

Cerno MassWorks를 이용한 애질런트 LC/MS 단일 사중극자 시스템의 Accurate Mass 및 스펙트럼 정확도

응용 자료

저자

Don Kuehl, PhD
Cerno Bioscience

소개

단일 사중극자 LC/MS 기기는 분석 실험실에서 일상적으로 사용되는 기기이지만, 미지 화합물의 분자식을 식별해야 하는 응용에는 한계가 있습니다. 단일 사중극자 MS 시스템이 단위 질량 분해능에서 작동할 때의 일반적인 질량 정확도에 대한 제조사 사양은 ~0.1–0.5Da이며, 이는 원소 조성 확인(분자식 식별)에는 충분치 않은 수준입니다. 그러나 Cerno MassWorks 소프트웨어의 진보된 보정 기술을 LC/MS 단일 사중극자 시스템에 적용하면 질량 정확도를 최대 100배 향상시키고, 더욱 중요하게는 99.0%의 스펙트럼 정확도로 화합물 동위원소 프로파일을 정확하게 모델링할 수 있습니다[1]. 애질런트 LC/MS와 MassWorks의 조합은 순수 화합물의 분자식 식별을 위한 비용 효율적인 솔루션입니다. 본 응용 자료에서는 미지 화합물 분자식 식별에 충분한 질량 정확도와 스펙트럼 정확도의 관점에서 애질런트 LC/MS의 성능을 평가했습니다.



Agilent Technologies

실험

성능 테스트를 위한 보정 시료로 애질런트 표준 투닝 용액(G2421-60001)을 사용하였습니다. 이 용액에는 117~2,722Da의 질량값을 갖는 여러 보정 이온이 포함되어 있습니다. Agilent 6120B 단일 사중극자 LC/MS의 기기 파라미터는 데이터를 이온 임계값 제로에서 raw(프로파일) 모드로 수집하도록 설정하였습니다. 스캔 범위는 Scan 모드 Full Scan Data Storage에서 100 ~ 1,000Da로 설정되었습니다[2]. 성능 평가에서는 LC/MS에 흔히 사용되는 벤치마크 표준물질인 레저핀(분자량 608.68, 분자식 $C_{33}H_{40}N_2O_9$)을 테스트 시료로 사용하였습니다. 투닝 용액 10 μ L와 레저핀 10 μ L를 루프 주입 방식으로 LC/MS에 주입하였습니다. 따라서 총 주입량 1 μ g(LC 분석의 on-column 도입량과 동일)에 대한 레저핀의 농도는 100ppm 이었습니다. 레저핀은 유의미한 통계분석을 위해 10회 주입하였습니다.

투닝 용액의 애질런트 MS 데이터는 MassWorks 소프트웨어의 Calibration 모드에서 직접 열어볼 수 있었습니다. 그리고 미리 정의된 애질런트 투닝 혼합물용 이온 리스트를 간단히 로딩하면 보정 이온의 위치가 자동 배정되었습니다. 그림 1은 보정 절차의 일부 소프트웨어 스크린샷을 보여줍니다. 결과를 검토할 때, 보정 파일은 저장된 후 모든 샘플 실행에 적용되어 완전히 보정된 질량 스펙트럼을 생성했습니다.

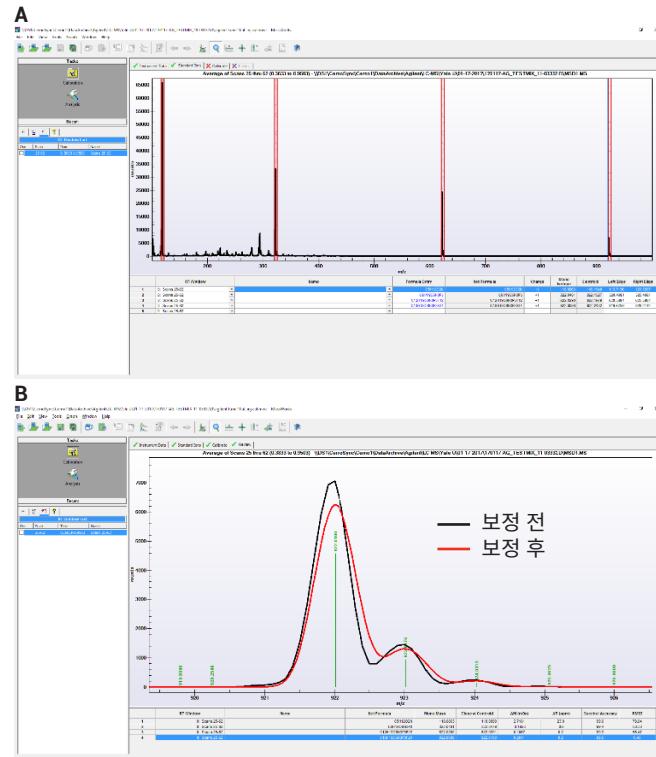


그림 1. 보정 이온의 자동 선택(A)과 보정 전/후의 질량 스펙트럼 리뷰(B)를 보여주는 스크린샷

결과 및 토의

그림 2는 반복 측정의 한 보정 데이터에서 Analysis 모드 하의 분자식 검색 결과를 보여줍니다. 10mDa의 질량 허용 오차 범위 내에서(MassWorks 보정에 의해 0.00x Da 수준으로 정확하게 이루어진 후의 질량 측정값), C, H, N, O를 포함하는 모든 분자식을 찾기 위한 검색이 이루어져, 38개의 가능한 원소 조성이 검색되었습니다. 모든 주요 및 미량 동위원소가 포함된 전체 MS 프로파일이 알려진 선형태에 따라 보정되었기 때문에, 각 가능한 원소 조성의 기본 원칙에 기반하여 실제 질량 스펙트럼을 계산하는 것과 해당 스펙트럼 정확도를 보정된 질량 스펙트럼과 비교하여 산출하는 것은 매우 간단합니다. 스펙트럼

정확도는 실제 질량 스펙트럼과 보정된 질량 스펙트럼의 일치도를 정량하는 간단한 수학적 측정 기준값입니다.

그 후 분자식 검색에서 나온 후보들을 스펙트럼 정확도 기준으로 분류하여, 매우 신뢰성 높은 분자식 식별 결과를 얻을 수 있습니다. 그림 2의 사례에서, 가장 잘 매칭되는 레저핀 분자식의 스펙트럼 정확도는 99.1% 이상이었고, 그 다음으로 잘 매칭되는 레저핀 분자식의 스펙트럼 정확도는 98.7% 이하였습니다. 이 진보적인 분자식 식별 알고리즘, 즉 CLIPS(Calibrated Lineshape Isotope Profile Search)는 질량 정확도와 스펙트럼 정확도를 모두 조합해 기존의 일상적 LC/MS 기기에서도 분자식 식별을 할 수 있게 합니다.

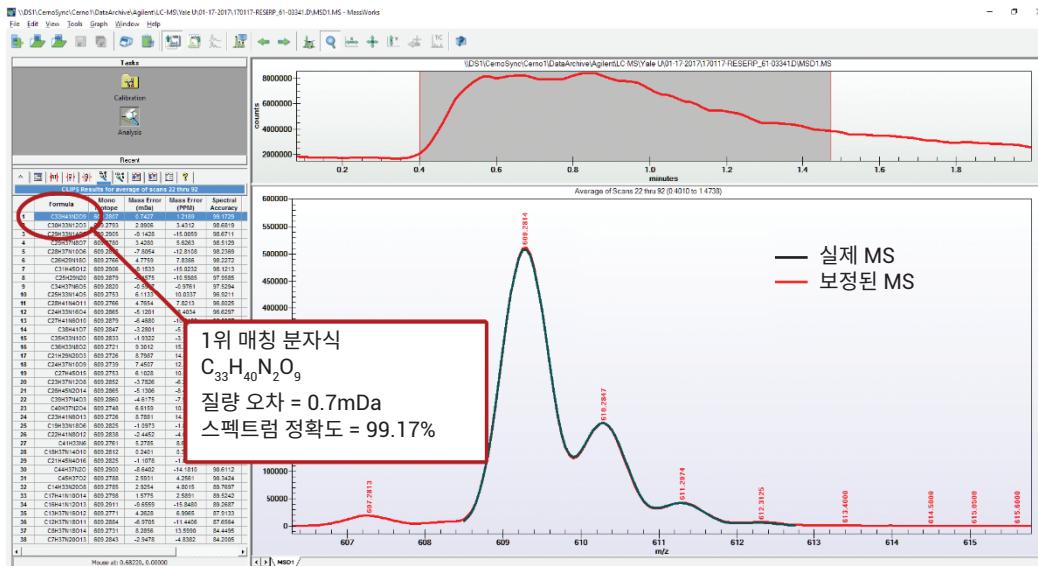


그림 2. 레저핀 분자식 검색 결과, 질량 오차 1mDa 이하 및 스펙트럼 정확도 99% 이상의 1위 매칭 분자식을 확인.
이 플롯은 실제 질량 스펙트럼(검정색)과 보정된 질량 스펙트럼(붉은색)의 오버레이 및 스펙트럼 매칭의 정확도를 보여줍니다.

표 1은 10회 반복 측정의 통계 요약을 보여주고 있습니다. 측정 재현성은 질량 오차는 $\pm 0.005\text{Da}$ (5mDa) 이내로 나타났으며, 이것은 보정되지 않은 기기 사양에 비해 약 100배 우수한 수준입니다. 또한 보정된 질량 스펙트럼의 선형태는 추가적으로 분자식 식별에 대한 강력한 측정 기준을 99.0%의 스펙트럼 정확도로 제공합니다. 애질런트 단일 사중극자 기기 제품군은 뛰어난 안정성으로 널리 알려져 있으며, 보정된 상태를 수일간 유지할 수 있습니다 [3]. 따라서 잣은 재보정이 불필요하고, 쉽게 MassWorks 소프트웨어를 이용해 분자식을 식별할 수 있습니다.

표 1. 레저핀의 10회 연속 주입에서 얻어진 질량 오차와 스펙트럼 정확도의 통계 요약

주입	Accurate mass	질량 오차 (mDa)	질량 오차 (ppm)	스펙트럼 정확도(%)
1	609.2781	-2.6	-4.2	99.06
2	609.2822	1.5	2.5	99.05
3	609.2824	1.7	2.9	99.01
4	609.2840	3.3	5.5	98.71
5	609.2781	0.4	0.7	98.98
6	609.2814	0.7	1.2	99.17
7	609.2802	-0.5	-0.8	98.82
8	609.2800	-0.7	-1.1	99.11
9	609.2781	-1.5	-2.4	98.82
10	609.2822	-0.2	-0.3	99.00
평균	609.2807	0.3	0.4	98.97
표준 편차	0.0021	1.7	2.8	0.15

결론

애질런트 LC/MS 단일 사중극자와 MassWorks의 조합은 레저핀의 반복 측정에서 5mDa 이내의 질량 정확도와 99.0%의 스펙트럼 정확도를 보여줍니다. 새로운 MS 보정 및 분석 소프트웨어를 통해 실험실의 워크호스인 단일 사중극자 LC/MS를 강력하고 비용 효율적인 분자식 식별용 도구로 변모시킬 수 있습니다. 이 강화된 성능은 기존에는 고가의 전문적인 고분해능 기기에서만 가능했던 기능 중 상당 부분을 일반 분석 실험실에 제공하여 시간과 비용을 모두 절약해줍니다.

감사의 글

애질런트 LC/MS 시스템의 실험 및 사용에 대해 도움을 제공해 주신 Mr. Terence Wu(Director of the Yale University West Campus Core MS Facility)께 진심어린 감사의 인사를 드립니다.

참고문헌

1. Y. Wang, M. Gu. "The Concept of spectral accuracy for MS" *Anal. Chem.* **82**, 7055-7062 (2010).
2. MassWorks에서 기기 파라미터를 어떻게 설정하는지에 대한 자세한 가이드는 *Cerno* 지원 노트를 참조하십시오.
3. J. Mullis, F. Qiu, Y. Wang. "The Robustness of Formula Determination on a Single Quadrupole GC/MS" ASMS (2008).

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트의 제품 및 서비스에 대한 자세한 정보는 애질런트 웹사이트 (www.agilent.com/chem)를 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 자료의 오류 또는 장비의 설치, 성능, 이 자료의 사용 등과 관련된 사고나 결과적 손상에 대해 법적 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2017

2017년 5월 18일

한국에서 인쇄

5991-8065KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418

한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부

고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies