

应用氯元素质量过滤器对环境样品的精确质量数据进行分析

应用报告

环境

作者

Imma Ferrer 与 E. Michael Thurman
Center for Environmental Mass Spectrometry
科罗拉多大学
博尔德，科罗拉多
美国

摘要

氯元素质量过滤器用于筛查 LC/TOF-MS 和 LC/QTOF-MS 数据文件，从而发现含氯的化合物。氯元素质量过滤器使用 Mass Hunter 软件生成含氯化合物的分子式。本文例举了对药物污染的环境水样（来自废水排放污染的南普拉特河）的分析。氯元素质量过滤器是一个实用的数据分析工具，可应用于环境化学领域中复杂样品的分析。

引言

LC/TOF-MS 和 LC/QTOF-MS 产生的数据文件包含着数千个离子的信息，采用人工技术难以处理。因此使用软件使数据分析变得快速而高效是非常重要的。在本应用报告中，我们介绍了这样的一个数据分析工具——氯元素质量过滤器。许多农药和药物产品中含有氯，它们是重要的环境分析对象。由于氯元素含有 Cl³⁵ 和 Cl³⁷ 两种同位素，因此含单个氯原子的分子可以产生特征性的 A+2 模式的同位素峰。此外，由于 Cl³⁷ 存在同位素质量亏损，从而使分子中氯元素的鉴定变得相对容易 [1]。含一个以上氯原子的分子可以产生 A+2 和 A+4 模式的同位素峰，这一现象特征性强，一般在任何质谱书中都可查阅到，对于含氯化合物的鉴定非常关键 [2]。

在本应用报告中，我们设定 MassHunter 软件参数，使其自动实现从废水污染的地表水水样数据文件中生成含氯化合物的分子式。此外，自动输出的报告包含一个针对法医或农药数据库的搜索结果，方便化合物的鉴定。

此时，用户只需要审核数据报告以达到质量控制和质量保证的目的。氯元素质量过滤器可处理任何环境样品的 .d 格式数据文件，如农药残留的食品或药物污染的水样。



Agilent Technologies

实验条件

任意一款 Agilent 6200 或 6500 系列精确质量质谱仪，均可用于获取该分析所需的数据文件，我们使用 6220 质谱仪获取分析地表水中药物的数据文件，地表水样品来自被丹佛市区居民生活废水污染的南普拉特河。数据文件为 .d 格式，可直接导入 MassHunter 软件包的定性分析软件进行分析。所有 6200 或 6500 系列精确质量质谱仪均可采用该定性分析软件进行数据分析。

结果与讨论

应用氯元素质量过滤器

氯元素质量过滤器的使用分八步，第一步首先要打开定性分析软件包及目标 .d 文件。

步骤 1. 点击绿色图标，在定性分析软件包中打开目标 .d 文件。点击 <Find Compounds Menu>（见图 1），打开 <Find by Molecular Feature> 选项。点击图 1 中蓝色箭头所指图标可激活该程序。打开化合物过滤选项，设置响应相对高度为 1.5%、绝对高度为 10000。对于较低丰度化合物的测定，相对高度也可不设定。当然，这些设置可能需要根据具体仪器和数据的噪音水平进行调整。这三项设置可以对复杂样品信息进行过滤，并可充分利用软件功能去发现含氯化合物的小色谱峰。

其它需要设置的有离子种类，设置 +H 和 +Na 两种阳离子类型，负离子设置为 -H。提取小分子（色谱峰的）的信息并选用响应大于 1000 的峰高数据。同样，此设置可能需要根据具体仪器背景和样品噪音进行调整。<Charge State> 设置为 0.0025 加 7 ppm 的峰间距，同位素峰模型设置为普通的有机分子，电荷状态分配的最大极限设置为 1。<Mass Filter> 和 <Mass Defect> 均无需设置。<Results> 设置为提取 EIC，关注所有化合物，并删除先前的结果。这些设置可实现程序在“Molecular Feature”意图下的完美运行。

步骤 2. 点击如图 1 所示箭头所指的图标运行“Find by Molecular Feature”程序。该程序可鉴定 .d 文件里所有的离子并将相关离子进行分组，如同位素离子和钠加合离子。该程序不能将碎片离子合理归属，而认为它们是不同的化合物。

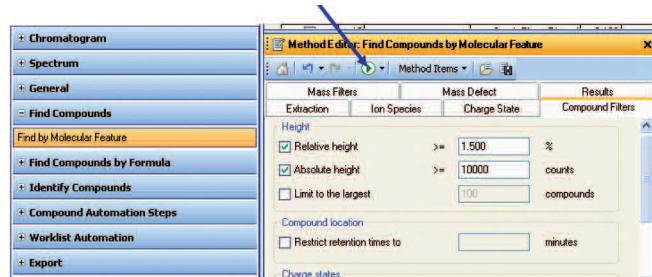


图 1. Find by Molecular Feature 选项设置

步骤 3. 打开 <Identify Compounds> 选项（图 2），选中 <Generate Formulas>。打开如图 2 所示的窗口，我们从此表中指定化合物最多含两个氯原子，最少含一个氯原子（如图 2 箭头所示）。请注意，本例中仅过滤了含 1-2 个氯原子的化合物，但可以选择过滤包含更多氯原子的化合物的参数。图 3 显示了 <Limits> 项和 <Charge State> 项的设置，此设置可得到良好的分析结果。请复制这些参数。

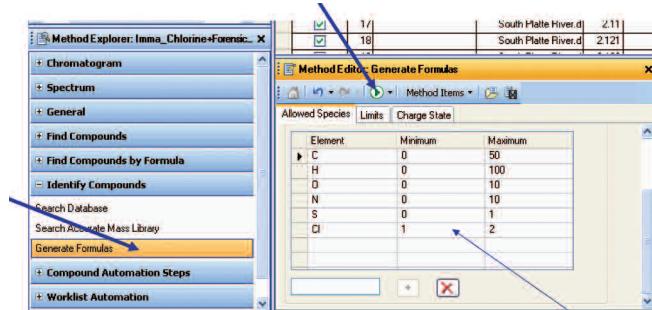


图 2. Identify Compounds 和 Generate Formulas 选项设置

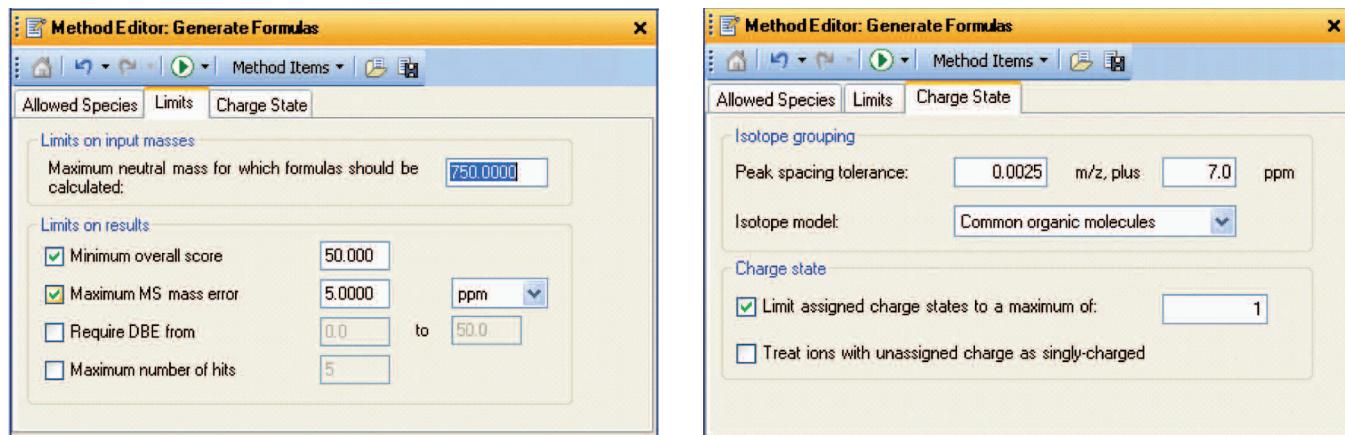


图 3. 其它选项设置

步骤 4. 运行包含氯原子参数的“Generate Formulas”程序。根据步骤 2 中已鉴定出的所有特征生成化合物分子式，并仅能生成包含 1-2 个氯原子的分子式。

步骤 5. 打开<Search Database>窗口，点击<Search Criteria>。按图 4 所示选择<Molecular Formula>选项。强制使搜索结果仅显示与生成分子式匹配的化合物（并仅包含 1-2 个氯原子）。下一步选择数据库。这里例举的是法医或农药数据库（图 5）。选项设置如下：阳离子设置为 +H，阴离子置为 -H，Search Results 项设为空白，Peak Limits 设置为 5，Search Criteria 设置为质量数和 5 ppm。这些设置将保证顺利完成化合物的鉴定。法医数据库收载了超过 7500 多种化合物，包含药物和农药。含氯化合物归入到标有 MFG Formula 的列或分子式生成器中。

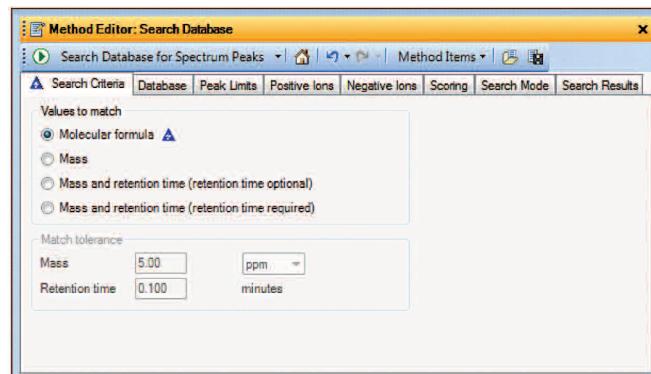


图 4. 根据分子式设置搜索条件

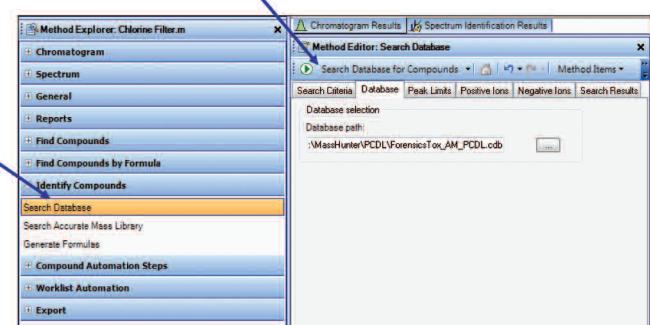


图 5. 使用收载7500种化合物的法医数据库的 Search Database 程序

步骤 6. 运行 Search Database 程序。该程序现在开始运行并审验步骤 4 中生成的所有分子式，如果某化合物的分子式在数据库中，则分配给该化合物一个相应的名称。如果某化合物分子式不在数据库中，则最后报告中该化合物的 Name 栏为空白。在这种情况下，所有含氯化合物最合适的分子式会打印在 Molecular Formula Generator 栏中。

步骤 7. 打印报告。报告包括以下栏目：化合物标记、保留时间、中性化合物的质量、名称（如果在数据库中可检索到）、分子式生成器（MFG）元素分子式、MFG 质量精确度差异、数据库分子式（DB）和 DB 质量精确度差异。河水样品的检测报告如图 6 所示。

Qualitative Compound Report									
Data File	South Platte River.d	Sample Name							
Sample Type	Sample	Position	P1-C6						
Instrument Name	Instrument 1	User Name							
Acq Method	Multiresidue_Pesticides.m	Acquired Time	8/10/2009 7:09:22 PM						
IRM Calibration Status	Success	DA Method	Chlorine Filter Automated.m						
Comment									
Compound Table									
Compound Label	RT	Mass	Name	Formula	MFG Formula	MFG Diff (ppm)	DB Formula	DB Diff (ppm)	
Cpd 464: Lamotrigine	13.641	255.0077	Lamotrigine	C9 H7 Cl2 N5	C9 H7 Cl2 N5	0.54	C9 H7 Cl2 N5	0.54	
Cpd 499: Ketamine	13.858	237.0923	Ketamine	C13 H16 Cl N O	C13 H16 Cl N O	-0.89	C13 H16 Cl N O	-0.89	
Cpd 637: C9 H10 Cl N	15.265	167.0502		C9 H10 Cl N	C9 H10 Cl N	-0.39	C9 H10 Cl N		
Cpd 640: C13 H20 Cl N O	15.266	241.1233		C13 H20 Cl N O	C13 H20 Cl N O	0.33	C13 H20 Cl N O		
Cpd 735: C19 H27 Cl N6 O2 S	16.37	438.1611		C19 H27 Cl N6 O2 S	C19 H27 Cl N6 O2 S	-1.36	C19 H27 Cl N6 O2 S		
Cpd 775: C14 H34 Cl2 N10 O2	16.768	444.2245		C14 H34 Cl2 N10 O2	C14 H34 Cl2 N10 O2	-0.5	C14 H34 Cl2 N10 O2		
Cpd 889: C18 H29 Cl N2 O3 S	18.264	388.1583		C18 H29 Cl N2 O3 S	C18 H29 Cl N2 O3 S	1.18	C18 H29 Cl N2 O3 S		
Cpd 1015: Losartan	19.635	422.1629	Losartan	C22 H23 Cl N6 O	C22 H23 Cl N6 O	-1.7	C22 H23 Cl N6 O	-1.7	
Cpd 1137: C18 H29 Cl N2 O6 S	21.105	436.1439		C18 H29 Cl N2 O6 S	C18 H29 Cl N2 O6 S	-0.9	C18 H29 Cl N2 O6 S		
Cpd 1159: C28 H41 Cl N4 O2	21.311	500.2929		C28 H41 Cl N4 O2	C28 H41 Cl N4 O2	-2.1	C28 H41 Cl N4 O2		
Cpd 1194: C18 H33 Cl N2 O4	21.64	376.2118		C18 H33 Cl N2 O4	C18 H33 Cl N2 O4	2.91	C18 H33 Cl N2 O4		

图 6. 应用法医数据库搜索首次测定河水中一种抗抑郁药的输出报告 [3]。

步骤 8. QA/QC 人工报告。最后，分析人员有必要人工审核已检出的含氯化合物。这一步需要人工调出合适保留时间的相应离子信息并核对该离子的同位素峰信息特征。图 7 为一个在受附近废水流入污染的南普拉特河中检出了拉莫三嗪的实例。拉莫三嗪是一种抗抑郁药，它在样品中被检出，保留时间为 13.4 min [3]。测定的离子质量为 m/z 256.0150，并显示出 A+2 和 A+4 同位素峰特征，质量分别为 m/z 258.0121 和 m/z 260.0092。请特别注意该化合物的 A+2 和 A+4 相关同位素峰出现质量亏损。两峰的相对质量亏损分别是 -0.0029 和 -0.0029。这些值非常接近理论值 -0.0030，是分子中存在两个氯原子的有力证据 [1]。这一步是氯元素质量过滤器应用的关键一步，并需人工操作。因为分子式生成器运行仅仅关注离子质量，它可能产生一些不符合同位素特征的分子式。在该分析南普拉特河样品的实例中，大约获得 100 个可能的含氯化合物峰，其中 20 个已根据相对质量亏损和同位素特征确定含氯元素。

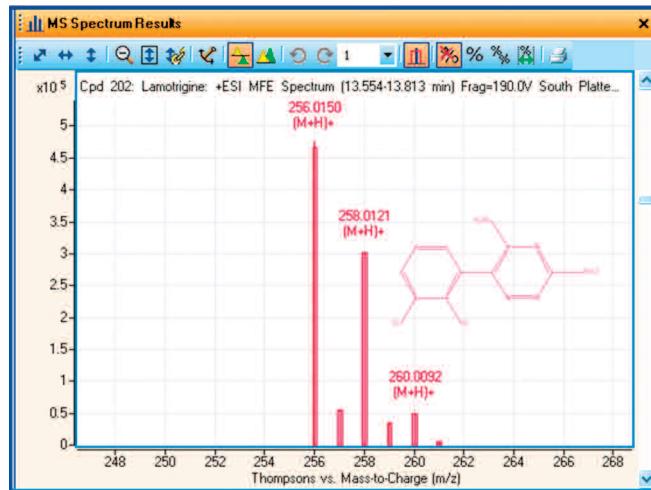


图 7. 拉莫三嗪的质谱图

在这 20 个不同的离子中，有 15 个离子是不同的组分，其余 5 个离子是这些离子的碎片离子，这已经通过保留时间匹配得到确证。例如，图 8 为西替利嗪的结构，通过法医数据库检索，它的保留时间 18.3 min 与两种离子吻合，分别是 m/z 为 389.1626 的质子化分子和 m/z 为 201.0466 的碎片离子。结合质量精确度、数据库匹配和碎片离子识别，证明采用氯元素质量过滤器发现和鉴定废水污染水样中的微量氯化物非常有效。本报告介绍的氯元素质量过滤器同样适用于被农药污染的食品样品或其它类似的环境样品分析。

结论

应用 Agilent 6200 系列或 6500 系列 TOF 或 Q-TOF 精确质量 LC/MS，以及 5.0 版 MassHunter 定性分析软件，通过氯元素质量过滤器可有效筛选出所有包含 1-2 个氯原子的化合物的 MS 数据。这个过程可以修改为筛选任意特定数量的卤族元素或任意其它特定元素，例如氟元素过滤器或铁元素。通过使用 Worklist Automation 选项使程序自动化运行，然后进行人工 QC 鉴定。

参考文献

1. E.M. Thurman, I. Ferrer, 2010, The isotopic mass defect: A tool for limiting molecular formula by accurate mass: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 397: 2807-2816.
2. R.M. Smith, 2004, Understanding Mass Spectra, John Wiley & Sons, Inc., New York, 290p.
3. I. Ferrer, E.M. Thurman, 2010, Identification of a new anti-depressant and its glucuronide metabolite in water samples using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry: *Analytical Chemistry*, v. 82: 8161-8168.

更多信息

如需了解更多有关我们产品和服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn

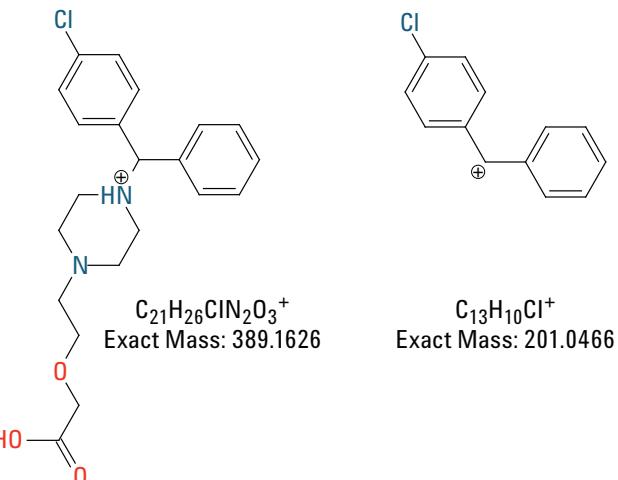


图 8. 同时在保留时间 18.3min 出现的西替利嗪的两个离子

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2011
2011 年 12 月 5 日 中国印刷
5990-9431CHCN



Agilent Technologies