苯丙胺	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}$	149.12045
3,4-亚甲基二氧基甲基苯丙胺 (MDMA)	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_2$	193.11028
硝基安定	$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$	281.08004
奥沙西洋	$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2$	286.05091
羟考酮	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	315.14706
苯环利定 (PCP)	$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}$	243.1987
苯丁胺	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}$	149.12045
丙基解痉素	$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_2$	353.23548
土的宁 (番木鳖碱)	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$	334.16813
羟基安定	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_2$	300.06656
曲唑酮	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{O}$	371.15129
戊脉安	$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4$	454.28316

## 试剂和化学品

Burdick & Jackson 液质级的乙腈和自制去离子水 (18.1 MΩ) 用作流动相。缓冲液使用高纯甲酸和甲酸铵现配现用。

## 仪器配置和质谱采集方法参数

### 液相色谱条件

色谱柱:	安捷伦 Zorbax Eclipse Plus C18, 2.1 mm x 100 mm, 1.8 μm [部件号 959764-902]		
柱温:	60 °C		
流动相	A: 5 mM 甲酸铵/0.01% 甲酸水溶液 B: 0.01% 甲酸的乙腈		
流速:	0.5 ml/min		
梯度:			
时间	A	B	流速
开始	90%	10%	0.5 ml/min
0.5 min	85%	15%	0.5 ml/min
3.0 min	50%	50%	0.5 ml/min
4.0min	5%	95%	0.5 ml/min
6.0min	5%	95%	0.5 ml/min
进样体积:	1 μL (在针座进行 5 秒钟的洗针)		
分析时间:	6.0 min		
后运行时间:	2.0 min		
总分析时间:	8.0 min		

### 6230 飞行时间质谱 (TOF) 的条件

#### 离子源条件:

#### 电喷雾 (安捷伦喷射离子流聚焦技术):

#### 正离子模式

鞘流气温度和流速:	380°C, 12 L/min
喷嘴电压:	500 V
干燥气温度和流速:	320°C, 8 L/min
雾化器压力:	27 psi
毛细管电压:	3750 V
碰撞电压:	150 V

#### 电喷雾 (AP-ESI):

#### 正离子模式

干燥气温度和流速:	350°C, 12 L/min
雾化器压力:	30 psi
毛细管电压:	2000 V
碰撞电压:	150 V

### 质谱采集参数:

内标参比离子:	121.050873, 922.009798
采集模式:	MS1
最小质量端:	50 m/z
最大质量端:	1050 m/z
扫描速度:	3 Hz

所有其它的操作参数都基于标准设置下的质谱自动调谐功能和质量轴校正。

## 结果和讨论

### 使用安捷伦液相色谱/质谱联用读物测试混合标样快速地建立方法

利用包括毒物测试混合标样[部件号 5190-0470]的安捷伦法医毒物方法工具包可以使用户快速方便地建立方法, 同时检测方法是否满足要求。毒物测试混合标样[部件号 5190-0470]含有代表性的 25 个法医类的化合物组分 (见表 1)。质谱扫描依靠飞行时间质谱 (TOF) 或四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF) 的精确结果。因此, 为了得到最准确的质量数, 我们使用了合适的参比离子 (见实验条件部分)。

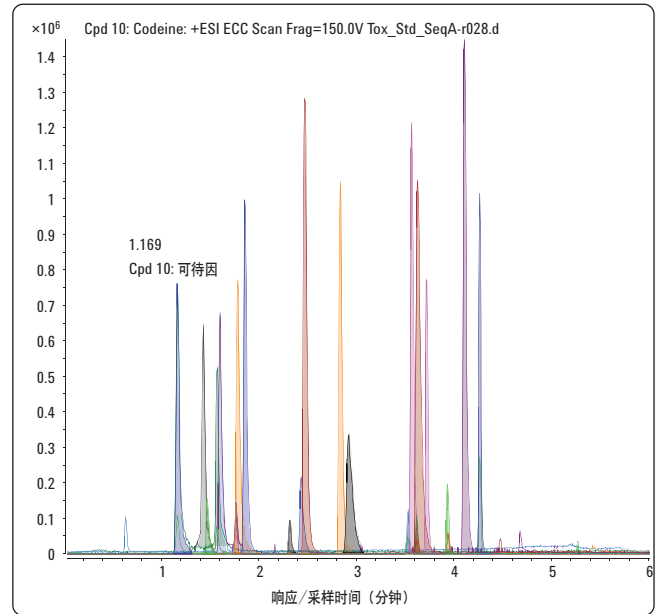


图 1. 液质的毒物测试混合标样提取化合物色谱图

依照实验部分描述的方法，进样 1 uL 浓度为 100 ng/ml 的液质毒物测试混合标样（相当于每个组分的柱上量是 100pg）。图 1 是液质毒物测试混合标样的色谱叠加图。TOF 或 Q-TOF 的标准分析方法包括在安捷伦 MassHunter 法医毒物数据库工具包中。方法可以直接导入质谱仪中，以保证所有的参数都正确，使用户能够重现结果。

这些只是采集部分的方法中推荐的仪器配置。如果使用与方法中要求的仪器不同，用户需要手动调整。如果系统正常，则可以获得类似的结果。

## 化合物数据库软件界面

### 概要

从桌面图标调用数据库之后，会出现“打开数据库”的对话框。这里最好选择预装的 MassHunter\database 目录下的 Forensic.cdb。图 2 是软件界面的单个检索视图。屏幕下方显示了“安非他明”的检索结果。总共有 7 个用户可用的视图，但是在本文中只用到前 4 个（左起），用于演示保留时间精确质量数据库（AMRT）的功能。用户可以通过点击上方的标签在不同视图间进行切换，如单个检索（Single Search），批量检索（Batch Search），批量检索结果总结（Batch Summary），或者编辑化合物（Edit Compounds）。

The screenshot shows the MassHunter software interface for searching compounds. The search parameters are set to 'amphetamine' with a mass tolerance of 10.0 ppm and a retention time tolerance of 0.1 min. The search results table is as follows:

Compound Name	Formula	Mass	Anion	Cation	RT (min)	CAS	ChemSpider	IUPAC Name
N-Isopropylamphetamine	C12H19N	177.15175	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		66470-73-3	185142	N-Isopropyl-1-phenyl-2-propanamine
3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	C10H13NO2	173.09463	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		4764-17-4	1555	1-[1,3-Benzodioxol-5-yl]-2-propanamine
4-Methylthioamphetamine	C10H15NS	181.09252	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		14116-06-04	133883	1-[4-(Methylsulfanyl)phenyl]-2-propanamine
N-Acetyl-N-methylamphetamine	C12H17NO	191.13101	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		82494-42-6	459093	N-Methyl-N-(1-phenyl-2-propyl)acetamide
N-(1-methylpropyl)Amphetamine	C13H21N	191.16740	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		74257-24-2	457701	N-(1-Phenyl-2-propyl)-2-butanamine
N-Butylamphetamine	C13H21N	191.16740	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		57378-21-9	85320	N-(1-Phenyl-2-propyl)-1-butanamine
N,N-Diethylamphetamine	C13H21N	191.16740	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		59313-90-5	454776	N,N-Diethyl-1-phenyl-2-propanamine
N-Methyl-N-propylamphetamine	C13H21N	191.16740	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		59313-91-6	457703	N-Methyl-N-(1-phenyl-2-propyl)-1-propanamine
Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)	C11H15NO2	193.11028	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		69610-10-2	1556	1-[1,3-Benzodioxol-5-yl]-N-methyl-2-propanamine
p-Methoxyamphetamine	C12H19NO	193.14666	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			21476712	1-[4-(1-Methoxyethyl)phenyl]-2-propanamine
p-Nitromethamphetamine	C10H14N2O2	194.10553	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		4302-88-9	96527	N-Methyl-1-(4-nitrophenyl)-2-propanamine
Dimethoxyamphetamine (DMA)	C11H17NO2	195.12593	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		2801-68-5	56526	1-[2,5-Dimethoxyphenyl]-2-propanamine
p-chloro-N-Ethylamphetamine	C11H16ClN	197.09713	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		2275-67-4	459094	1-(4-Chlorophenyl)-N-ethyl-2-propanamine
N-Butyl-N-methylamphetamine	C14H23N	205.18305	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		59313-92-7	457702	N-Methyl-N-(1-phenyl-2-propyl)-1-butanamine
3,4-Methylenedioxyethamphetamine (MDEA)	C12H17NO2	207.12593	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		14089-52-2	94775	1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-N-ethyl-2-propanamine

图 2. 数据库 (PCDL) 中单个手动检索界面视图

单个检索界面的上半部分（图 2）是检索选项，用户可以选择其中的一项或多项用于手动检索载入的数据库。表 2 列出了数据库（PCDL）单个检索界面所有可用的检索选项。强大的检索算法还可以对不完整的化合物名称进行检索（例如输入“amph”将可以得到所有包含这个字符串的化合物）。

注意：要想浏览数据的全部内容，可将单个检索页面的所有选项留空，然后按检索就可以浏览数据库中全部内容。

表 2. PCDL 单个检索页面的所有可用选项

可用检索选项 (单个检索页面)	值
质量数	测定质量数 ( $m/z$ )
保留时间	(分钟)
分子式	实验分子式
名称	化合物的俗名 (或其中一部分)
注释	化合物类别或描述
IUPAC	IUPAC 名或者俗名
CAS	唯一 CAS 编号
ChemSpider	唯一 ChemSpider 编号

## 流程 A. 手动检索（单个质量检索）

### 使用数据库程序（PCDL）

单个检索一般是将从 MassHunter 质量定性分析软件中得到的质谱图中的质量数输入检索框进行手动检索。图 3 演示了利用数据库(PCDL)的单个检索功能和 MassHunter 定性软件手动检索观测质量数结果的过程。

在这个应用举例中，正极化 TOF 数据在 MassHunter 定性分析软件中呈现出一个化合物峰，质谱图被提取出来，得到的观测质量数是 244.205770  $m/z$ ，将其输入 PCDL 中进行检索（包括附加阳离子），参数选[M+H]<sup>+</sup>，质量窗口阈值是 10ppm。

精确质量数的检索结果是苯环己哌啶（PCP），质量数测量值与理论值的偏差为 0.85 ppm

关于单个检索功能的更详细的信息可以参考安捷伦 G6855AA MassHunter 法医毒物数据库和工具包快速使用指南[3,4]。

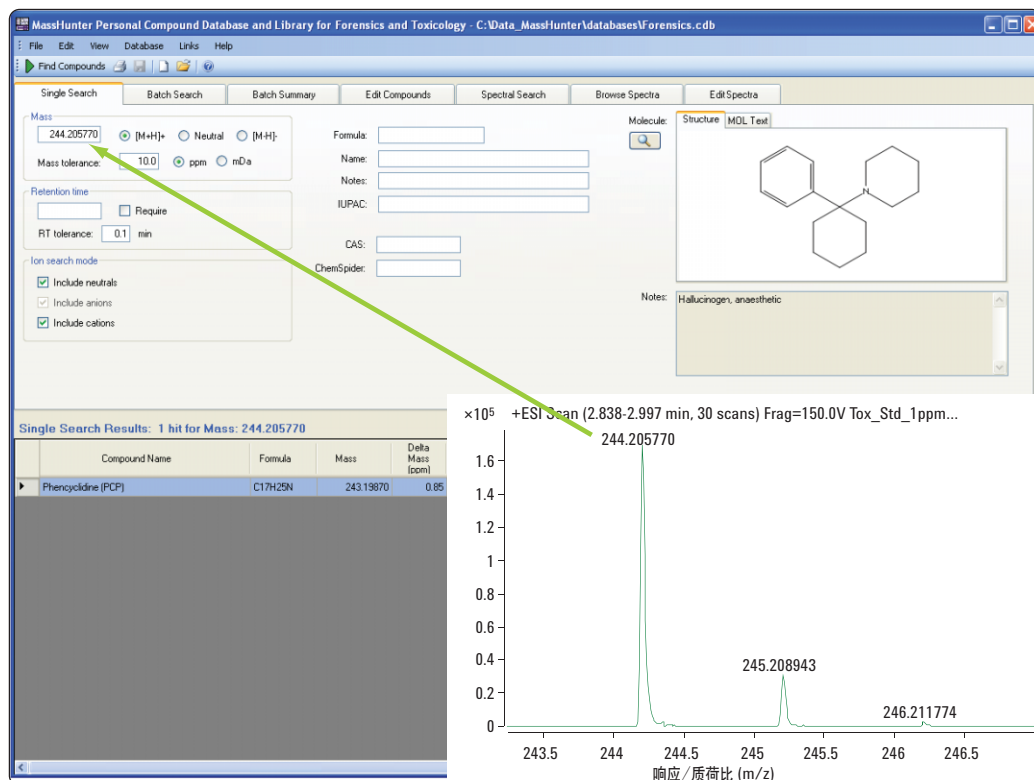


图 3. 测得的质荷比的手动检索

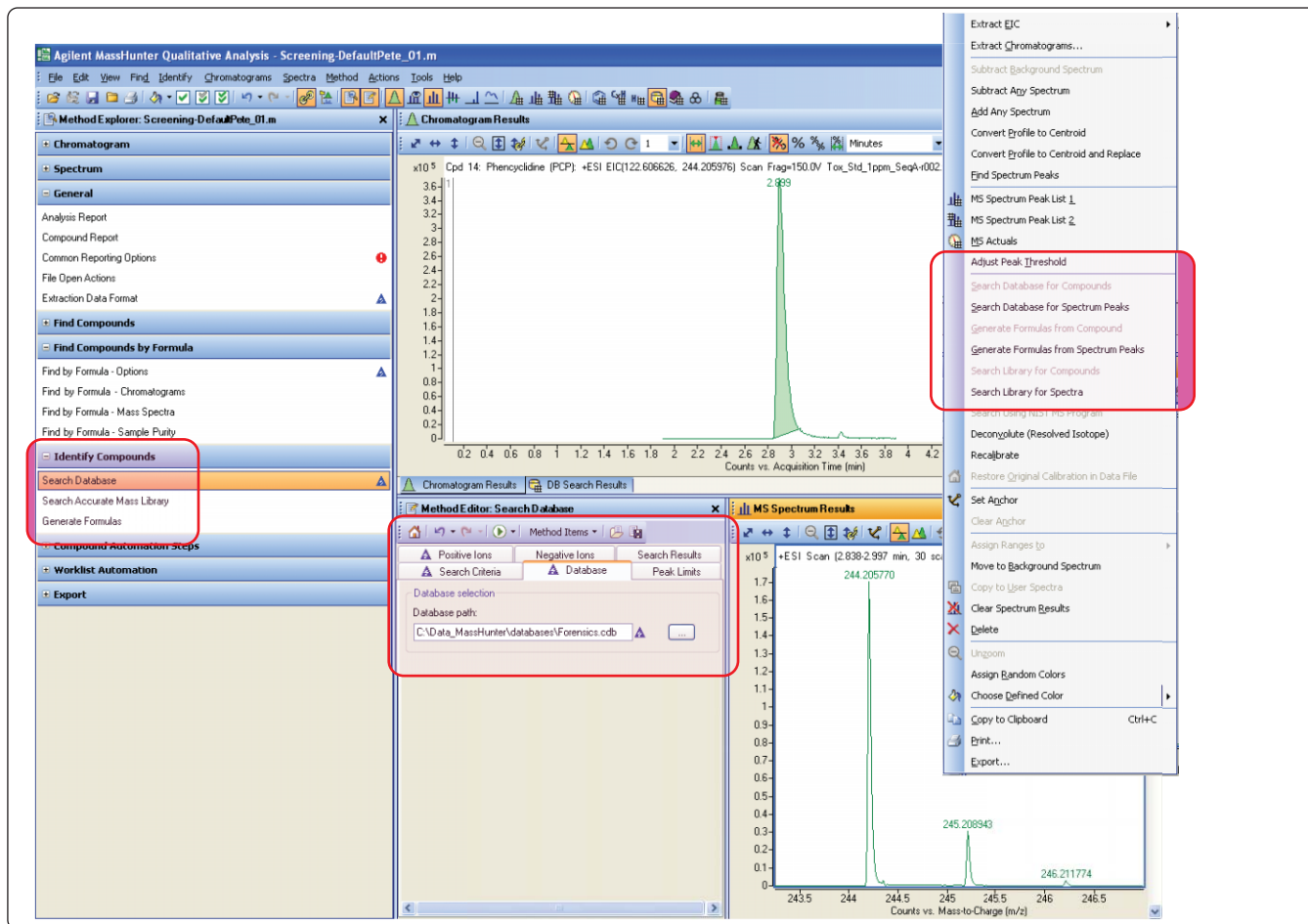


图 4a. 使用 MassHunter 定性分析软件对测的质量数进行手动检索

### 使用 MassHunter 定性分析软件进行手动数据库检索

为了通过 MassHunter 定性分析软件得到准确的单个质谱峰的数据，需要将数据库放在指定定性分析方法编辑器中。兼容软件版本是 B.03.01 或更高。图 4a-4d 演示了本分析所用的参数设定。

图 4a 是包括可疑色谱峰和手动提取质谱图的 MassHunter 定性分析软件的典型界面。左侧可以看到，“鉴定化合物”方法选项已经展开，并选定了其中的“数据库检索”方法编辑器选项。在方法编辑器中，我们需要的精确质量保留时间 (AMRT) 数据库即为 'forensic.cdb'。

图 4b. 显示了质量数阈值窗口和可选的检索参数，例如“mass only” (仅质量数) 或者 'mass with retention time' (质量数和保留时间)。

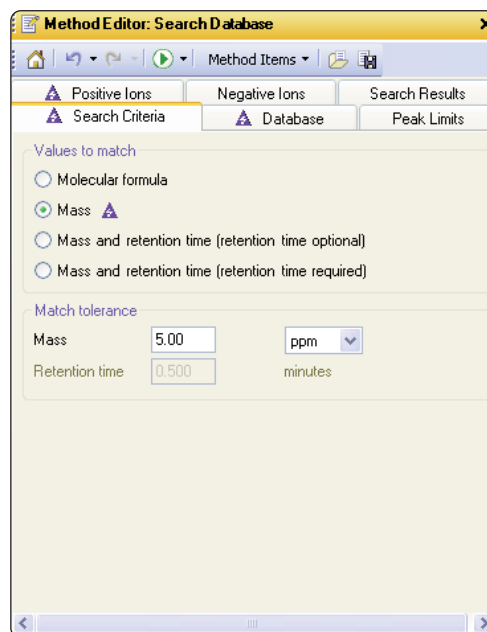


图 4b. 手动检索的设定参数

图 4c. 显示了用于数据库检索的更多选项, 如附加离子, 价态等等

在质谱图内单击右键会出现快捷菜单 (图 4a)。这个菜单有多种选项, 包括“对质谱峰进行数据库检索”。选中这个选项可以自动地进行数据库检索。图 4d 中, 质谱峰已被识别为苯环己哌啶 (PCP), 测量值与理论值的误差是 0.87 ppm, 综合匹配评分为 99.36 (满分是 100), 更加肯定了质谱峰就是苯环己哌啶 (PCP)。

综合匹配评分由质量数匹配评分、丰度匹配评分和间距匹配评分三部分组成, 它们分别为 99.61, 98.61 和 99.79, 见图 4d。

为了获得可信的结果, 软件将会根据同位素质量数, 同位素比例、同位素的间距和可选保留时间等因素对数据库中的化合物进行打分, 进而找出最匹配的结果。

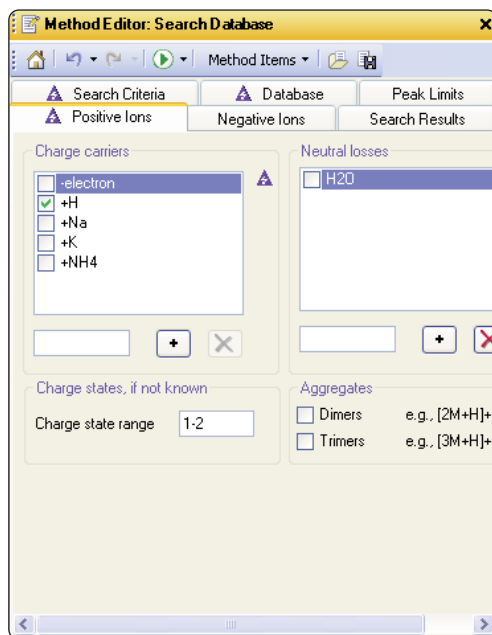


图 4c. 手动检索的附加离子选项

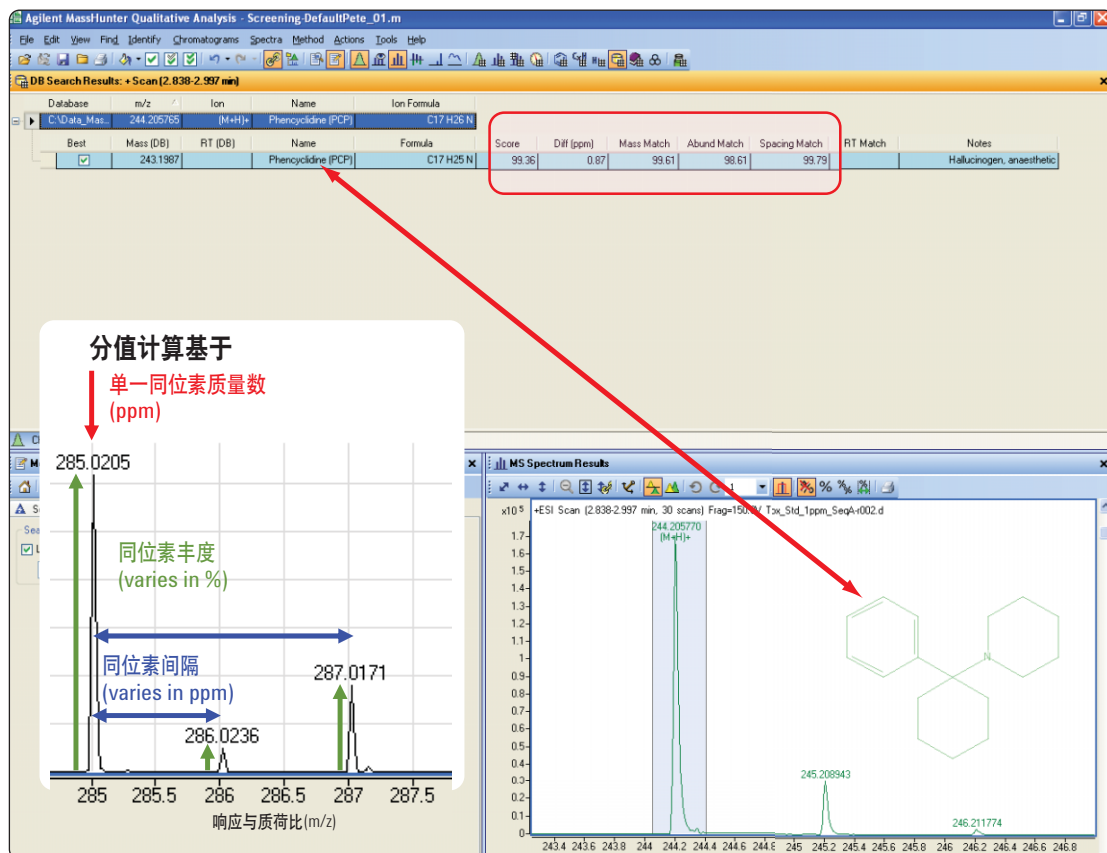


图 4d. 使用 MassHunter 定性分析软件手动检索结果

同位素间隔是分值计算的另一个重要因子。M 到 M+1 以及 M+2 的质量数间隔能够以低于 ppm 的精度被测量到。任何微小的质量偏移将会同等程度地影响所有的同位素，所以测量结果不会受到质量轴飘移的影响。结果见图 4d。

在这个例子中，AMRT 数据库只返回了 PCP 这一个搜索结果，其化学结构叠放在质谱峰图上（如图 4d 所示），并且可以选择输出在结果报告中。

关于 MassHunter 定性分析软件及数据库检索的更详细的信息可以参考 MassHunter 定性分析软件的帮助界面或操作指南[5]。

### 流程 B. 使用“分子特征提取”进行数据挖掘

数据库（PCDL）批量搜索功能（选项 2 和 3）用于自动数据挖掘算法如安捷伦分子特征提取软件（MFE）得到的精确质量数列表的数据库检索和鉴别。这种算法非常强大，尤其适用于复杂样品如血样提取物生成的复杂数据的分析。本文的其余部分，仅针对 MassHunter 定性分析软件提交的批量检索作一概述。批量检索的具体操作过程请参考 PCD 应用指南[2]。

数据挖掘算法，如分子特征提取(MFE)能够自动进行检索并“挖掘”出复杂的单级质谱数据集合，从而从连续背景干扰中确认并区分出大多数近似的和真正的化合物峰。复杂样品中组分的自动提取，软件可以将连续的背景中将“真实”的化合物峰提取出来。在分析中，将附加离子也一并考虑，这将提高组分的确认度。

其它的数据挖掘算法，如‘find by MS/MS’（通过串联质谱查找）和‘find by Targeted MS/MS’（通过目标串联质谱查找）也是 MassHunter 定性分析软件的组成部分。这些算法依赖于所使用仪器的特性和操作模式。‘Find by Formula’（通过化学式查找）功能的使用方法参见本文的“流程 C”部分。

为了演示分析流程，在上述实验条件下我们分析了液质毒物混合标样。将数据文件载入 MassHunter 定性分析软件。在方法浏览器中“查找化合物”区域打开‘Find by Molecular Feature’（通过分子特征查找）方法编辑器。

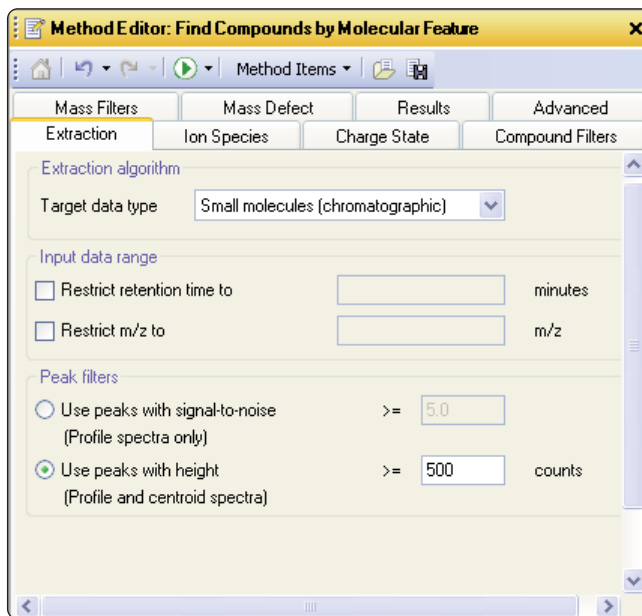


图 5a. 分子特征提取参数

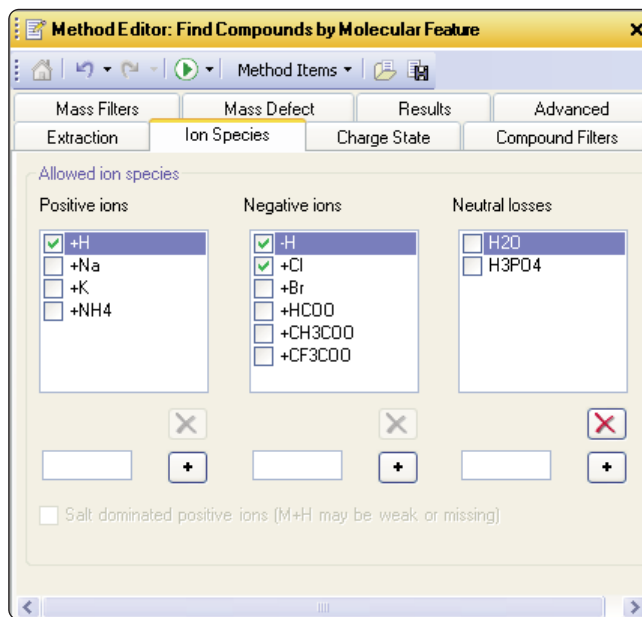


图 5b. 分子特征提取中离子类型的设置

本例中设定了极端的参数，绝对峰高的阈值设为计数值>500（见图 5a），并选择能得到约 3000 种可能组分的适合小分子的算法。通过提高绝对峰高的阈值，部分低丰度的组分峰将检测不到，但是相反地能大大降低假阳性率。在本举例中，只用了[M+H]<sup>+</sup>附加离子进行搜索，如果选择其他附加离子如钠离子和铵离子，将会进一步增加结果的可信度。

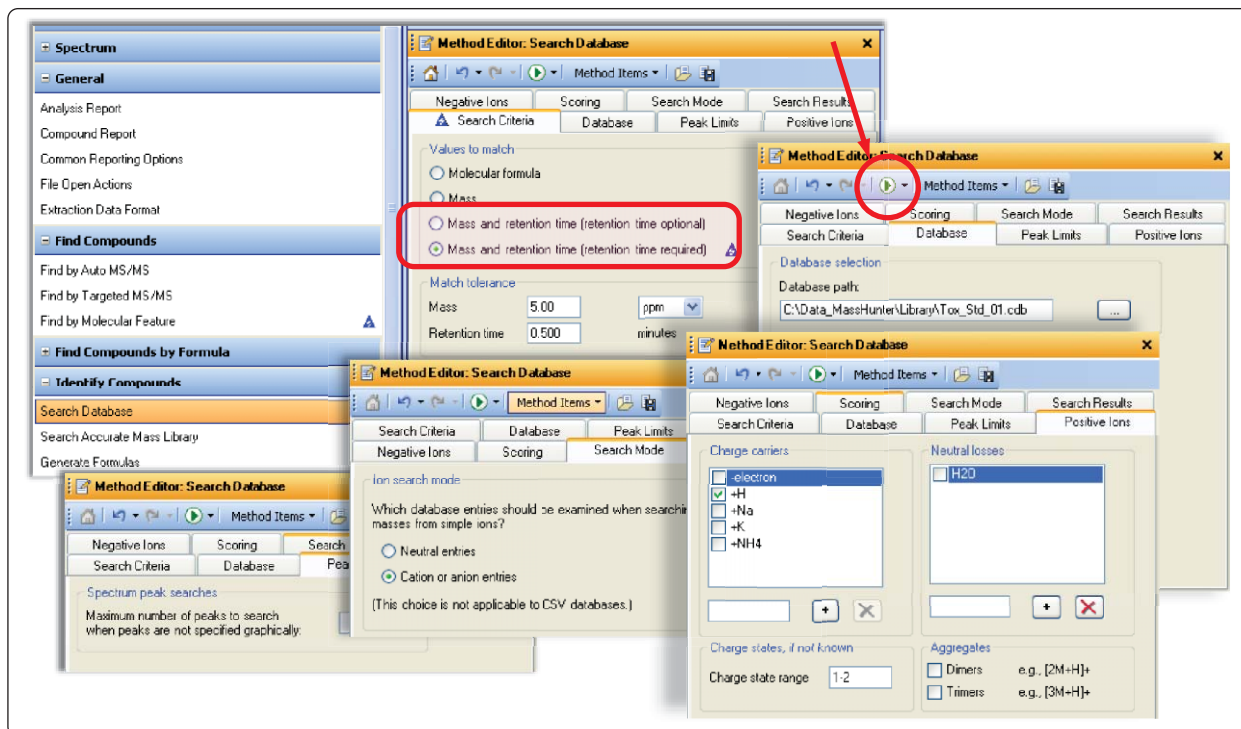


图 6. 分子特征提取数据库检索的参数设定

在本 MFE 方法的参数设置中，没有更改化合物，质量数滤镜或质量偏移滤镜设置，最高价态设为 1。分子特征提取 (MFE) 检索完成之后，在鉴定化合物/数据库检索方法编辑器中指定法医学 AMRT 数据库 (图 6)，选定所有 MFE 发现的化合物并针对每种化合物的内容进行检索。选中质量数和保留时间匹配选项，因为之前已通过分析不同标准品的保留时间并加入到自定义的化合物数据库中建立了保留时间数据库。

图 7 展示了通过点击 MFE 方法编辑器标题栏中高亮的绿色“process”按钮进行分子特征提取操作得到的结果。

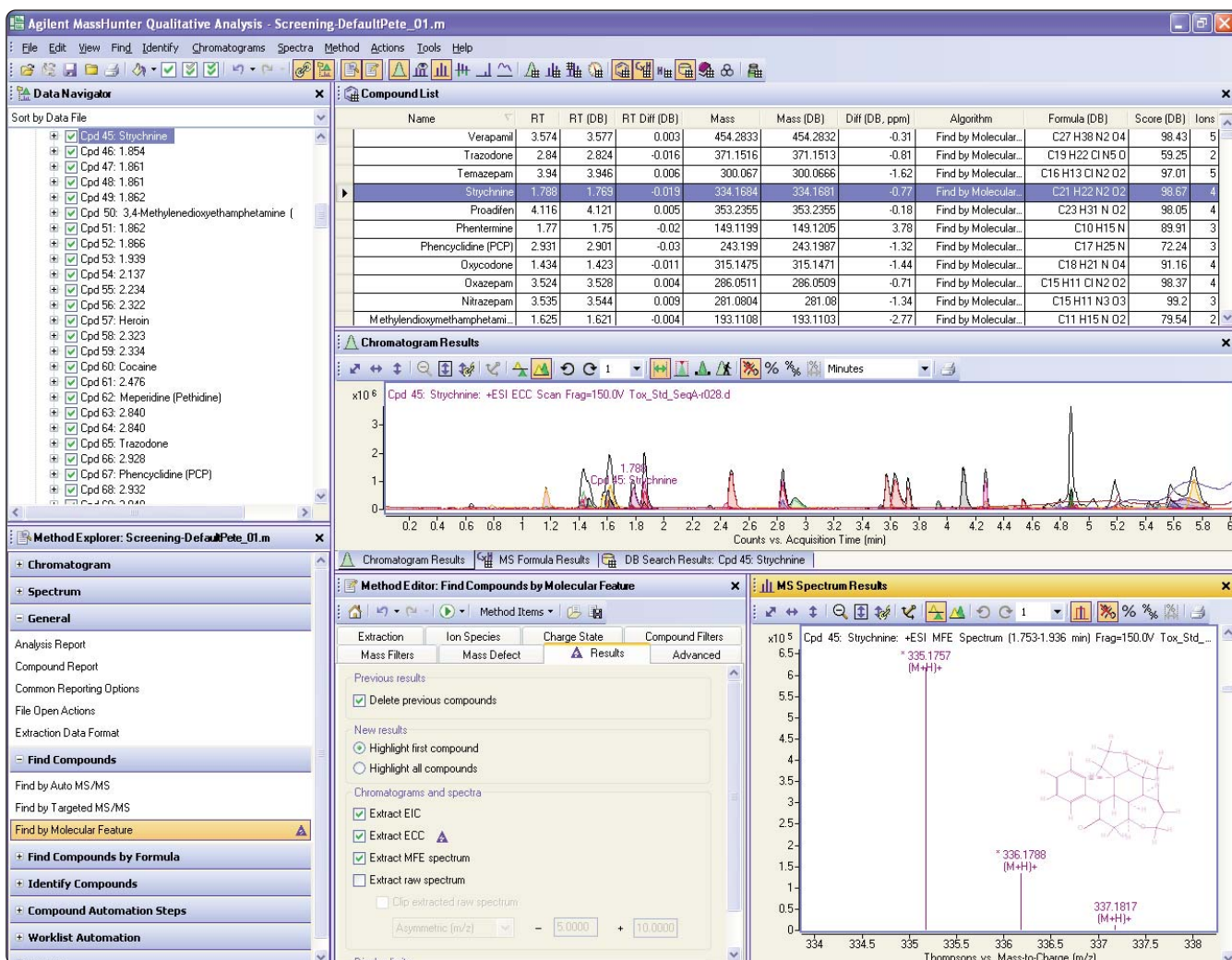


图 7. 使用 MassHunter 定性分析软件，用分子特征提取化合物数据库检索得到的结果

详细结果参见表 3，结果显示此次上样的测试标样混合物中所有 25 个组分。证明了查找和鉴定步骤的数据分析参数适用于化合物的鉴定过程。MFE 鉴定的 3000 多个化合物中许多都没有找到预期的 PCDL 匹配，在结果报告中我们选中了“排除非正相”选项，只列出数据库匹配记录。

参照安捷伦 G6855AA MassHunter 法医和毒物数据库快速使用指南[3]中提供的色谱方法，通过利用 PCDL 数据库的记忆能力，将预先确定的各待测物保留时间输入其中，可以自动确认并正确鉴别出同等质量数的化合物，如可待因/氢可酮以及甲基苯丙胺/苯丁胺。

表 3. 分子特征提取方法鉴定出的化合物和数据库检索结果

名称	保留时间	保留时间 (数据库)	保留时间差异 (数据库)	质量数	质量数 (数据库)	质量数差异 (数据库, ppm)	分子式 (数据库)	分值 (数据库)
戊脉安 (异搏定)	3.574	3.577	0.003	454.2833	454.2832	-0.31	C <sub>27</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	98.43
曲唑酮	2.84	2.824	-0.016	371.1516	371.1513	-0.81	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>5</sub> O	59.25
羟基安定	3.94	3.946	0.006	300.067	300.0666	-1.62	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	97.01
土的宁	1.788	1.769	-0.019	334.1684	334.1681	-0.77	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	98.67
普罗地芬	4.116	4.121	0.005	353.2355	353.2355	-0.18	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>2</sub>	98.05
苯丁胺	1.77	1.75	-0.02	149.1199	149.1205	3.78	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N	89.91
苯环己哌啶 (PCP)	2.931	2.901	-0.03	243.199	243.1987	-1.32	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> N	72.24
羟考酮	1.434	1.423	-0.011	315.1475	315.1471	-1.44	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	91.16
去甲羟基安定	3.524	3.528	0.004	286.0511	286.0509	-0.71	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	98.37
硝基安定	3.535	3.544	0.009	281.0804	281.08	-1.34	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	99.2
3,4-亚甲二氧基-N-乙基安非他命	1.625	1.621	-0.004	193.1108	193.1103	-2.77	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	79.54
甲基苯丙胺	1.606	1.593	-0.013	149.1197	149.1205	4.82	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N	81.88
美沙酮	3.638	3.638	0	309.2094	309.2093	-0.61	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> NO	99.67
哌替啶 (度冷丁)	2.477	2.456	-0.021	247.1577	247.1572	-1.7	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>	97.91
劳拉西洋	3.616	3.621	0.005	320.012	320.0119	-0.19	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	98.27
氢可酮	1.575	1.56	-0.015	299.1525	299.1521	-1.2	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	85.2
海洛因	2.322	2.297	-0.025	369.1579	369.1576	-0.63	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>5</sub>	98.97
地西洋 (安定)	4.272	4.275	0.003	284.072	284.0716	-1.36	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O	58.97
9-四氢大麻酚 (THC)	5.275	5.292	0.017	314.2243	314.2246	0.94	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	94.83
可待因	1.169	1.16	-0.009	299.1524	299.1521	-0.72	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	72.49
可卡因	2.44	2.418	-0.022	303.1475	303.1471	-1.29	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	98.03
氯硝西洋	3.625	3.638	0.013	315.0412	315.0411	-0.42	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	98.72
甲基三唑安定 (阿普唑仑)	3.726	3.726	0	308.083	308.0829	-0.33	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>	96.77
3,4-亚甲二氧基-N-乙基安非他命	1.862	1.846	-0.016	207.1263	207.1259	-1.8	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	97.4
3,4-亚甲二氧基-N-甲基安非他命	1.474	1.473	-0.001	179.095	179.0946	-2.23	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	86.15

## 增加保留时间的自定义数据库

安捷伦法医毒物数据库的一个优点是它可以进行编辑变成用户自定义数据库。为了建立可读写的定制数据库，用户可以从数据库(PCDL)界面的文件菜单中选择“New Database”。然后 PCDL 允许您选择已有的数据库，然后重命名成新的数据库。您还可以给出数据库的具体描述。当选择“create”时，新命名的数据库就包含了被选数据库的所有的化合物。按照这样的方式，您可以根据需要建立多个自定义的数据库或小范围的、更特异的数据库。关于杀虫剂数据库的技术说明[2]介绍了如何利用内置的色谱条件检

测标样的过程，以及如何在定制数据库中方便地进行保留时间的更新或者添加操作。

使用数据库(PCDL)界面中左起第四个标签，可以实现 PCDL 精确质量保留时间数据库的自定义和更新。详细的过程见图 8，图中展示了“Add New”，“Save as New”，“Update Selected”和“Delete Selected”几个选项。当激活“Database/Library”下拉菜单中的“Allow Editing”选项时，用户可以更改、增加或删除定制数据库中的所有显示的信息。而且还可以通过“Edit Compounds”标签添加后缀为\*.mol'的分子结构图。

Compound Name	Formula	Mass	Mass Submitted	Delta Mass (ppm)	Anion	Cation	RT (min)	RT Submitted	Delta RT	CAS	ChemSpider	IUPAC Name
Methamphetamine	C10H15N	149.12045	149.11970	5.03	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.593	1.606	-0.013	537-46-2	10379	(2S)-N-Methyl-1-phenyl-2-propanamine
Codeine	C18H21N...	299.15214	299.15240	-0.87	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.160	1.169	-0.009	76-57-3	4447447	(5alpha,6alpha)-3-Methoxy-17-methyl-7,8-c...
Hydrocodone	C18H21N...	299.15214	299.15250	-1.20	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.560	1.575	-0.015	125-29-1	4447623	(5alpha)-3-Methoxy-17-methyl-4,5-epoxym...
Phentermine	C10H15N	149.12045	149.11990	3.69	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.750	1.770	-0.020	122-09-8	4607	2-Methyl-1-phenyl-2-propanamine
Clonazepam	C15H10Cl...	315.04107	315.04120	-0.41	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.638	3.625	0.013	1622-61-3	2700	5-(2-Chlorophenyl)-7-nitro-1,3-dihydro-2H-1...
delta9-Tetrahydrocannabinol (THC)	C21H30O2	314.22458	314.22430	0.89	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5.292	5.275	0.017	1972-08-3	15266	(6aR,10aR)-6,6,9-Trimethyl-3-pentyl-6a,7,8...
Oxycodone	C18H21N...	315.14706	315.14750	-1.40	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.423	1.434	-0.011	76-42-6	4447649	(5alpha)-14-Hydroxy-3-methoxy-17-methyl-
Lorazepam	C15H10Cl...	320.01193	320.01200	-0.22	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.621	3.616	0.005	846-49-1	3821	7-Chloro-5-(2-chlorophenyl)-3-hydroxy-1,3-c...
Stychnine	C21H22N...	334.16813	334.16840	-0.81	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.769	1.788	-0.019	57-24-9	389877	Stychnidin-10-one
Verapamil	C27H38N...	454.28316	454.28330	-0.31	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.577	3.574	0.003	52-53-9	2425	2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-[(2-(3,4-dimeth...
Triazolone	C19H22Cl...	371.15129	371.15160	-0.84	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2.824	2.840	-0.016	19794-93-5	5332	2-(3-(4-(3-Chlorophenyl)-1-piperazinyl)prop...
Heroin	C21H23N...	369.15762	369.15790	-0.76	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2.297	2.322	-0.025	561-27-3	4575379	(5alpha,6alpha)-17-Methyl-7,8-didehydro-4...
Proadifen	C23H31N...	353.23548	353.23550	-0.06	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4.121	4.116	0.005	302-33-0	4741	2-(Diethylamino)ethyl 2,2-diphenylpentano...
Medhadone	C21H27NO	309.20926	309.20940	-0.45	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.638	3.638	0.000	76-99-3	3953	6-(Dimethylamino)-4,4-diphenyl-3-heptanol
Alprazolam	C17H13Cl...	308.08287	308.08300	-0.42	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.726	3.726	0.000	28991-97-7	2034	8-Chloro-1-methyl-6-phenyl-4H(1,2,4)triaz...

图 8. 在数据库界面中编辑化合物信息

## 流程 C.使用“分子式查询 (Find by Formula) 进行数据挖掘

MassHunter 定性分析软件中的“分子式查询”数据挖掘算法“利用预先确定的实验分子式（或者分子式列表）检索 TOF 或者 QTOF 的数据文件，以确认是否有化合物存在。PCDL 格式的数据库也可以被定义成实验分子式列表。依据数据库规模和内容的多少，“分子式查询”所需的时间可能比 MFE 方法稍微长一些。然而“分子式查询”的结果精确度和灵敏度更好，尤其是对于低浓度样品的分析。

图 9 展示了使用液质毒物测试混合标样数据文件进行“分子式查询”的结果界面。所有 25 个化合物全都被鉴别出来，包括精确

质量数，丰度，同位素间隔匹配的综合分值和保留时间。数据分析方法编辑器的各参数值见图 10，其中'Tox\_std\_01.cdb'是一个自定义的 PCDL 格式的数据库。

当报告分析结果时，“分子式查询”会对色谱峰形和同位素匹配分值进行评估，即使提取的化合物色谱图中有几个质量接近的峰，程序也能返回最匹配的结果。

额外的附加离子，如[M+Na]<sup>+</sup>、[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>和 [2M+H]<sup>+</sup>也经常被使用于分子式查询中。质谱图和结果表中显示的额外信息有助于进一步确认分析结果。图 9 是羟基安定的质谱图，包括了 [M+H]<sup>+</sup> 和 [M+Na]<sup>+</sup> 两种附加离子。

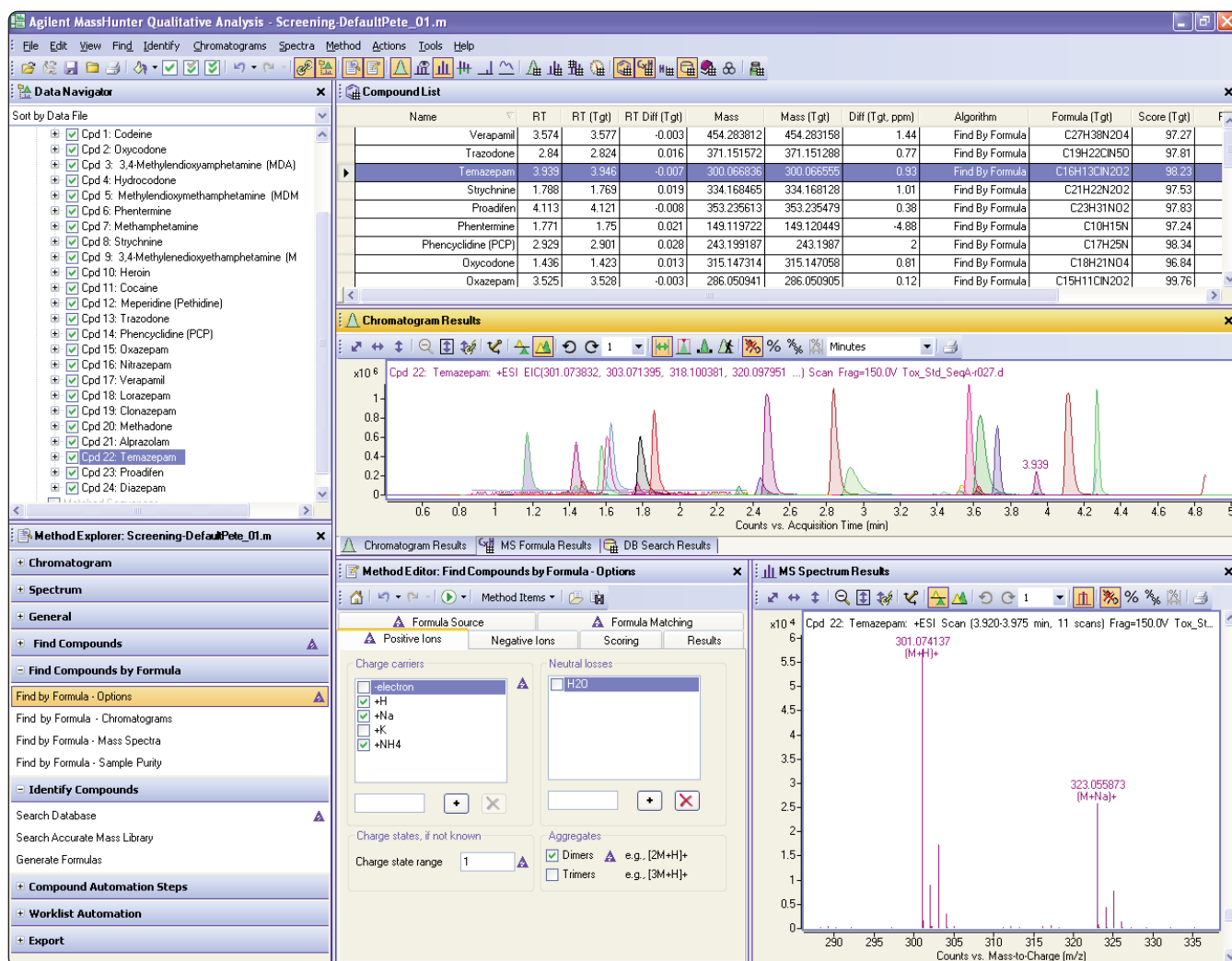


图 9. “分子式查询”的数据库检索结果

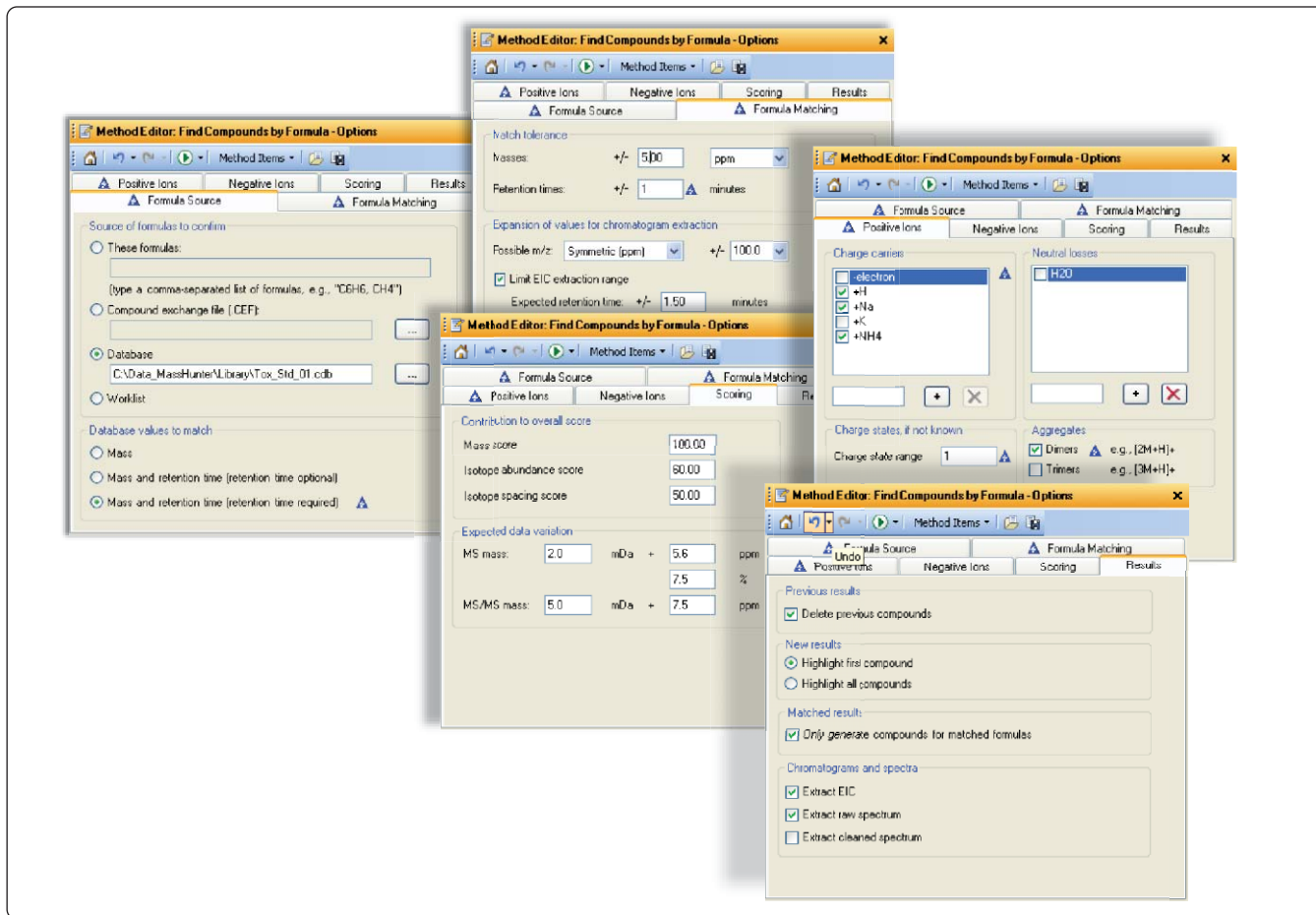


图 10. “分子式查询” 数据库检索-方法编辑器设定

更详细的信息参见 MassHunter 定性分析软件的帮助或者 MassHunter 工作站软件定性分析使用指南[5]。

## 结果报告

手动、分子特征提取和分子式查询等检索方式都要使用软件界面中相同的化合物报告参数。图 11 详细展示了基于标准报告模板“CompoundReportWithIdentificationHits.xlsx”的选项设置。在方法浏览器的通用选项下，点击“Common reporting options”（常规报告选项）链接打开方法编辑界面，如图 11 左侧所示。MassHunter 定性分析软件以化合物为中心进行数据分析和化合物检索。因此，生成结果报告必需选择合适的报告模板。此例中采用的正确的模板如图所示。

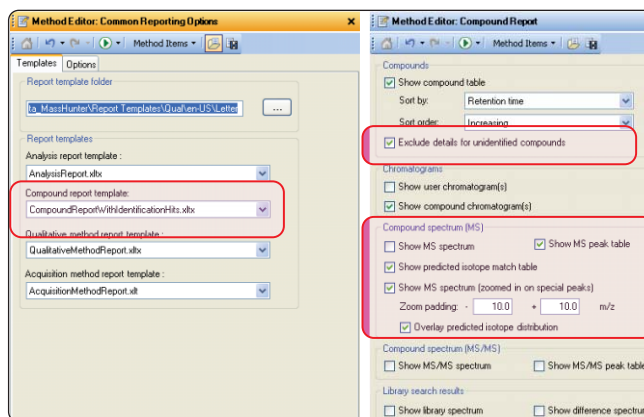


图 11. 用于手动、分子特征提取 (MFE) 和分子式查询 (FBF) 数据库检索的分析报告常用选项

在方法编辑器的“Compound Report”选项中,通过选择毒物学筛选报告中需要包含的信息,可以指定更详细的内容(见图 11 右侧)。

用户可以在此选择报告的内容。例如,如选择“Exclude Details for Unidentified Compounds”(不包含未确认化合物的详细信息)复选框,则只报告 PCDL 匹配的阳性结果。在化合物报告方法编辑器中,还可以选择是否包含化合物色谱图,单独的质谱峰或结果总结和化合物列表。

一旦结果报告的所有的参数都被正确设置,就可通过点击绿色按钮(图 12 中的圆圈)打开“printing dialogue”(打印对话框),设置其中的各种参数从而输出结果。用户可以选择直接将报告输出到打印机或者保存为 Excel 或 pdf 格式的文件。此外,也可以从文件下拉菜单中选择“Print Compound Report”进行结果报告的输出。

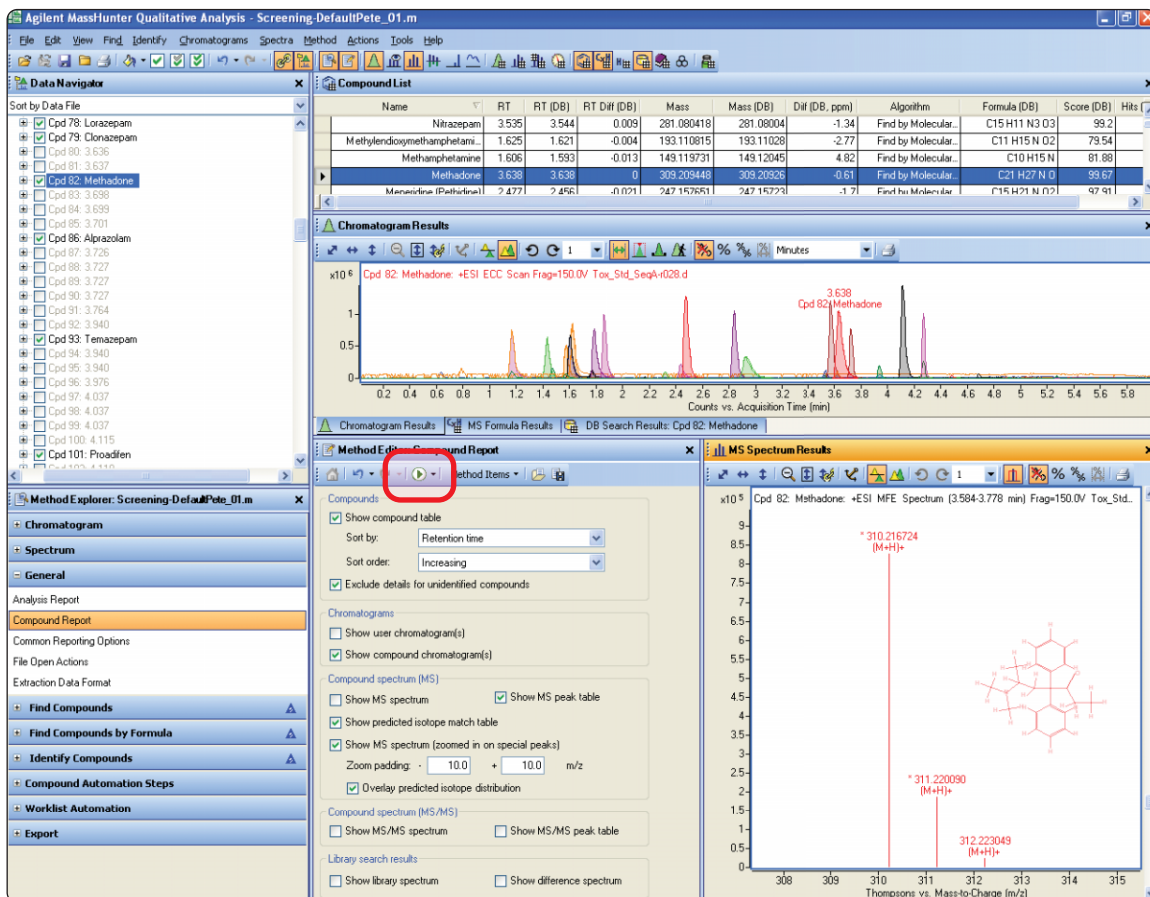


图 12. 手动/分子特征提取 (MFE) / 分子式查询 (FBF) 数据库检索的化合物分析报告

图 13 展示了典型的法医毒物测试混合标样分析结果报告总结的首页。

### Qualitative Compound Report

<b>Data File</b>	Tox_Std_SeqA-r028.d	<b>Sample Name</b>	Tox_Std_100pg
<b>Sample Type</b>	Sample	<b>Position</b>	Vial 2
<b>Instrument Name</b>	SEIKO-90500107	<b>User Name</b>	Pete Stone
<b>Acq Method</b>	PStone_ToX_Std_01.m	<b>Acquired Time</b>	7/17/2009 9:41:03 PM
<b>IRM Calibration Status</b>	Success	<b>DA Method</b>	Screening-DefaultPete_01.m
<b>Comment</b>			

Compound Label	RT	Mass	Name	DB Formula	DB Diff (ppm)	Hits (DB)
Cpd 10: Codeine	1.169	299.1524	Codeine	C18 H21 N O3	-0.72	2
Cpd 17: Oxycodone	1.434	315.1475	Oxycodone	C18 H21 N O4	-1.44	1
Cpd 23: 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	1.474	179.095	3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	C10 H13 N O2	-2.23	1
Cpd 29: Hydrocodone	1.575	299.1525	Hydrocodone	C18 H21 N O3	-1.2	2
Cpd 34: Methamphetamine	1.606	149.1197	Methamphetamine	C10 H15 N	4.82	2
Cpd 39: Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)	1.625	193.1108	Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)	C11 H15 N O2	-2.77	1
Cpd 41: Phentermine	1.77	149.1199	Phentermine	C10 H15 N	3.78	2
Cpd 45: Strychnine	1.788	334.1684	Strychnine	C21 H22 N2 O2	-0.77	1
Cpd 50: 3,4-Methylenedioxyethamphetamine (MDEA)	1.862	207.1263	3,4-Methylenedioxyethamphetamine (MDEA)	C12 H17 N O2	-1.8	1
Cpd 57: Heroin	2.322	369.1579	Heroin	C21 H23 N O5	-0.63	1
Cpd 60: Cocaine	2.44	303.1475	Cocaine	C17 H21 N O4	-1.29	1
Cpd 62: Meperidine (Pethidine)	2.477	247.1577	Meperidine (Pethidine)	C15 H21 N O2	-1.7	1
Cpd 65: Trazodone	2.84	371.1516	Trazodone	C19 H22 Cl N5 O	-0.81	1
Cpd 67: Phencyclidine (PCP)	2.931	243.199	Phencyclidine (PCP)	C17 H25 N	-1.32	1
Cpd 73: Oxazepam	3.524	286.0511	Oxazepam	C15 H11 Cl N2 O2	-0.71	1
Cpd 74: Nitrazepam	3.535	281.0804	Nitrazepam	C15 H11 N3 O3	-1.34	1
Cpd 76: Verapamil	3.574	454.2833	Verapamil	C27 H38 N2 O4	-0.31	1
Cpd 78: Lorazepam	3.616	320.012	Lorazepam	C15 H10 Cl2 N2 O2	-0.19	1
Cpd 79: Clonazepam	3.625	315.0412	Clonazepam	C15 H10 Cl N3 O3	-0.42	1
Cpd 82: Methadone	3.638	309.2094	Methadone	C21 H27 N O	-0.61	1
Cpd 86: Alprazolam	3.726	308.083	Alprazolam	C17 H13 Cl N4	-0.33	1
Cpd 93: Temazepam	3.94	300.067	Temazepam	C16 H13 Cl N2 O2	-1.62	1
Cpd 101: Proadifen	4.116	353.2355	Proadifen	C23 H31 N O2	-0.18	1
Cpd 110: Diazepam	4.272	284.072	Diazepam	C16 H13 Cl N2 O	-1.36	1
Cpd 243: delta9-Tetrahydrocannabinol (THC)	5.275	314.2243	delta9-Tetrahydrocannabinol (THC)	C21 H30 O2	0.94	1

Compound Label	Name	RT	Algorithm	Mass
Cpd 10: Codeine	Codeine	1.169	Find by Molecular Feature	299.1524

图 13. 分子特征提取 (MFE) / 数据库检索的结果报告输出

## 工作列表的自动分析

若用户正确地设定了数据挖掘过程涉及的所有参数，就可将数据库(PCDL)检索选项和报告选项（本文的要点）保存为一个便捷的数据分析方法，以便日后重复使用或保证不同次实验间参数设置的一致性。可以通过 MassHunter 定性分析软件界面中的方法下拉菜单，选择“Save As”进行保存。以后这一方法就会作为默认方法被载入，直到被新保存或载入的方法替换掉。

保存参数设置方案的另一个优点是，它可以用于软件内置的“工作列表自动分析”功能。图 14 讲解了工作列表自动分析的参数设定并演示了使用 MFE 和 PCDL 数据库检索自动访问数据文件并将结果报告导出到指定打印机或文件存放路径的流程。

这个分析举例列举了数据自动分析的所有步骤，与手动数据处理的步骤相似。

首先，将样品数据文件载入，所有以前数据的结果将被清除。下一步，按照已保存的数据分析方法设置进行“MFE 查询”，在数据方法中指定的 PCDL 数据库中检索化合物结果。最后，所有的结果将根据数据分析方法的设置自动生成报告。

在样品数据采集过程中，还需要进行两个步骤才能开始工作列表自动分析流程。

第一，数据分析方法和工作列表自动分析方案必须通过使用“Method”菜单的“Save As”选项并选定采样方法名称从而保存在采样方法中。一旦点击“OK”，数据分析方法就被整合到数据采集方法中了。

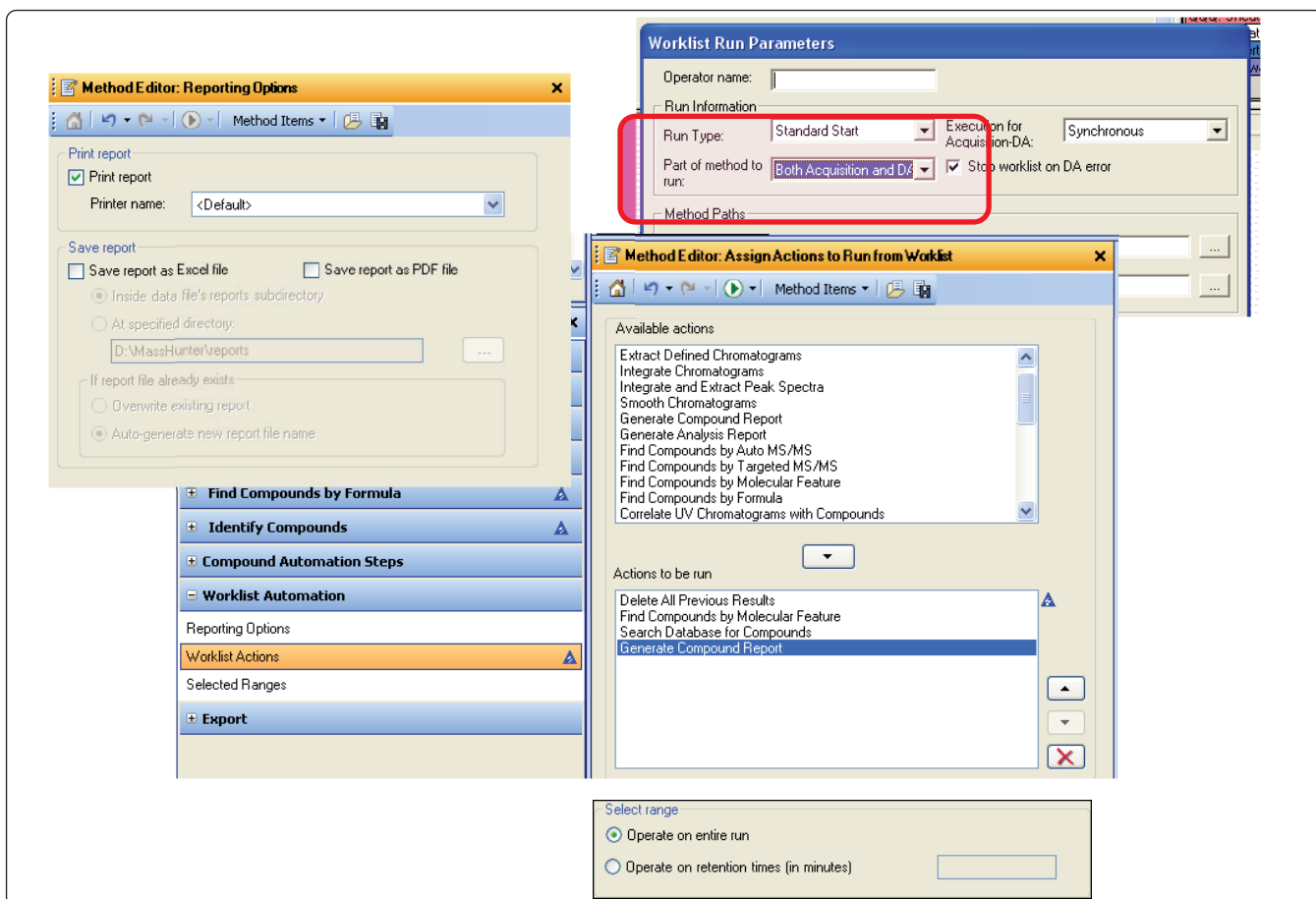


图 14. 工作列表自动分析方法的设定

最后，若要在数据采集过程中自动地进行工作列表数据的分析，就要首先打开 MassHunter 采集软件界面“Worklist”菜单下的“Worklist Run Parameters”窗口。图 14 是这一步骤的屏幕截图，对其中的设置选项作了标记。如图所示，数据分析将处理“Parts of method to Run - Both Acquisition and DA”（方法中运行的部分项目-采集和数据分析）。数据分析参数可以选择同步和非同步两种方式。

## 结论

安捷伦 MassHunter 法医毒物数据库工具包采用目标和非目标化合物分析方法进行广泛的样品扫描。数据库包括具有潜在价值的 6700 个化合物的精确质量数据，且可由用户自行定义数据库，便于使用。

MassHunter 法医毒物数据库工具包可以为您提供：

- 复杂待测物的快速简易分析
- 包含约 6700 个化合物的广泛的数据库
  - 化合物结构，分子式和精确质量数
  - 直接链接到化合物检索网站，PUBCHEM 和 ChemSpider
  - 国际理论化学和应用化学联合会命名（IUPAC）
  - 可以建立 MS/MS 谱库
  - 完全的自定义功能，可以任意添加/删除保留时间数据，记忆不同色谱方法下的化合物保留时间
- 可以直接在 PCDL 软件内部或直接从 MassHunter 定性分析软件中进行结果的匹配检索
- 可以利用功能强大的检索工具，如分子特征提取和分子式查询对结果进行数据挖掘
- 可以利用 MassHunter 定性分析软件和采集工作列表对数据库检索实现部分或全部的自动化

## 参考文献

1. “串联四极杆液质及动态多反应监测（DMRM）进行农药多残留的检测”安捷伦应用文献 5990-4253CHCN
2. “农药数据库用于样品中农药的扫描和鉴别”安捷伦应用文献 5990-3976EN
3. “安捷伦法医及毒物数据使用指南”安捷伦出版号 G6855-90003
4. “安捷伦 G6855AA MassHunter 数据库和法医及毒物分析方法软件的使用指南”安捷伦出版号 5990-4264EN
5. “安捷伦 MassHunter 定性分析软件精通指南”安捷伦出版号 G3335-90060

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、执行或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息，描述和指标如有更改恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2009  
2009 年 8 月 3 日中国印刷  
5990-4252 CHCN



**Agilent Technologies**