

革命性创新设计的QTOF系统和SCIEX OS软件实现法医鉴定 和定量的工作流程

新型 SCIEX X500R QTOF系统能够激发您常规法医鉴定的激情

Xiang He and Adrian Taylor

SCIEX, 1201 Radio Rd, Redwood City, CA 94065, USA; SCIEX, 71 Four Valley Drive, Concord, Ontario, L4K 4V8 Canada

综述

四级杆飞行时间(QTOF)质谱的灵敏度和选择性筛查流程正 逐步成为法医毒理学领域日益需求的一项技术。这项技术克服了 传统技术面临的许多挑战,一针进样即可允许回溯性分析挖掘的 数据特点,更加显著的捕获样品的所有信息。使用具有准确质量 和高分辨率的TOF-MS和TOF-MS/MS数据允许同时进行高度特异性 的靶向定量和非目标性筛查。这里我们介绍的新型台式QTOF系统 是一款使用革命性创新设计的N型TOF离子通路,直观的软件,更 易于将高分辨质谱技术用于法医鉴定。新型硬件和软件的组合允 许通过无缝隙的工作流程,将尿样中的化合物进行高水平确证的 定性和定量。



图1. SCIEX ExionLC™ AC HPLC系统(左), SCIEX X500R QTOF 系统(中) 和SCIEX OS软件(右)。

简介

液相色谱与串联四极杆的组合(LC-MS/MS)是一款被广泛 用于化合物和代谢物筛查的分析工具。基于质量分析的三重四级 杆,其多反应监测(MRM)模式已成为日常表达高选择性和高灵 敏定量结果的首选方法,但仅局限于目标性的筛查。

随着法医毒理学对回顾性数据和非靶向分析需求的日益增高,高分辨率,准确质量和全扫描质量分析受到了大众的欢迎。 但这项技术的采纳受到了高分辨质谱相比于低分辨质谱使用更加 复杂的限制。这里介绍的这款新型革命性创新的四级杆飞行时间 质谱(QTOF),具有先进的工程设计,将高性能的TOF-MS和TOF-MS/MS功能引入至一个紧凑的台式平台中。

SCIEX X500R QTOF质谱是从完全集成的SCIEX ExionLC[™]系统 到新型设计的SCIEX OS软件这套完整流程中的一部分,新型的用 户界面具有同时定性和定量的工作流程(图1)。

SCIEX X500R QTOF 系统

新型台式SCIEX X500R QTOF系统,具有革命创新设计的N型 几何学 TOF飞行通路,其工程设计旨在简单,维修方便以及最小 化脚本。N型TOF几何学设计与V型几何学设计相比,具有相同有 效的离子飞行路径长度,也就是说具有相同的分辨率,但N型设计 可使整体脚本更小化。并通过在TOF腔体中额外安装一个镜子的方 式避免离子传送损失(图2)。为了保持质量准确的稳定性,系统 使用了简单的TOF真空腔体加热的设计。该设计由6个小巧的加热 机组成,保证TOF腔体恒定的温度,绝缘材料的使用避免随着环境 温度的变化而变化。(图2)





图2. SCIEX X500R QTOF 系统和技术前沿。

系统设计最大化稳定性和正常的运行时间:

- 集成的校正传输系统和带有双喷雾探针的Turbo V[™]离子源(图 3),即使长时间运行,也会无缝地进行质量精度校正。
- 维修方便
 - QJet和涡轮泵的便于快速和高效的维修,提高系统正常的运行时间
 - 分段TOF真空腔的设计-在保护灵敏的加速器的同时,易于 进行检测器维护



图3. 集成的校正传输系统和带有双喷雾探针的Turbo V™ 离子源。

图4展示了使用SCIEX X500R QTOF系统分析多个尿液样品时 的质量准确稳定性,该实验长达十小时,期间未执行自动校正功 能,对多种浓度的分析物进样。结果显示运行时间内的大多数化 合物的质量准确度都在1ppm以内。



图4. 分析尿液样品时, SCIEX X500R QTOF系统的质量准确度的稳定性。

图5展示了使用 SCIEX X500R QTOF系统,7天的时间期间, TOF-MS 和TOF-MS/MS分辨率的变化曲线结果



图5. SCIEX X500R QTOF系统,选定的m/z一周内TOF-MS和TOF-MS/MS的分 辨率变化曲线。

图6展示了使用SCIEX X500R QTOF系统分析阿塞那平化合物时,4个数量级的代表性线性动态范围

SCIEX OS 软件

SCIEX OS软件是用来控制LC和MS的单一软件平台,可以进行数据处理并出具报告。





图6. SCIEX X500R QTOF 系统展示了阿塞那平的线性(0.5ng/mL至 1000 ng/mL)。

SCIEX OS软件界面直观且具有逻辑性,分为采集、处理和管理工作空间三大模块(图7)。在采集工作空间内,可分别对LC和MS参数进行编辑,并可创建序列和队列窗口。数据处理允许同时进行定性和定量,管理工作空间允许对软件,硬件和用户设置进行调整。



图7. SCIEX OS软件主页,用于LC/MS控制,数据处理且出具报告的单一软件平台。

采集:

SCIEX OS软件采集方法设置简便,仅相关参数可见,可逐步 按照向导设置。图8显示了用于分析小分子的信息依赖性采集方法 的设置,采用直观的步骤以输入MS参数值。

对于快速仪器状态检查,手动调谐引导客户通过一系列的步骤来执行系统性能的快速浏览,执行自动校正,并在序列运行前 报告出测试结果(图9)。



图8. SCIEX OS软件MS采集方法。



图9. SCIEX OS软件通过简单的逐步说明, MS调谐界面允许对仪器状态进 行快速检查。

序列的创建通过智能网格的设计允许进行复制/黏贴,向下填充,自动递增和导入/导出。图10展示了序列的编辑和自动校正设置的链接。

一旦将序列提交至序列,自动校正样品被插入,如图11中 队列管理器所示。SCIEX OS软件允许详细的仪器状态包括监测和 记录 LC 压力波动线,并可直接对单独的系统模块进行控制(图 11)。



	Batch			O E	I						3	@ Ready	
						VE	a celies	Plan Layers	fami Dpen		14 Bit.	Manage	Taken Street
ione	insic Wi	Bscreen				A							
	foregan.	RE Method	LC Method	Rack cells	Rack pesition	Plats code	Plane Realition	Vial position	Cate File	_			
	WSLH 1	DOA DA	00AUC.1	MultiParelack	3	LITTINGS .	Frank Position	п	Forenois unknown which bloost samples				
I.	WEH 2	1014.054	004163	MultiParelack	1	300144	Freed Processor	30	Personal unknown whele blood samples				
×.	W15H 3	004.034	DOA1C,3	Munthawluck	3	Littrine	Farest Partners	38	Foreisal ambrevelt while bookd samples				
۰.	WORK 4	1004.004	00410,1	thatfurfack	*	Imme	Fred Position.	34	Repeated understand place blood campiles				
	WASH 5	DOA EIA	DOA VC.3	MultiPatelack	1	10070946	Parel Postice .	25	Parental president whole provid samples				
۰.	WOH 8	054.04	D041/C,1	Matheolast	3	10064	Field Pastlern	36	Torrest antenne when blood arriphs				
1	9054 9	004.04	D54103	MultiParelack	1	320146	Parel Posticies	37	Porensic unknown whole blood samples				
۲.	31.6	DOA SIA	DOA'UC, I	SAUTHINGS.	1	100946	Fixed Postlere	10	Format Lekisten whele blood samples				
۰.	0.5	DOAIDA.	00A1/C.1	MultiPatelack	3	100Men	Final Position	38	Parynal, and some whole blood samples.				
23	1	004.04	00416,1	MARPINE'sch	1	300946	Fand Postice	41	Forefail selection whele blood samples				
11	\$	DOUDA	DOA1()	Mathaelast	1	LIDVIA:	Family Position	6	Poretect unknown whole blood samples				
0	38.	1004 EH	0041C.1	shatthatchick	1	100Mail	Part Postore	42	Reported understate which beyond camping				
23	16	DOA EA	DOA1C.1	MURPHICK	1.	100944	Treed Portlane	40	Parentic president effectiv between sampling				
14	100	DOA DA	DOAUG.	Mathanlack	1	10044	Field Postton	44	Formul, unknown shole thread samples				
29	500	C DOA DA.	004103	Mut/Newlick	1	10710	Fixed Postton	-45	Aprenaic unknown whole blood samples				
26	1000	DOM IDA	DOALC,I	Mattheolack.	2	100vian	Fired Parmer.	-46	Patronic antenany shale bland samples.				
17	18	DOAIDA.	00A (C.1	MultiPate/ark	1	100Vites	Fixed Postfrier	38	Paryntic printme shale blood samples.				
28	tow feet.	1014.004	00416,3	MARTING'SCR	1	3000/white	Field Particle	47	Forefull peloteen whele block campiles				
19	ingh Art	004 804	0041C,1	MultiParelack	3	Lithines	Freed Postform	48	Parents: anterese while blood samples.				
21													
21					Sm	art q	rid to a	assist i	n building the ba	tch			
4				0	anulaa	to G	II dawn		Incoment Inco				
21				C	opy/pas	ste, fi	II dowl	n, auto	increment, impo	nvexp	DIL		
24													

图10. SCIEX OS软件序列编辑和自动校正的设置。

Quie 0 8 2 5	9							D Autoring	
					4320	* 100 Car	e 4 86	Projects	
								ALCOLUCT MARLINE	
apalather Justice	Ed. Start Torus	Sample Barro	LC Mathematic	MC Marthaut	Intellite	Project .		-	
D balch - Charging								Queue	
•	1014/001 ILDOF AM	1441	pesticipie, Grange highway/	TA DRAME	wheeld.	AE (100) QFOF MINE samples		Service when	
•	INVECTOR DURING AM	5144	pearlisteles Cristee Inphenyl	EA LINEAUSING	TO Mark	AS 4900 GFOF MARE senates		Terrigite Save Savering	12
•	25/34/2023 L2 MUS RM	84	pesticited Grainer Supremyl	the UNIARDONNE	10.63	ALL NUE OF OF MAREL LANSING		Augusta be aroung	
0	DUVINGING LOUISING	1	pestimite. Emailer Spherigt	EX UNIVERSITY	01.1	AL RODUCTOR MIDEL LAMANN		ACLO IN	
0	10/54/3010 12:51:01 PM	18.7	pesitizites Einstei Eighenyl	EA OMMONIA	84 25	AL 4555 CTOF MINE samples		Devices	
0	38/56/2015 L12/15 PM	228	pasticoles Knahat Sphartyr	Existing the second	88 308	AL HOUSE WITH YOUR WITH THE		Bineda	
Sand - K Landler								Nesses Parment LL	
O manth Infla - 1 Samurina							The American State	and the second s	
Contraction (Charleson)								and some of	
C	10-14-2015 Auto all Par-	161		the transformation of	14	AT STITUTED TO A METHOD AND AND AND AND AND AND AND AND AND AN		And and a second se	
	Inductors and in the	1000	successive frames instants	the blackbollow	and an other	NO MORE COOR SAME IN COMMENT.			
	TROPOST ADDATE AND	and a	sufficient Franks Solution	the logarithment	10.000	at leties color Manil complex		ingent and	
0	The second second second second								
	TO DESIGN AND AND AND			the manufactures	14	VERSION OF A PRIME PRIME		Annual Internet	
	10/14/3015-6-84.58 Per	41	pepticities Cristies Signarity	DA UNIA/DONA	10.01	AD ANNO CLOSE WARE TRANSPORT			
0	10/10/2013 TISSEE PM	Ŧ	Justición Eletter Spheryl	EA UNIVERSION	111	AC KEEL COOP MARKE Langeve		ABRE GTO?	
					_				
ta Acquisition the be						And and a local division of the local divisi		Commission of Street,	
And and Party & in which the R			Print of the local sectors	and in the state of the				-	
THE NAME REPORT OF A PROPERTY AND ADDRESS OF A PROPERTY AND A PROPERTY	A DAY SHOULD BE		Ø fanthen fam lager	TOTAL OF MANUAL		spectrum L for MS (100 - 1000).	have \$300 min	Inti Charte	
tiel time			Classics for tend	The R Low Course	2-21.5pm	rearch +107 Mill (200 - 1000) York &	Class.		
			and h					Clourt Freehold	
								Control Controlog	
and arrit									
110 414 427	Live	TIC				Live	Spectrum	0	
100 10 10 10 10	Live	TIC			494,010	Live	Spectrum	G	
	Live	TIC	-		494.000	Live	Spectrum	<u>s</u>	
	Live	TIC	-			Live	Spectrum	<u>e</u>	6
الملامل المتنتان التات	Live	TIC			494.010 2540 425.00	Live	Spectrum	<u></u>	
	Live	TIC	800- 5 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	812	494.0200 2549 425.02	Live	Spectrum	<u> </u>	
الملمانية المتنابية	Live	TIC	100 - 100 -	100 26238	494.000	Live	Spectrum	<u></u>	
	Live	TIC		100 2042100 HI	494.0239 2949 - 445.02	Live	Spectrum		
	Live	TIC		106200 106200 100	494.0239	Live	Spectrum	<u>e</u>	
and a start white the start of	Live	TIC	100 10 10 10 10 10 10 10 10 10	101 274.270 274.270 274.270	404.0239	Live	Spectrum	9	

D 4 7 4 1 4 4 4 4 4 4 4 4

图11. SCIEX OS软件带有插入自动校正样品的队列管理器界面和详细的仪器状态窗口。

处理-分析

一旦产生结果列表,定量和定性结果均可在同一个窗口中浏 览(图12)。红绿灯系统用来显示基于质量准确度,保留时间, 同位素类型以及谱库匹配的鉴定可信度。未知样中计算的化合物 浓度若超出临界值将会被标记。并在同一个工作空间显示出峰积 分,谱图和校正曲线。

Inalytics	0 120	N		. 6						and the	R	0	Ready	7 -
Flagging			entration	njez DQA fo	annii Sotani	· Dist		80 (F)		Reporting		-	· Prices	Martine 7
Components and Drivell	MQE Results Table (south an	th Reply result unite, 25p8	Dound Served (2)											
Option	ъ				Acceptant		10 A 10	THE OWNER			8	28		
syliptidenzapite 8 *	Index Sample Name	Tager Component	Name Artual Concess.	tine .	Calculated Concerns	Mass 8	Man an	and and and	Carl	Library Coeffal	Found At M	Retention Time De.,	Library Hit	Library Score
spinotacapine 2	262 28 59	andary in-ethyloptimer	explex. 2000	2.07	1779eL 8	10.124 b	91130			1	1411 -	8.905	s adoptation one appeal	91,294
(instalation)	1014 100 10s	aides is eligiblications	a sphare 0.0150	-11	ativat a	anina a	42130	· ·	~		tait.	4.004	a which attacase up to	94.542
tytrofacspire 4	1312 500 100	entant a ethyluttanoe	A-49hedr_ 500.00	20	111362 1	R1100 1	62139		1		1811-	2208	s-ethycathinone spine .	186.000
yinitaispire 1	Nº 1814 (Standard & 12	inter setulation	express total	100	12662	ALLER 1	62.130	5 5			100.0	5.000	a attraction on a side	101.000
tenane 1	2540 University 8 UK	more a wholesteror	esterit, N/A	3/4	14 A	10.100 la	62139				1.4	2,329		m/A
natione 8 Natione 5 Natione applicatione static	semenan reae respet Generate Terustik Materi Note Terustiape Baseline Subtract Wester	10 pain 40 5	Area 2305c5.reqt		2), (Aarrijne (m 1: 2: 32 mm 1: 12 5 3:0	15 M	CLURDNO #	500 DOA 100, -HE-	100 100	272 min 24297			In DOA SW., 500) from (by 15p., am 2,448 to 2, (by 15p., am 2,448 to 2, (by 15p., am 2,448 to 2, (b) 140	1925 miles

图12. SCIEX OS软件允许对定性和定量结果同时进行浏览。

SCIEX OS软件允许用户过滤结果,使之仅显示通过验收标准 和在用户定义的信任区间内被检测到的化合物。(图13)



图13. SCIEX OS软件过滤标准。

最后,结果可通过使用创建报告的功能出具报告。(图14)

 Analytics 		0	12				•						6	Ready	1-0.8
	-	-	a tab b	. Prope	+ #1008.07	CP sales it array - larg	et suert 📷	nti			Cynal	n mporta	nd save Res	uto table.	
Composers and C	-	Ъ	uns raske part	pr part perce		-	-	N A		Ev Av	Date:	ties.its	to LIME.		
100		Bales.	Sample Name	Sample Type	Dilyton Factor	Componentlines	Actual Concentration	Retacilian Time	Termin	Calculated Concentration	free			. Library 10	. 10
natolik mg hanana		• 101	9194) 91994	University University	28.89 29.96	base and other settiments	NULA. NULA	9.80 9.21	CIPALICI.	146,001 11,000	3	5	3	Colorantranigerija	85.86 86.81
annoxity carriet	Crea	ate Repa	×t										1		
stranbarry Iomato	Genera	the a report	using a pre	defined temp	labe and s	pecified logo			Templa	te Vew			1		
	Templa	te name	Per Sa	ingle Quant-4	Qual Visibi	e Rows Using Visibi	le Arlalyte	*	100	Same The					
Instanta	Tempo	re percept	en.						1000	e 18	in the second		1		
100									- Area		27131	141			
									-						
L	-												_		
Data Acquisition	_				SCIE	0				lines of	17525	- -	65H B	CONTRACTOR DATA	- A
	Report	format	. w	lord.											
	Report	tide	Sec.54		to Tife	-Internet	Tana Tan	- Million	(jeller, glin	9					
			Create	nind 1	ganta basa	1998 PTP air many heat and	Second Re	er							
			Record	rended.	And in case	types Symmetry	9		100	-	-				
	_	_	_	- 5	a ta lata a	Instantian Instantian	-	our int	-	-		1 =			
				100	-	The last 1	100 100	10000	a transfer	tangue (NOV					
					2149										

图14. SCIEX OS软件产生报告。



SCIEX X500R QTOF 系统使用SCIEX OS软件的采 集工作流程

信息依赖性采集

信息依赖性采集(IDA)未非目标数据采集(图15)。它允许 TOF-MS定量,离子通过高选择性的Q1单位分辨率,在筛查时可提 供高度可靠的MS/MS信息。IDA-MS/MS能够提供最不受干扰的碎 片信息。



图15. 信息依赖性采集。

在创建IDA采集方法时,MS和MS/MS的参数设置在一个单一的用户界面显示。图16显示了本篇技术文献中所描述的IDA实验参数。在这个实验中,每一次数据采集周期,一个TOF-MS探测扫描能够触发多达16个独立的TOF-MS/MS扫描。

Method duration		:	min	Total scan time:	0.58089 sec						
Estimated cycles:	826										
Source and Gas Para	meters										
lon source get 1	60	- 1	pti	Curtain gas	30	;		Temperature	600	0	°C
Ion source ges 2	60	-	pel	CAD gas	7	;					
Experiment IDA	* -										
Polarity	Positive	٣	v	Spray voltage	2500	ţ	V.				
TOFMS											
TOF start mats	100	- 1	Da	Declustering potential	60	;	v	Collision energy	10	٥	٧
10F stop mu ^{ta}	1000	:	Da	DP spread	0	:	٧	CE spread	0	0	٧
Accumulation time	0.1	:	100								
IDA Criteria Small mol	ecule 💌										
Maximum candidate ions	16	:		V Dynamic background	aubtraction						
Intensity threshold exceeds	10	:	600	Exclude former candi	date ions						
				For	sec						
Advanced Offenia				After 1	C occurrence						
TOF MSMS											
Presursor ise	4.01	1	Da	Declustering potential	60	4	v	Collision energy	35	۵	٧
	44			DR spread	ö		42	Cf amount	+ 4		
TOF start mass			1.00	ma shares			×	C. 101040	1.7	•	Y

图16. SCIEX OS软件信息依赖性采集方法编辑界面。

SCIEX X500R QTOF系统具有快速的扫描速度(单一的碰撞能 量高达100Hz),样品中几乎所有潜在的目标化合物都可通过确信 的MS/MS谱库匹配的方式进行确认。

IDA-MS/MS为非目标数据采集方法,每一次数据采集周期, 用户需要定义候选化合物的最大数量。响应较高的离子在任一数 据采集周期内,具有较高的优先级。因此,对于丰度较低的物 种,尤其是带有复杂基质的样品,对应的MS/MS信息就可能会丢 失。因此,在所有的运行时间(MS/MS^{AII})内,收集所有MS/MS信 息无偏见的MS/MS数据采集方式将解决这个潜在的担忧。

SWATH 采集

SWATH 采集(图17)是在所有运行时间内,提供样品中所有 化合物MS/MS信息的非目标性采集方式。SWATH 采集的每一次扫 描周期均以TOF-MS实验开始。因此,该采集方法获取的TOF-MS和 TOF-MS/MS采集数据可用于筛查和定量。

大多数现有的能够同时收集所有离子MS和MS/MS信息的 MS/ MS^{AII}技术都是以交替式方式进行, i.e. MS 扫描所有的母离子, 紧 接着MS/MS扫描所有母离子的碎片信息。若不对母子进行选择, 这种采集方式与IDA-MS/MS相比, 具有灵敏度不足, 选择性较差 以及较窄的线性范围的特点。



图17. SWATH 采集。

SWATH 采集使用固定的或可变的 Q1独立窗口,作为TOF-MS/MS实验的一部分,涵盖感兴趣离子的质量范围。图18展示了 SCIEX OS 软件的SWATH 采集方法编辑界面,该案例以16个环环 相扣的TOF-MS/MS实验为例,每个实验都是不同的(多样的)Q1 独立窗口,窗口的范围需要涵盖感兴趣离子的质量范围(120至 500m/z)。



TOF M	SMS								
TOF st	tart mass 40	C Da	TOF stop	mass	500	0	Da	Dynamic collin	sicn energy
Accum	nulation time 0.025	0 s	Charge s	tate	1				
Mass	Table Autofil SWATH v	indows -							
	Precursor ion start mass (I	Du) Precursor l	on stop mass (Da)	Declustering pot	ential (V)	DP spre	ad (V)	Collision energy (V)	CE spread (V)
1	120.0000	140.0000		60		0		35	15
2	139.0000	165.0000		60		0		35	15
3	154.0000	195.0000		60		0		35	15
4	194.0000	205.0000		60		0		35	15
\$	204.0000	218.0000		60		0		35	15
6	217.0000	240.0000		60		0		35	15
7	239.0000	258.0000		60		0		35	15
8	257.0000	273.0000		60		0		35	15
9	272.0000	290.0000		60		0		35	15
10	289.0000	304.0000		60		0		35	15
11	303.0000	313.0000		60		0		35	15
12	312.0000	326,0000		60		0		35	15
13	325.0000	333.0000		60		0		35	15
14	332.0000	358.0000		60		0		35	15
15	357.0000	450.0000		60		0		35	15
16	449.0000	500.0000		60		0		35	15

MRM (SCIEX Triple Quad® or QTRAP®)



图18. SCIEX OS 软件SWATH 采集方法编辑器。

图20. MRM^{HR}与传统的(单位分辨率)MRM的对比图。

通过改变每一个TOF-MS/MS实验中的Q1独立窗口,能够将类 似质量的化合物分成不同的SWATH采集窗口,以便于最小化每个 TOF-MS/MS实验中的卷积(多个母离子可同时产生相同的碎片) 数量。(图19)

TOF MS	MS									
TOF st	art mass	40	۵	Da	TOF stop may	is 500	0	Da	Dynamic col	lisicn energy
Accum	ulation time	0.025	0	5	Charge state	1				
Mass	Table	Autofill SWATH windo								
	Precursor i	on start mass (Da)	Precu	irsor i	ion stop mass (Da) De	clustering potential (V	DP spr	ead (V)	Collision energy (V	CE spread (V)
1	120.0000		140.0	000	Amphetanine (136)				11	
2	139.0000		165.0	000	Methamphetamine (150)					
3	154.0000		195.0	000	MDA (180)					
4	194.0000		205.0	0000	MDMA (194)	Nortapentadol (204)				
5	204.0000		218.0	000		Tapentadol (222)				
6	217.0000		240.0	0000	Norketamine (224)					
7	239.0000		258.0	000	Ketamine (238)	Nortramadol (259)				
8	257.0000		273.0	0000		Tramadol (264)	Novenia	faxine (264	Nordoxepin (266)	Nordiazepam (271)
9	272.0000		290.0	000	Morphine (286)	Norchlordiazepoxide (28	6) Venlafax	ine (276)	Doxepin (280)	Diacepam (285)
10	239.0000		304.0	0000	Codeine (300)	Chlordiazeposide (300)	Norsertr	aline (292)	Norfuczetine (296)	
11	303.0000		313.0	000	Alprazolari (309)	Norcitaloprarr (311)	Setralin	e (306)	Fuoxetine (310)	
12	312.0000		326.0	0000	Hydroxyalorazolam (325	Citalopram (325)	Norciaza	spine (313)	THC (315)	
13	325.0000		333.0	0000	Norproposyphene (326)		Clozapin	e (327)	THC-OH (331)	
14	332.0000		358.0	000	Propoxyphene (340)	Triazolam (343)				
15	357.0000		450.0	000	Norbuprenorphine (414)	Hydrotriazolam (359)	Nonverag	amil (441)		
16	449.0000		500.0	0000	Buprenorphine (468)		Verapar	nil (455)		

图19. 在SCIEX OS软件中为每一个环形(looped) TOF-MS/MS实验,构建 多样的SWATH 采集窗口大小,以最小化卷积。

MRM^{HR}

MRM^{HR}(高分辨多反应监测)是用于定量的目标数据采集, 既可以采用预设的方式也可非预设模式。每一个MRM^{HR}中的化合 物依赖参数均可被优化。 为了将在三重四级杆质谱上进行的MRM实验方法,以最熟 悉的方式转化为在SCIEX X500R QTOF系统上进行的MRM^{HR}实验, SCIEX OS软件建立MRM^{HR}实验方法的方式是独特的,因为无论是 外观,还是体验,它都和传统的MRM试验方法构建基本相同:用 户可以自主输入母离子(MRM Q1 相同质量)和碎片离子的精确 质量数(MRM Q3 相同质量)(图21)。这些离子对能够轻松的 通过将SCIEX 1700种化合物的高分辨 MS/MS法医谱库导入的方式 获得,每个化合物包含多达5个离子对。

TOF M	s										
TOF st	tart mass	100	🗘 Da	Declustering poter	vtial 60	:	V	Collision energy	10	:	V
TOF st	top mass	1000	🗯 Da	DP spread	0	;	V	CE spread	0	:	v
Acount	nulation time	0.3	3 100								
TOF M	SMS										
Mass	Table .	Apply frag	ment ion mass	Apply TOF start/stop m	asa 🔽 i	Apply Scan Sc	hedule	Import and autofit.	Sort by precursor ion		
	Compound ID		Precursor	Fragment ion (Da)	Accumul	Declus	Collision.		Retention time to	plerarce	(+/- sec)
1	6-MM		328.15	211.0747	0.0100	60	33	2.04	15		
2	7-Aninoclonat	repain	286.07	222.1025	0.0100	60	32	2.67	15		
3	7-Hydroxymitz	agyline	415.22	190.0864	0.0100	60	40	2.96	15		
4	Acetyl Fentany	6	323.21	105.0700	0.0100	60	48	3.00	15		
5	Alpha-Hydroxy	alprazolam	325.09	297.0665	0.0100	60	31	4.18	15		
6	Alpha-hydroxy	midazolam	342.08	203.0377	0.0100	60	34	4.51	15		
7	Alpha-hydroxy	reloxain	359.05	331.0272	0.0100	60	35	3.95	15		
	Alphy-PPP		204.14	105.0699	0.0100	60	35	2.04	15		
9	Alpha-PVP		232.17	161.0963	0.0100	60	20	2.61	15		
10	Alprazolam		309.09	281.0730	0.0100	60	35	4.49	15		
11	AM-2201-4-08	H pentyl	376.17	155.0492	0.0100	60	35	6.07	15		
3.2	Amit iptyline		278.19	117.0702	0.0100	60	31	4.53	15		
				+/- 10					12223-12-12		
:			Precurse	or MS/MS	100 H	z		RT	RT half wir	ndow	
84	Zolpden		308.18	235.1262	0.0100	60	45	3.06	15		
85	THC-COOH		345.21	299.2157	0.0100	60	30	6.34	15		

图21. SCIEX OS软件预设MRM^{HR}方法编辑器,碎片离子质量 ± 10 m/z。

之后定量方法可通过采集方法自动产生(图22)。



1	low	15	Group	Name	Precursor Ma	Fragment Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time (min)	8	Experiment Index
	1	10	6-MAM	6-MAM	328-154	211.0747	0.02	2.04		2 TOF M5M5of 328.2 (40 - 500)
	2	10	7-Aminoclonacepam	7-Aminoclonazepam	216.074	222.1025	0.02	2.67		3 TOF MSM5 of 286.1 (40 - 500)
	3	10	7-Hydroxymitragyline	7-Hydroxymitragyline	4:5.223	190.0864	0.02	2.96		4 TOF MSMS of 415.2 (40 - 500)
	4	10	Acetyl Feritanyl	Acetyl Fentanyl	323.212	105.07	0.02	3.00		5 TOF MSMS of 323.2 (40 - 500)
	5	15	Alpha-Hydroxyalpracolam	Alpha-Hydroxyalpracolam	325.085	297.0665	0.02	4.19		6 TOF MSMS of 325.1 (40 - 500)
	6	10	Alpha-hydroxymidazolam	Alpha-hydroxymidazolam	342.08	203.0377	0.02	4.51		7 TOF MSMS of 342.1 (40 - 500)
	7	10	Alpha-hydroxytriacolam	Alpha-hydroxytriazolam	359.046	331.0272	0.02	3.94		8 TOF M5M5 of 359.0 (40 - 500)
	8	10	Alpha-PPP	Alpha-PPP	214.138	105.0699	0.02	2.04		9 TOF MSMS of 204.1 (40 - 500)
	9	10	Alpha-PVP	Alpha-PVP	202.17	161.0963	0.02	2.61		10 TOF MSM5 of 232.2 (40 - 500
	10	10	Alprazolam	Alprazolam	319.09	281.073	0.02	4.49		11 TOF MSMS of 309-1 (40 - 500
	11	10	AM-2201 4-OH pentyl	AM-2201 4-OH pentyl	3*6.171	155.0492	0.02	6.07		12 TOF MSMS of 376.2 (40 - 500
	12	10	Amitriptyline	Amitriptyline	278.19	117.0702	0.02	4.53		13 TOF MSMS of 278.2 (40 - 500
	13	10	Amphetamine	Amphetamine	136.112	91.0553	0.02	1.63		14 TOF MSMS of 136.1 (40 - 500
	14	10	Benapylecgonine	Benzoylecgonine	290.139	168.1021	0.02	2.36		15 TOF MSMS of 290.1 (40 - 500
	15	15	Buphedrone	Suphedrone	1'8.123	131.07	0.02	1.98		16 TOF MSMS of 178.1 (40 - 500
	16	10	Buptenorphine	Buprenorphine	448.311	414.2636	0.02	3.67		17 TOF MSMS of 468.3 (40 - 500
	17	10	Carisoprodol	Carisoprodol	281.181	55.0565	0.02	3.66		18 TOF MSM5 of 261.2 (40 - 500
	18	10	Oomipramine	Clomipramine	3,5.162	86.0959	0.02	5.36		19 TOF MSMS of 315.2 (40 - 500
	19	10	Codeine	Codeine	3#0.159	215.1109	0.02	1.87		20 TOF MSMS of 300.2 (40 - 500
	20	10	Cotinine	Cotinine	177.102	80.0495	0.02	1.83		21 TOF MSMS of 177.1 (40 - 500
	21	10	Cyclobenzaprine	Cyclobenzaprine	2'6.175	215.0878	0.02	4.28		22 TOF MSMS of 276.2 (40 - 500
	22	12	DesalkyHuracepam	Desalkyifluracepam	219.054	140.0264	0.02	4.42		23 TOF MSMS of 289.1 (40 - 500
	23	10	Desigramine	Desipramine	247.186	72.0823	0.02	4.28		24 TOF MSMS of 267.2 (40 - 500
	24	10	Desmethyldoxepin	Desmethyldoxepin	246.154	107.0493	0.02	3.60		25 TOF MSMS of 266.2 (40 - 500
	25	10	Dextromethorphan	Dextromethorphan	2'2.201	215.1458	0.02	3.44		26 TOF MSMS of 272.2 (40 - 500
		1.1	Printer and		215 0.20	and a state	4.44	6.42		the many horizon is called a loss and

图22. 通过SCIEX OS软件 MRM^{HR}采集方法自动产生SCIEX OS软件MRM^{HR}定量方法。

作为一种选择,如果碎片质量在采集方法创建时未知,传 统的MRM^{HR}设置仍可通过输入 TOF起始和停止质量的方式获得。 (图23)

OF MS		-		100	122210					0.0000000000000000000000000000000000000	1.22		
TC# start	175855	300	•	Da	Declus	laning potential	90	•	Y .	Collision energy	20		v
TOF stop	mass	1000	:	Da	DP spr	tead	0	:	v	CE spread	0	\$	v
Accumula	dion time	0.1	:	140									
OF MSM	s												
Mass Tak	na O A	oply fragm	ent ion r	1855	Apply TOF	tart/stop mass	V Appl	Scan Sche	dule E	sport and subplif-	Sort by precursor ion		
	Group name		Pres	urser L.	TOF sta	TOF sto	Accumul_	Declus	Collision.	Relention ti	Retention time	olerance	(+/- sec)
1	6-MAM		328	15	40.00000	500.00000	0.0100	60	33	2.04	15		
2	7-Aminoclonaze	pam	286	07	40.00000	500.00000	0.0100	60	32	2.67	15		
3	7-Hydroxymitra	pyline	415	22	40.00000	500.00000	0.0100	60	40	2.96	15		
4	Acetyl Fentanyl		323	21	40.00000	500.00000	0.0100	60	48	3.00	15		
5	Alpha-Hydroxya	Iprazolam	325	09	40.00000	500.00000	0.0100	60	31	4.18	15		
6	Alpha-hydroxym	idazolam	342	08	40.00000	500.00000	0.0100	60	34	4.52	15		
7	Alpha-hydrosyte	iazolam	359	05	40,00000	500.00000	0.0100	60	35	3.95	15		
8	Alpha-PPP		204	14	40.00000	500.00000	0.0100	60	35	2.04	15		
9	Alpha-PvP		232	17	40.00000	500.00000	0.0200	60	20	2.62	15		
10	Alprazolam		309	09	40.00000	500.00000	0.0100	60	35	4.00	15		
11	AM-2201 4-OH	pentyl	376	17	40.00000	500.00000	0.0100	60	35	6.07	15		
12	Amitriptyline		278	19	40.00000	500.00000	0.0100	60	31	4.53	15		
					-	\rightarrow							
: -			Prece	ursor	MS	MS	100 Hz			RT	RT half w	indow	,
84	Zolpidem		308	18	40.00000	500.00000	0.0100	60	45	3.05	15		
85	THC-COOH		545	22	40.00000	500.00000	0.0100	60	30	6.34	15		

图23. 预设MRM^{HR}方法编辑, MS/MS全扫描。

材料和方法

化合物列表和加标溶液

表1列出了93种化合物和内标样。所有的化合物均从Cerilliant 公司(得克萨斯州)获得。两个加标溶液用甲醇配制,一个作为 待分析物(SA),另一个作为内标样(SIS)。加标溶液中的所有 分析物浓度都已在表1中列出。 黑色字体的化合物在常规板(panel)中,蓝色字体的化合物 是扩展板(93种分析物)中额外的21种分析物,内标以灰色背景 显示。

校准液的配制

将空白人尿加入SA溶液中来制备校正液。配制4个数量级的校 正液。实际浓度随每个化合物变化,然而,这些校正液间的浓度 比值一直(以降序排列)为:20:6:2:1。比如:芬太尼在校正液中 的浓度(降序排列)分别为20,6,2和1ng/mL。而加巴喷丁浓度 分别为:1000,300,100和50 ng/mL。

样品制备:

- 将100µL的尿样与25µL的 IMCS快速水解液混合,20µL IMCS酶和10µL SIS. IMCS快速水解液和IMCS酶均从 IMCS (哥伦比亚)购买。水解的典型时间为55℃下,30至60分 钟。
- 2. 水解结束后,将0.2mL的甲醇和0.625mL的水加到混合液中。
- 3. 之后将混合液在转速21,000g的条件下,离心10分钟。
- 4. 上清液转移至带有内衬管的玻璃瓶中,使用LC-MS/MS分 析

液相色谱

液相色谱分析在SCIEX ExionLC™ AC HPLC系统上运行,柱温 为30℃。色谱柱为 Phenomenex Kinetex 苯乙基柱 (50 X 2.1mm, 2.6μm, 00B-4495-E0),保护柱柱芯为菲罗门 ULTRA UHPLC 苯基 柱(AJ0-8774),柱套为ULTRA (AJ0-9000).流动相A(MPA) 为加有甲酸铵的水溶液,流动相B(MPB)为加有甲酸的甲醇,LC 流速是0.5mL/min,运行检测时间为8分钟和2分钟,进样体积为 10μL。



表1. 分析物和内标样列表,以及加标溶液的浓度(用于校正液的制备)。

化合物	(ng/mL)	化合物	(ng/mL)	化合物	(ng/mL)	化合物	(ng/mL)
6-MAM	1000	加巴喷丁	10000	纳洛酮	5000	戊巴比妥	10000
7-氨基氯硝西泮	5000	氢可酮	5000	环丙甲羟二羟吗啡酮	5000	司可巴比妥	10000
7-羟基帽柱木碱	1000	氢吗啡酮	5000	N-去甲基他喷他多	5000	ТНС-СООН	2000
乙酰芬太奴	200	丙咪嗪	5000	去甲丁丙诺啡	2000	6-MAM-d3	
α-羟基阿普唑仑	5000	JWH 122 5羟基戊烷基	1000	去甲可待因	5000	苯基丙胺-d5	
α-羟基咪达唑仑	5000	JWH 19 6羟基己基	1000	去甲安定	5000	苯甲酰芽子碱-d3	
α-羟基三唑仑	5000	JWH 210 5羟基戊烷基	1000	去甲芬太尼	200	丁丙诺啡 -d4	
α-蛋白质磷酸酶	1000	JWH-018 4羟基戊烷基	1000	去甲氢可酮	5000	异丙基甲丁双脲-d7	
α-吡咯烷基苯戊酮	1000	JWH-018戊酸	1000	去甲哌替啶	5000	可待因-d6	
阿普唑仑	5000	JWH-073 3羟基丁基	1000	去甲氧可酮	5000	芬太尼-d5	
AM-2201 4羟基戊基	1000	JWH-073 丁酸	1000	去甲丙氧酚	10000	氢可酮-d6	
阿密曲替林	5000	JWH-250-N-4羟基戊烷基	1000	去甲替林	5000	氢吗啡酮-d6	
安非他胆	10000	11/14 072 丁酸	1000	氨土田其曲口名	5000	JWH 018 4羟基戊烷 基	
	5000	////H_250_NI_/羟基戊烷基	1000	<i>氧乙十至叫马少</i> <i>每土田羟基杂定</i>	5000	型-05 ///// 019 6_羟基己基_d5	
本:[]	1000	步动而兴	5000	每可酮	5000	MDPV/dg	
	2000	MDA	10000	每四啡酮	5000	度今丁-dA	
דרי גע כיז כ 	2000		10000		5000	一维结构的中枢神经系	
异丙基甲丁双脲	10000	MDEA	10000	五氯酚	2500	统兴奋剂4中枢神经系统 兴奋剂4 - MMC卡-d3	
氯丙咪嗪	5000	MDMA	10000	普加巴林	10000	安宁-d7	
可待因	5000	MDPV	1000	丙氧芬	10000	<i>美沙酮-d3</i>	
可替宁	5000	度冷丁	5000	普罗替林	5000	甲基苯丙胺-d5	
环苯扎林	5000	二维结构的中枢神经系统 兴奋剂4 - MMC卡	1000	RCS4-4羟基戊烷基	1000	醋酸甲泼尼龙制剂-d3	
脱烃基氟胺安定	5000	安宁	10000	利他林酸	5000	帽柱碱-d3	
脱甲丙咪嗪	5000	美沙酮	10000	舒芬太尼	200	吗啡-d6	
去甲多虑平	5000	甲基苯丙胺	10000	他喷他多	5000	去甲安定-d5	
美沙芬	5000	甲氧麻黄酮	1000	羟基安定	5000	去甲替林-d3	
安定	5000	醋酸甲泼尼龙制剂	1000	反胺苯环醇	5000	<i>氧可酮-d6</i>	
双氢可待因	5000	利他灵	5000	唑吡旦	5000	羟吗啡酮-d3	
多虑平	5000	咪达唑仑	5000	异戊巴比妥/戊巴比妥	10000	THC-COOH-d3	
乙二胺二甲基次磷酸	10000	帽柱碱	1000	另丁巴比妥	10000	布他比妥-d5	
芬太尼	200	吗啡	5000	布他比妥	10000	司可巴比妥-d5	

灰色背景: 内标样



SCIEX OS软件处理

定性和定量结果

先定义每一个分析物的保留时间,母离子、子离子的精确质 量(图24),之后设置谱库搜索参数。

Workhow	Sele	ctorv	erityt	te analyte	and internal standard ru	ames and masses.						
components •							Experimen	t Type * Import		Export_	Options	- 2
ntegration		ow	15	Group	Name	Chemical Formula	Adduct	Precursor Mass	Fragment Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time (min)	BN
ibrary Search		1	12	°2.5	2.5-dimethoxy-4-	C13H21N025	[M+H]+	256.13658	and the later of the second	0.02	1.02	
and an an Arithman		2	10	12,5	2.5-dimethoxy-4	C13H21N025	[M+H]+	256.13658	197.063	0.02	6.90	
cceptance criteria		3	12	*2.5	"2,5-dimethoxy-4-	CIBH21NO25	[M+H]+	256.13658	224.06	0.02	6.90	
		-4	12	*2.5	'2.5-dimethoxy-4-	C13H21N025	[M+H]+	256.13658	182.04	0.02	6.90	
		5	10	25-	2.5-dimethoxy-4-	C13H21N025	[M+H]+	256.13658	167.02	0.02	6.90	
Qualitative Rules		6.	12	-2.5	'2,5-dimethoxy-4-	C13H21N025	[M+H]+	256.13658	134.03	0.02	1.74	
Inc. Built		7	12	*2.5	"2.5-dimethoxy-4	C13H21NO25	[M+H]+	256.13658	164.08	0.02	6.90	
100 1400		8	12	20-8	2C-8-FLY 1	C12H14BrNO2	[M+H]+	284.02807		0.02	0.66	
		9	12	20-8	2C-B-FLY 2	C12H14BrNO2	[M+H]+	284.02807	188.0629	0.02	5.83	
		10	12	20-8	2C-8-FLY 3	C12H148rN02	[M+H]+	284.02807	267	0.02	0.55	
Formula Noder		11	12	20-8-	2C-B-FLY 4	C12H14BrNO2	[M+H]+	284.02907	173.06	0.02	6.95	
		22	12	20-8	2C-8-FLY 5	C12H148/NO2	[M+H]+	284.02807	145.06	0.02	1.65	
		3.3	12	13,4	3,4-dimethylmeth	C12H17N0	[M+H]+	192.13829	transa.	0.02	3.60	
		14	12	*3.4	"1.4-dimethylmeth	C12H17NO	[M+H]+	192.13829	159.1042	0.02	4.42	
		15	10	-1,4	"3,4-dimethylmeth	C12H17NO	[M+H]+	192.13829	144.08	0.02	4.61	
		16	12	*3,4	"3,4-dimethylmeth	C12H17NO	(M+H)+	192.13829	145.05	0.02	4.60	
		17	12	13.4	"3,4-dimethylmeth	C12H17NO	[M+H]+	192.13829	174.11	0.02	4.43	
		10	12	3-des	3-desmethylprodin	C15H21NO2	[M+H]+	248.16451		0.02	4.72	
		19	10	3-des	3-desmethylprodin	C15H21N02	[M+H]+	248.16451	174.1277	0.02	4.07	
	100	20.	10	Surface.	Loriesmetholomotics.	C15421N/02	IM+HI+	34816451	70.07	0.02	1.01	
	15		1.17	1. clies	Consequently involves	11111111111	The HOP	SER THEST.	anor.		1.00	

图24. 定义保留时间, 母离子和碎片离子的准确质量。

通过对校正物设置质量准确偏差水平,控制参数以及对积分 差异进行标记的方式定义预选组分。预选的界定还包括鉴别标 准,置信水平的设定,置信水平包括质量偏差,保留时间偏差, 同位素模式和谱库匹配,其对应的分数被视为可接受差异、临界 差异和不可接受的差异(图25)。

Sample Type 💌	Acceptance +		A 🛄 👍	°C		UK.	•	881	E 🛝 🗹 м	ore		•	i X
Define a qualitying row:									Define a qualifying	row:			
Integration acceptance	Any 💙									~			
Accuracy	Any 👻 📢							,	% Ion ratio	\checkmark		V	\checkmark
Calculated concentration	Any 👻								A Mass error	~	1	~	~
Show rows that: Qualif							ADE RT	~	1	~	-		
Maximum totations for a	murane								"C Isotope	\checkmark	1	~	-
Standards at Lower Limit of Quantitation (LLOO) +/-					20.0				Library	\checkmark		~	~
Standardi +/-					15.0				C, H, Formula	\checkmark	1	~	~
Vuality Controls (QC)				15.0		5			Show rows that: Quali		lify 💙		
	Qualitative Rule	A	Acceptable		Marginal		Unacceptable		Combined				
			Difference		Difference		Difference		Weight	(%)			
Ma	iss Error (ppm)	. 4	5	¢	10		>=	10	20				
Err	or in Retention Time	<	5	.«	10		> #	10	10				
N (Difference Isotope Ratio		20	٠.	40		>=	-40	10				
Lib	rary Hit Score		60	>	30		<=	30	60				

图25. 在SCIEX OS软件中,定义预选组分的定性和定量参数。

结果和讨论:

选择法医例行检测的样品,使用SCIEX X500R QTOF系统对其 化合物组分同时执行定性和定量采集,结果作为对该系统进行评 估的一部分。我们评估了每一个方法的容量,确保该方法在整个 梯度内能将所有的分析物尽可能均匀的洗脱出来,从而最大化触 发所有组分的 IDA MS/MS,降低MRM^{HR} 的同时性,从而提高数据 质量(预设MRM^{HR}),解决因同系物和减轻由于过多数量共洗脱 物产生的离子抑制效应。图26展示了运行时间为8分钟的提取离子 色谱(XICs),图27展示了运行时间为2分钟的XICs.



图26. 使用8分钟LC运行时间,对尿样分析的提取离子色谱。



图27. 使用2分钟LC运行时间,对尿样分析的提取离子色谱。

信息依赖性采集

在非靶向采集中,IDA工作流程具有能够提供最可能不受干扰的碎片信息能力,从而通过使用MS/MS信息提供最可信的筛查。 图28展示了多种筛查标准用于鉴定。这些标准在SCIEX OS软件中的用户界面易于理解。







图30. 通过MS/MS谱库对照的方式获得丁丙诺啡和甲氧麻黄酮同系物高信 任度的识别。



图31. 通过MS/MS谱库对照的方式获得利他灵和去甲哌替啶同系物高信任度的识别。

图32和33显示了从IDA工作流程中采集的TOF-MS信息选择化 合物的XICs图,该信息可用于定量。

图28. IDA实验得到的筛查和鉴定结果。

获取高质量MS/MS数据用于鉴定的重要性,以及不能完全依赖母离子的准确质量用于定性,如图29,30,31所示。每张图都展示了如何通过采集MS/MS数据来辨别结构同系物。展示的每个实验结果都显示同系物几乎难以进行色谱分离,因此单一同系物或同时的存在,无法通过母离子准确质量鉴定或化合物保留时间有任何的漂移,都无法通过保留时间确信鉴定。这种情况下,通过MS/MS谱库对照能够获得最高的确认。



图29. 通过MS/MS谱库对照的方式获得纳洛酮和六单乙醯吗啡同系物高信 任度的识别。





图32. 从TOF-MS信息中提取的尿液 α -PVP的XICs图(尿液被稀释了10倍, 进样体积为10 μ L)。



图33. 从TOF-MS信息中提取的尿液舒芬太尼的XICs图(尿液被稀释了10 倍,进样体积为10 μL)。





图34. 选定化合物的代表性校正曲线显示在IDA工作流程中,可通过TOF-MS信息进行定量。

SWATH采集结果

SWATH采集的数据处理方式在用于筛查时,与IDA数据的处理 方式类似。它也是使用多种鉴定标准提高识别信心,其中最重要 的就是使用MS/MS谱库匹配。图35展示了使用方法为8分钟LC运 行时间采集的数据匹配结果,其阳性结果比例为98%。



图36. 使用多种鉴定标准处理 SWATH采集的数据,包括MS/MS谱库匹配。

传统的IDA-MS/MS,仅能通过TOF-MS模式进行定量,不能通 过TOF-MS/MS数据的原位分散点进行。相反,由于连续且环状的 MS/MS扫描功能,SWATH采集技术可通过碎片离子进行定量。与 母离子信息相比,碎片离子信息具有更好地选择性,即使复杂基 质中的低浓度物种,MS/MS模式具有更高灵敏度的检测。



图36. 与提取准确质量的母离子相比,可变窗口SWATH采集的数据,能够 提取特定碎片离子的能力,提高灵敏度。

图37显示了使用8分钟LC运行时间的方法进行SWATH采集, 合成药物的定性和定量结果。这个化合物并不在初始的目标物列 表中,但该未知样数据的可追溯性审问特点,无需再次进样即可 对其鉴定。





图37. 使用SWATH采集技术分析n-乙基卡西酮 麻黄碱代谢物的定性和定量 结果。

n-乙基卡西酮 麻黄碱代谢物是基于特征碎片离子,碎片离子 比率以及谱库搜索匹配的方式进行识别。(图38)。SWATH采集 实验,不仅可通过MS/MS谱库匹配和离子比率计算的方式确认化 合物的存在,还可以从SWATH采集的MS/MS数据中提取许多特征 碎片离子,这些特征碎片离子具有较小的干扰,可对母离子和子 离子单独或同时定量以确定浓度。



图38. 从SWATH采集的数据中提取特征碎片离子,使用离子比率和谱库匹 配的方式对未知尿样中的n-乙基卡西酮 麻黄碱代谢物的存在进行确证。

使用2分钟LC运行时间的方法进行SWATH采集时,能获得良 好的定量结果。图39显示了通过超快速筛查实验获得的代表性校 正曲线。



图39. 使用2分钟LC运行时间(n=3)的方法进行SWATH采集时产生的代表 性校正曲线。

选定化合物的灵敏度结果如图40,41,42所示







图41. 不同浓度尿样中(稀释10倍,进样体积为10 µL)芬太尼的XICs。





图42. 不同浓度尿样中(稀释10倍,进样体积为10 µL)阿米替林的XICs。

SWATH采集时,MS/MS信息会一直存在,因此,我们可以在 对化合物定量的同时,通过MS/MS谱库匹配(图43和44)的方式 确定化合物的存在。



图43. 通过SWATH采集的数据进行谱库搜索的方式,对3-丁基-3-(1-萘甲 酰基)吲哚和去甲他喷他多进行可信性鉴定。



图44. 通过SWATH采集的数据进行谱库搜索的方式,对阿米替林和吡咯烷 进行可信性鉴定;即使使用快速LC方法的条件下,同系物也可被分离。

即使在临界浓度,80%化合物在执行谱库搜索时仍然匹配良 好,匹配分数均在70%以上(图45)

Sample Name	Component Na	Actual Conce	Height	Rete Time	Precursor Mass	Mass Error	RT Confi	Isotope Confi_	Library Confi	Found AtMass	Mass Error_	Ret Tim	Library Hit	Library Score	Combi. Score	Isotope Ratio Dif.
EPODCurve_UCal2	Alpha-Hydroxyal	50.00	39322	1.31	325.0851	~	~	~	~	325.0851	0.0	0.00	Alpha-Hydroxya_	100.0	95.1	18.6
EPODCurve_UCal2	Alpha-hydroxym	50.00	54742	1.32	342.0804	~	~	~	~	3420804	0.0	0.00	Alpha-hydroxy_	200.0	99.3	1.8
EPODCurve_UCal2	Buprenorphine	20.00	26422	1.24	468.3108	~	~	~	~	4683107	-0.3	0.01	Buprenorphine	100.0	97.9	2.9
EPODCurve_UCal2	Desallytturatep	50.00	39350	1.33	289.0538	*	4	~	4	2890539	0.2	0.01	Desalkylfluracep	100.0	98.2	1.4
EPODCurve_UCal2	E00#	109.00	768373	1.20	278.1903	~	~	~	~	2781906	0.8	0.00	EDOP	100.0	96.1	1.3
EPODCurve_UCal2	Fentaryl	2.00	10599	1.17	337.2274	~	~	~	~	3372276	0.5	0.01	Fentanyl	100.0	97.3	0.7
EPODCurve_UCal2	Hydrocodone	50.00	61526	0.92	300.1594	~	~	~	~	3001597	0.9	0.01	Hydrocodone	100.0	94.9	3.3
EPOOCurve_UCal2	/WH-018 4-OH	10.00	29593	1.39	358.1802	~	~	~	~	3581801	-0.1	0.01	JWH-018 hydro	100.0	98.0	4.6
EPODCurve_UCal2	/WH-019 6-OH h_	10.00	44558	1.40	372.1958	1	~	~	~	3721959	0.3	0.01	/WH-019 N-byd_	100.0	96.7	4.4
EPODCurve_UCal2	/WH-073 3-OH_	10.00	31459	1.38	344.1645	~	~	~	~	3441648	0.9	0.01	JWH-013 N-hyd	100.0	94.3	5.1
EPODCurve_UCal2	/WH-122 5-DH	10.00	44558	1.40	372.1958	~	~	~	~	3721959	0.3	0.01	JWH-019 N-hyd	100.0	96.7	4.4
EPODCurve_UCal2	Methamphetami	100.00	33875	0.92	150.1277	~	×.	~	~	1501277	-0.4	0.00	Methamphetam	100.0	98.0	0.6
EPODCurve_UCal2	Methylphenidate	50.00	195247	1.07	234.1489	~	~	~	~	2341490	0.8	0.00	Methylphenidate	100.0	96.4	0.7
EPODCurve_UCal2	Norbuprenorphi	20.00	27123	1.17	414.2639	~	~	~	~	4142641	0.5	0.00	Norbuprenorphi	100.0	97.5	2.3
EPODCurve_UCal2	Nordiazepam	\$0.00	44694	1.35	271.0633	~	1	~	~	271.0635	0.8	0.00	Nordiasepam	100.0	95.5	3.7
EPODCurve_UCal2	Norosycodone	50.00	23823	0.90	302.1387	~	~	~	~	3021386	-0.2	0.01	Noroxycodone	100.0	97.9	4.3
EPODCurve_UCel2	Tepentedol	50.00	203639	1.09	222.1852	*	*	*	*	2221854	0.7	0.00	Tepentadol	100.0	95.8	1.1
EPODCurve_UCal2	Тетнаграт	50.00	58735	1.34	301.0738	~	~	~	~	3010738	-0.2	0.01	Ternapapam	100.0	98.1	3.2
EPODCurve_UCal2	Tramadol	50.00	169458	1.06	264.1958	~	~	~	~	2641961	1.0	0.00	Tramadol	100.0	95.9	0.6
EPODCurve_UCal2	Zolpidem	50.00	277566	1.13	308.1757	~	~	~	~	3081760	0.8	0.00	Zolpidem	100.0	96.1	1.9
EPODCurve_UCal2	7-Aminoclonaze	50.00	76113	1.12	286.0742	~	~	~	~	2850744	0.9	0.01	7-Amisocionaze.	99.8	95.0	3.2
EPODCurve_UCal2	Alprozolam	50.00	123684	1.32	309.0902	~	~	~	~	3090904	0.8	0.00	Alpezolam	99.8	95.7	4.0
EPODCurve_UCal2	Diapipam	50.00	110405	1.36	285.0789	~	~	~	~	2850791	0.7	0.01	Diszepum	99.7	95.5	3.4
EPODCurve_UCal2	Nathexone	50.00	56359	0.91	342.1700	~	~	~	~	3421698	-0.4	0.00	Naltresone	99.7	97.3	3.0
EPODCurve_UCst2	Ovymorphone	50.00	6763	0.41	302.1387	~	~	~	~	3021389	0.8	0.02	Oxymorphone	99.7	94.2	3.5
EPODCurve_UCal2	Amphetamine	100.00	3665	0.88	136.1121	4	~	~	~	1361129	-0.3	0.00	Amphetamine	99.6	97.1	4.1

图45. 使用2分钟运行时间的LC方法,在临界浓度水平对化合物进行谱库搜索和鉴定的结果。

MRM^{HR}

MRM^{HR}仅仅是一种MS/MS靶向数据采集技术,可以选择预设 模式也可选择非预设模式。唯一的非靶向,并因此需要在每次扫 描的初始执行TOF-MS实验的是它的追溯能力。然而,工作流程的 作用在于它的选择能力,该选择能力是用于定量的特征碎片离子 的准确质量。如图46展示,MRM^{HR}与MRM分析相比,MRM使用 平均质量提取,而TOF-MS实验中母离子量的提取是通过准确质量 提取。平均质量实验无法将化合物与高背景和干扰区别开来,即 使使用TOF-MS全扫描实验中提取母离子精准质量的方式也无法 实现。直到我们从MRM^{HR}实验中提取两个特征碎片离子的准确质 量,才能达到需要的选择性,去除背景和噪音,检测到化合物的 同时提高S/N,从而提高定量能力。另外一个获得母离子准确质量 的选择性如图47所示,MRM^{HR}模式分析丁丙诺啡,其结果的S/N获 得明显的提升。





图46. MRM^{H®}能够提供选择性。避免假阴性,上图给出的为饲料样品中 NP 氨基脲阳性的例子。



图39. 与TOF-MS相比,预设MRM^{н®}的选择性; 丁丙诺菲(尿样中5ng/mL的 浓度,稀释10倍,进样体积为10 μL)。

使用运行时间为8分钟的LC-MS/MS方法,MRM^{H®}的定量性能 如图40所示

Scheduled MRM^{HR}, 372.2→169.0644±0.0100 m/z



图40. 尿样中JWH-122 5-羟戊基 MRM^{HR}定量结果(尿样稀释十倍,进样体 积10 µL)。

负离子模式性能

图41和42展示了在SCIEX X500R QTOF系统上执行负离子性能 模式的几个案例



图41. 使用SCIEX X500R QTOF系统分析阿莫西林/戊巴比妥的负离子性能模式。



图42. 使用SCIEX X500R QTOF系统分析THC-COOH的负离子性能模式。

结论

随着 SCIEX X500R QTOF系统和SCIEX OS软件的发布,下一代 QTOF的到来,将高分辨准确质量技术强有力的性能引进到法医定 性和定量的例行工作流程中。

- 硬件
 - SCIEX ExionLC™系统
 - 改进的集成式软件具有更好地稳定性
 - SCIEX X500R QTOF 系统
 - N型几何学设计(具有相同有效的离子飞行路径长度,因此分辨率优于V型,且整体脚本更小化)
 - 加热的TOF路径,确保质量准确度的稳定
 - 最小化脚本,设计更加简便,维修方便



- 软件
 - SCIEX OS软件
 - 控制LC, MS的直观且具有逻辑的单一软件平台, 可执行数据处理并出示报告
 - 新型用户界面
 - 同时定性和定量

描述了SCIEX X500R QTOF系统筛查和定量的工作流程。每个 工作流程在新型设计的SCIEX OS 软件中,均可简单明确的进行设 置。每个工作流程的长度,取决于终端用户的需求,如本篇技术 说明中所示。每个实验均执行了TOF-MS和TOF-MS/MS分析,这两 类数据在对法医化合物确切定性和定量中都非常关键。

- TOF-MS
- TOF-MS/MS
 - IDA
 - 非靶向数据采集
 - MS定量
 - 使用MS/MS信息进行筛查,最可信

- MRM^{HR}
 - 用于定量的目标性数据采集
 - 可通过预设模式或非预设模式执行
- SWATH采集(带有可变窗口)
 - 非目标性数据采集
 - 任何时间均可获得所有化合物的MS/MS数据
 - 筛查和定量(MS/MS)
 - 谱库搜索和离子比率

我们评估了不同LC运行时间的方法。运行时间的方法旨在尽可能均匀的在整个梯度内将所有的分析物洗脱出来,以最大化触发所有组分的IDA MS/MS,降低MRM^{HR}的同时性,确保数据质量(预设MRM^{HR}).使用运行时间为2分钟的LC方法,SWATH采集的MS/MS数据在谱库搜索时,仍能匹配良好,SWATH采集的MS/MS 数据是一种MS/MS^{ALL}方式,任一时间均可获得。

Answers for Science. Knowledge for Life.™

AB Sciex is doing business as SCIEX.

© 2015 AB Sciex. For research use only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of the AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX[™] is being used under license.

RUO-MKT-02-4146-ZH-A



 SCIEX中国公司
 上海公

 北京分公司
 上海公

 地址:北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
 地址:

 1号楼5层
 地址:

 电话:010-58081388
 电话:

 传真:010-58081390
 传真:

 全国免费垂询电话:8008203488,400821387
 387

 上海公司及亚太区应用支持中心
 地址:上海市田林路888号 科技绿洲一号楼102室
 电话:021-24197200
 传真:021-24197333
 3897 网址:www.sciex.com.cn **广州分公司** 地址: 广州市体育西路109号 高盛大厦15C 电话: 020-85100200 传真: 020-38760835

微博:@SCIEX