

# 岛津液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱 应用文集

LCMS-9030



LCMS-9050



# 前言

四极杆-飞行时间质谱 (Q-TOF) 是近年来迅速发展起来的一种质量分析技术, 由四极杆质量分析器 (Quadrupole, Q) 和飞行时间质量分析器 (Time of Flight, TOF) 串联构成。与单一质谱系统比较, Q-TOF 具有准确度高、灵敏度高、检测范围宽等优点, 并且还能通过精确的碎片离子质量, 进行未知物质结构鉴定。这些优势使得 Q-TOF 在很多行业领域都得到了较为广泛的应用, 比如医药、食品安全、环境化工、临床检验、公安司法等多个领域, 成为最具发展前景的分析仪器之一。

近几年, 岛津在 TOF 单元上开发了诸多新技术, 如 UF-grating 高场离子提取技术可有效聚焦离子, 减少离子折返时间及损失; UF-FlightTube 精准温控飞行管, 可抑制由于外部因素 (如实验室温度变化) 而导致的质量数变化。UFMS (Ultra-Fast Mass Spectrum) 架构获得的速度和灵敏度与全新的专利技术完美结合, 可最大限度地提高质量准确度和分辨率。

2022 年, 岛津发布新一代高分辨液质联用仪 LCMS-9050, 传承了前一代 LCMS-9030 的优秀技术, 并在各项性能方面再次突破: 真正实现了高分辨质谱的正负极同时采集, 只需 1 针, 即可获得正负离子检测的所有信息, 且极性切换时间短至 0.5 s。此外, LCMS-9050 还开发了自由基诱导解离这一创新技术。因此, LCMS-9030/9050 作为一款研究级的四极杆-飞行时间质谱仪, 旨在提供高分辨率的精确质量数, 它延续了岛津久经考验、坚固耐用的高性能三重四极杆质谱平台的优异特点, 结合直观友好的操作界面, 进一步提升实验室工作效率, 帮助您更有信心定性和定量分析更多化合物。

LCMS-9030/9050 兼具优异的灵敏度、分辨率和质量准确度, 岛津中国分析中心现已利用这 2 款质谱仪进行多行业及多类物质的应用数据开发, 形成了《岛津液相色谱-四极杆-飞行时间质谱应用文集》。本应用文集根据应用行业种类, 共分六个章节, 分别为药物分析、食品及环境、生物大分子、代谢组学、公安司法等行业应用, 供相关行业从业人员参考。

本文集仅供有关人员学习交流使用, 不用于任何商业用途。

岛津企业管理 (中国) 有限公司  
分析中心

# 目 录

<b>第 1 章 Q-TOF 简介</b> .....	3
<b>1.1 Q-TOF 是什么?</b> .....	3
<b>1.2 Q-TOF 挑战与突破</b> .....	3
<b>1.3 Q-TOF 数据分析软件介绍</b> .....	7
1.3.1 Insight Explore 多数据定性定量分析软件 .....	7
1.3.2 其他数据处理软件及数据库 .....	7
<b>第 2 章 Q-TOF 在药物分析中的应用</b> .....	10
LCMS-9030 鉴定沙丁胺醇标准品中杂质 .....	11
HPLC-QTOF 法定量检测雷尼替丁原料药中的 NDMA.....	18
LCMS-9030 鉴定合欢花配方颗粒中特征化学成分 .....	23
SEC-RPLC-QTOFMS 法鉴定注射剂中聚合物杂质 .....	32
LCMS-9050 快速筛查保健品中非法添加物 .....	40
LCMS-9030 快速筛查化妆品中 214 种风险物质 .....	46
LCMS-9030 定性分析抗精神病药物及其代谢物 .....	65
<b>第 3 章 Q-TOF 在食品及环境领域中的应用</b> .....	76
LCMS-9030 快速筛查及定量检测蔬菜中多农药残留 .....	77
LCMS-9030 快速筛查水中抗生素残留 .....	88
LCMS-9030 筛查尿液中 150 种兽药残留 .....	94
<b>第 4 章 Q-TOF 在生物大分子研究中的应用</b> .....	106
LCMS-9030 对英夫利昔单抗药物肽图分析 .....	107
利用 LCMS-9030 对 NISTmAb 进行整体蛋白分析 .....	113
采用 LCMS-9030 进行曲妥珠单抗药物二硫键分析 .....	117
LCMS-9050 用于 mRNA 药物加帽的分析 .....	121
<b>第 5 章 Q-TOF 在代谢组学中的应用</b> .....	128
全谱二维液相-QTOF 用于大鼠抑郁症的非靶向代谢组学研究.....	129
全谱二维液相-QTOF 系统用于前列腺癌生物标志物筛选 .....	135
<b>第 6 章 Q-TOF 在公安司法领域中的应用</b> .....	141
LCMS-9030 定性检测可疑爆炸物中的未知物 .....	142
AOE+LCMS-9050 快速筛查生活污水中毒物药物 .....	147
LCMS-9050 快速检测 17 种有机炸药.....	153

# 第 1 章 Q-TOF 简介

## 1.1 Q-TOF 是什么？

Q-TOF 是近年来迅速发展起来的一种质量分析技术。简单来说，Q-TOF 有两个核心部件，一个是四极杆 (Quadrupole)，另一个是飞行管 (Time-of-Flight)。它采用四极杆作为质量过滤器，以 TOF 作为质量分析器，分辨率和质量精度明显优于三重四极杆质谱，是一类能够同时定性和定量的质谱。

Q-TOF 的质谱分析单元包括 Q1 四极杆、Q2 碰撞池、传输透镜以及 TOF 分析单元 (正交加速单元、飞行管、反射器) (图 2)，这些组件的协同作用为实现高效准确的质谱分析提供了坚实的基础。



图 1. 四极杆-飞行时间高分辨质谱仪

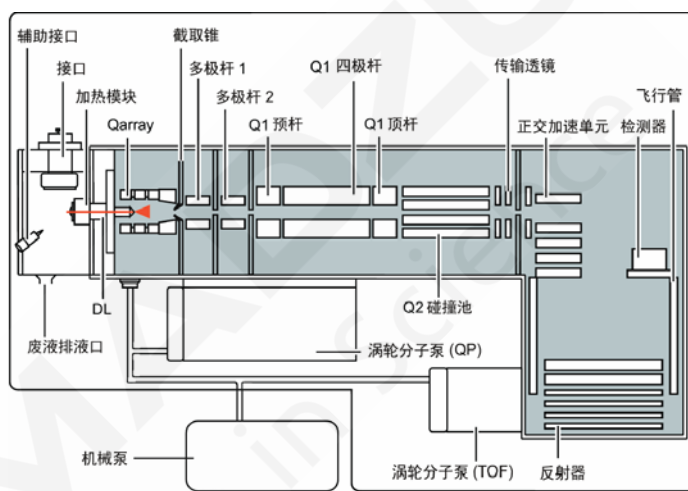


图 2. Q-TOF 质谱内部结构

Q-TOF 的工作原理其实很有趣：① 先将待分析样品转化为离子，也就是带上正电或负电；② 这些离子通过 Q1 四极杆去进行筛选和分离；③ 筛选后的离子被加速，注入到后端飞行管中；④ 在飞行管中，离子以高速飞行，而它们飞行的时间会被测量。这个时间和离子的质量有关，质量较轻的离子会飞行得更快，而质量较重的离子则需要更长的时间才能到达检测器。⑤ 通过测量离子到达检测器的时间和离子信号强度，Q-TOF 可以生成质谱图，来获得有关化学物质的质量信息。通过分析这些数据，我们可以推测出分子的组成、结构和质量，甚至可以检测出微量的杂质。

所以，飞行时间越长仪器的分辨能力越好。现在多使用反射式飞行时间质谱，即带电离子先飞行一段时间后，再经反射器的反射，离子调头飞行，这样就可以在相同体积下对仪器产生大幅度的提高了。

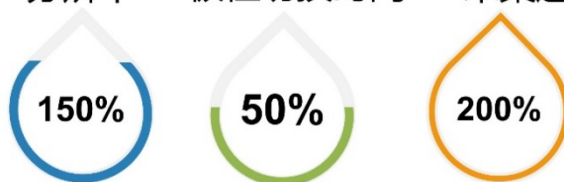
## 1.2 Q-TOF 挑战与突破

近年来，传统 Q-TOF 面临着诸多挑战：如何确保更多离子高效进入 TOF？如何在不损失灵敏度的前提下提升分辨率？如何保证质量精度的稳定性？受限于 Q-TOF 较长的正负极性切换时间，如何提高分析效率？以及如何实现仪器维护的简便？

针对上述 Q-TOF 最常遇到的问题，2018 年，岛津推出第一代四极杆-飞行时间质谱仪 LCMS-9030，延续了在三重四极杆质谱基础上的 UFMS 技术特点，并与 TOF 新技术完美结合。2022 年，岛津又发布新一代高分辨液质联用仪 LCMS-9050，并在性能方面再次突破：不仅提高了分辨率和采集速度，更值得称赞的是突破了正负极切换的限制，真正实现了高分辨质谱的正负极同时采集，且极性切换时间缩短至 0.5 s。



分辨率      极性切换时间      采集速度



- MCP检测器优化
- 提升加工精度
- 谱图波形处理
- 高速化高压电源
- UF-Stabilization™ 极性切换算法
- 硬件/软件优化
- 200张MS/MS谱图 每秒

图 3. Q-TOF 性能突破——精益求精提升多项指标

### 挑战 1——如何保证更多离子更高效地进入 TOF 中（提升灵敏度）？

针对 Q-TOF 遇到的挑战，多种创新技术也在不断发展，以满足实验者对超快速质谱（UFMS）的需求。那么，第一个要解决的问题是如何保证更多离子更高效地进入 TOF 中呢？为了解决这个问题，研发人员开发了多种新技术，主要包含前端离子传输系统和后端 TOF 两部分。

首先，岛津 Q-TOF 前端传承了串联质谱 LCMS-8060 的离子源和离子传输系统，依然采用辅助加热型离子源，通过 DL（脱溶剂）管、UF-Qarray、UF-Lens 四极杆和 UFsweeper III 碰撞池等单元，能够将离子更高效地导入 TOF 质量分析器单元。



图 4. LCMS-8060 特色技术的延用-提升灵敏度

另外，TOF 部分采用了 UF-accumulation™ 离子累积技术，通过在碰撞池中累积离子，使碰撞室的离子释放与正交加速器的离子发射同步来提高离子利用率（图 5a）；Funnel MCP 检测器，采用新型漏斗状通道板设计，增大开口面积，将离子利用率从 60%提升至 90%，提升灵敏度（图 5b）。

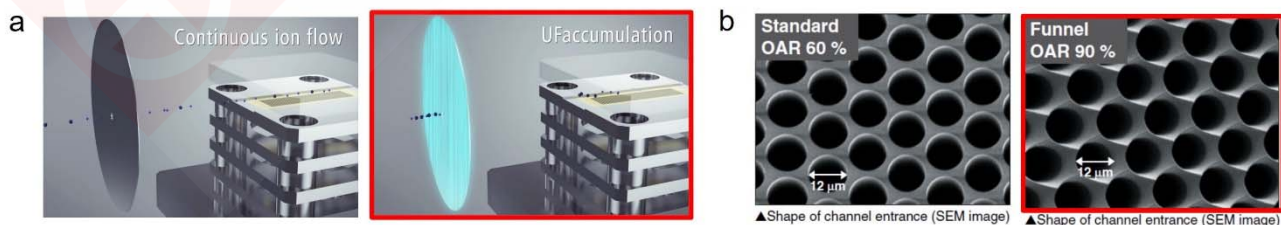


图 5. TOF 创新技术-提升灵敏度 (a. UF-accumulation™ 离子累积; b. Funnel MCP 检测器)

### 挑战 2——在不损失灵敏度的前提下，如何提升分辨率？

在 Q-TOF 中，高分辨率和高灵敏度通常被认为是相互制约的特性，就如同鱼和熊掌，两者难以兼得。正交加速器的离子发射部分使用了高机械强度的栅格状电极（图 6a），这是使用岛津专有的精密加工技术制造的。即便在正交加速器的高提取场下，UFgrating™ 技术保证了电极不会变形的同时获得高分辨率。

TOF 反射器部分则采用了 iRefTOF™ 技术 (图 6b), 由于其专有的电极形状, 它提供了一个理想的电位分布, 其能量收敛程度高于以往的 TOF 反射器, 同时最大限度地减少离子飞行过程中的扩散和离子反射过程中的轨迹散射。在保证灵敏度的前提下, 在反射区域修正离子的路径, 使不同能量同一质荷比的离子尽可能同步到达检测器, 获得高分辨率。

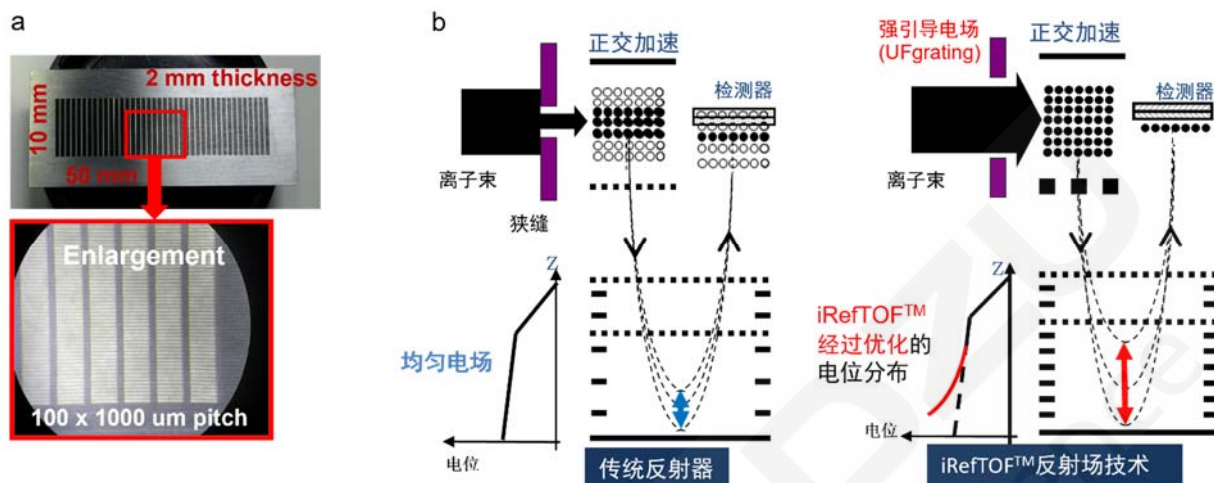


图 6. TOF 创新技术-提升分辨率 (a. UFgrating™ 高场离子提取技术; b. iRefTOF™ 反射场技术)

### 挑战 3——如何保证质量精度的稳定性?

飞行管也容易受环境温度变化的影响, 会导致质量精度的稳定性不佳。为了解决这个问题, 研发人员开发了准确控制飞行管温度的 UF-FlightTube™ 技术, 可抑制由实验室温度变化导致的质量变化, 且无需频繁校准。实验人员在同一天内环境温度急速变化的情况下, 对 8 种抗生素进行连续分析, 质量误差均在理论值的 ±2 ppm 以内。这样, 我们就可以获得更加稳定和准确的质谱结果了。

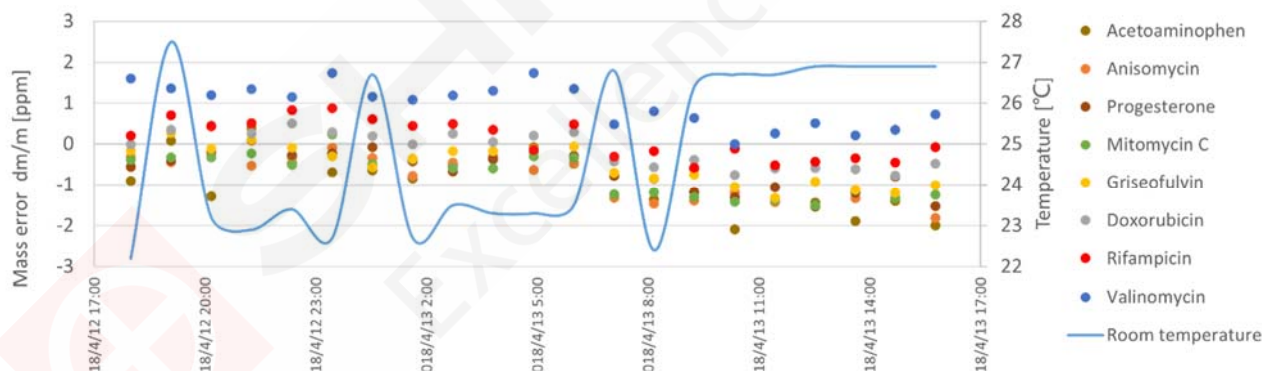


图 7. 急速环境温度变化下的质量数稳定性测试结果 (分子量: 150~1200 Da)

### 挑战 4——受限于较长的正负极性切换时间, 如何提高分析效率?

正离子和负离子模式切换时, 飞行管电压会发生连续变化, 直至达到目标值。如果在电压达到目标值前就进行分析, 则会产生质量误差。因此, 极性切换时存在稳定化的等待时间。传统 Q-TOF 仪器等待稳定需要一定时间, 因此难以实现正离子和负离子同时分析。

LCMS-9050 使用基于岛津专有电气技术开发的高速化高压电源和独创的极性切换算法 UF-Stabilization™, 拥有超稳定的快速极性切换功能。正负极性快速切换模式下也可显示出稳定的质量精度, 因而可实现正负离子同时分析, 可节省 1/2 的分析时间、样品及试剂用量, 并且减少质谱 1/2 的分析负担。输出数据也全部汇总在一份文件中, 方便比较正负离子的分析结果。研发人员在实际运行的实验室环境下,

采用正负离子切换模式对 9 种抗生素成分进行连续分析，质量误差均在理论值的±3 ppm 以内（图 8）。



图 8. 快速正负离子切换模式下的质量数稳定性测试结果（分子量：150~1200 Da）

### 挑战 5——如何实现仪器维护的简便？

仪器维护的简便与否也是实验人员必须考虑的重要因素。与其他四极杆仪器相同，Q-TOF 也是标配 ESI 离子源，可选配 APCI 或 DUIS 离子源，且每类离子源都采用无线缆、无管路设计，可轻松在不同离子源之间快速切换，无需工具即可更换离子源。简便的设计还体现在更换 DL 管时无需卸真空，并可快速更换 ESI 喷针，从而为仪器提供更多运行时间和可用性。另外，离子源处配有主副两个接口，主接口用于日常分析，独立于主接口之外的辅助接口用于调谐，无需切换流路，并且与样品流路分开以免受到交叉污染的影响（图 9）。



图 9. 调试轻松无负担



图 10. LCMS-9050 创新设计一览

## 1.3 Q-TOF 数据分析软件介绍

### 1.3.1 Insight Explore 多数据定性定量分析软件

在数据处理工作中，LabSolutions Insight™ Explore 软件提供了直观、功能齐全的定量环境，并具有显著的定性增强功能。利用 Formula Predictor 分子式预测功能，可以直接显示质谱峰分子式预测信息及与理论图谱匹配情况（图 11），并且可以通过内置检索窗口直接在线检索数据库（如 PubChem 等）获得未知物可能的结构式；Assign 选项有 MS<sup>2</sup> 碎片离子结构归属功能，匹配精准定性，无需标准物质即可快速定性筛查多种化合物；结合 LabSolutions MS<sup>n</sup> 质谱库功能，快速构建质谱数据库，不仅提高了筛查效率和准确率，还大大缩短了分析时间；此外，还提供了多电荷峰解卷积功能。

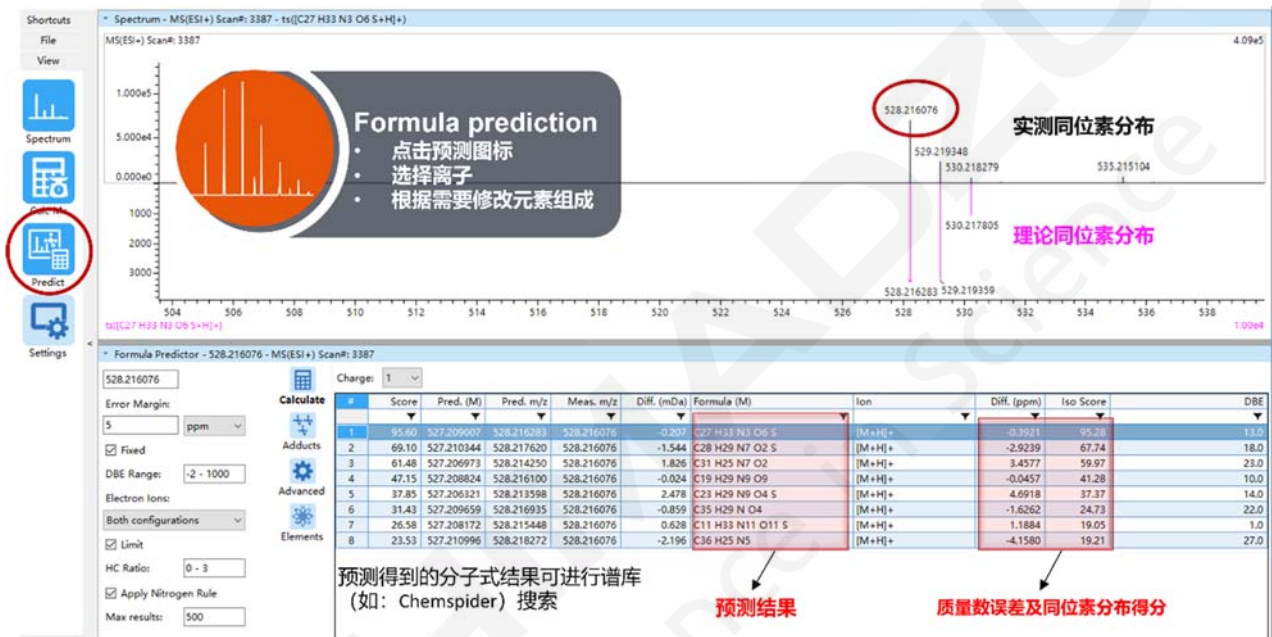


图 11. Insight Explore 软件的分子式预测功能 (Formula Predictor)

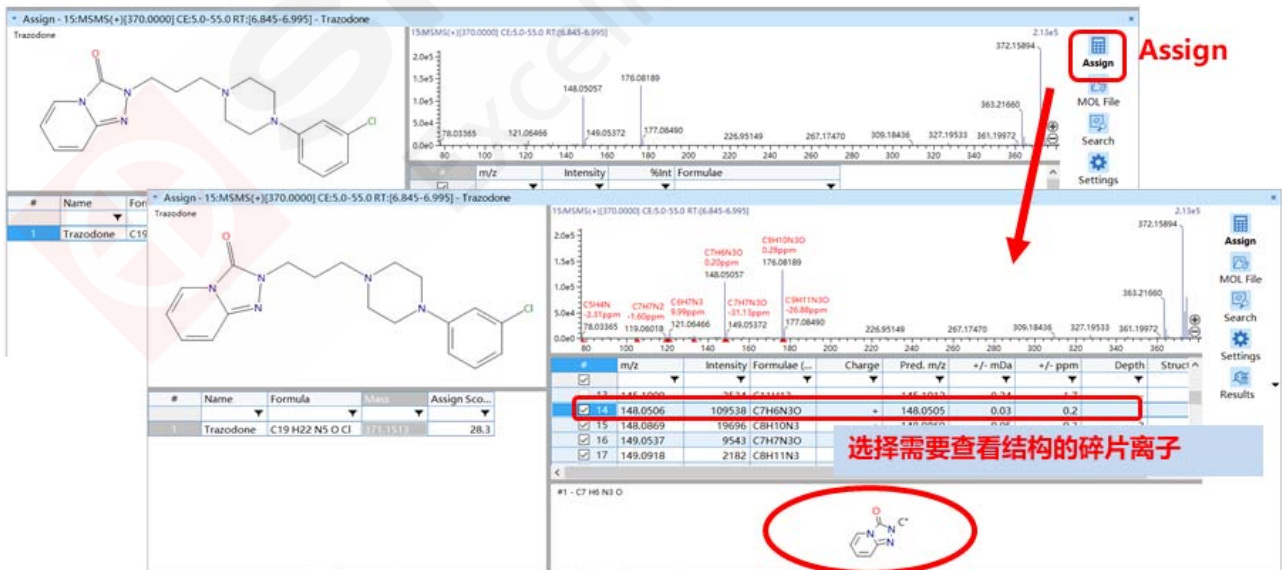


图 12. Insight Explore 软件的 MS<sup>2</sup> 碎片离子结构归属 (Assign 功能)

### 1.3.2 其他数据处理软件及数据库

表 1. 数据处理相关软件汇总信息

应用方向	细分领域	数据处理	相关软件	实现功能	数据要求
小分子鉴定	目标杂质鉴定	MS <sup>1</sup> 数据预测; MS <sup>2</sup> 数据确证	Insight Explore	数据库检索, 结构确认	直接打开
			ACD MS Manager	数据库检索, 结构确认	直接打开
	未知物筛查	MS <sup>1</sup> 数据提取清单; MS <sup>1</sup> 指定 m/z 预测; MS <sup>2</sup> 数据确证	Insight Explore	数据库检索, 结构确认	直接打开
大分子鉴定	蛋白表征	获得丰富的 MS <sup>2</sup> 碎片信息	Protein Metrics	蛋白/多肽识别, 肽图、修饰/异质体分析	直接打开
	未知蛋白鉴定	获得尽可能多的 MS <sup>2</sup> 数据, 根据 MS <sup>2</sup> 信息进行谱库检索	Mascot	数据库检索, 肽图分析	转换成.mzML 格式
	解卷积	MS <sup>1</sup> 数据即可	Insight Explore CSD	多电荷解卷积, 获得分子量信息	直接打开
药物代谢	药物代谢物鉴定及代谢组学	MS <sup>1</sup> 主成分差异分析; MS <sup>2</sup> 结构确证	Signpost MS	峰提取、峰对齐及简单的统计分析	直接打开
			MS DIAL	峰对齐, 统计分析; 代谢物库检索	直接打开
			MetaboAnalyst	通路分析, 统计分析; 未知物筛查; 代谢物库检索	转换成.csv 格式
			SIMCA-P	组学统计分析	转换成.csv 格式

表 2. 数据库汇总信息

名称	简要说明	支持检索方式	链接地址
法医毒物高分辨质谱数据库	共包含 902 种毒物类物质的二级质谱图以及化合物各类信息（结构式、中文名、CAS 号、分子式、加合离子和碰撞能量等）	MS/MS 数据	<a href="#">岛津在售</a>
农药、兽药高分辨质谱数据库	共包含 902 种农药、兽药类物质的二级质谱图以及化合物各类信息（结构式、中文名、CAS 号、分子式、加合离子和碰撞能量等）	MS/MS 数据	<a href="#">岛津在售</a>
抗生素杂质数字化标准品数据库	共包含 18 个抗生素品种、182 个杂质标准品、54 种聚合物结构，并基于岛津高分辨质谱仪进行 ESI 正/负双模式、多碰撞能量的二级质谱图采集，杂质结构信息和《中国药典》流动相条件下的保留时间对应	MS/MS 数据	<a href="#">岛津在售</a>
HMDB	免费人类代谢物数据库，包含人体小分子代谢物约 114006 个，2280 种药物和药物代谢产物，3670 种常见毒素和环境污染物质，25000 种人类代谢和疾病途径的途径图，28000 种食物成分和食品添加剂	分子式	<a href="https://hmdb.ca/">https://hmdb.ca/</a>
ChemSpider	免费在线数据库，是未知物结构鉴定使用最为广泛的数据库之一	分子式	<a href="http://www.chemspider.com/">http://www.chemspider.com/</a>
MetFrag	免费在线检索工具，支持 PubChem、KEGG、ChemSpider、HMDB、LipidMaps 等数据库	分子式，准确 m/z，二级图谱	<a href="https://msbi.ipb-halle.de/MetFrag-deNBI/">https://msbi.ipb-halle.de/MetFrag-deNBI/</a>
METLIN	免费代谢组学数据库，目前已包含超过 431000 个代谢物标准品及其二级质谱图 (Q-TOF)	分子式，准确 m/z，二级图谱	<a href="https://metlin.scripps.edu/">https://metlin.scripps.edu/</a>

## 第 2 章 Q-TOF 在药物分析中的应用

在现代新药开发过程中，新化合物数量迅速增加，人们对药物质量要求不断提高，传统的分析方法已经不能满足需要。如果采用传统谱学手段如红外、紫外光谱、核磁共振谱来鉴定杂质分子结构，这个过程繁琐复杂、费时、样品消耗量大且对微量杂质的分析鉴定有一定难度。因此，分析工作者的一个重要任务是建立灵敏、可靠的分析方法来定性或定量分析测定复杂样品中的微量杂质。

在药物分析领域，高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (HPLC-QTOF-MS) 技术在定性、定量分析方面具有明显优势，较好地适应了现代药物研究对自动化、高通量分析方法的需求，已成为药物杂质结构研究这一现代药学前沿领域中最强有力的分析工具之一。

以药物杂质鉴定为例，下图展示了未知物鉴定的基本思路：① 利用一级质谱数据预测可能分子式；② 根据二级质谱数据推测可能结构式；③ 对二级碎片进行结构归属，得到候选化合物；④ 标准品比对（保留时间、离子丰度比等）验证结构是否正确。



图 1. 未知物鉴定基本思路



图 2. LabSolutions Insight™ Explore 软件特点

此外，对非法添加物质的定性快筛也是 Q-TOF 技术的一大优势。通过 Insight Explore 软件，分析者能够快速准确地进行非法添加物的筛查。分析者借助该软件能够进行高分辨率的检测，并通过匹配精确的定性指标，提供可靠的结果。这有助于防止非法物质进入化妆品或保健品中，保护消费者免受潜在风险。

本章在此对该技术在药物杂质定性分析、中药特征成分的高分辨质谱分析、化妆品及保健品中非法物质的快筛等进行介绍。

# LCMS-9030 鉴定沙丁胺醇标准品中杂质

**摘要:** 本文利用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (LCMS-9030) 建立了一种快速、准确鉴别鉴定沙丁胺醇标准品中杂质的方法。建立了沙丁胺醇标准品的液相色谱分离条件及质谱检测条件, 对标准品进行分析, 总结其二级碎片信息; 结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件, 根据获得的各组分一级和二级高分辨质谱信息, 对比标准品碎裂特征并参考文献, 对主要色谱峰进行指认, 共鉴别了三个杂质。研究结果表明, 使用岛津高分辨率、高质量准确度的液相色谱-四极杆飞行时间质谱, 可快速实现标准品中杂质的定性分析, 为沙丁胺醇标准品质量控制提供可靠的依据。

**关键词:** 液相色谱-四极杆飞行时间质谱 沙丁胺醇标准品 杂质

沙丁胺醇 (Salbutamol) 是一种短效 $\beta_2$  肾上腺素受体激动剂, 添加微量沙丁胺醇于牲畜饲料内可增加牲畜的瘦肉量。人在食用沙丁胺醇含量较高的动物组织后将产生不良反应对身体健康造成重大危害。为实现肉制品中沙丁胺醇含量有效监测, 药物标准物质尤为重要, 且检测结果的准确性直接取决于分析时所用沙丁胺醇标准物质纯度的高低。此外, 标准物质还广泛用于校准仪器、评价测试方法及为材料赋值等方面。杂质种类、杂质含量和标准品纯度不够将严重影响分析结果的准确性, 数据的溯源性。目前沙丁胺醇在生产 and 贮存过程中会产生多种结构类似物, 直接影响产品质量。

为了加强对沙丁胺醇标准品的质量控制, 本文使用岛津高分辨液质联用仪 LCMS-9030, 利用其高质量准确度, 同时结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件, 高效、准确地鉴别沙丁胺醇标准品中的杂质, 并总结相关化合物质谱裂解规律, 为今后沙丁胺醇纯品标准物质的质量控制提供了参考。

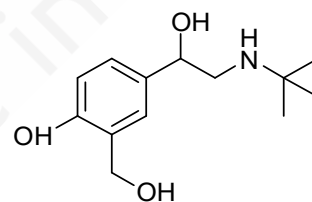


图 1. 沙丁胺醇化学结构式

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪 (配在线流路切换阀)。具体配置包括 LC-30AD  $\times$  2 (输液泵), DGU-20A<sub>5R</sub> (在线脱气机), SIL-30AC (自动进样器), CTO-20AC (柱温箱), SPD-M20A (二极管阵列检测器), CBM-20Alite (系统控制器), LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪, LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站, LabSolutions Insight Explore Ver. 3.7 数据处理软件。

### 1.2 试剂

沙丁胺醇标准品(中国计量院化学所提供), MS 级乙腈、甲酸和甲酸铵为色谱级, 水为超纯水机制备所得。

### 1.3 样品制备

取标准品 10.0 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 加入水稀释至刻度并超声溶解, 摇匀, 即得 1 mg/mL 储备液。

## 1.4 分析条件

### 液相条件

色 谱 柱 : Shim-pack XR-ODS III 150 mm×2.0 mmI.D., 2.2 μm, P/N: 228-59910-91  
流 动 相 : A相-水+10 mM 甲酸铵水溶液+0.1%甲酸; B相-乙腈  
流 速 : 0.3 mL/min 检 测 波 长 : 220 nm  
进 样 体 积 : 25 μL 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 洗脱程序见表 1  
柱 温 : 40°C

表 1. 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
0.01	泵	B.Conc	3
1	泵	B.Conc	3
6	泵	B.Conc	15
8.5	泵	B.Conc	30
9.5	泵	B.Conc	30
9.51	泵	B.Conc	90
10.5	泵	B.Conc	90

### 质谱条件

离 子 源 : ESI (+) 接 口 温 度 : 300 °C  
接 口 电 压 : +4.5 kV D L 温 度 : 250 °C  
雾 化 气 : 氮气 3.0 L/min 加 热 块 温 度 : 400 °C  
干 燥 气 : 氮气 10.0 L/min 扫 描 模 式 : MS<sup>1</sup> m/z 100-500  
加 热 气 : 空气 10.0 L/min MS<sup>2</sup> m/z 80-500  
F C V 阀 : 4.500-5.600 min 切入废液 碰 撞 能 量 : 38±17 V

## 2. 结果与讨论

沙丁胺醇标准品的 LC-UV 图中 (图 2), 1 号峰为沙丁胺醇标准品主峰, 保留时间为 4.523 min, 2、3、4 号峰为杂质, 对应的保留时间分别为 6.069、7.976、8.254 min。这 4 个峰均具有较好的 ESI+响应, 可获得一级和二级质谱图。

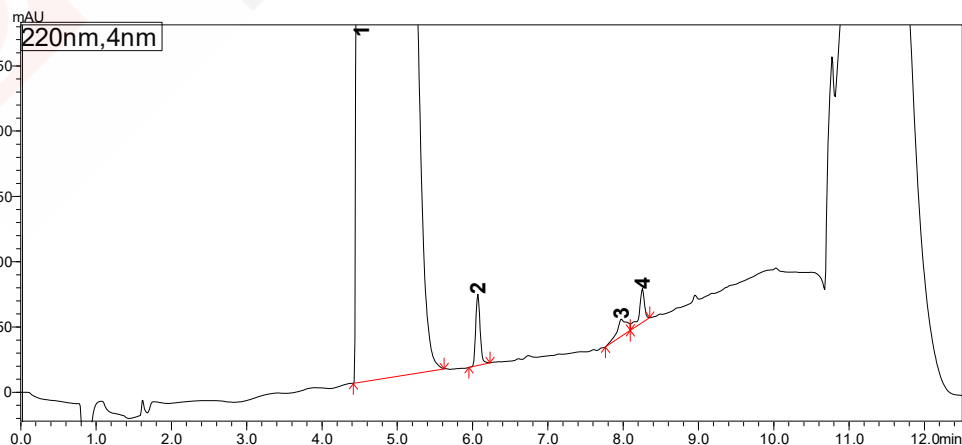


图 2. 沙丁胺醇标准品的 LC-UV 图

首先对沙丁胺醇主峰进行分析，用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析并总结其二级裂解规律；其次结合使用 LabSolutions Insight Explore 软件，根据获得的各组分一级和二级高分辨质谱信息，对比沙丁胺醇标准品的碎裂特征，并参考欧洲药典，鉴别了另外 3 个化合物，给出了可能的结构式和化学式以及二级碎片信息。

## 2.1 沙丁胺醇主峰质谱规律研究

由沙丁胺醇的一级质谱图获得[M+H]<sup>+</sup>峰信息为 240.1598，与理论质核比误差为 1.67 ppm，如表 2 所示。图 3 为其提取离子流图。使用 LabSolutions Insight Explore 对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，示例如图 4，沙丁胺醇的二级质谱碎片结构归属如图 5 所示。

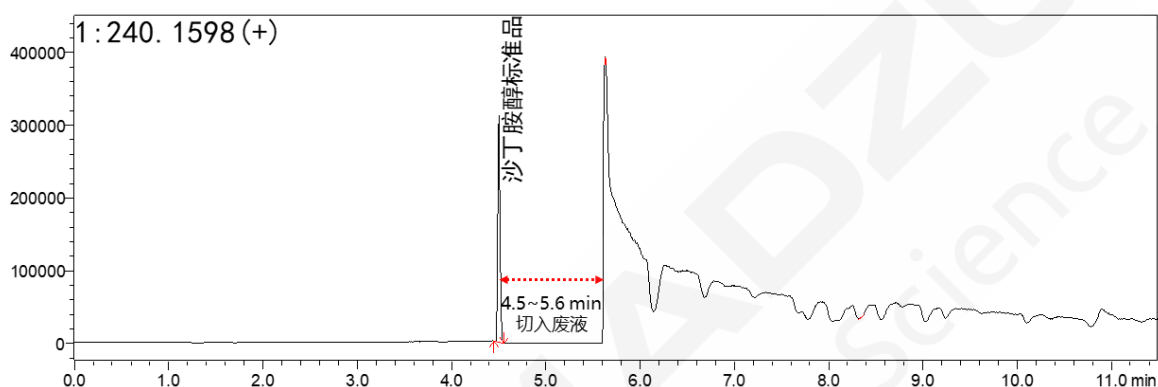


图 3. 沙丁胺醇标准品提取离子流图

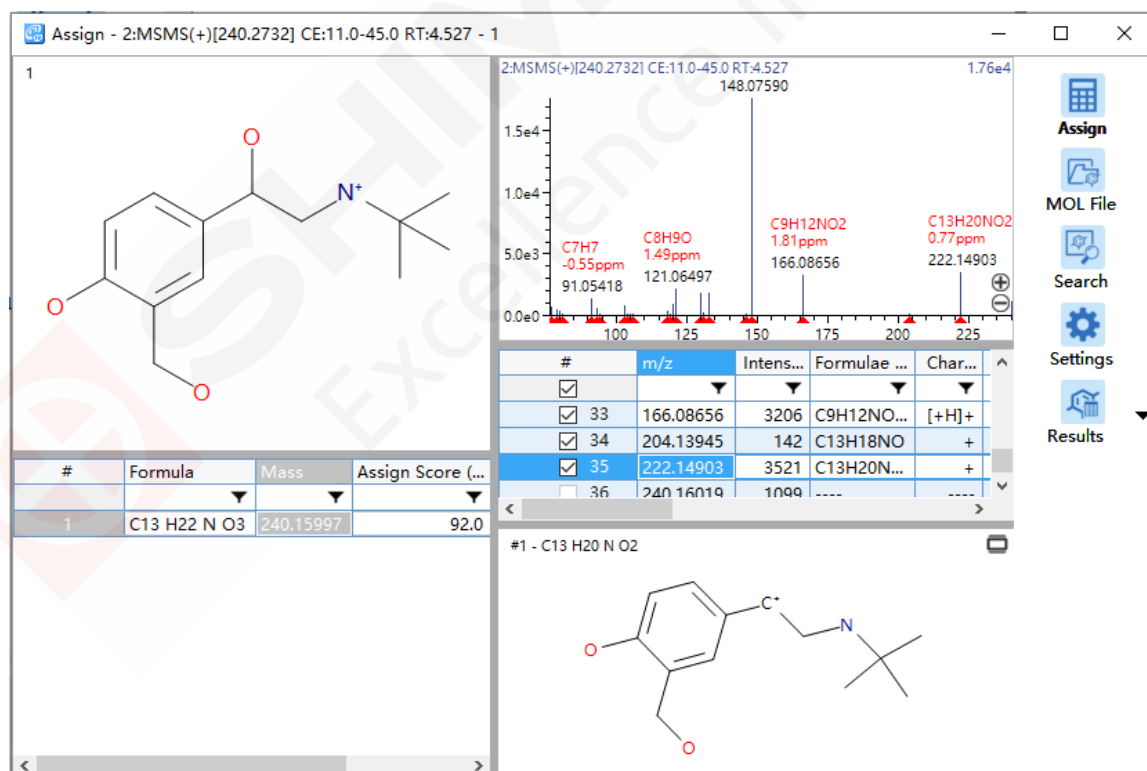


图 4. LabSolutions Insight Explore 归属二级高分辨质谱图高丰度碎片

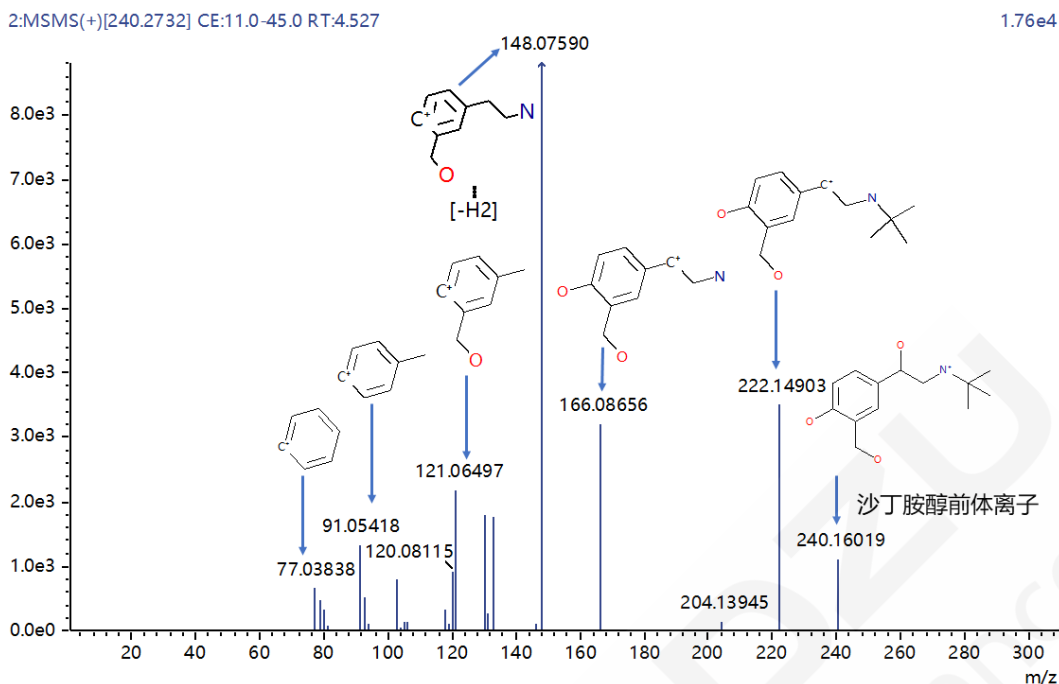


图 5. 沙丁胺醇二级质谱碎片信息

表 2. 沙丁胺醇色谱质谱信息汇总表

No.	化合物名称	保留时间/min	分子式	理论 m/z	实际 m/z	质量偏差/ppm	碎片 m/z
1	沙丁胺醇	4.523	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	240.1594	240.1598	1.67	222.1489 166.0863 148.0757

## 2.2 杂质 1 结构鉴定

杂质 1 的一级质谱图如图 6 所示。MS1 质谱图经 Formula predictor 预测，得到分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>，[M+H]<sup>+</sup>峰为 254.1391，见图 7。与沙丁胺醇相比多了一个 O，少了两个 H，推测沙丁胺醇的烷基被氧化为羰基。MS2 质谱图中可见由 236 到 180 的特征碎片，推测其丢失了 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>，表明其结构中可能含有异丙基取代基，其氧化可能不会发生在异丙基官能团。由 162 和 134 的特征碎片推测其丢失了 CO，且结构中仍含有 N 元素，表明其氧化是发生在与苯环相连接的烷基上。杂质 1 可能的结构式见图 8。查阅文献，此结构未见报道，为新发现杂质。

使用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图 9。

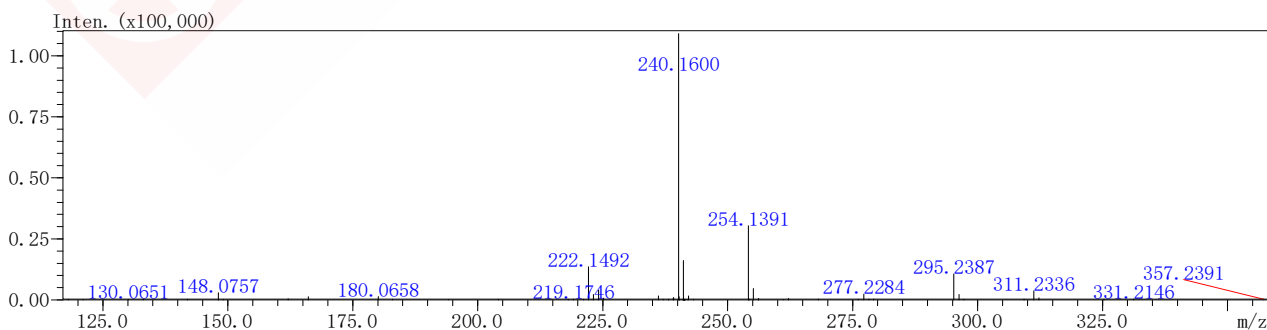


图 6. 杂质 1 一级高分辨质谱图

#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	96.59	253.131408	254.138685	254.139129	0.444	C13 H19 N O4	[M+H] <sup>+</sup>	1.7485	97.21	5.0
2	88.11	253.132746	254.140022	254.139129	-0.893	C14 H15 N5	[M+H] <sup>+</sup>	-3.5138	89.66	10.0

图 7. Formula predictor 预测杂质 1 分子式

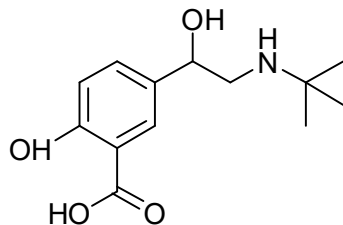


图 8. 杂质 1 可能的化学结构式

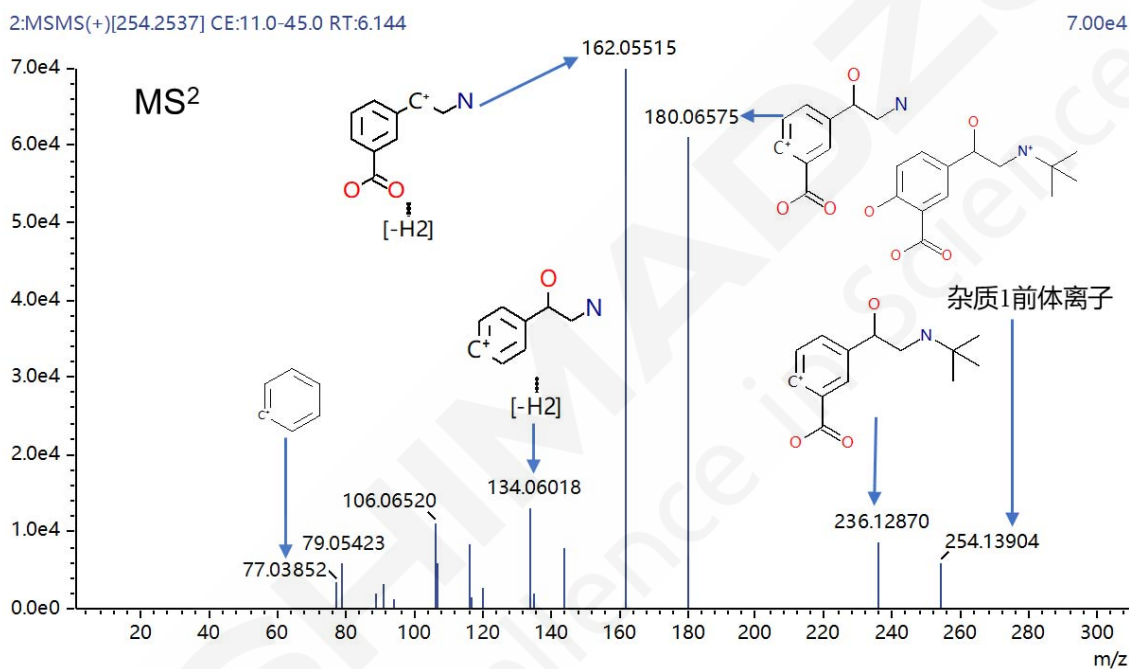


图 9. 杂质 1 二级质谱碎片信息

### 2.3 杂质 2 结构鉴定

杂质2的一级质谱图如图10所示。MS1质谱图经Formula predictor预测，得到分子式为C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>，[M+H]<sup>+</sup>峰为461.3016，见图11。与沙丁胺醇分子式 C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> 相比，推断可能为沙丁胺醇二聚体脱水后形成，可能的结构式见图12。推断其为《欧洲药典》杂质F。

使用LabSolutions Insight Explore软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图13。

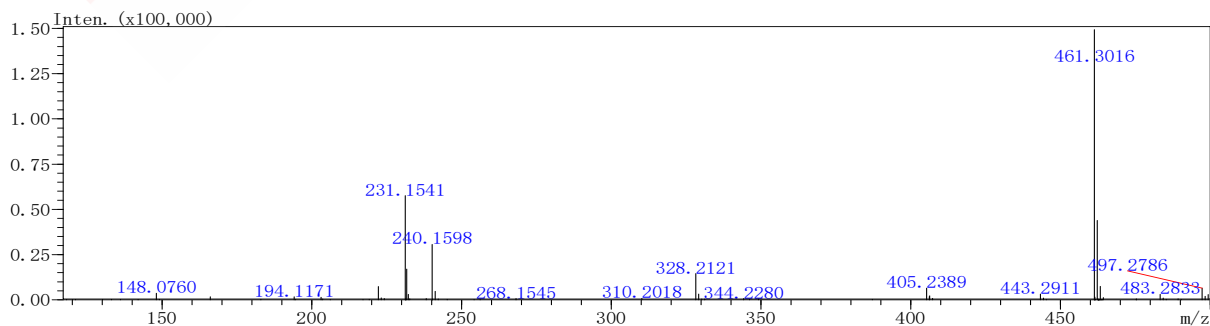


图10. 杂质2的一级高分辨质谱图

#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	86.70	460.293723	461.300999	461.301559	0.560	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	1.2139	85.87	8.0
2	31.39	460.289700	461.296976	461.301559	4.583	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	9.9344	34.88	4.0

图 11. Formula predictor 预测杂质 2 分子式

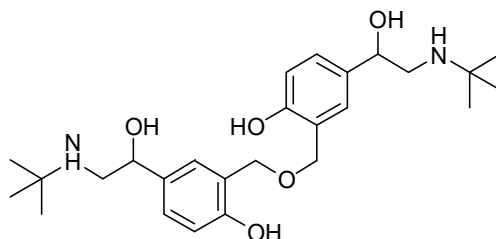


图 12. 杂质 2 可能的化学结构式

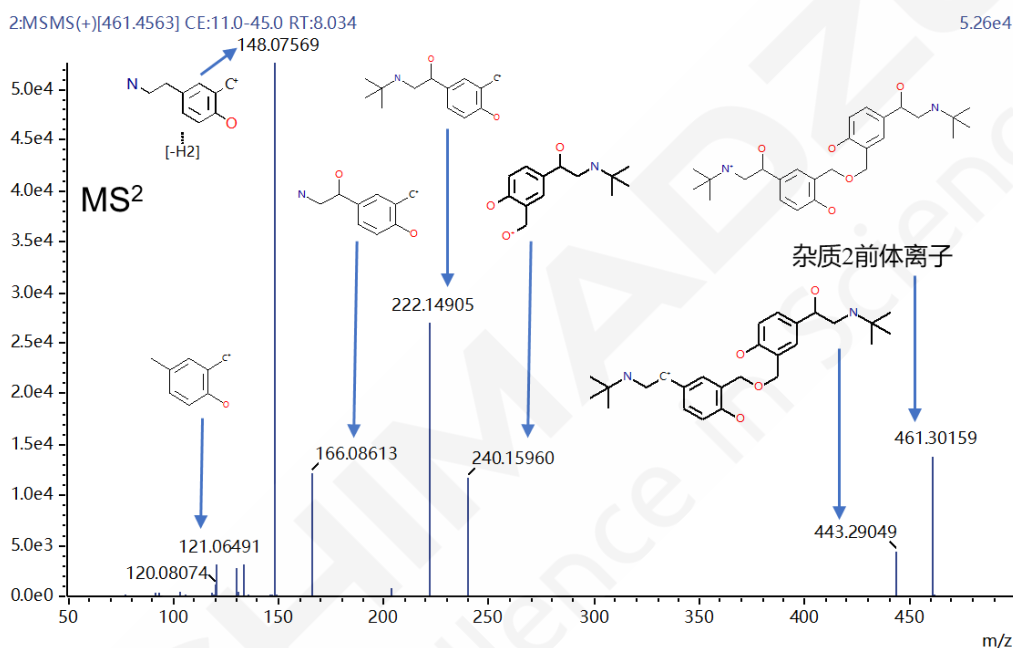


图 13. 杂质 2 二级质谱碎片信息

## 2.4 杂质 3 结构鉴定

杂质 3 的一级质谱图如图 14 所示。杂质 3 的 MS1 质谱图中 m/z 238.1441，经 Formula Predictor 精确分子式预测软件推测其分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>，见图 15，比主峰少了两个氢。由 164 和 136 的特征碎片推测其丢失了 CO，且结构中含有 N 元素，表明其氧化可能发生在与苯环相连接的烷基上，可能的结构式见图 16。推断其为《欧洲药典》杂质 D。

使用 LabSolutions Insight Explore 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，见图 17。

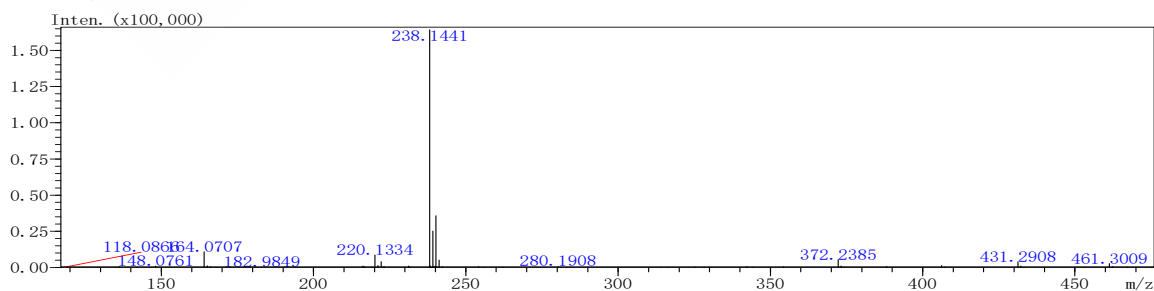


图 14. 杂质 3 的一级高分辨质谱图

#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	96.38	237.136494	238.143770	238.144118	0.348	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	1.4613	96.78	5.0

图 15. Formula predictor 预测杂质 3 分子式

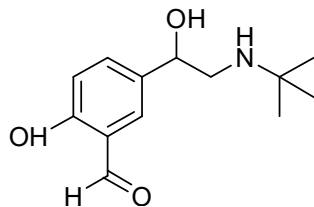


图 16. 杂质 3 可能的化学结构式

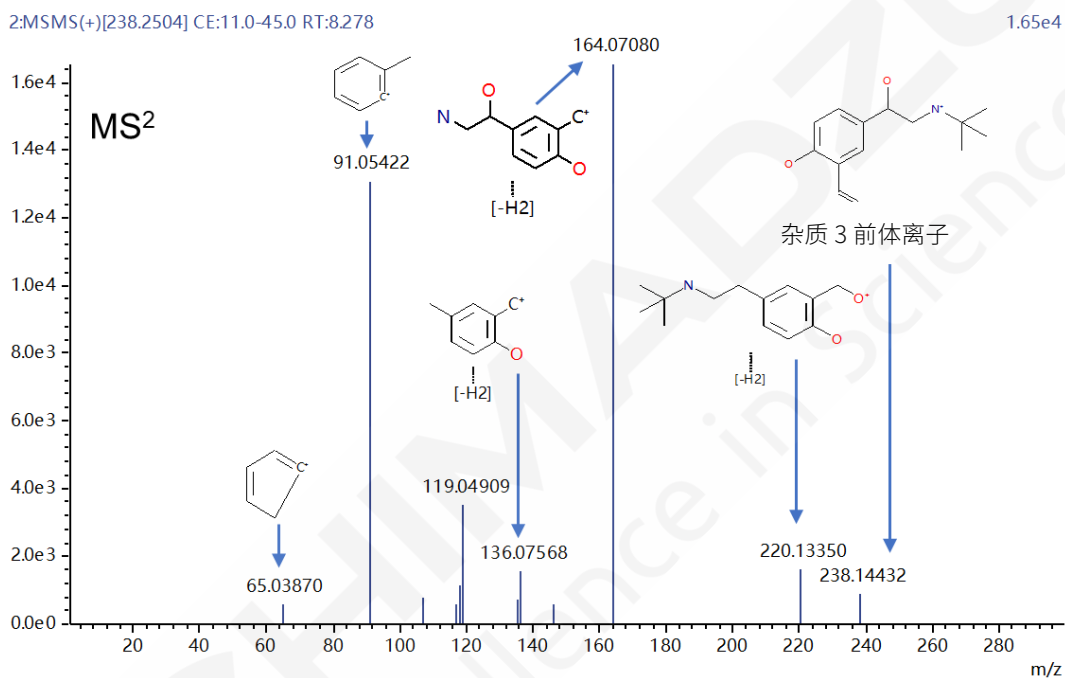


图17. 杂质3二级质谱碎片信息

### 3. 结论

使用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 LCMS-9030 分析, 对沙丁胺醇标准品进行一级质谱和二级质谱信息采集, 使用LabSolutions Insight Explore软件, 综合相关参考文献, 共鉴定出3个杂质, 为沙丁胺醇标准品进行质量控制提供了依据。同时, 结果显示LCMS-9030具有亚ppm的质量数准确度, 是未知物分子式预测和结构推导的利器。

# HPLC-QTOF 法定量检测雷尼替丁原料药中的 NDMA

**摘要：** 本文使用岛津液相色谱-四极杆飞行时间质谱（LCMS-9030）对盐酸雷尼替丁原料药中的 N-亚硝基二甲胺（NDMA）进行定量分析。通过紫外色谱图确定雷尼替丁主峰的出峰时间，使用质谱前端配置的流路切换阀，将其切入废液。NDMA 出峰时间在 4.1 min，为尽可能降低质谱的污染，质谱的切入时间设置为 2.5 到 4.5 min。系统适用性实验结果表明连续六次 1 ng/mL 标准溶液的 S/N 均大于 10，1 ng/mL 为本法的定量检出限。2 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次，峰面积重复性<10%。在 1.14-146 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，相关系数>0.999。曲线各标点浓度计算结果准确度在 86.95-112.32 之间，均满足法规要求。外标法计算六份供试品中 NDMA 含量，测定结果均小于 0.32 ppm。

**关键词：** 液相色谱-四极杆飞行时间质谱 Q-TOF 盐酸雷尼替丁 NDMA

雷尼替丁是一种广泛用于治疗和预防胃溃疡的组胺H2受体拮抗剂。目前，据报道国内外多家药企的雷尼替丁原料药和成品药中检出N-亚硝基二甲胺（NDMA）。NDMA是一种亚硝胺类物质，被证实是一种致癌物。雷尼替丁受热可能分解生成NDMA，使用GCMS测定结果将偏高。2019年9月13日FDA更新了雷尼替丁中NDMA的检测方法，方法中采用了液

质高分辨质谱法，要求雷尼替丁原料药中检出浓度不得高于0.32 ppm。

本文使用岛津高分辨质谱仪LCMS-9030，配备超高效液相色谱仪Nexera用于雷尼替丁原料药中NDMA含量测定。本方法操作简单、快速、灵敏度高、重复性好且线性良好，可供相关检测机构参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 Nexera 系统串联四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030（配在线流路切换阀）。Nexera 系统包括 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A5（在线脱气机），SIL-30AC 自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），SPD-M20A（二极管阵列检测器），CBM-20Alite（系统控制器）。数据采集使用 LabSolutions Ver5.97，数据处理使用 LabSolutions Insight 3.4。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色 谱 柱 ： Shim-pack GIST 4.6 mm I.D. ×150 mm L, 5.0 μm, P/N: 227-30017-07

流 动 相 ： A相-0.1%甲酸水；B相-甲醇

检 测 波 长 ： 190-400 nm

流 速 ： 1 mL/min 柱 温 ： 40 °C

进 样 体 积 ： 5 μL 进 样 器 温 度 ： 5 °C

洗 脱 方 式 ： 梯度洗脱，B相初始浓度为5%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	5
6.00	Pumps	Pump B Conc.	15
9.00	Pumps	Pump B Conc.	100
19.00	Pumps	Pump B Conc.	100
19.10	Pumps	Pump B Conc.	5
25.0	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子源：APCI (+)                      加热块温度：200°C  
 接口电压：3.5 kV                      D L 温度：180°C  
 雾化气：3.0 L/min                      接口温度：300°C  
 干燥气：5.0 L/min                      扫描模式：SCAN m/z 50~95  
 质谱采集时间：2.5~4.5 min              EIC 提取 m/z：75.0553  
 事件时间：0.1 s

### 1.3 对照品溶液制备

精密称取 N-亚硝基二甲胺对照品 10 mg，用甲醇定容至 10 mL 容量瓶中，制得 1 mg/mL N-亚硝基二甲胺储备液。

对照品测试溶液：从上述储备液中移取适量，用甲醇稀释制成 1 mL 中约含 2 ng 的溶液。

灵敏度测试溶液：从上述储备液中移取适量，用甲醇稀释制成 1 mL 中约含 1 ng 的溶液。

### 1.4 供试品溶液制备

精密称取供试品 120 mg 放入 15 mL 棕色玻璃瓶中，加入 4 mL 甲醇涡旋 5 分钟至样品充分溶解后，转移至进样小瓶，待检。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 盐酸雷尼替丁原料药紫外色谱图

盐酸雷尼替丁原料药中 NDMA 含量极其微量。为追求检测灵敏度需提高进样体积。进样体积过大将引起 NDMA 和雷尼替丁分离度下降，阀切不充分带来仪器污染。同时也会带来溶剂效应，使得色谱峰展宽。因此需在保证灵敏度的前提下，尽量减小进样体积。本次实验优化后的进样体积为 5  $\mu$ L。

由于不同色谱系统的延迟体积的差异，NDMA 和雷尼替丁的保留时间会发生变化。因此建议配置紫外检测器进行雷尼替丁原料药色谱图的监控。

本法选择了 GIST4.6 内径的 5  $\mu$ m 常规色谱柱。优点如下：在常规柱上 NDMA 和雷尼替丁主峰的保留时间间隔相比同款 3  $\mu$ m 常规色谱柱大大增加。在甲醇做流动相的条件下，时间间隔为 1.6 min，可确保充分的阀切时间将雷尼替丁主峰完全切至废液。流速选择 1 mL/min，此流速兼顾该款色谱柱和 APCI 源的最佳使用条件，同时又起到快速洗脱原料药的目的。

盐酸雷尼替丁原料药 254 nm 下紫外色谱图见图 1。进样浓度为 30 mg/mL，主峰前沿时间点为 5.73 min。因此质谱检测器务必在此时间点前切入废液，以免污染质谱。主峰出峰后 9-19 min 进行色谱系统的深度冲洗，可避免原料药在柱上残留干扰后续分析。

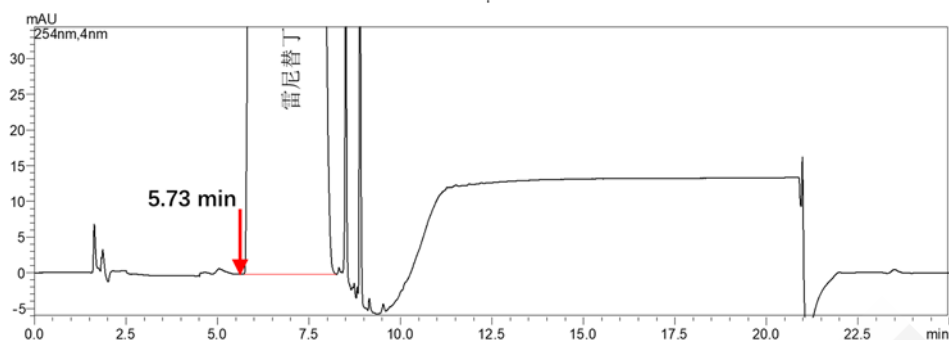


图 1. 盐酸雷尼替丁原料药紫外色谱图

## 2.2 系统适用性试验

NDMA 标准溶液出峰时间为 4.1 min，为避免原料药样品污染离子源，尽可能缩短质谱的采集时间。本方法中设置 2.5-4.5 min 导入质谱，其余时间均切入废液。噪音的选取范围为 2.8-3.8 min，使用 ASTM 法计算 S/N，实验结果显示 1 ng/mL 灵敏度测试液连续进样六次，S/N 均高于 12.8；2 ng/mL 对照品溶液连续进样六次，S/N 均高于 39.1。由此确定 1 ng/mL 为本法定量限。甲醇空白溶液、1 ng/mL 标准溶液和 2 ng/mL 标准溶液典型色谱图见图 2。

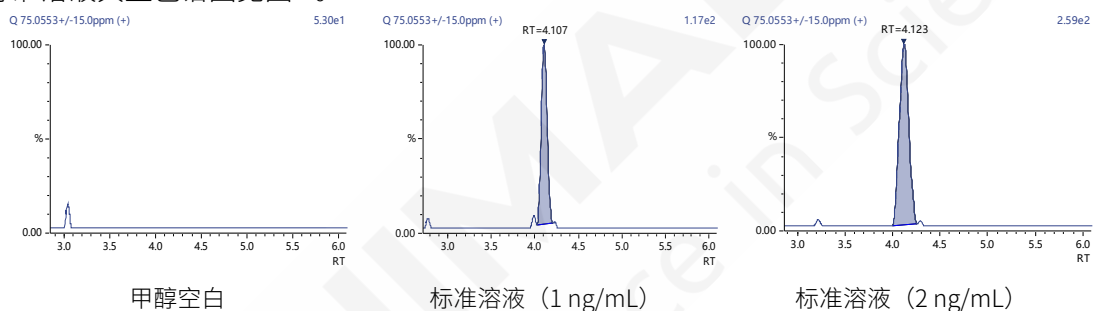


图 2. 空白和 NDMA 标准溶液色谱图

样品分析前，2 ng/mL 对照品溶液连续分析 6 次，NDMA 峰面积的 RSD 为 8.4%，满足法规 <10% 要求。样品分析中，每隔 6 个样品进一针对照品溶液。所有 NDMA 对照品溶液峰面积的 RSD 为 8.15%。质谱扫描宽度为 50-95 m/z 之间，精确质量数均小于 15 ppm。以上均满足法规要求。

表2. NDMA 2 ng/mL标准溶液重复性结果

编号	峰面积	保留时间
1	1892	4.107
2	1953	4.113
3	1595	4.118
4	1820	4.123
5	2040	4.142
6	1776	4.127
平均值	1846	4.122
RSD%	8.4	0.29

## 2.3 线性范围考察

本文配制储备液浓度为 1200 mg/L，用甲醇对比稀释至约 1 ng/mL。选取 1.14、2.28、4.56、9.12、18.2、36.5、73 和 146 ng/mL 标准工作溶液上机测定。使用外标法拟合工作曲线，加权方式为 1/C，NDMA

在 1.14-146 ng/mL 范围内线性良好，相关系数大于 0.999。曲线各标点浓度回读值精确度在 86.95-112.32% 之间。详细结果见表 3 和图 3。

表3. NDMA线性范围 (1.14-146 ng/mL)

#	Flags	Data Filename	Sample Type	Cal Point	Level	Found RT	Conc. (ppb)	Area	S/N	Accuracy(%)
1		5UL-MEOH-NDMA STD-1.14 PPb	Standard	1	1	4.087	1.05301	994	12.87	92.32
2		5UL-MEOH-NDMA STD-2.28 PPb	Standard	2	2	4.092	1.98357	1744	38.12	86.95
3		5UL-MEOH-NDMA STD-4.56 PPb	Standard	3	3	4.088	4.60631	3859	38.85	100.96
4		5UL-MEOH-NDMA STD-9.125 PPb	Standard	4	4	4.117	10.03077	8232	72.80	109.93
5		5UL-MEOH-NDMA STD-18.25 PPb	Standard	5	5	4.104	20.49777	16670	137.86	112.32
6		5UL-MEOH-NDMA STD-36.5 PPb	Standard	6	6	4.108	36.13136	29274	366.06	98.99
7		5UL-MEOH-NDMA STD-73 PPb	Standard	7	7	4.109	73.30724	59244	449.45	100.42
8		5UL-MEOH-NDMA STD-146 PPb	Standard	8	8	4.101	143.24934	115630	1362.95	98.12

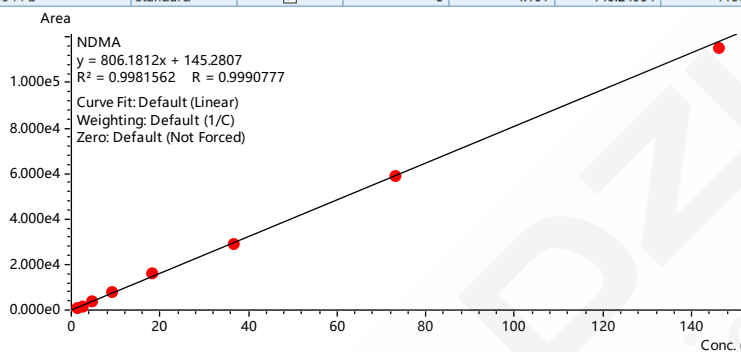


图 3. NDMA 工作曲线

## 2.4 加标回收率及重复性考察

精密称取含 NDMA 3.3 ppb 折算为 0.11 ppm 含量的样品，按照 1.4 进行前处理，加入适量 NMDA 标准溶液进行三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低中高三个加标浓度分别为 0.087、0.109 和 0.13 ppm。未加标样品谱图和 0.109 ppm 加标样品谱图见图 4。三水平加标回收率及重复性结果见表 4。

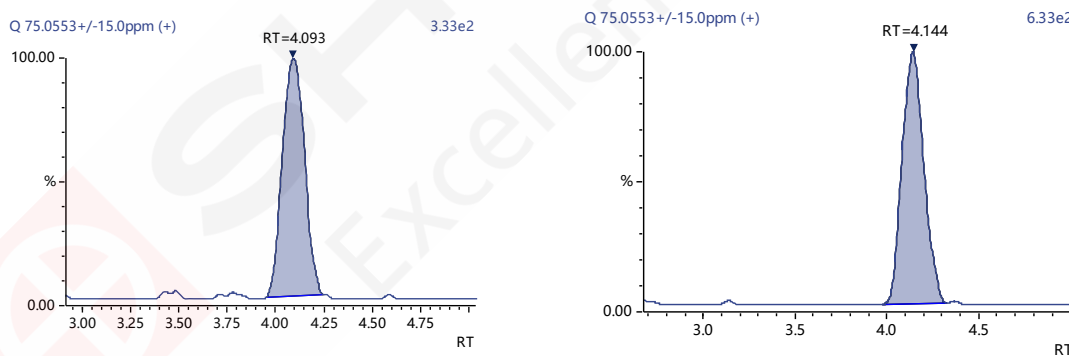


图 4. 实际样品谱图 (左) 和加标回收样品谱图 (右)

表 4. 三水平加标回收率及重复性计算结果 (n=3)

No.	样品本底值 (ppm)	0.087 ppm 加标结果		0.109 ppm 加标结果		0.13 ppm 加标结果	
		实测值 (ppm)	回收率 (%)	实测值 (ppm)	回收率 (%)	实测值 (ppm)	回收率 (%)
1	0.1	0.187	100.0	0.192	84.4	0.222	93.8
2		0.171	81.6	0.197	89.0	0.217	90.0
3		0.176	87.4	0.199	90.8	0.217	90.0
平均值		0.178	89.7	0.196	88.1	0.219	91.5
CV%		4.58		1.74		1.37	

## 2.5 供试品测定结果

6 份供试品按照 1.4 所述方法制备上机测定。典型色谱图见图 5 所示。外标法计算样品含量，根据样品制备过程折算出雷尼替丁原料药中 NDMA 的含量如表 5 所示。结果均小于法规要求的 0.32 ppm。

表5. 供试品中NDMA含量测定结果

样品编号	NDMA 含量 (ppm)
1	0.13
2	0.11
3	0.03
4	0.04
5	ND
6	ND



图5. 雷尼替丁原料药中NDMA检测谱图（4号与2号样品）

## 3. 结论

本文利用岛津 LCMS-9030 高分辨质谱定量测定了盐酸雷尼替丁中的 NDMA。实验结果表明连续六次 1 ng/mL 标准溶液的 S/N 均大于 10，1 ng/mL 适用于本法的定量限。2 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次，峰面积重复性<10%。在 1.14-146 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，相关系数>0.999。曲线各标点浓度计算结果回读值准确度在 86.95-112.32%之间。该法灵敏准确，稳定性好，适合此类药物基因毒性杂质的检测。

# LCMS-9030 鉴定合欢花配方颗粒中特征化学成分

**摘要:** 本文应用岛津 LCMS-9030 液相串联四极杆飞行时间质谱仪对合欢花配方颗粒中特征化学成分进行了高分辨质谱定性研究。通过准确质量数、同位素分布数据进行分子式预测,利用 Chemspider 数据库检索到相关结构式信息,结合 UV 光谱图、MS<sup>2</sup> 质谱图信息,对两种未知特征成分的结构及质谱裂解规律进行了详细解析,最终鉴定 1 号峰可能为槲皮苷、2 号峰可能为山奈酚-3-O-鼠李糖苷。

**关键词:** LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 合欢花配方颗粒 特征化学成分 黄酮醇苷

合欢花(英) Silktree Albizziae Flower, 别名夜合树、绒花树、鸟绒树。为豆科植物合欢 Albizzia julibrissin Durazz. 的花序。合欢花有宁神作用,主要是治郁结胸闷、失眠健忘、滋阴补阳、眼疾、神经衰弱等功效。合欢花在全国各地区分布广泛,资源丰富,但因气候条件、生态环境的影响,不同产地的合欢花药材在质量上会有较大差异,因此2015版《中国药典》中应用HPLC特征图谱对该药材的质量进行

了控制,但缺乏具体特征性成分的分析,因此特征成分的鉴定对于药材的鉴别及质量的控制具有重要意义。

本文应用岛津LCMS-9030液相串联四极杆飞行时间质谱仪建立了合欢花配方颗粒中特征成分的质谱鉴定方法,对其特征成分进行了详细的定性研究,以期能够提供特异性更高、准确度更好的药材鉴定及质量控制方法。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪,具体配置: LC-30AD 输液泵×2, DGU-20A<sub>SR</sub> 脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, SPD-M20A 检测器, CBM-20A 系统控制器, LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪, LabSolutions V 5.96 工作站软件

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱	: C18, 4.6 mm I.D. × 250 mm L, 5 μm		
流 动 相	: A 相-0.3%醋酸水溶液; B 相-乙腈	流 速	: 1 mL/min
进 样 体 积	: 10 μL	检 测 波 长	: 286 nm
柱 温	: 25 °C	洗 脱 方 式	: 梯度洗脱 (表 1)

质谱条件

离 子 源	: ESI	接 口 温 度	: 300 °C
接 口 电 压	: +4.0 kV; -3.0 kV	D L 温 度	: 250 °C
雾 化 气	: 氮气 3.0 L/min	加 热 块 温 度	: 400 °C
干 燥 气	: 氮气 10.0 L/min	扫 描 模 式	: MS1 SCAN (m/z 200-700)
加 热 气	: 空气 10.0 L/min		MS2 DDA (m/z 50-600)

表 1. 时间梯度程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	0
5.00	Pumps	Pump B Conc.	6
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
22.00	Pumps	Pump B Conc.	25
32.00	Pumps	Pump B Conc.	30
40.00	Pumps	Pump B Conc.	43
45.00	Pumps	Pump B Conc.	50
50.00	Pumps	Pump B Conc.	60
50.10	Pumps	Pump B Conc.	95
55.00	Pumps	Pump B Conc.	95
55.10	Pumps	Pump B Conc.	0
65.00	Controller	Stop	

## 2. 样品前处理

精密称取配方颗粒 0.2 g，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%甲醇 25 mL(V/V)，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）10 分钟，再称定重量，用 50%甲醇补足失重，摇匀，过滤，即得。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 合欢花颗粒紫外色谱图及特征成分紫外吸收光谱图

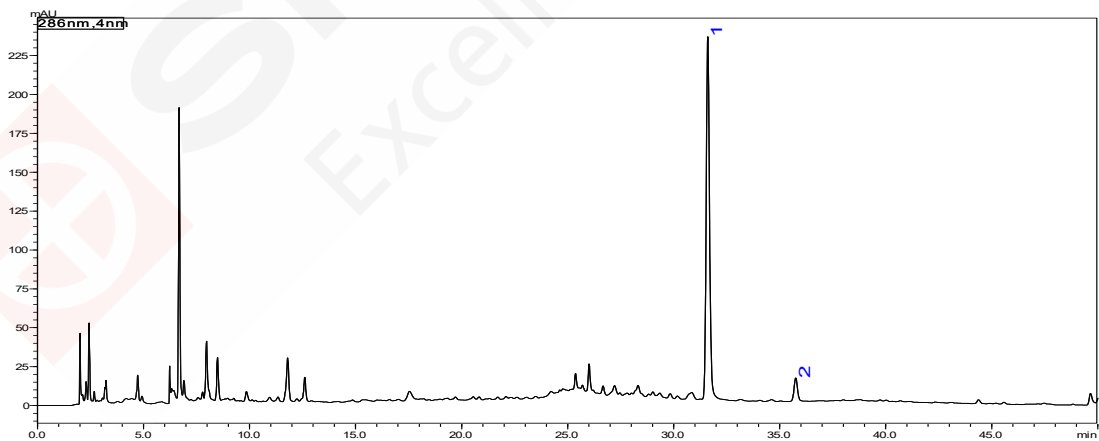


图 1. 合欢花配方颗粒紫外色谱图 (286 nm)

注：图中 1、2 号峰为其特征成分色谱峰

#### 3.1.1 特征成分的紫外吸收光谱图

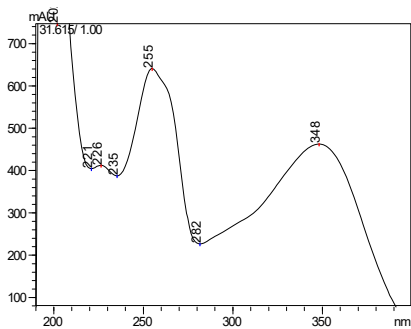


图 2. 1号峰紫外吸收图

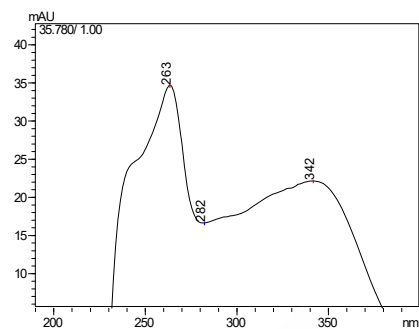


图 3. 2号峰紫外吸收图

从紫外吸收光谱图分析，2种特征成分紫外吸收光谱图与黄酮类化合物吸收特征接近，且两者紫外吸收光谱图类似，其结构很接近。

### 3.2 合欢花配方颗粒 MS<sup>1</sup>&MS<sup>2</sup> TIC

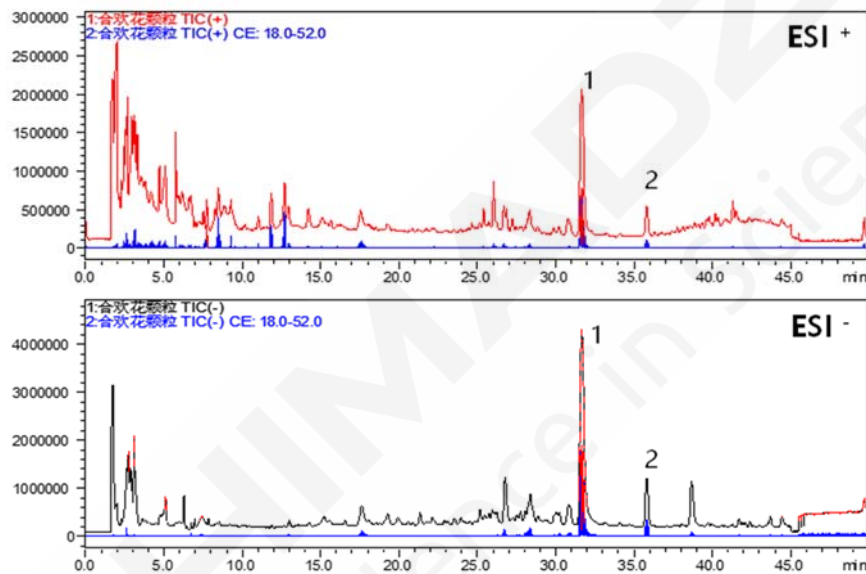
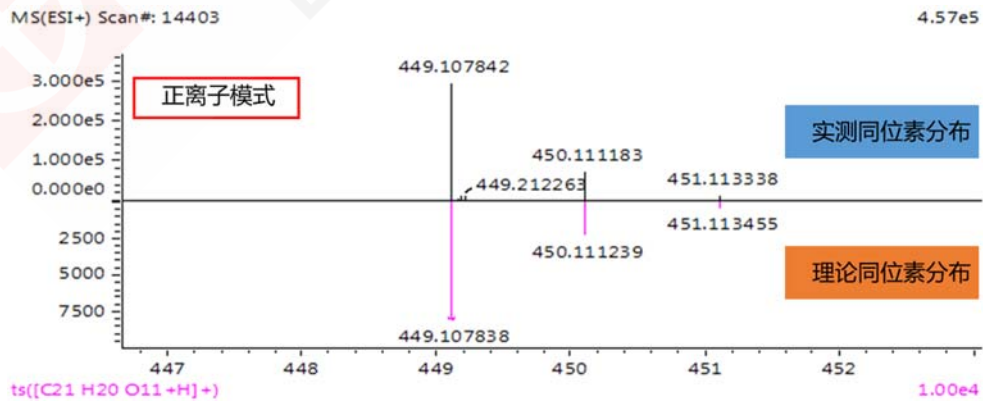


图 4. 合欢花配方颗粒 MS<sup>1</sup>&MS<sup>2</sup> TIC

### 3.3 特征成分结构鉴定

#### 3.3.1 1号峰结构鉴定

##### 3.3.1.1 Insight Explore 分子式预测结果



#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	100.00	448.100562	449.107838	449.107842	0.004	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	0.0087	100.00	12.0

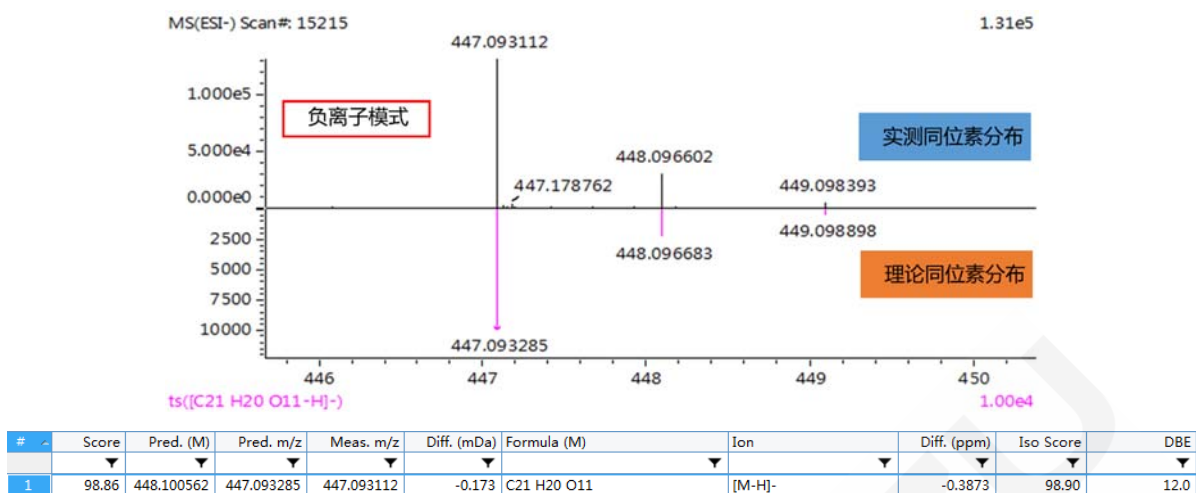


图 5. Insight Explore 分子式预测结果

正离子模式下，通过分子式预测，1 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>，其实测质量数与理论值相对误差仅为 0.01ppm，且同位素分布与理论值完全一致，说明该预测结果准确可靠。

负离子离子模式下，通过分子式预测，1 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>，与正离子模式下预测结果一致，其实测质量数与理论值相对误差仅为 -0.39ppm，且同位素分布匹配得分 98.9，说明该预测结果准确可靠。

通过岛津 Insight Explore 软件中分子式预测模块预测 1 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>

### 3.3.1.2 Chemspider 化合物库搜索

Found 301 results

Search term: C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub> AND SingleComponent AND Nonisotopic (Found by molecular formula)

First < > Last

图 6. Chemspider 化合物库搜索

将分子式 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub> 输入该数据库中进行搜索，共搜索到 301 个化学结构，总体来看为黄酮苷类化合物。

### 3.3.1.3 负离子模式 MS<sup>2</sup> 质谱图解析

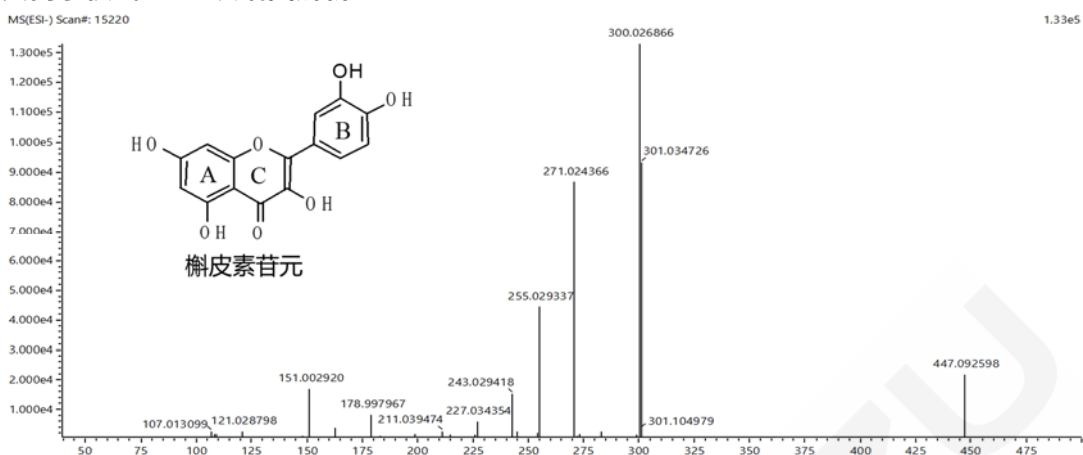


图 7. 负离子模式 MS<sup>2</sup> 质谱图

根据 UV 吸收光谱及 Chemspider 数据库检索, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。在 MS<sup>2</sup> 中可见脱去糖基的苷元 m/z 301 碎片, 苷元进一步裂解产生 RDA 裂解 A1,3 m/z 151 碎片, 说明 A 环含两个羟基取代, 根据苷元分子式计算 B 环含 2 个羟基, 推测其苷元为槲皮素。

分子离子峰[M-H]<sup>-</sup>为 m/z 447 碎片, MS<sup>2</sup> 中可见脱去鼠李糖基的苷元[M-H-146]<sup>-</sup> m/z 301 碎片, 因此推测该化合物为槲皮素的鼠李糖苷; 此外由于峰 MS<sup>2</sup> 中苷元自由离子[Y<sup>0</sup>-H]<sup>-</sup> m/z 300 相对丰度大于[Y<sup>0</sup>]<sup>-</sup> m/z 301, 说明糖基连接在 C 环 3 位, 因此鉴定该峰为槲皮苷。

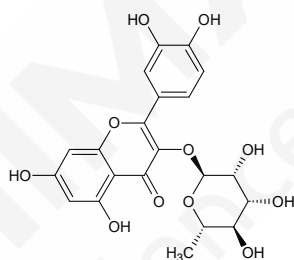


图 8. 槲皮苷结构式

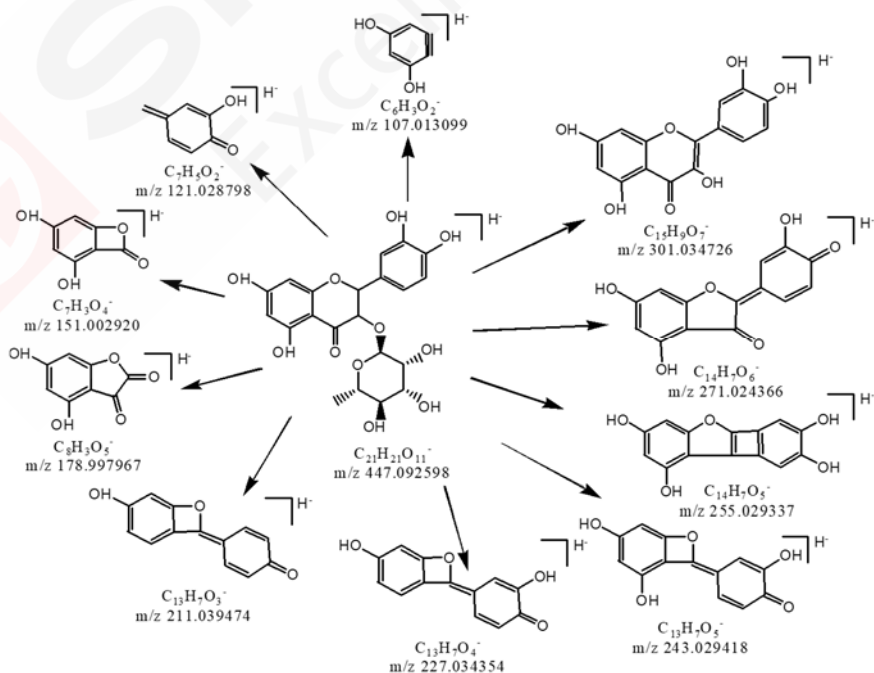
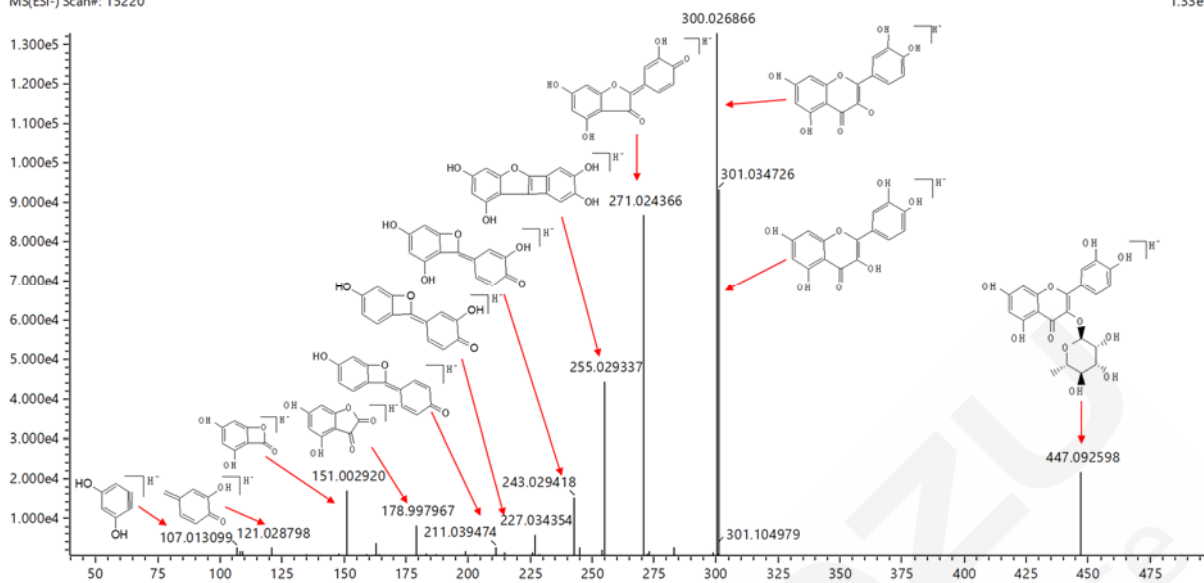


图 9. 槲皮苷 ESI 质谱裂解规律

图 10. ESI-MS<sup>2</sup> 质谱峰结构归属表 2. MS<sup>2</sup> 碎片离子质量数准确性

编号 No.	分子式	理论 m/z	实测 m/z	绝对误差 (mDa)	相对误差(ppm)
1	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> <sup>-</sup>	447.092740	447.092598	-0.142	-0.32
2	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub> <sup>-</sup>	301.034830	301.034726	-0.104	-0.35
3	C <sub>14</sub> H <sub>7</sub> O <sub>6</sub> <sup>-</sup>	271.024260	271.024366	0.106	0.39
4	C <sub>14</sub> H <sub>7</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	255.029350	255.029337	-0.013	-0.05
5	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	243.029350	243.029418	0.068	0.28
6	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> <sup>-</sup>	227.034430	227.034354	-0.076	-0.33
7	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	211.039520	211.039474	-0.046	-0.22
8	C <sub>8</sub> H <sub>3</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	178.998050	178.997967	-0.083	-0.46
9	C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> O <sub>4</sub> <sup>-</sup>	151.003130	151.002920	-0.210	-1.39
10	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	121.028950	121.028798	-0.152	-1.26
11	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	107.013300	107.013099	-0.201	-1.88

MS<sup>2</sup> 碎片离子质量数相对误差均小于 2ppm，显示出良好的质量准确性，说明所推测的碎片离子化学式及结构式准确可信。

### 3.3.2 2 号峰结构鉴定

#### 3.3.2.1 Insight Explore 分子式预测结果

正离子模式下，通过分子式预测，2 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>，其实测质量数与理论值相对误差仅为 -0.30 ppm，且同位素分布得分 99.19，说明该预测结果准确可靠。

负离子模式下，通过分子式预测，2 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>，其实测质量数与理论值相对误差仅为 0.25 ppm，且同位素分布与理论值完全一致，说明预测结果准确可靠。

通过岛津 Insight Explore 软件中分子式预测模块预测 2 号峰分子式可能为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>

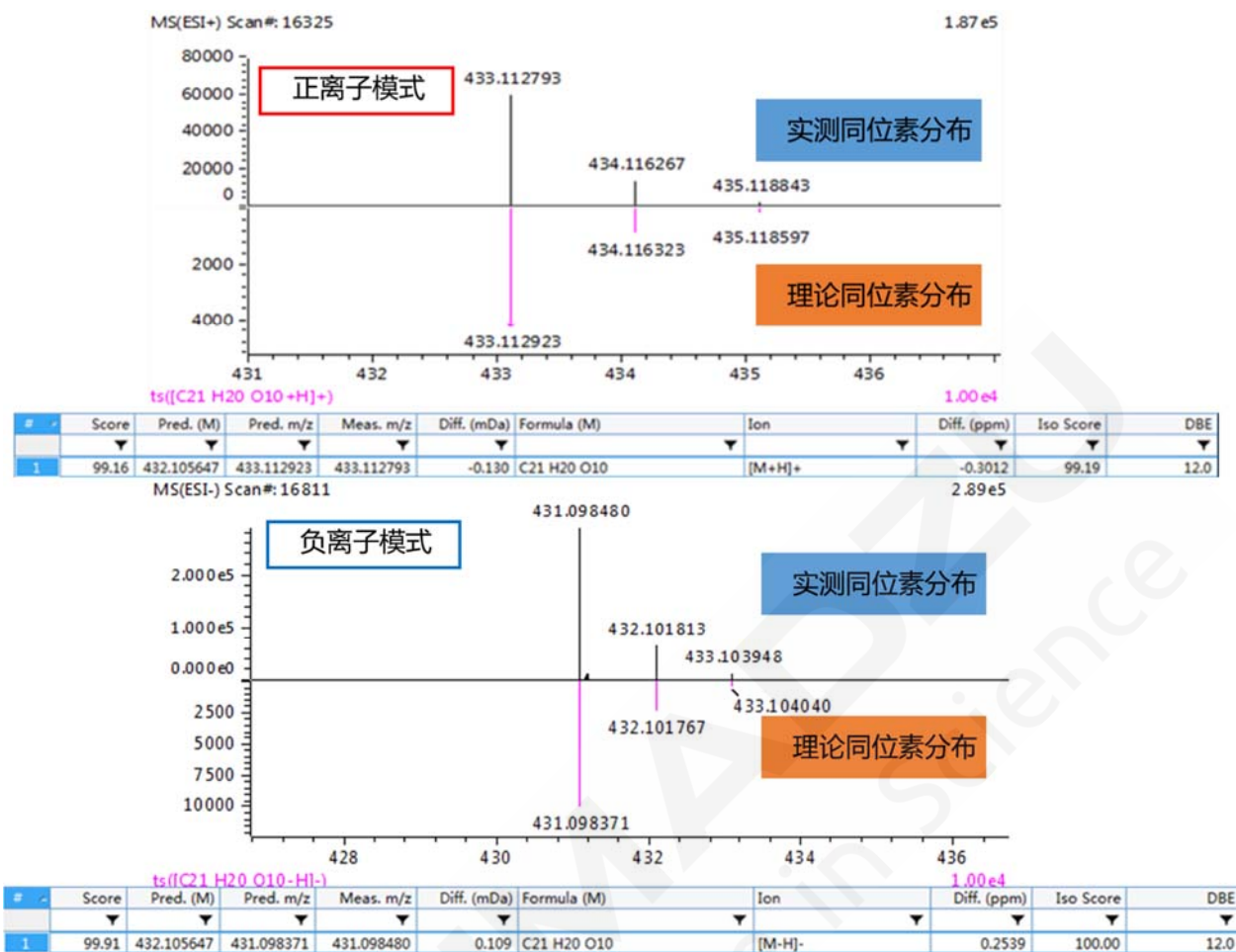


图 11. Insight Explore 分子式预测结果

### 3.3.2.2 负离子模式 MS<sup>2</sup> 质谱图解析

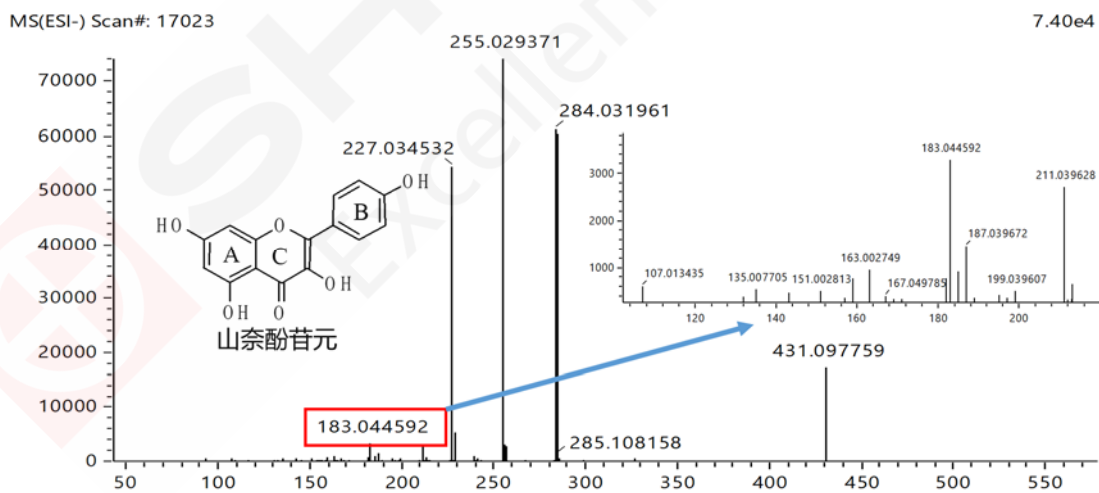


图 12. 负离子模式 MS<sup>2</sup> 质谱图

2 号峰化合物裂解方式与 1 号峰类似，同为黄酮醇，且在 MS<sup>2</sup> 中可见脱去糖基的苷元 m/z 285 碎片，苷元进一步裂解产生 RDA 裂解 A1,3 m/z 151 碎片，说明 A 环含两个羟基，则 B 环含 1 个羟基，推测苷元为山奈酚。产生的苷元自由基 [Y0-H]<sup>-</sup> m/z 284 相对丰度大于[M-H-146]<sup>-</sup> m/z 285，苷化位置在苷元 3 位，为山奈酚-3-O-鼠李糖苷。

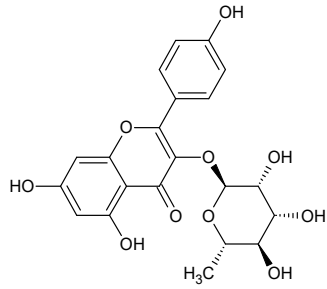


图 13. 山奈酚-3-O-鼠李糖苷

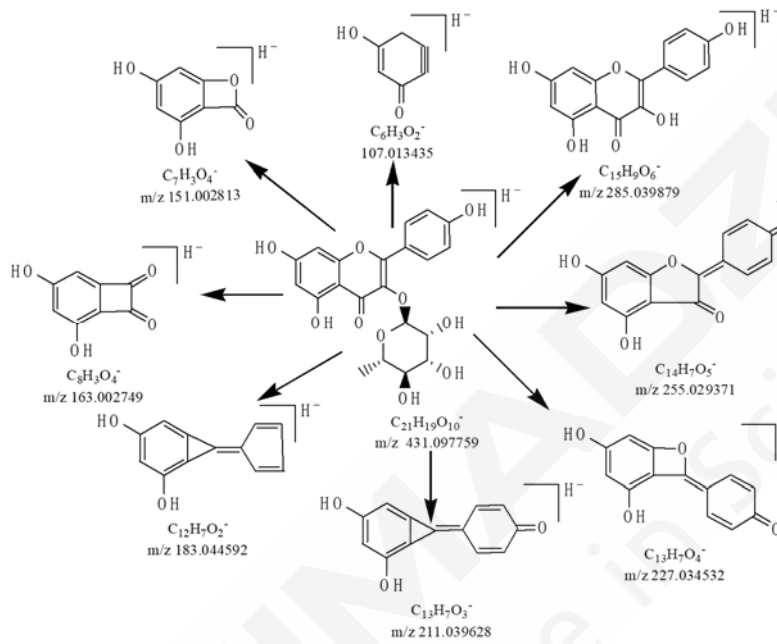


图 14. 山奈酚-3-O-鼠李糖苷质谱裂解规律

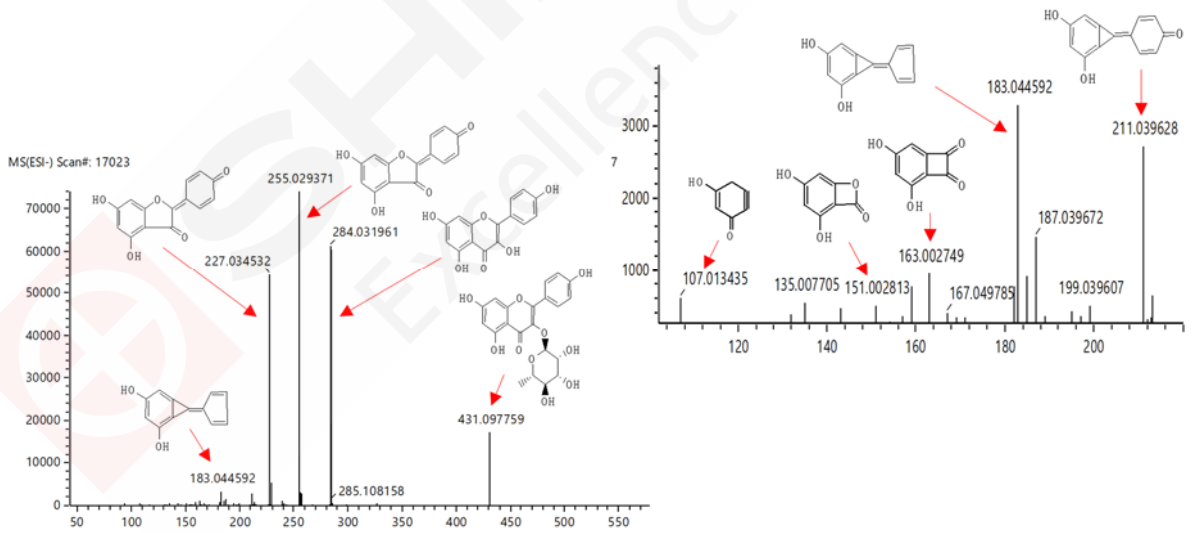


图 15. ESI-MS<sup>2</sup> 质谱峰结构归属

表 3. MS<sup>2</sup> 碎片离子质量数准确性

编号 No.	分子式	理论 m/z	实测 m/z	绝对误差 (mDa)	相对误差(ppm)
1	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub> <sup>-</sup>	431.097830	431.097759	-0.071	-0.16
2	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub> <sup>-</sup>	285.039910	285.039879	-0.031	-0.11
3	C <sub>14</sub> H <sub>7</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	255.029350	255.029371	0.021	0.08
4	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> <sup>-</sup>	227.034430	227.034532	0.102	0.45
5	C <sub>13</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	211.039520	211.039628	0.108	0.51
6	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	183.044600	183.044592	-0.008	-0.04
7	C <sub>8</sub> H <sub>3</sub> O <sub>4</sub> <sup>-</sup>	163.003130	163.002749	-0.381	-2.34
8	C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> O <sub>4</sub> <sup>-</sup>	151.003130	151.002813	-0.317	-2.10
9	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	107.013300	107.013435	0.135	1.26

MS<sup>2</sup> 碎片离子质量数相对误差均小于 3 ppm，显示出良好的质量准确性，说明所推测的碎片离子化学式及结构式准确可信。

#### 4. 结论

本文应用岛津 LCMS-9030 液相串联四极杆飞行时间质谱仪建立了合欢花配方颗粒中特征成分的高分辨质谱鉴定方法，并对其特征成分进行了详细的定性研究。通过准确质量数、同位素分布数据进行分子式预测，利用 Chemspider 数据库检索到相关结构式信息，结合 UV 光谱图、MS<sup>2</sup> 质谱图信息，对两种未知特征成分的结构及质谱裂解规律进行了详细解析，最终鉴定 1 号峰可能为槲皮苷、2 号峰可能为山奈酚-3-O-鼠李糖苷。该方法检测灵敏度高、准确、稳定，其 MS<sup>1</sup> 准确质量数相对误差可达亚 ppm，同时同位素分布真实稳定，大大提高了分子式预测的准确性，显示出优异的检测性能，可以应用于合欢花药材及配方颗粒的鉴别及质量控制。

# SEC-RPLC-QTOFMS 法鉴定注射剂中聚合物杂质

**摘要：**本文建立在线体积排阻-反相液相色谱-飞行时间质谱法(SEC-RPLC-QTOFMS)用于注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠中的聚合物杂质的鉴定。一维采用 Shimpack Diol-150 (7.9 mm I. D. × 250 mm L., 5 μm)色谱柱；进样量为 20 μL 并以 254 nm 为检测波长，建立了头孢哌酮和聚合物杂质的 SEC 分离条件；并将 SEC 分离所得聚合物杂质通过中心切割技术收集到二维 RPLC 中脱盐和进一步分离，采用 Q-TOF 为检测器，采集分离所得杂质一级和二级质谱信息后对其进行结构鉴定。在一维条件下头孢哌酮与聚合物峰分离良好；通过二维 RPLC-QTOFMS 推测出 9 个杂质的结构，其中有 4 个为闭环二聚物。在线 SEC-RPLC-QTOFMS 技术可以将聚合物指针性定位与在线脱盐高分辨质谱鉴定有机结合起来，为表征聚合物杂质的研究开拓了新的思路。

**关键词：**头孢哌酮；聚合物杂质；在线体积排阻-反相液相色谱-飞行时间质谱

β-内酰胺类抗生素包括了头孢菌素、青霉素和碳青霉烯类，是临床最常用的注射剂型抗生素。注射用头孢哌酮钠（Cefoperazone Sodium）舒巴坦钠（Sulbactam Sodium）是一种复合制剂，是由第三代头孢菌素类抗生素头孢哌酮和由辉瑞公司研制开发的首个β-内酰胺酶抑制剂舒巴坦钠组合而成。β-内酰胺类抗生素引发的速发型过敏反应与药物中存在的高分子聚合物杂质有关。其中内源性聚合物是β-内酰胺类抗生素杂质控制的重点。

聚合物杂质检测的难点是：含量低、类型多、且结构不稳定无商用对照品色谱不易定位。《中国药典》2015年版采用Sephadex G10葡聚糖凝胶柱对β-内

酰胺类抗生素中高分子聚合物进行测定，该色谱柱效低，聚合物杂质分离效率低，辅料干扰严重，除分子排阻作用外，还会产生吸附、疏水等作用。

本文首次使用Shimpack Diol-150色谱柱建立了注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠中的高分子聚合物的尺寸排阻色谱法，使用二维液相切割技术并辅之与质谱联用，对头孢哌酮及高分子杂质分别进行了一级、二级质谱解析。对谱图进行分析归纳，推测出注射液头孢哌酮钠舒巴坦钠中9个未知杂质，其中4个为闭环聚合物杂质。该法进样量小，分离效能高，分析时间短，专属性强，灵敏度高，为注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠的质量控制提供了重要的依据。

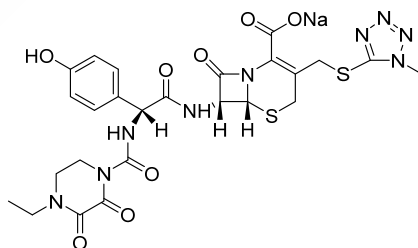


图1. 头孢哌酮钠结构式

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津二维SEC-RPLC-QTOFMS系统，如图2所示。具体配置为LC-20AD×4（输液泵），SIL-20AC（自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A（系统控制器），DGU-20A<sub>5</sub>（在线脱气机），SPD-20A（紫外检测器，一维检测器），SPD-M30A（二极管阵列检测器，二维检测器），FCV-32AH×2（流路选择阀），定量环体积500 μL。LCMS 9030（LCMS-QTOF，四极杆-飞行时间质谱仪）和LabSolution Ver.5.96（色谱工作站）。

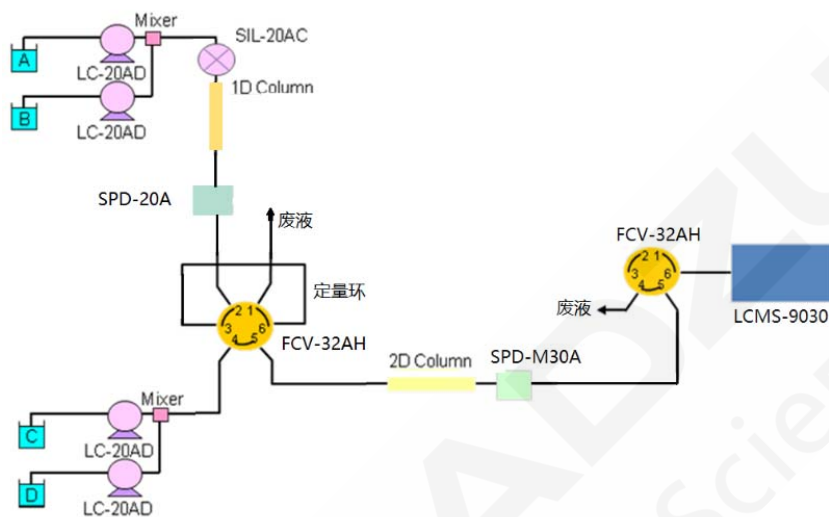


图2. 二维SEC-RPLC-QTOFMS杂质鉴定系统流程图

## 1.2 分析条件

1<sup>st</sup>D 液相色谱条件：Shimpack Diol-150 (7.9 mm I.D.×250 L. mm, 5 μm, P/N: 228-14775-91); 流动相：磷酸缓冲溶液[5 mmol/L 磷酸氢二钠-5 mmol/L 磷酸二氢钠-61:39 (体积比)]-乙腈(95:5)。等度洗脱，0.8 mL/min。采集时间：60 min。检测波长：254 nm；柱温：30℃；进样量：20 μL。

2<sup>nd</sup>D 液相色谱条件：Shimpack VP ODS 色谱柱 (4.6 mm I.D.×250 L.mm, 5 μm, P/N: 228-34937-92)，检测波长：254 nm，柱温：30℃，流速：1.0 mL/min，定量环体积：500 μL，流动相 A: 0.1%甲酸水；流动相 B: 0.1%甲酸乙腈。梯度洗脱：0-10 min (5% B)→10-20 min (5%-20% B)→20-30 min (20%-50% B)→40-50 min (100% B)→51-60 min (5% B)。柱后分流比，废液端：质谱端=8:2。进质谱流速约为 0.2 mL/min。右阀切入质谱端时间为 12 min。

质谱条件：离子源：ESI (+)，接口电压：4.5 kV，扫描范围：一级质谱：m/z 100~3000；自动二级：m/z 100~3000；雾化气：氮气 3.0 L/min，干燥气：氮气 10 L/min，加热气：空气 10 L/min，碰撞气：氩气，脱溶剂管温度：100℃，加热模块温度：100℃，接口温度：100℃，检测器电压：2.5 kV，校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数。检测器工作时间 12-50 min。

## 1.3 溶液的配制

精密称取注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠原料药样品 0.2 g 置 5 mL 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，作为供试品溶液(临用新制)。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 一维色谱图

按照 1.3 制备供试品溶液，按“1.2”项下的<LC 1<sup>st</sup>D>色谱条件进行分析，<LC 1<sup>st</sup>D>色谱图如图 3 所示，峰 1 (R.T. = 8.66 min) 为高分子聚合物杂质；峰 2 (R.T. = 10.60 min) 为头孢哌酮主峰。本实验研究对象为聚合物杂质，在 SEC 色谱柱上，其出峰时间在主峰之前。在峰 1 前有一小峰，经鉴定不是目标物，本文不做讨论。

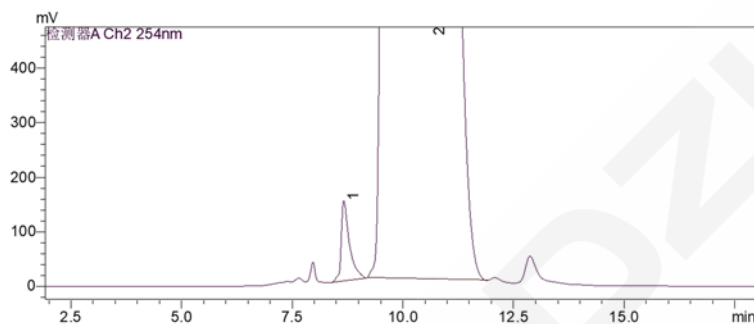


图 3. 头孢哌酮<LC 1<sup>st</sup>D>色谱图 (1: 聚合物 (polymer); 2: 头孢哌酮 (Cefoperazone))

### 2.2 头孢哌酮主峰结构鉴定

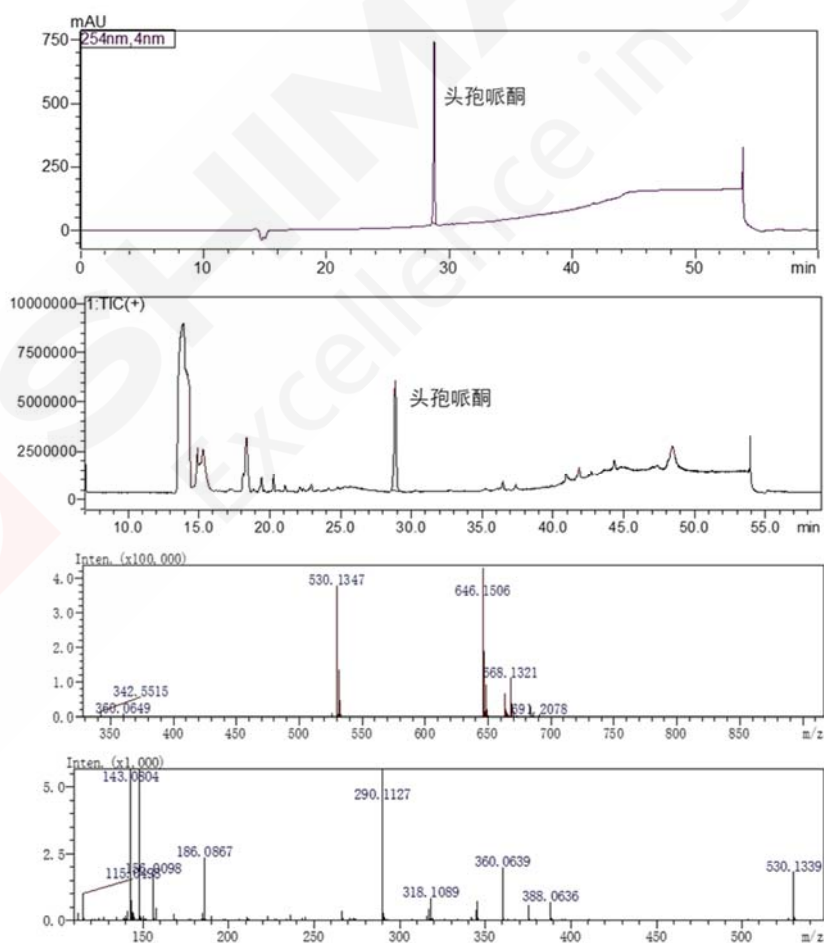


图 4. 头孢哌酮主峰<LC 2<sup>nd</sup>D>液相色谱图、TIC 图及 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图

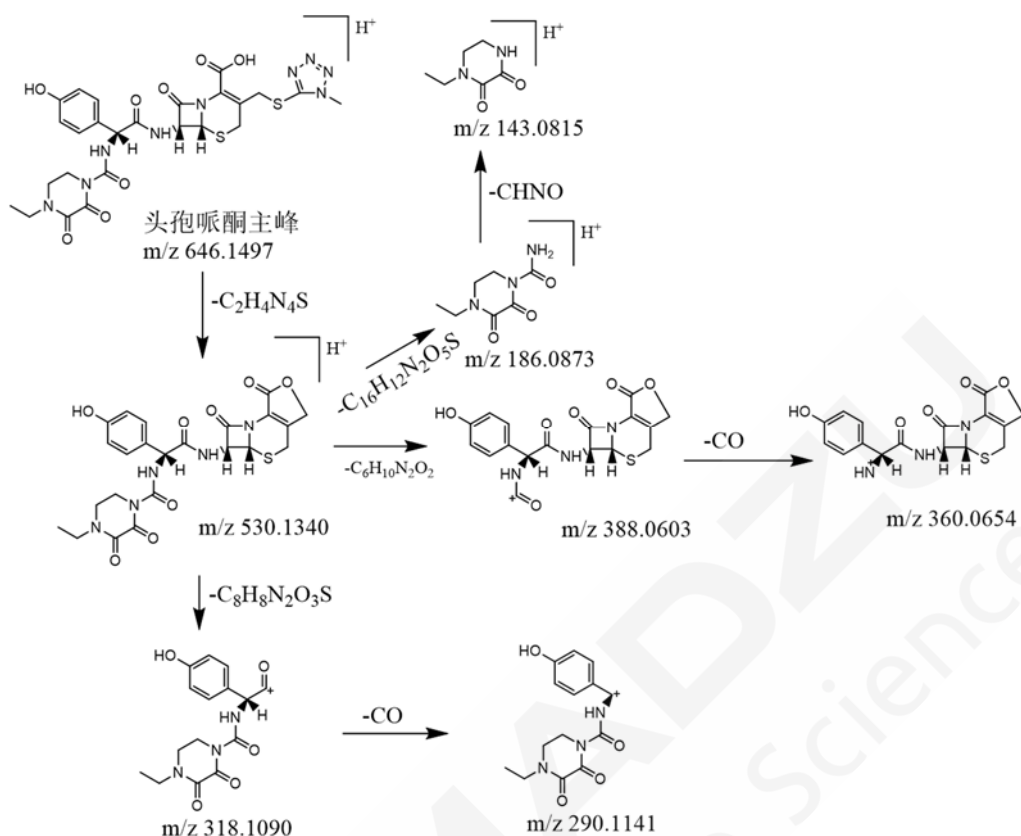


图 5. 头孢哌酮主峰可能的裂解规律

使用 SEC-RPLC-QTOFMS 系统鉴定主峰的原因是为了得到主峰在二维柱上的出峰时间，便于结合二维保留时间鉴定聚合物杂质。在 SEC-RPLC-QTOFMS 系统中，将头孢哌酮主峰切换到定量环转至二维脱盐分析，左阀切阀时间为 10.5-11.1 min。馏分经过  $<2^{\text{nd}}\text{D LC}>$  分析，得到头孢哌酮主峰的二维液相色谱图，TIC 总离子流色谱图和多级质谱图如图 4 所示。头孢哌酮主峰在二维的出峰时间为 28.76 min，TIC 图上亦可见明显响应。对头孢哌酮主峰进行二级质谱分析结果如下：头孢哌酮分子式  $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_9\text{NaO}_8\text{S}_2$ ，精确质量数为 645.1424，一级质谱图中  $m/z$  646.1506 为  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ， $m/z$  668.1321 为  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ， $m/z$  530.1347 为头孢哌酮在离子源分解产生的碎片，以上离子与软件计算理论质核比误差均在 2 ppm 内。头孢哌酮二级质谱碎片主要有  $m/z$  530.1339、388.0636、360.0639、318.1089、290.1127、186.0867 和 143.0804。推测其可能的裂解规律见图 5。

### 2.3 聚合物杂质结构鉴定

在 SEC-RPLC-QTOFMS 系统中，将头孢哌酮聚合物峰切换到定量环转至二维脱盐分析，左阀切阀时间为 8.5-9.1 min。馏分经过  $<2^{\text{nd}}\text{D LC}>$  分析，得到聚合物峰的二维液相色谱图如图 6 所示。与空白溶剂相比，聚合物峰在二维紫外色谱图中分离出多种组分，说明聚合物峰是混合物。质谱检测器上有 9 个物质峰检出。前 4 个杂质二维出峰时间在主峰之前，后 5 个杂质的二维出峰时间在主峰之后。

聚合物峰-1 的  $\text{MS}^1$  为  $m/z$  234.0434， $\text{MS}^2$  主要碎片为  $m/z$  217.1043、146.0537、124.0744 等，经鉴定其为原料药中的舒巴坦。聚合物峰-2 的  $\text{MS}^1$  为  $m/z$  377.1457， $\text{MS}^2$  主要碎片为  $m/z$

164.0705、143.0805、115.0486等，推测其结构可能是头孢哌酮 $\beta$ -内酰胺键断裂生成的副产物。聚合物峰-3的MS<sup>1</sup>为m/z 548.1453，MS<sup>2</sup>主要碎片为m/z 406.0703、319.0749、143.0802等。其结构可能是头孢哌酮内酯的水解产物。聚合物峰-4物质的MS<sup>1</sup>为m/z 761.2280，MS<sup>2</sup>主要碎片为m/z 575.1555、532.1819、390.1110、186.0867和143.0802等。m/z 186.0867和143.0802二氮六元杂环的特征碎片，m/z 532.1819和390.1110为头孢哌酮内酯及特征碎片的加氢还原峰。推断聚合物峰-4为头孢哌酮的有关物质，碎片信息有限未推导出其可能的结构。聚合物峰-5的MS<sup>1</sup>为m/z 664.1614，MS<sup>2</sup>主要碎片为m/z 548.1452、406.0703、143.0804等，其结构可能是头孢哌酮 $\beta$ -内酰胺键水解产物。以上五个杂质均非聚合物杂质。

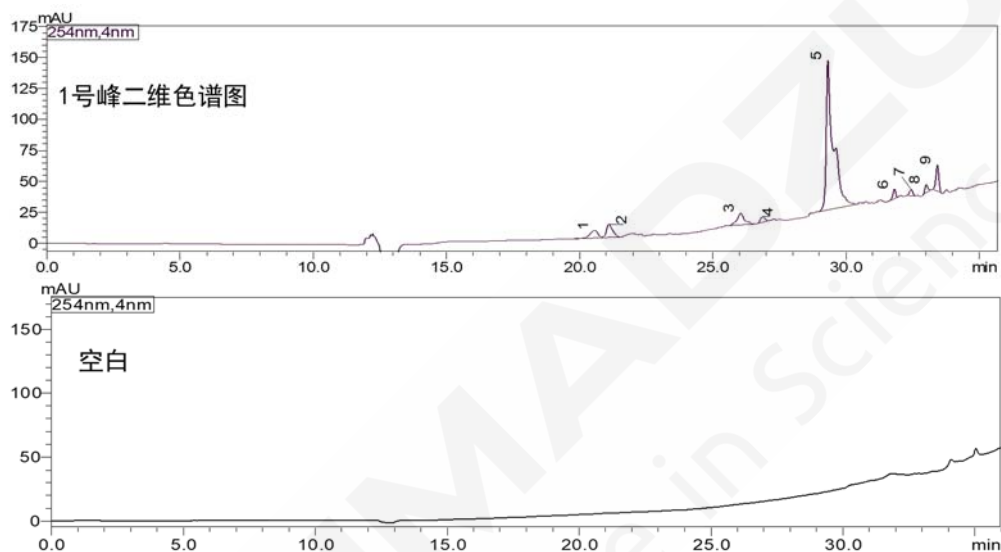
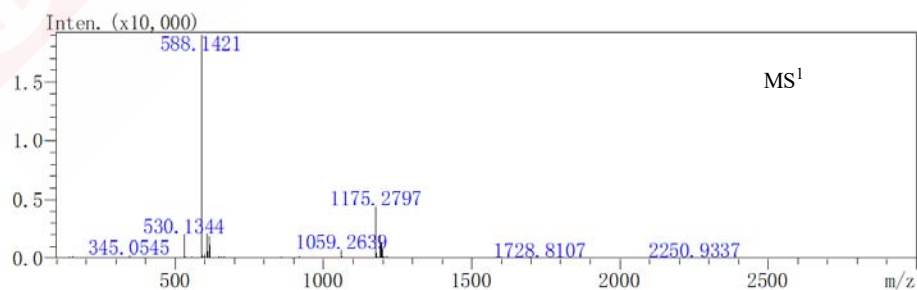


图6. 头孢哌酮聚合物峰<LC 2<sup>nd</sup>D>液相色谱图及空白溶剂二维色谱图

聚合物峰-6与聚合物峰-7的质谱图见图7。两者的MS<sup>1</sup>均为m/z 1175.2797，MS<sup>2</sup>主要碎片为m/z 1059.2567、345.0546、530.1317等。推测其结构是头孢哌酮和头孢哌酮内酯闭环二聚而成，分子式为C<sub>48</sub>H<sub>50</sub>N<sub>14</sub>O<sub>16</sub>S<sub>3</sub>，与理论质核比相对误差为1.02 ppm。闭环二聚的反应过程，可能是头孢哌酮7位侧链活性氨基进攻内酯的 $\beta$ -内酰胺键(8a)，也可能是内酯的7位侧链活性氨基进攻头孢哌酮的 $\beta$ -内酰胺键(8b)，对应的结构式见图8。8a与8b的二级碎片完全一致，由于没有对照品，不能进一步鉴定。以8a为例推导其可能的裂解规律见图9。聚合峰-6与聚合物峰-7二维出峰时间在主峰之后，满足聚合物杂质保留更强的出峰规律。



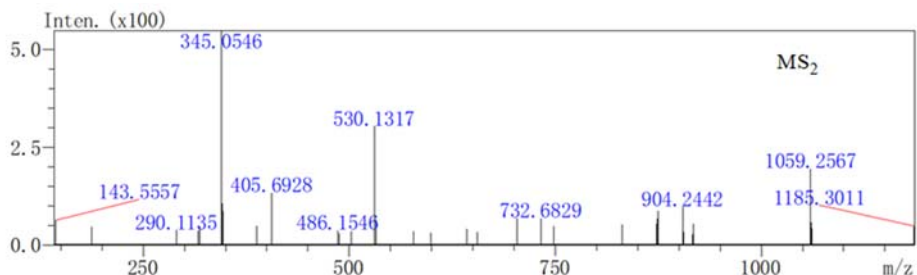


图7. 聚合物峰-6、7 MS<sup>1</sup>和MS<sup>2</sup>质谱图(母离子m/z 1175.2797)

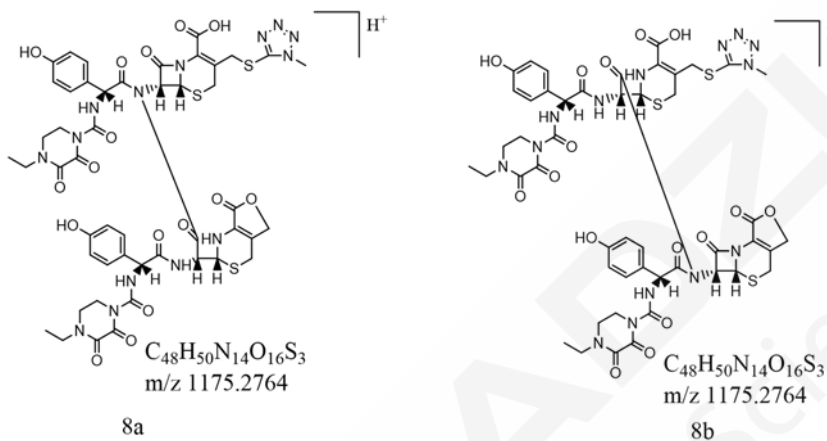


图8. 聚合物峰-6、7可能的结构式

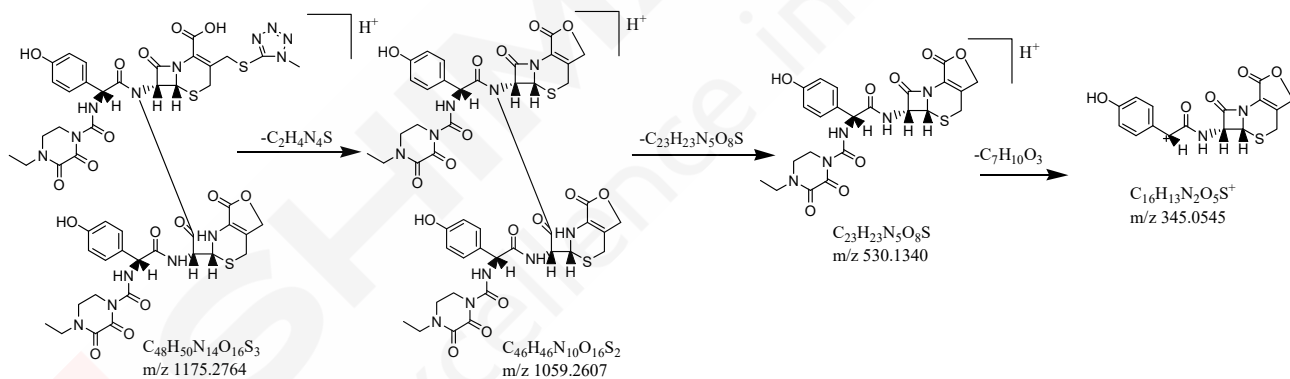


图9. 聚合物峰-6、7可能的裂解规律

聚合物峰-8与聚合物峰-9的质谱图见图10，两者的MS<sup>1</sup>均为m/z 1291.2926。推测其结构是头孢哌酮闭环二聚产物，分子式为C<sub>50</sub>H<sub>54</sub>N<sub>18</sub>O<sub>16</sub>S<sub>4</sub>，[M+H]<sup>+</sup>与理论质核比误差为0.38 ppm。聚合物峰-8强度弱无二级碎片，聚合物峰-9的二级主要碎片为m/z 1175.2793、1059.2636、1015.2711、829.2091等，上述二级质谱碎片佐证了聚合物内部共价键结构的存在，为推测聚合物杂质的结构和聚合方式提供了依据。由于头孢哌酮7位侧链有两个活性氨基位点，发生L型聚合反应有两种产物，可能的结构式见图11。由于没有对照品，不能进一步鉴定。结合聚合物峰-9的二级碎片，以11a为例推导其可能的裂解规律见图12。聚合物峰-8与聚合物峰-9的二维出峰时间在主峰之后，满足聚合物杂质保留更强的出峰规律。

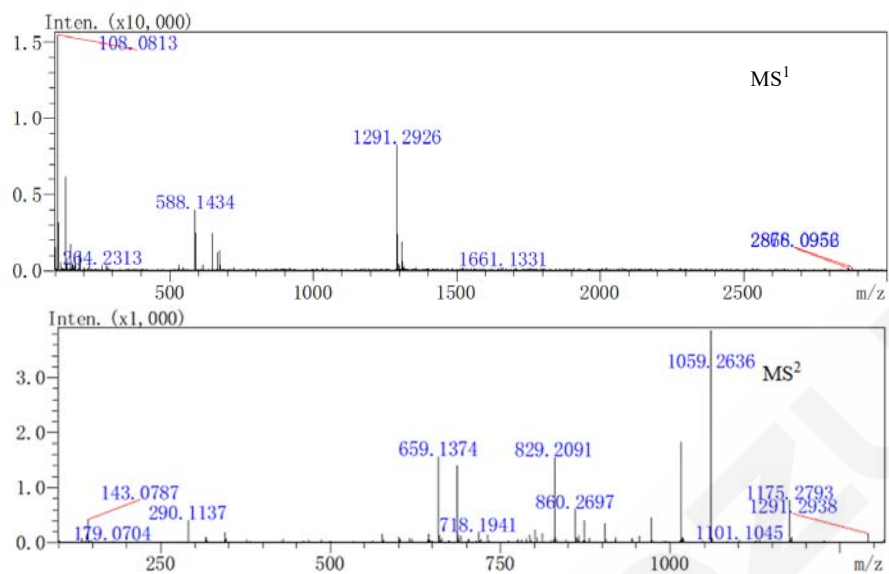


图10. 聚合物峰-8、9 MS<sup>1</sup>和MS<sup>2</sup>质谱图(母离子m/z 1291.2961)

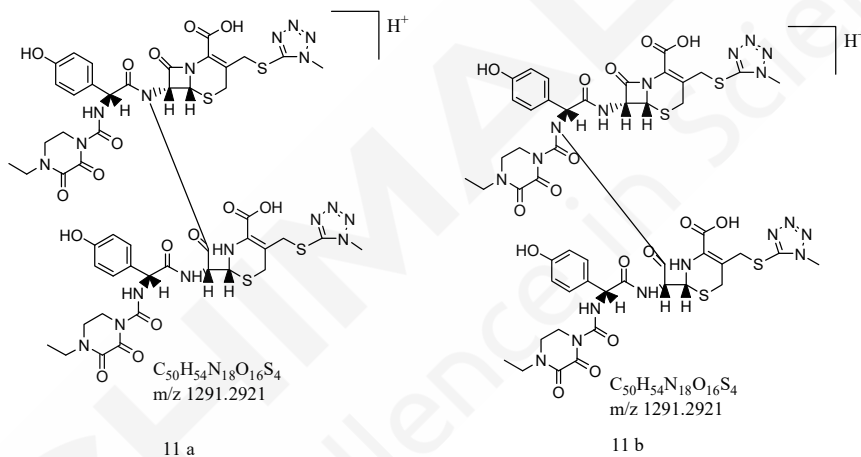


图 11. 聚合物峰-8、9 可能的结构式

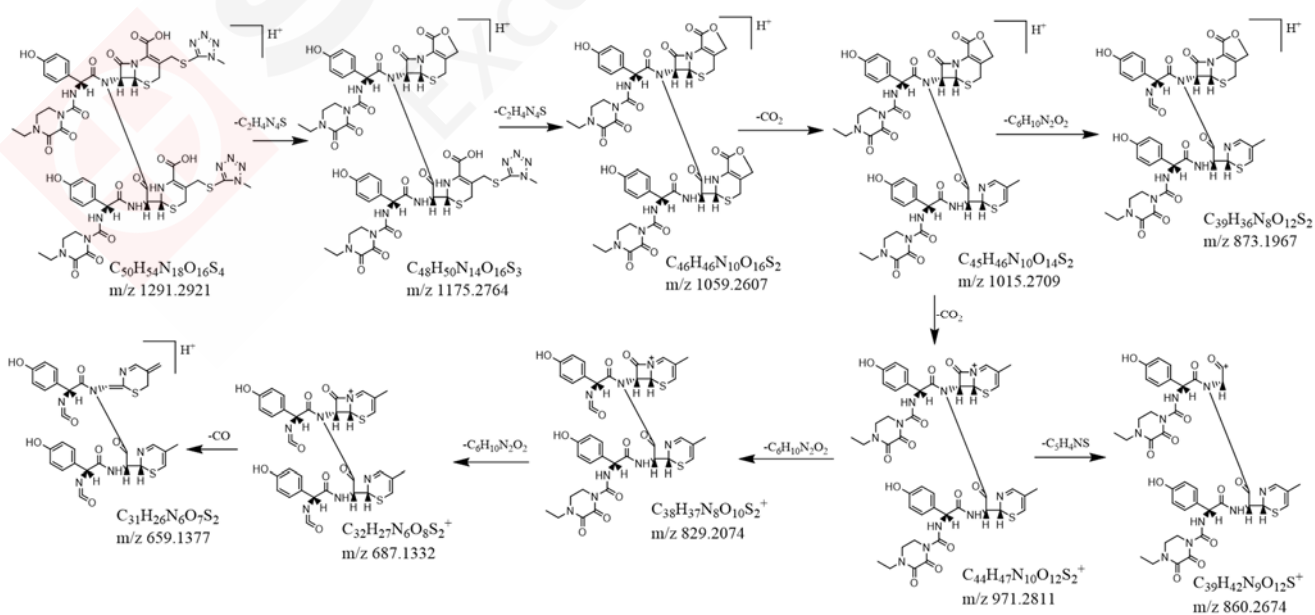


图 12. 聚合物峰-8、9 可能的裂解规律

## 3. 讨论

### 3.1 在线脱盐液质联用技术

本实验采用二维SEC-RPLC-QTOFMS法对注射用头孢哌酮聚合物进行鉴定，该方法基于馏分收集环(Fraction loop)将目标馏分从一维转移至二维液相质谱联用系统，对目标峰指针性的快速分析的同时完成流动相转换即脱盐的过程，即在不改变原流动相条件的基础上，实现了液质联用鉴定目标聚合物杂质。鉴定出4种聚合物，并对其结构及裂解规律进行推测。二级质谱碎片佐证了聚合物内部共价键结构的存在，并非范德华力结合的二聚体。4种聚合物杂质二维出峰时间均在主峰二维的出峰时间之后，符合聚合物杂质保留更强的特性。

### 3.2 色谱柱的选择

现行标准采用的葡聚糖G10的色谱柱，色谱条件下由于高分子助悬剂的影响，聚合物峰检出数量少，聚合物峰型差，无法与主峰完全分离。本文选择的Shimpack Diol-150色谱柱采用二醇基键合的多孔高纯硅胶，独有的化学修饰技术确保分离度的同时峰型更加尖锐。实验结果表明聚合物峰与主峰之间分离度有了很大改善。尽管供试品采用过量进样，一维色谱图中主峰为平头峰，聚合物峰切至二维经高分辨质谱确证聚合物峰中未检测到头孢哌酮主峰。表明本法一维聚合物峰与主峰分离度良好。

### 3.3 与《中国药典》方法对比

本法结合QTOFMS对头孢哌酮聚合物杂质进行精准检测，克服了药典方法定性能力不足的技术缺陷。按《中国药典》2015版收录的注射用头孢哌酮聚合物检查方法进行对比实验，本法的进样量更少，选择性更高，灵敏度更高，分离度更好。聚合物峰在二维为混合物，经高分辨质谱确证其紫外谱图中响应最大的峰是头孢哌酮水解产物，并非聚合物杂质。聚合物杂质在样品中的含量微乎其微，本法采用500  $\mu\text{L}$ 定量环将一维中聚合峰全切入二维才得以检测。同时由于一维流动相中无有机相，并未引起二维溶剂效应。全切的另一个优点是：如有需要，二维可以对聚合物杂质进行定量检测。

### 3.4 方法的优化

$\beta$ -内酰胺类抗生素的聚合物结构不稳定易水解，需临用新配。质谱检测时需将离子源温度设置为较低值，避免聚合物在离子源上分解。 $\beta$ -内酰胺类抗生素的闭环二聚体的响应为 $[2M+H]^+$ 。当样品浓度高时由于范德华力聚合在离子源上也能出现 $[2M+H]^+$ 的响应，需要结合保留时间和二级质谱图进行区分。

## 4. 结论

本文建立了在线SEC-RPLC-QTOFMS系统，将聚合物指针性定位与在线脱盐高分辨质谱鉴定有机结合起来。经高分辨质谱LCMS-9030鉴定二维色谱图中强度最高峰并非聚合物杂质，高分辨质谱的使用克服了药典方法定性不足的问题。LCMS-9030灵敏度高，适用于低含量杂质的结构鉴定，为 $\beta$ -内酰胺类抗生素中聚合物的分离、分析及产品质量提高提供了依据。

# LCMS-9050 快速筛查保健品中非法添加物

**摘要:** 本文利用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 结合《保健品非法添加 QTOF 质谱库》建立了一种对保健品中非法添加物质的快速筛查方法。对 7 个样本中的非法添加物质进行定性分析, 其结果显示: 在 7 个样本中共筛查出 13 种添加化合物, 二级碎片与数据库匹配度高。使用该方法, 可通过一针进样, 快速完成目标物的定性筛查, 结果准确可靠。

**关键词:** 四极杆飞行时间串联质谱仪 保健品 非法添加

随着社会的发展, 越来越多的人关注保健, 在生活中也常服用保健品。为了追求利益, 部分不法生产者会在一些保健食品中非法添加各种药物以达到宣传的效果, 吸引消费者长期购买。然而长期食用这种食品, 可能会给消费者造成严重的身体健康问题。

对于保健品中非法添加物的检测一直是相关部门重点关注的领域。但是, 由于保健品的种类繁多, 需要针对每一类的保健品收集所需的标准品后才能建立对应的检测方法, 工作

量大且效率低。因此, 非常需要一种灵敏、高效的检测方法能够快速对多种类的样品以及非法添加物进行检测。

本文使用岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 建立了一种对保健品中非法添加物快速定性的分析方法。对 7 个样品进行了分析, 可快速筛查出样品中的非法添加成分, 该方法准确可靠, 可为保健品的检测提供帮助。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置为:

输 液 泵	: LC-40B X3×2	系 统 控 制 器	: CBM-40
自 动 进 样 器	: SIL-40C	飞 行 时 间 质 谱 仪	: LCMS-9050
柱 温 箱	: CTO-40S	在 线 脱 气 机	: DGU-405
色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.118; LabSolutions Insight Ver. 4.0SP2		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱	: GIST-HP_C18-AQ (150 mm×2.1 mm., 1.9 μm (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30807-03)		
流 动 相	: A 相-5 mM 乙酸铵 (0.1%甲酸); B 相-乙腈		
流 速	: 0.3 mL/min		
进 样 体 积	: 1 μL	柱 温	: 40°C
洗 脱 方 式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 30%, 洗脱程序见表 1。		

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	15
9.50	泵	B.Conc	75
20.00	泵	B.Conc	95
30.00	泵	B.Conc	95
30.10	泵	B.Conc	15
30.00	控制器	Stop	

#### 质谱条件

离子源	: ESI(+/-)	加热模块温度	: 400°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	DL 温度	: 250°C
加热气流速	: 10.0 L/min	接口温度	: 300°C
干燥气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: MS Scan(m/z 100 -1000) DDA MS/MS (m/z 100 -1000)

## 1.4 样品前处理

### 1.4.1 提取溶液配制

分别配置以下 3 种提取溶液各 500 mL。

提取溶液 1: 乙腈: 甲醇: 10 mM 乙酸铵=10: 55: 35

提取溶液 2: 乙腈: 甲醇: 10 mM 乙酸铵 (含 0.1%甲酸) =10: 55: 35

提取溶液 3: 乙腈: 甲醇: 0.2%三乙胺水溶液=40: 30: 30

### 1.4.2 样品溶液配制

取样品研细, 称取 0.3 g, 置于 50 mL 容量瓶中, 分别加入上述提取液适量, 超声 10 min 使其溶解, 放置冷却至室温, 加提取液稀释至刻度, 摇匀。放置过夜, 取上清液适量, 高速离心 (10000 r/min), 精密吸取上清液 1 mL, 至于进样小瓶中; 每种样品分别用上述三种提取液提取。

## 2. 结果与讨论

分别使用 DDA(+/-)模式对每个样品经过三种不同提取后的溶液进行采集, 结合《保健品非法添加二级质谱库》, 使用 Insight Explore 软件的批量搜库功能, 对每个样品中的非法添加进行快速筛查。数据处理步骤如下:



## 2.1 导入化合物信息

将 DDA 数据导入 Insight Explore 软件，在“Edit Method”项下的“Compounds”列表中添加需要筛查的非法添加物的名称以及 m/z 信息。

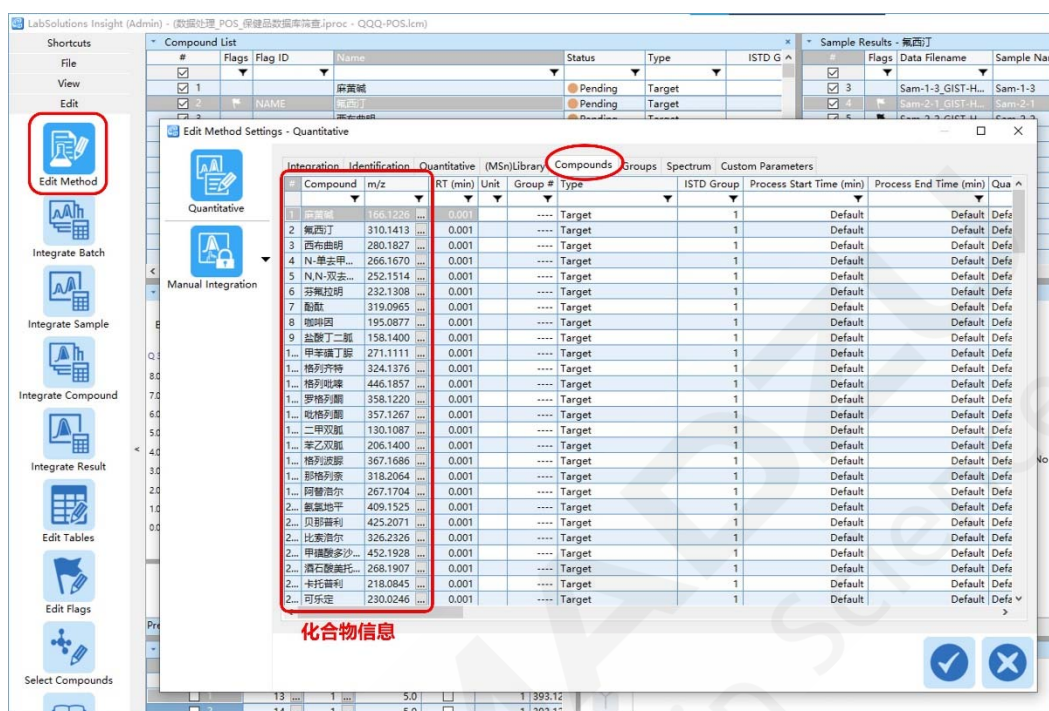


图 1. Insight Explore 软件截图

## 2.2 导入保健品二级质谱库

在“Edit Method”项下的“(MSn)Library”中添加《保健品非法添加二级质谱库》。如图 2 所示，添加了保健品中非法添加物的二级数据库，同时设置了搜索相同的前体离子等条件。

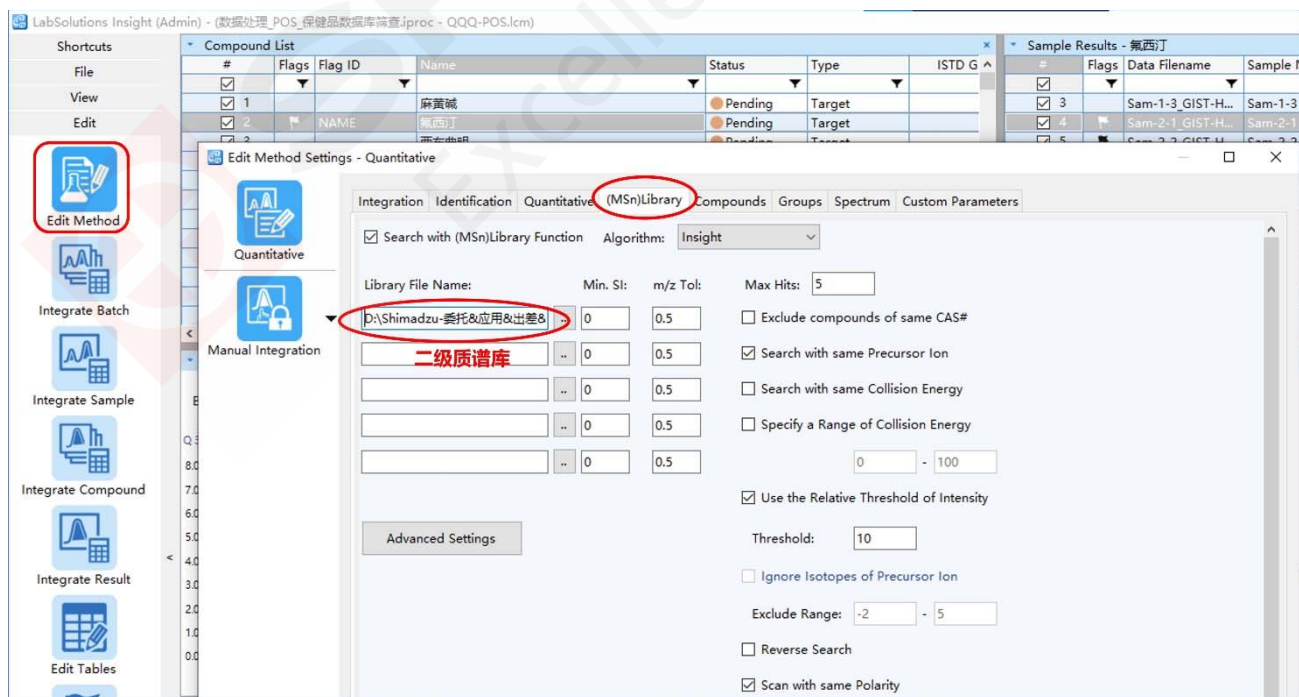


图 2. Insight Explore 软件截图

## 2.3 编辑“Flags”

在“Edit Flags”项下编辑结果判定的依据。如图3所示，本文中添加了两个判定依据，分别是“Lib Compound Name”和“Min. Library Similarity Index”，对于不满足其中任一条件的结果，会有“小旗”图标显示。

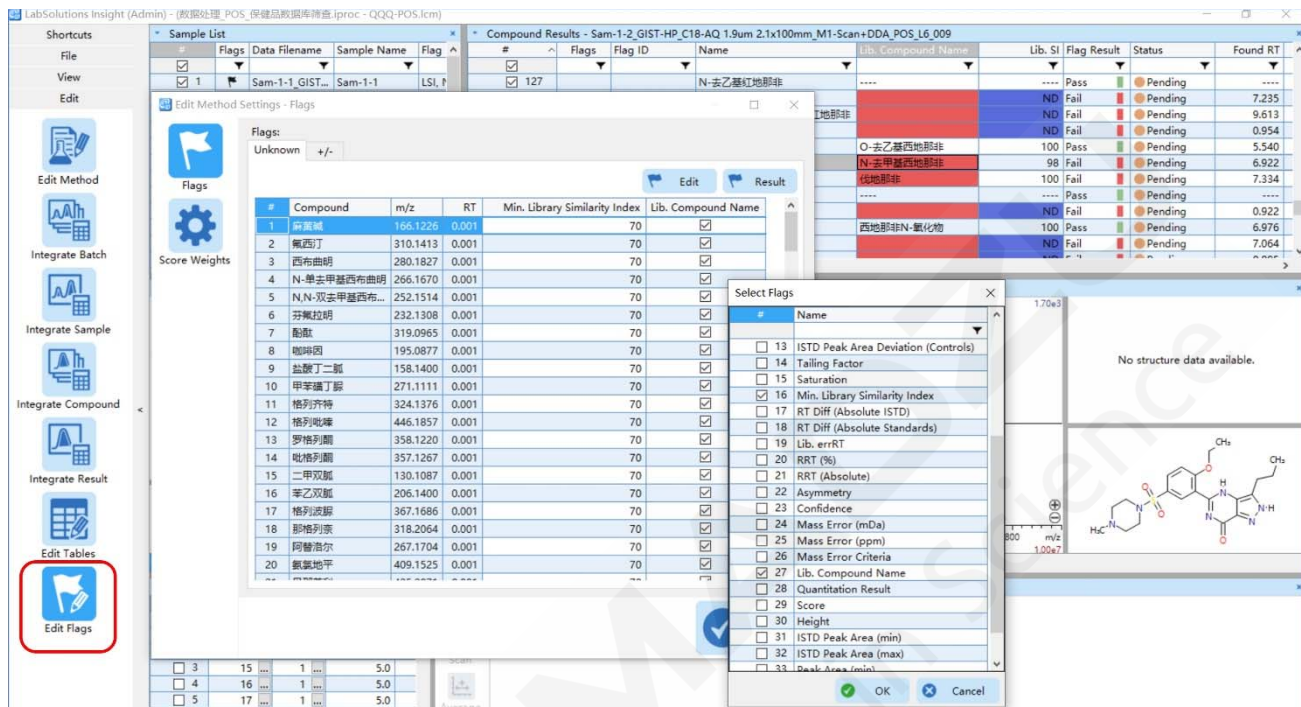


图 3. Insight Explore 软件截图

## 2.4 批量搜库及结果说明

对导入的数据使用“Search Library”。如图4所示，批量对导入的三个数据进行搜索。

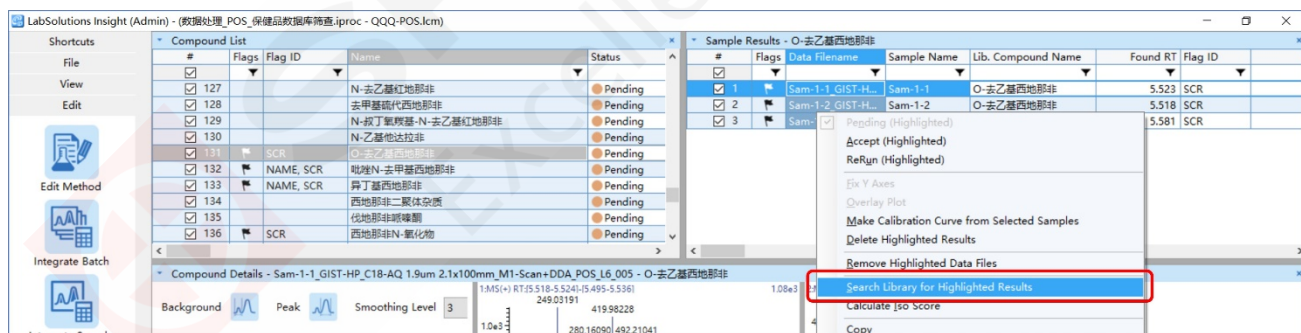


图 4. Insight Explore 软件截图

搜索结果如下图5所示，化合物列表中的名称“吡唑N-去甲基西地那非”二级碎片与数据库中质谱图匹配良好，匹配度大于70，故“Lib. SI”没有蓝色填充，但是名称与通过二级碎片比对得到的化合物名称不对，故在名称那一栏显示了红色，“Flag ID”显示了Name；“西地那非N-氧化物”二级碎片与数据库中质谱图匹配良好，匹配度大于70，且与数据库中名称一致，故没有Flag显示。

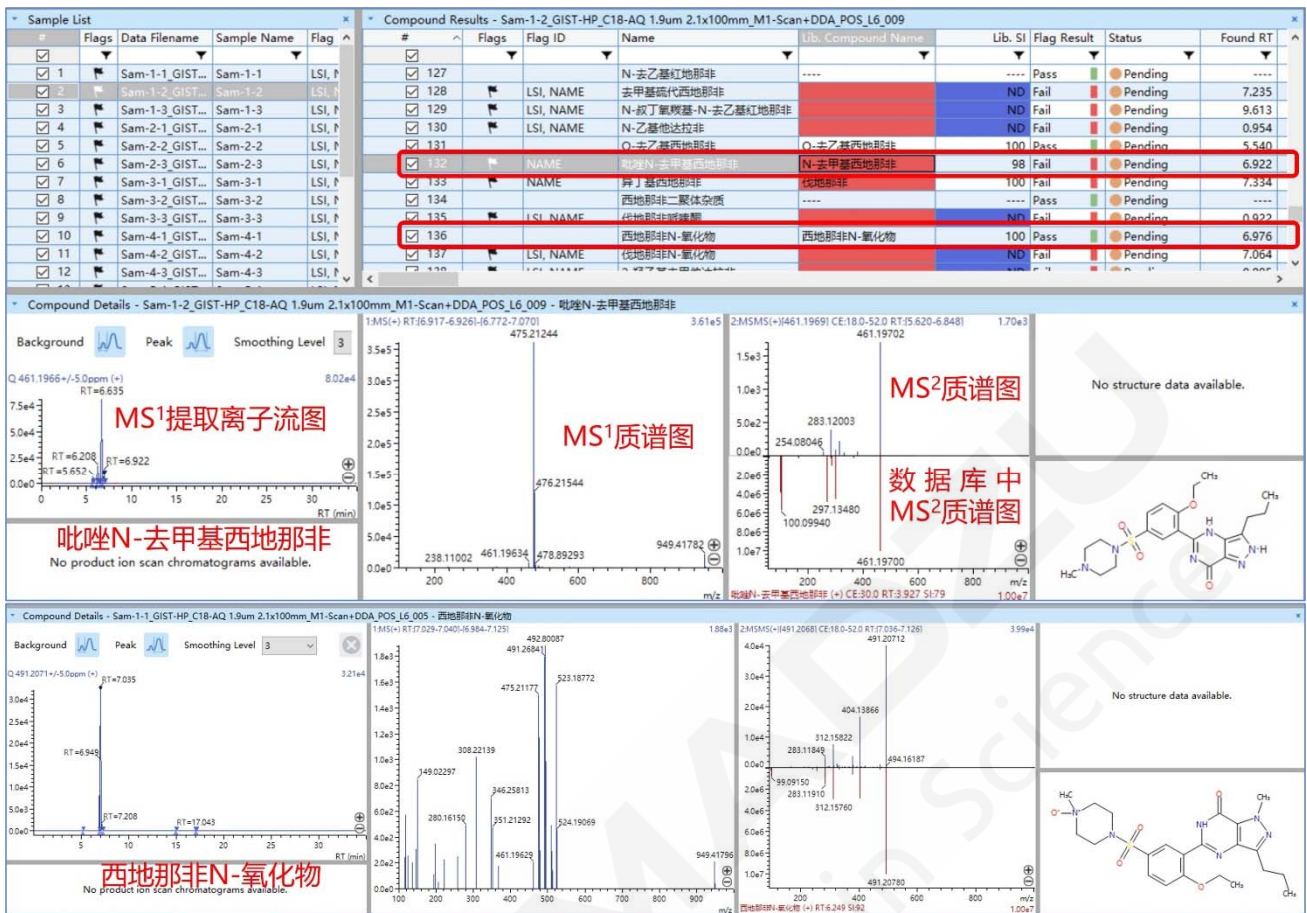


图 5. Insight Explore 软件截图

## 2.5 样品结果

利用上述方式进行批量搜库，7个样本的结果汇总如下表所示。



表 2.13 种化合物在 7 个样品中的检出结果 (面积值)

序号	化合物名称	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7
1	西地那非	2769373	2714488	2717451	3384771	8664063	8483894	19569747
2	他达拉非	1921641	1767011	2562125	1450922	N.D.	N.D.	1392645
3	脱硫伐地那非	13431	12999	31523	ND	789323	765683	15615
4	N-去乙基伐地那非	189833	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
5	N-去甲基西地那非	515718	438505	364713	355004	N.D.	N.D.	417011
6	吡唑 N-去甲基西地那非	63472	58470	54230	98954	1417040	1342914	76381
7	异丁基西地那非	84509	77690	152554	116668	2711682	2596266	96092

8	西地那非 N-氧化物	3089885	2948318	2977523	2316950	54638	77938	2534576
9	双去碳西地那非	25523	23882	25478	95905	219525	227367	26553
10	对乙酰氨基酚	N.D.	N.D.	N.D.	73844	N.D.	N.D.	N.D.
11	羟基豪莫西地那非	N.D.	N.D.	N.D.	19930	N.D.	N.D.	N.D.
12	去甲基哌嗪基西地那非磷酸	N.D.	N.D.	N.D.	14699	50303	49254	N.D.
13	氨基西地那非	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	15201	15492	N.D.

注：“N.D.”表示未检出。

### 3. 结论

本文利用岛津公司 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，结合《保健品非法添加二级质谱库》快速对 7 个保健品样品中非法添加物进行筛查。结果显示：7 个保健品样本中定性出 13 种非法添加物，所有定性出的化合物的二级碎片与质谱库匹配良好。通过 7 个保健品样本的测试验证，该方案可以实现一针进样，快速完成目标物的定性筛查，判定保健品中可能的非法添加物，具有一定的实际应用价值，供相关人员参考。

# LCMS-9030 快速筛查化妆品中 214 种风险物质

**摘要:** 本文利用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪,建立了化妆品中 214 种风险物质的鉴别和确认方法。使用 LabSolutions insight 建立了 200 余种风险物质的高分辨二级质谱库,根据保留时间及精确质量数进行鉴别,并使用二级质谱库及典型二级碎片离子丰度比进行确认。10 ng/mL 浓度的两种基质加标样品(柔肤水、护肤霜),以溶剂标液进行定量计算,超过 70%的化合物回收率在 50-120%之间。该方法可用于化妆品中风险物质的快速筛查。

**关键词:** LCMS-Q-TOF 化妆品 风险物质

作为一种直接作用于人体的化学工业产品,化妆品给我们带来美丽的同时,健康安全必须得到保障,然而,我国化妆品行业一些不健康的现象,例如:不法厂家给化妆品中添加可能危害健康的禁用物质等行为给爱美人士的健康带来隐患。

备受关注的《化妆品监督管理条例》正式出台,于 2021 年 1 月 1 日起施行。《条例》共 6 章 80 条,

从四个方面对化妆品生产经营活动及其监督管理予以规范。

本文参考相关标准,建立了基于岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的化妆品中风险物质的筛查方法,MS1 一级高质量准确度数据快速筛查,MS2 二级特征碎片离子匹配精准定性。为化妆品中风险物质物筛查方法建立提供参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪,具体配置为

输液泵	:LC-30AD×2	系统控制器	:CBM-20Alite
自动进样器	:SIL-30AC	飞行时间质谱仪	:LCMS-9030
柱温箱	:CTO-20AC	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.98
在线脱气机	:DGU-20A5R		LabSolutions Insight Ver. 3.7

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST-HP C18 100 mm I.D.× 2.1 mm I.D., 1.9 μm, P/N: 227-30807-02		
流动相	: A相-0.1%甲酸水+2 mM 甲酸铵; B相-乙腈		
洗针模式	: 进样前后洗针, External only (进样针外壁清洗), Rinse Port		
流速	: 0.25 mL/min	柱温	: 40°C
进样体积	: 5 μL	洗针液	: 甲醇/水=1:1 (v:v)
洗脱方式	: 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1。		

#### 质谱条件

离子源	: ESI +/-	加热模块温度	: 400°C
-----	-----------	--------	---------



表 2. 214 种风险物质化合物信息

类型	序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	离子类型	一级离子	保留时间 (min)
抗菌药	1	磺胺醋酰	Sulfacetamide	144-80-9	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	215.04849	5.8
	2	磺胺多辛	Sulfadoxine	2447-57-6	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	311.08085	8.7
	3	磺胺二甲基异噻唑	Sulfisomidine	515-64-0	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	279.09102	5.3
	4	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	68-35-9	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	251.05972	6.3
	5	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	57-68-1	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	279.09102	7.5
	6	琥珀酰磺胺噻唑	Succinylsulfathiazole	116-43-8	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	356.03694	6.9
	7	磺胺二甲异恶唑	Sulfisoxazole	127-69-5	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	268.07504	9.0
	8	磺胺二甲氧嗪	Sulfadimethoxine	122-11-2	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	311.08085	9.9
	9	磺胺喹恶琳	Sulfaquinolone	59-40-5	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	301.07537	9.9
	10	磺胺硝苯	Sulfanitran	122-16-7	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	[M-H] <sup>-</sup>	334.05032	11.5
	11	盐酸二氟沙星	Difloxacin hydrochloride	91296-86-5	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	400.14673	7.7
	12	吲哚美辛	Indometacin	53-86-1	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>4</sub>	[M-HCl+H] <sup>+</sup>	358.08406	15.6
	13	保泰松	Phenylbutazone	50-33-9	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	309.15975	16.2
	14	盐酸洛美沙星	Lomefloxacin hydrochloride	98079-52-8	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M-HCl+H] <sup>+</sup>	352.14673	6.7
	15	氟甲喹	Flumequine	42835-25-6	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> FNO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	262.08740	11.3
	16	硝酸咪康唑	Miconazole nitrate	22832-87-7	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M-HNO <sub>3</sub> +H] <sup>+</sup>	414.99330	15.0
	17	盐酸萘替芬	Naftifine hydrochloride	65473-14-5	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClN	[M-HCl+H] <sup>+</sup>	288.17468	11.8
	18	替硝唑	Tinidazole	19387-91-8	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	248.06995	7.0
	19	硝酸益康唑	Econazole nitrate	24169-02-6	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M-HNO <sub>3</sub> +H] <sup>+</sup>	381.03227	13.9

20	地红霉素	Dirithromycin	62013-04-1	C <sub>42</sub> H <sub>78</sub> N <sub>2</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	835.55258	8.5
21	红霉素	Erythromycin	114-07-8	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>13</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	734.46852	9.9
22	琥乙红霉素	Erythromycin ethylsuccinate	1264-62-6	C <sub>43</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>16</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	862.51586	12.5
23	西咪替丁	Cimetidine	51481-61-9	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>6</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	253.12299	5.2
24	溴莫尼定	Brimonidine	59803-98-4	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> BrN <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	292.01923	5.4
25	莫匹罗星	Mupirocin	12650-69-0	C <sub>26</sub> H <sub>44</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	501.30581	11.7
26	他扎罗汀	Tazarotene	118292-40-3	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	352.13658	18.6
27	克罗米通	Crotamiton	483-63-6	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	204.13829	13.7
28	三甲氧苄氨嘧啶)	Trimethoprim	738-70-5	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	291.14517	6.6
29	二甲氧甲基苄氨嘧啶	Ormethoprim	6981-18-6	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	275.15025	6.9
30	巴喹普林	Baquiloprim	102280-35-3	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	309.18222	1.3
31	舒巴坦钠	Sulbactam sodium	69388-84-7	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> NNaO <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	256.02502	15.6
32	丙磺舒	Probenecid	57-66-9	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub> S	[M-H] <sup>-</sup>	284.09620	13.8
33	阿地普林	Aditoprim	56066-63-8	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	304.17680	1.4
34	盐酸布替萘酚	Butenafine hydrochloride	101827-46-7	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> ClN	[M-HCl+H] <sup>+</sup>	318.22163	14.1
35	卢立康唑	Luliconazole	187164-19-8	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	353.96877	15.0
36	伏立康唑	Voriconazole	137234-62-9	<sub>16</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	350.12232	11.9
37	那氟沙星	Nadifloxacin	124858-35-1	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	361.15581	10.6
38	利拉萘酯	Liranaftate	88678-31-3	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	329.13183	18.2
39	磺胺二甲唑	Sulfamoxol	729-99-7	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	268.07504	7.1
40	甲硝唑	Metronidazole	443-48-1	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	172.07167	5.4
41	氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	362.15106	6.4

42	左氧氟沙星	Levofloxacin hydrochloride	100986-85-4	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	[M+H] <sup>+</sup>	362.15106	6.4
43	环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	332.14050	6.5
44	克林霉素	Clindamycin	18323-44-9	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$	[M+H] <sup>+</sup>	425.18715	8.1
45	林可霉素	Lincomycin	154-21-2	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	[M+H] <sup>+</sup>	407.22104	5.3
46	多西环素	Doxycycline	564-25-0	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	[M+H] <sup>+</sup>	445.16055	8.4
47	米诺环素	Minocycline	10118-90-8	$C_{23}H_{27}N_3O_7$	[M+H] <sup>+</sup>	458.19218	6.6
48	阿奇霉素	Azithromycin	83905-01-5	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$	[M+H] <sup>+</sup>	749.51581	7.8
49	克拉霉素	Clarithromycin	81103-11-9	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	[M+H] <sup>+</sup>	748.48417	11.6
50	罗红霉素	Roxithromycin	80214-83-1	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	[M+H] <sup>+</sup>	837.53185	11.9
51	克霉唑	Clotrimazole	23593-75-1	$C_{22}H_{17}ClN_2$	[M-C <sub>3</sub> N <sub>2</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	277.07785	12.8
52	酮康唑	Ketoconazole	65277-42-1	$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$	[M+H] <sup>+</sup>	531.15604	11.1
53	氟康唑	Fluconazole	86386-73-4	$C_{13}H_{12}F_2N_6O$	[M+H] <sup>+</sup>	307.11135	7.5
54	联苯苄唑	Bifonazole	60628-96-8	$C_{22}H_{18}N_2$	[M+H] <sup>+</sup>	311.15428	12.7
55	磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	[M+H] <sup>+</sup>	250.06447	6.7
56	磺胺甲噁啉	Sulfamerazine	127-79-7	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	[M+H] <sup>+</sup>	265.07537	7.0
57	磺胺甲二唑	Sulfamethizole	144-82-1	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	[M+H] <sup>+</sup>	271.03179	7.4
58	磺胺甲氧嘧啶	Sulfamethoxypyridazine	80-35-3	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	[M+H] <sup>+</sup>	281.07029	7.5
59	磺胺氯吡啶	Sulfachloropyridazine	80-32-0	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	[M+H] <sup>+</sup>	285.02075	8.3
60	磺胺甲基异噁唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	[M+H] <sup>+</sup>	254.05939	8.7
61	依诺沙星	Enoxacin	74011-58-8	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	321.13575	6.2
62	沙拉沙星	Sarafloxacin	98105-99-8	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	386.13108	7.6
63	培氟沙星	Pefloxacin	70458-92-3	$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	334.15615	6.7
64	氟罗沙星	Fleroxacin	79660-72-3	$C_{17}H_{18}F_3N_3O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	370.13731	6.4

	65	双氟沙星	Difloxacin	98106-17-3	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	400.14673	7.7
	66	莫西沙星	Moxifloxacin	151096-09-2	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	402.18237	7.9
	67	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	320.14050	6.3
	68	恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	360.17180	7.1
	69	呋喃它酮	Furaltadone	139-91-3	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	325.11426	6.0
	70	四环素	Tetracycline	60-54-8	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	445.16055	7.1
	71	土霉素	Oxytetracyclin	79-57-2	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	461.15546	6.7
	72	螺内酯	Spiroinolactone	52-01-7	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	417.20941	11.9
	73	灰黄霉素	Griseofulvin	126-07-8	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> ClO <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	353.07865	12.9
	74	氯霉素	Chloramphenicol	56-75-7	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	321.00505	9.1
	75	氯霉素二醇物	1-p-nitropheny-2-amino1.3-propanediol	CB13962449	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	213.08698	1.5
激素	76	诺龙	Nandrolone	434-22-0	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	275.20056	12.6
	77	坎利酮	Canrenone	976-71-6	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	341.21112	14.8
	78	屈螺酮	Drospirenone	67392-87-4	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	367.22677	14.7
	79	炔雌醚	Quinestrol	152-43-2	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	365.24751	19.0
	80	炔诺酮	Norethindrone	68-22-4	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	299.20056	13.6
	81	表睾酮	Epitestosterone	481-30-1	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	289.21621	14.4
	82	康力龙	Stanozolol	10418-03-8	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	329.25874	14.0
	83	孕二烯酮	Gestodene	60282-87-3	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.20056	14.3
	84	马烯雌酮	Equilin	474-86-2	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	269.15361	15.0
	85	四烯雌酮	Altrenogest	850-52-2	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.20056	15.0
	86	丙酸睾酮	Testosterone propionate	57-85-2	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	345.24242	18.0

87	醋酸环丙孕酮	Cyproterone acetate	427-51-0	C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	417.18271	16.4
88	醋酸优力司特	Ulipristal Acetate	126784-99-4	C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	476.27954	15.7
89	17a-羟基黄体酮	Hydroxyprogesterone	68-96-2	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	331.22677	14.5
90	宝丹酮	Boldenone	846-48-0	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	287.20056	12.3
91	苯丙酸诺龙	Nandrolone phenylpropionate	62-90-8	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	407.25807	18.7
92	苯甲酸雌二醇	Estradiol benzoate	50-50-0	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	377.21112	18.3
93	去氧皮质酮	Desoxycorticosterone	64-85-7	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	331.22677	13.7
94	醋酸去氧皮质酮	Deoxycorticosterone acetate	56-47-3	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	373.23734	16.2
95	雌酮硫酸酯哌嗪	Estropipate	7280-37-7	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	[M-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> -H] <sup>-</sup>	349.11152	9.8
96	左炔诺孕酮	Levonorgestrel	797-63-7	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	313.21676	15.1
97	美雄酮	Metandienone	72-63-9	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	301.21621	13.0
98	丙酸诺龙	Nandrolone 17-propionate	7207-92-3	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	331.22677	17.7
99	泼尼松龙	Prednisolone	50-24-8	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	361.20095	9.6
100	泼尼松	Prednisone	53-03-2	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	359.18530	9.7
101	异氟泼尼松	9-fluoroprednisolone	338-95-4	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> FO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	379.19153	9.6
102	氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	363.21660	9.7
103	可的松	Cortisone	53-06-5	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	361.20095	9.6
104	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	375.21660	10.6
105	倍他米松	Betamethasone	378-44-9	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	393.20718	10.9
106	地塞米松	Dexamethasone	50-02-2	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	393.20718	10.9
107	氟米松	Flumethasone	2135-17-3	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> F <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	411.19776	11.0
108	倍氯米松	Beclomethasone	4419-39-0	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	409.17763	11.3

109	曲安奈德	Triamcinolone acetone	76-25-5	$C_{24}H_{31}FO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	435.21775	11.8
110	地索奈德	Desonide	638-94-8	$C_{24}H_{32}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	417.22717	11.7
111	氟尼缩松	Flunisolide	77326-96-6	$C_{24}H_{31}FO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	435.21775	11.8
112	氟轻松	Fluocinolone acetone	67-73-2	$C_{24}H_{30}F_2O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	453.20833	12.0
113	曲安西龙双醋酸酯	Triamcinolone diacetate	67-78-7	$C_{25}H_{31}FO_8$	[M+H] <sup>+</sup>	479.20758	12.1
114	氟氢缩松	Fludroxycortide	1524-88-5	$C_{24}H_{33}FO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	437.23340	12.1
115	泼尼松龙醋酸酯	Prednisolone 21- acetate	52-21-1	$C_{23}H_{30}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	403.21152	12.3
116	氟米龙	Fluorometholone	426-13-1	$C_{22}H_{29}FO_4$	[M+H] <sup>+</sup>	377.21227	12.4
117	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21- acetate	50-03-3	$C_{23}H_{32}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	405.22717	12.4
118	氟氢可的松醋酸酯	Fludrocortisone 21- acetate	514-36-3	$C_{23}H_{31}FO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	423.21775	12.5
119	地夫可特	Deflazacort	14484-47-0	$C_{25}H_{31}NO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	442.22242	12.6
120	泼尼松醋酸酯	Prednisone 21-acetate	125-10-0	$C_{23}H_{28}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	401.19587	12.6
121	可的松醋酸酯	Cortisone 21-acetate	50-04-4	$C_{23}H_{30}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	403.21152	13.0
122	卤美他松	Halometasone	50629-82-8	$C_{22}H_{27}ClF_2O_5$	[M+H] <sup>+</sup>	445.15879	12.8
123	甲基泼尼松龙醋酸酯	Methylprednisolone 21- acetate	53-36-1	$C_{24}H_{32}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	417.22717	13.4
124	倍他米松醋酸酯	Betamethasone 21- acetate	987-24-6	$C_{24}H_{31}FO_6$	[M+H] <sup>+</sup>	435.21775	11.8
125	睾酮	Testosterone	58-22-0	$C_{19}H_{28}O_2$	[M+H] <sup>+</sup>	289.21621	13.4

126	地塞米松醋酸酯	Dexamethasone 21-acetate	1177-87-3	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> FO <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	435.21775	11.8
127	布地奈德	Budesonide	51333-22-3	C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	431.24282	13.7
128	氢化可的松丁酸酯	Hydrocortisone 17-butyrate	13609-67-1	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	433.25847	13.8
129	孕三烯酮	Gestrinone	16320-04-0	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	309.18491	14.1
130	氟米龙醋酸酯	Fluorometholone 17-acetate	3801-06-7	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> FO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	419.22283	14.1
131	甲睾酮	Methyltestosterone	58-18-4	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	303.23186	14.2
132	氢化可的松戊酸酯	Hydrocortisone 17-valerate	57524-89-7	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	447.27412	14.9
133	曲安奈德醋酸酯	Triamcinolone acetonide acetate	3870-07-3	C <sub>26</sub> H <sub>33</sub> FO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	477.22831	14.9
134	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone diacetate	33564-31-7	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> F <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	495.21889	15.1
135	氟轻松醋酸酯	Fluocinonide	356-12-7	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> F <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	495.21889	15.1
136	炔诺孕酮	Norgestrel	6533-00-2	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	313.21621	15.1
137	倍他米松戊酸酯	Betamethasone 17-valerate	2152-44-5	C <sub>27</sub> H <sub>37</sub> FO <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	477.26470	15.6
138	哈西奈德	Halcinonide	3093-35-4	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	455.19951	16.1
139	泼尼卡酯	Prednicarbate	73771-04-7	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>8</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	489.24830	16.1
140	氯替泼诺	Loteprednol etabonate	82034-46-6	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> ClO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	467.18311	16.2
141	阿氯米松双丙酸酯	Alclometasone dipropionate	66734-13-2	C <sub>28</sub> H <sub>37</sub> ClO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	521.23006	16.9
142	安西奈德	Amcinonide	51022-69-6	C <sub>28</sub> H <sub>35</sub> FO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	503.24396	16.2
143	卤倍他索丙酸酯	Halobetasol Propionate	66852-54-8	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> ClF <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	485.19009	16.2

	144	氯倍他索丙酸酯	Clobetasol 17-propionate	25122-46-7	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	467.19951	16.3
	145	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	80474-14-2	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> F <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	501.19171	16.4
	146	莫米他松糠酸酯	Mometasone furoate	83919-23-7	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	521.14922	16.5
	147	醋酸甲地孕酮	Megestrol acetate	595-33-5	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	385.23734	16.5
	148	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone acetate	302-22-7	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	405.18272	16.7
	149	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone dipropionate	5593-20-4	C <sub>28</sub> H <sub>37</sub> FO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	505.25961	16.6
	150	黄体酮	Progesterone	57-83-0	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	315.23186	16.5
	151	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone 17-acetate	71-58-9	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	387.25299	16.7
	152	甲羟孕酮	Medroxyprogesterone	520-85-4	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	345.24242	15.6
	153	倍氯米松双丙酸酯	Beclmetasone dipropionate	5534-09-8	C <sub>28</sub> H <sub>37</sub> ClO <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	521.23006	16.9
	154	双氟可龙戊酸酯	Diflucortolone valerate	59198-70-8	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> F <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	479.26036	17.0
	155	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone 17-butyrate	25122-57-0	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	479.19951	17.2
	156	己酸羟孕酮	Hydroxyprogesterone caproate	630-56-8	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	429.29994	18.3
	157	环索奈德	Ciclesonide	126544-47-6	C <sub>32</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	541.31598	18.9
	158	阿司咪唑	Astemizole	68844-77-9	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> FN <sub>4</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	459.25547	8.8
抗组胺	159	地氯雷他定	Desloratadine	100643-71-8	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.13096	8.1
	160	吩噻嗪	Phenothiazine	92-84-2	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> NS	[M+H] <sup>+</sup>	200.05285	16.5
	161	奋乃静	Desloratadine	58-39-9	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>3</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	404.15579	11.7
	162	氯雷他定	Loratadine	79794-75-5	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	383.15209	14.3

	163	马来酸溴苯那敏	Brompheniramine	980-71-2	$C_{16}H_{19}BrN_2 \cdot C_4H_4O_4$	$[M-C_4H_4O_4+H]^+$	319.08044	8.9
	164	特非那定	Terfenadine	50679-08-8	$C_{32}H_{41}NO_2$	$[M+H]^+$	472.32101	14.5
	165	盐酸苯海拉明	Diphenhydramine	147-24-0	$C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$	$[M-HCl+H]^+$	256.16959	9.8
	166	盐酸氟奋乃静	Fluphenazine	146-56-5	$C_{22}H_{26}F_3N_3OS \cdot 2HCl$	$[M-2HCl+H]^+$	438.18214	12.5
	167	盐酸氯丙嗪	Chlorpromazine	69-09-0	$C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$	$[M-HCl+H]^+$	319.10302	12.0
	168	盐酸曲吡那敏	Tripelennamine	154-69-8	$C_{16}H_{21}N_3 \cdot HCl$	$[M-HCl+H]^+$	256.18082	8.7
	169	盐酸赛庚啉	Cyproheptadine	41354-29-4	$C_{21}H_{21}N \cdot HCl \cdot H_2O$	$[M-HCl-H_2O+H]^+$	288.17468	11.1
	170	盐酸西替利嗪	Cetirizine	83881-52-1	$C_{21}H_{25}ClN_2O_3 \cdot 2HCl$	$[M-2HCl+H]^+$	389.16265	11.1
	171	盐酸异丙嗪	Promethazine	58-33-3	$C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$	$[M-HCl+H]^+$	285.14200	10.5
	172	赛克利嗪	Cyclizine Hydrochloride	303-25-3	$C_{18}H_{23}ClN_2$	$[M-HCl+H]^+$	267.18558	9.9
	173	二苯拉林	Diphenylpyraline	147-20-6	$C_{19}H_{23}NO$	$[M+H]^+$	282.18524	10.6
	174	多西拉敏	Doxylamine	469-21-6	$C_{17}H_{22}N_2O$	$[M+H]^+$	271.18049	6.9
麻醉剂	175	盐酸丁卡因	Tetracaine hydrochloride	136-47-0	$C_{15}H_{25}ClN_2O_2$	$[M-HCl+H]^+$	265.19106	9.6
	176	苯佐卡因	Benzocaine	94-09-7	$C_9H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	166.08626	10.5
	177	利多卡因	Lidocaine	137-58-6	$C_{14}H_{22}N_2O$	$[M+H]^+$	235.18049	7.0
	178	盐酸氯普鲁卡因	Chloroprocaine hydrochloride	3858-89-7	$C_{13}H_{20}Cl_2N_2O_2$	$[M-HCl+H]^+$	271.12078	6.6
	179	盐酸普鲁卡因	Procaine hydrochloride	51-05-8	$C_{13}H_{21}ClN_2O_2$	$[M-HCl+H]^+$	237.15975	5.9
	180	普鲁卡因胺	procainamide	51-06-9	$C_{13}H_{21}N_3O$	$[M+H]^+$	236.17574	4.7
	181	辛可卡因	Cinchocaine	85-79-0	$C_{20}H_{29}N_3O_2$	$[M+H]^+$	344.23325	11.3
农残	182	甲萘威	Carbaryl	63-25-2	$C_{12}H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	202.08626	12.3
	183	多菌灵	Carbendazim	10605-21-7	$C_9H_9N_3O_2$	$[M+H]^+$	192.07676	6.2
	184	丁变敌	Di-allate	2303-16-4	$C_{10}H_{17}Cl_2NOS$	$[M+H]^+$	270.04807	17.8

185	敌草隆	Diuron	330-54-1	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	233.02430	12.7
186	氟环唑	Epoxiconazole	106325-08-0	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	330.08040	15.3
187	丁苯吗啉	Fenpropimorph	67306-03-0	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	304.26349	13.0
188	精吡氟禾草灵	Fluazifop-p-butyl	79241-46-6	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	384.14172	17.9
189	丙炔氟草胺	Flumioxazin	103361-09-7	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	355.10887	14.7
190	异菌脲	Iprodione	36734-19-7	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	330.04068	16.0
191	异恶唑草酮	Isoxaflutole	141112-29-0	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	360.05119	15.1
192	亚胺菌	Kresoxim-methyl	143390-89-0	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	314.13869	16.7
193	禾草敌	Molinate	2212-67-1	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NOS	[M+H] <sup>+</sup>	188.11037	15.3
194	久效磷	Monocrotophos	2157-98-4	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>5</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	224.06824	6.2
195	炔螨特	Propargite	2312-35-8	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> S	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.18901	18.3
196	扑灭津	Propazine	139-40-2	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	230.11670	14.2
197	西玛津	Simazine	122-34-9	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	202.08540	10.7
198	十三吗啉	Tridemorph	24602-86-6	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	298.31044	15.5
199	二苯胺	Diphenylamine	122-39-4	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N	[M+H] <sup>+</sup>	170.09643	16.2
200	炔苯酰草胺	Propyzamide	23950-58-5	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	256.02905	15.6
201	甲草胺	Alachlor	15972-60-8	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	270.12553	16.2
202	倍硫磷	Fenthion	55-38-9	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	279.02730	16.9
203	腈菌唑	Myclobutanil	88671-89-0	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	289.12145	15.0
204	氟硅唑	Flusilazole	85509-19-9	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> Si	[M+H] <sup>+</sup>	316.10761	15.8
205	氟苯嘧啶醇	Fenarimol	60168-88-9	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	331.03995	15.0
206	特乐酚	Dinoterb	1420-07-1	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	239.06734	16.8
207	碘苯腈	Ioxynil	1689-83-4	C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> I <sub>2</sub> NO	[M-H] <sup>-</sup>	369.82313	13.8

青霉素	208	氨苄西林三水合物	Ampicillin Trihydrate	7177-48-2	$C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$	$[M-3H_2O+H]^+$	350.11690	11.9
	209	青霉素 G 钾盐	Penicillin G potassium salt	113-98-4	$C_{16}H_{17}N_2O_4SK$	$[M-K+2H]^+$	335.10600	10.0
	210	青霉素 V 钾盐	Penicillin V potassium salt	132-98-9	$C_{16}H_{17}N_2O_5SK$	$[M-K+2H]^+$	351.10092	10.8
	211	苯唑西林钠	Oxacillin sodium monohydrate	7240-38-2	$C_{19}H_{18}N_3NaO_5S \cdot H_2O$	$[M-Na-H_2O+2H]^+$	402.11182	11.5
	212	氯唑西林钠	Cloxacillin sodium hydrate	7081-44-9	$C_{19}H_{19}ClN_3NaO_6S \cdot H_2O$	$[M-Na-2H_2O+2H]^+$	436.07285	12.3
	213	萘夫西林钠	Nafcillin sodium hydrate	7177-50-6	$C_{21}H_{23}N_2NaO_6S \cdot H_2O$	$[M-Na-2H_2O+2H]^+$	415.13222	12.7
	214	双氯西林钠	Dicloxacillin sodium hydrate	13412-64-1	$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S \cdot H_2O$	$[M-Na-H_2O+2H]^+$	470.03387	13.4

## 2.3 二级高分辨质谱库建立

配制 100 ng/mL 的 214 种风险物质混合标准样品溶液，按照前述条件进行前处理，上机分析。进行一级 MS 扫描，以及 MS/MS(DDA)扫描，获得不同碰撞能 (10V、20V、30V、40V、50V、60V) 下的二级质谱图，使用 LabSolutions insight 软件进行二级质谱库的建立。200 余种风险物质高分辨二级质谱库收录了 1000 余张二级质谱图，以及化合物的中文名、分子式、保留时间、色谱条件，高分辨质荷比等信息。

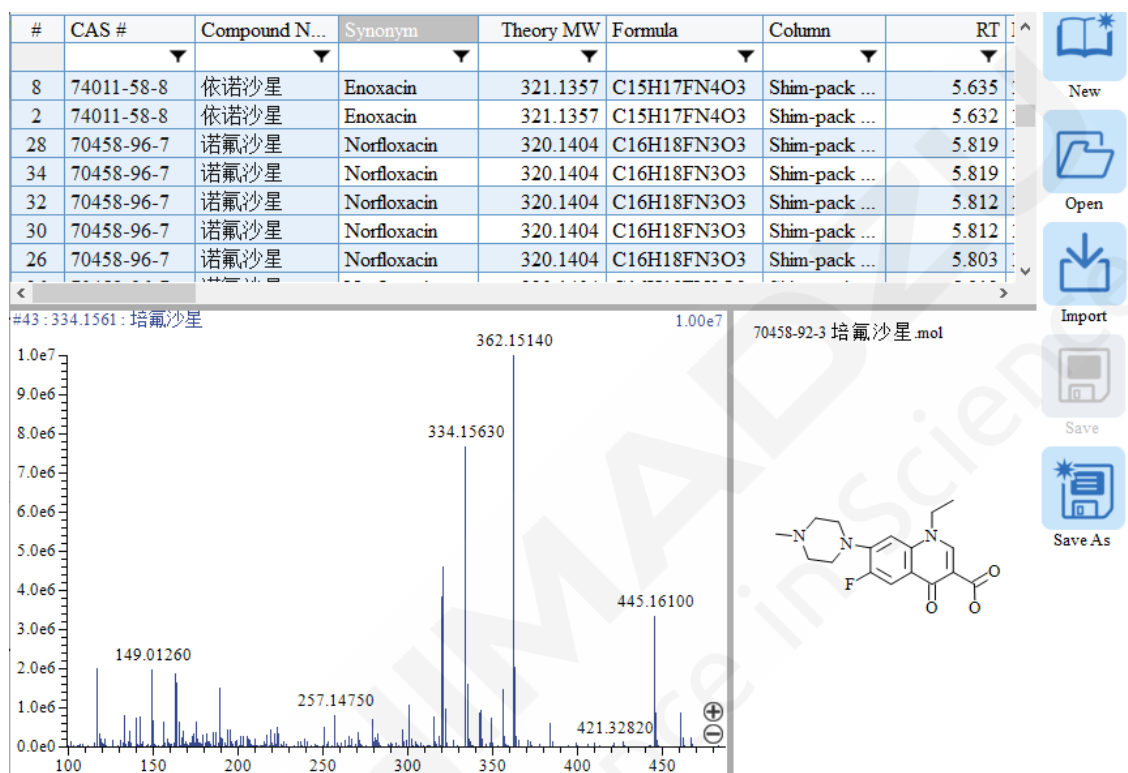


图 2. 风险物质二级质谱库预览

## 2.4 化妆品样品加标鉴别与确认

按照前述分析条件，制备 100 ng/mL 加标样品，根据保留时间及精确质量数进行鉴别，二级质谱库或典型二级碎片离子丰度比进行确认。以磺胺氯吡啶为例演示加标样品的定性过程，混合标液中磺胺氯吡啶 m/z 285.0208 色谱出峰时间 RT=8.321min。利用岛津 LabSolutions Insight Explore 的谱库检索功能，对加标样品中 m/z 285.0208 的化合物进行二级质谱图谱库匹配，相似度得分 96 分，如图 4 所示。典型碎片离子与标准谱库中质量偏差小于 5ppm，如表 3 所示。

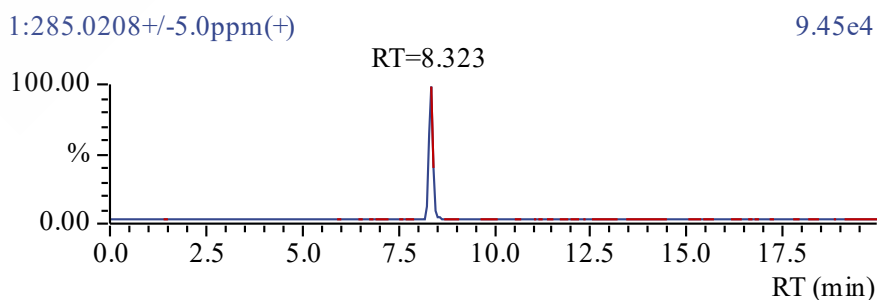


图 3. m/z 285.0208 提取离子流图

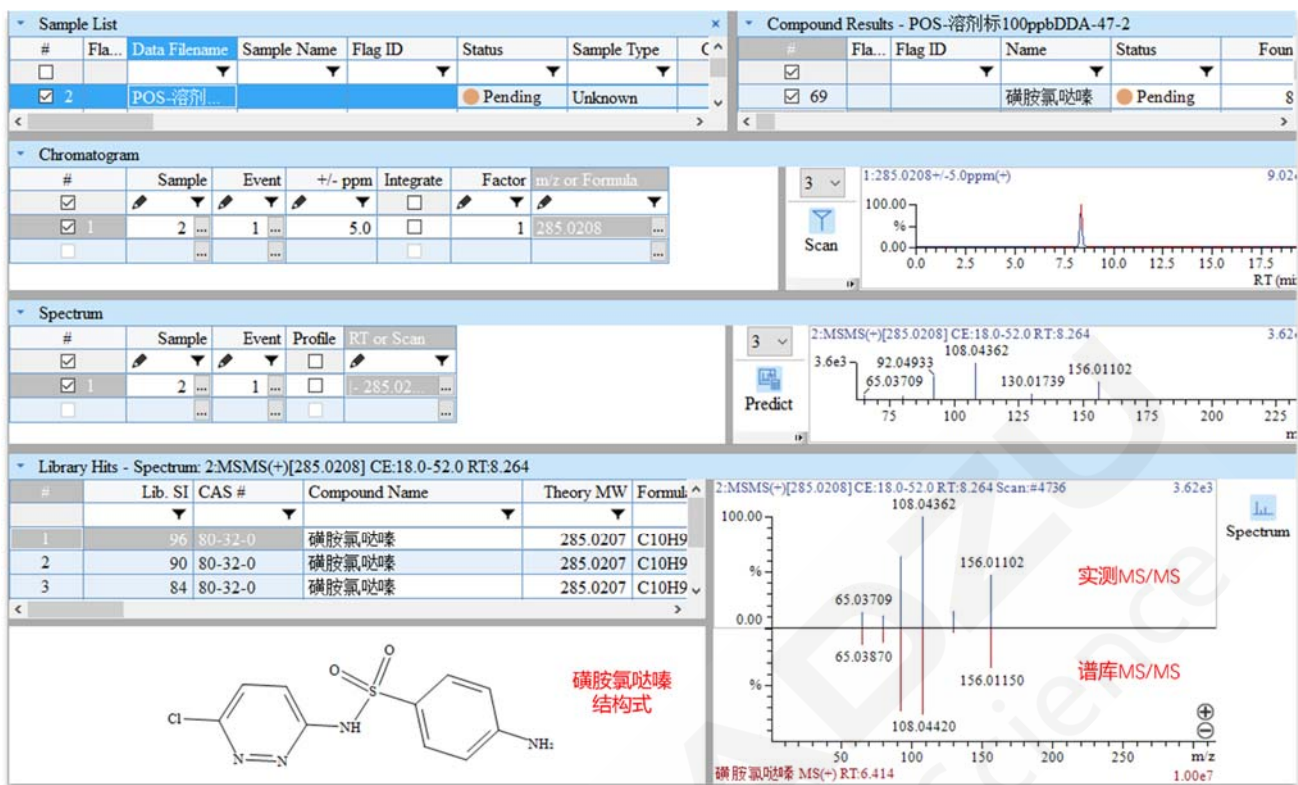


图 4. m/z 285.0208 二级质谱图谱库检索结果

表 3. m/z 285.0208 二级质谱图典型碎片离子质量偏差

化合物	典型二级碎片离子 1	典型二级碎片离子 2
标准谱库	92.04920	156.0115
加标样品	92.04933	156.0110
质量偏差	1.41229	3.076696

## 2.5 加标回收率

10 ng/mL 柔肤水、护肤霜两种加标样品进行计算加标回收率，回收率结果如图 5、6 所示，柔肤水、护肤霜两种化妆品的回收率在 50-120%之间的化合物数量分别为 156 和 179 个。

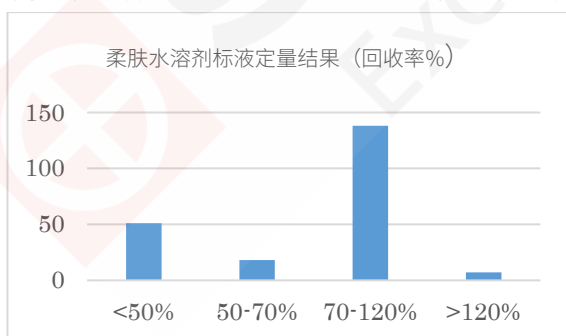


图 5. 柔肤水基质加标 (10 ng/mL) 回收率结果

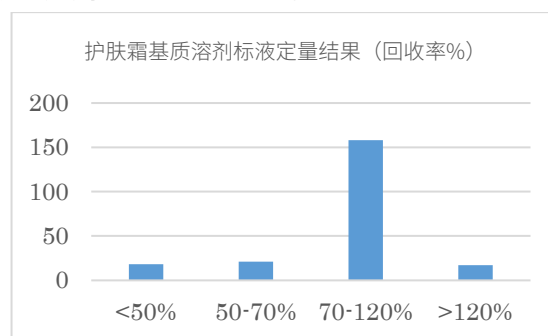


图 6. 护肤霜基质加标 (10 ng/mL) 回收率结果

## 3. 结论

本文采用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了化妆品中 214 种风险物质鉴别与确认的方法，同时创建了二级质谱库。经添加回收样品分析，质谱库匹配度良好。该方法简便、灵敏、定性筛查准确性好，可用于化妆品中风险物质的快速定性筛查。

# LCMS-9030定性分析抗精神病药物及其代谢物

**摘要:** 本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用仪对常见的抗精神病药物及其代谢物进行鉴定。采用蛋白沉淀的前处理方式, 结合高分辨质谱特性可以快速定性分析药物及其代谢物, 结果显示: 在 14 个临床血清样本中定性分析出 23 种抗精神病药物及其代谢物, 其中定性出的 10 种原药与给药情况基本吻合, 所有化合物的质量数偏差均小于 2 ppm, 其定性出的药物与代谢物在做多样本测试中能重现。岛津 QTOF 质量数偏差小、软件多元化, 可以进行快速、准确的定性分析。

**关键词:** LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 血清 精神病药物

非典型抗精神病药物(又称第二代抗精神病药, atypical antipsychotics, AAs), 包括氯氮平、奥氮平、利培酮、喹硫平、阿立哌唑、齐拉西酮等药物, 与传统抗精神病药物相比, 具有作用谱广、疗效好、安全性好等优点, 能提高患者的生活质量。非典型抗精神病药物的代谢主要经细胞色素P450酶(CYP)系统代谢, 影响药物代谢酶活性的各种因素均可能导致非典型抗精神病药物代谢的改变, 从而升高或

降低血药浓度, 使药理作用和毒性作用发生改变; 尤其目前为达到最佳治疗效果常使用联合用药, 药物的相互作用也会影响代谢情况, 因此监控其代谢物为临床用药提供参考。

本文利用岛津LCMS-9030超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用仪定性分析常见的抗精神病药物及其代谢物, 供临床研究人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置: LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A<sub>5R</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪, LabSolutions V 5.96 工作站软件

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST, 2.1 mm I.D. × 100 mm L., 2.0 μm, P/N: 227-30001-04		
流动相	: A: 0.1%甲酸水溶液; B: 乙腈		
进样体积	: 5 μL	流速	: 0.3 mL/min
柱温	: 40 °C	洗脱方式	: 梯度洗脱 (表 1)

#### 质谱条件

离子源	: ESI (+)	接口温度	: 300 °C
接口电压	: +4.0 kV	D L 温度	: 150 °C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	加热块温度	: 500 °C
干燥气	: 氮气 10.0 L/min	扫描模式	: MS1 SCAN (m/z 100-800)
加热气	: 空气 10.0 L/min		: MS2 DDA (m/z 50-800)

表 1. 时间程序

时间(min)	单元	命令	值
0.01	泵	B.Conc	10
1.00	泵	B.Conc	10
6.00	泵	B.Conc	95
7.00	泵	B.Conc	95
7.10	泵	B.Conc	10
10.00	控制器	Stop	

## 2. 样品前处理

准确量取 300  $\mu\text{L}$  血清样品置于 EP 管中，再加入 900  $\mu\text{L}$  乙腈，振荡 1 min，以 10000 r/min 离心 10 min 后，取上清液至 1.5 mL 样品瓶，待测。

样本：收集了 14 个给药的病人血清样本，2 个空白人血清样本

## 3. 结果与讨论

### 3.1 以 4 号样本为例进行定性分析

4 号样本给了 3 种药：利培酮、9-羟基利培酮、氟伏沙明。参考给药信息，结合代谢物库，使用 Labsolutions Insight Explore 软件和分子式预测软件，对照空白血清样本  $\text{MS}^1$ ，从 4 号样本的  $\text{MS}^1$  TIC 图中初步筛选出添加的药物及其可能的代谢物，给出  $m/z$  和分子式。再对其  $\text{MS}^2$  质谱图进行进一步的定性分析。

#### 3.1.1 4 号样本的色谱图

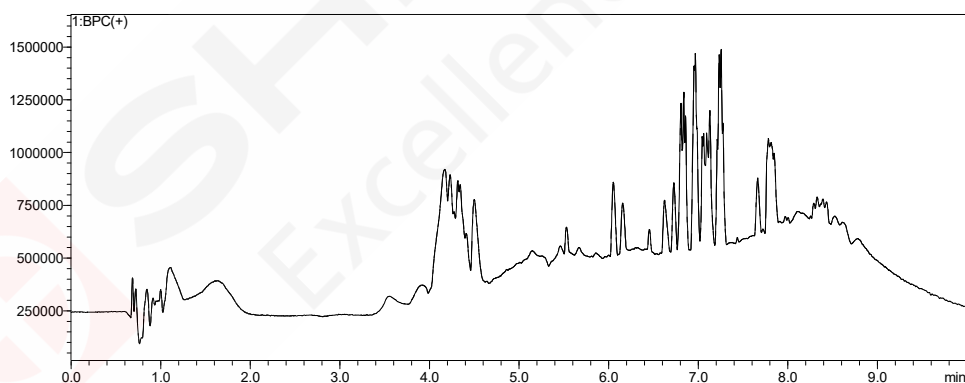


图 1. 4 号样本的 BPC 图 (基峰图)

#### 3.1.2 根据 $\text{MS}^1$ 筛查出可能的化合物

表 2. 4 号样本初步筛选出的结果

编号	化合物	保留时间	实测 $m/z$ [M+H] <sup>+</sup>	理论 $m/z$ [M+H] <sup>+</sup>	相对误差 (ppm)	同位素 得分	预测的分子式
1	利培酮	4.70	411.21921	411.21908	0.29	97.5	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> F
2	9-羟基利培酮	4.64	427.21411	427.21400	0.24	98.5	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> F
3	氟伏沙明	5.30	319.16305	319.16279	0.98	98.2	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> F <sub>3</sub>
4	氟伏沙明-代谢物 1	6.52	361.17362	361.17335	0.74	99.1	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> F <sub>3</sub>
5	氟伏沙明-代谢物 2	4.95	319.12657	319.12640	0.55	99.6	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> F <sub>3</sub>

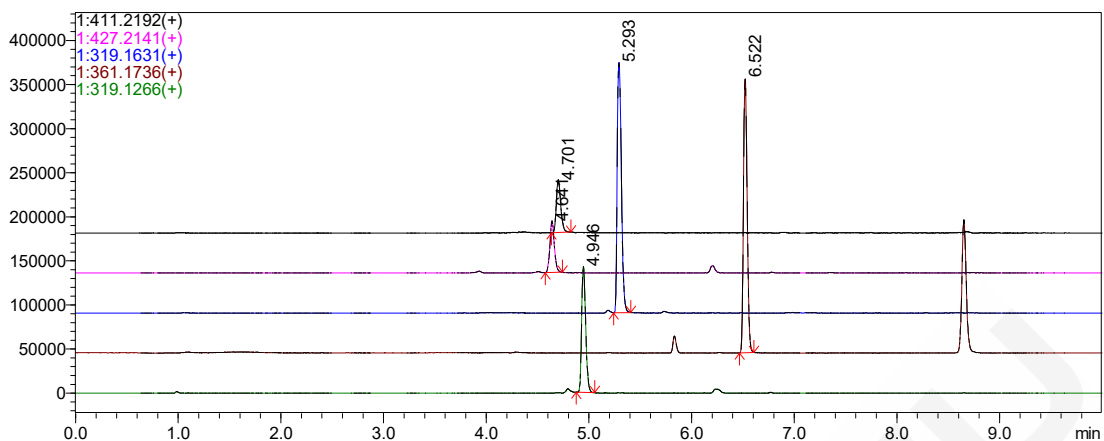


图 2. 4 号样本初步筛选出  $m/z$  的 EIC 图 (提取离子流图)

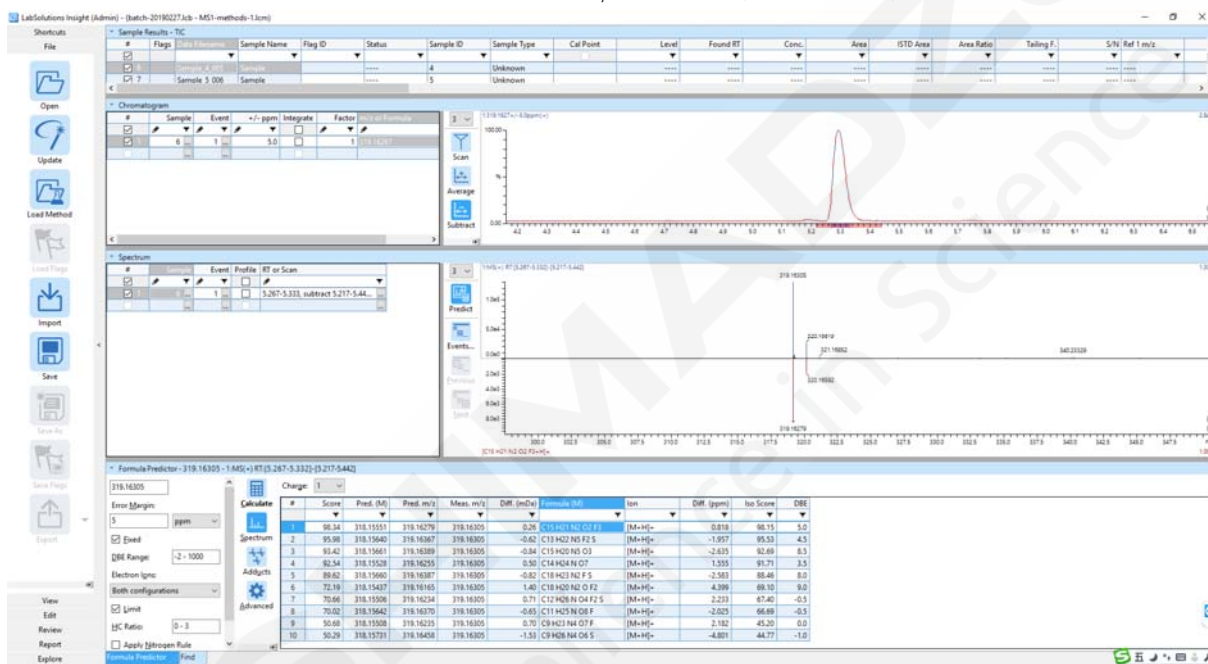


图 3. LabSolutions Insight Explore 软件中分子式预测结果的截图

### 3.1.3 MS<sup>2</sup> 质谱图的解析

#### <1> 氟伏沙明、利培酮、9-羟基利培酮三种给药的 MS<sup>2</sup> 分析

以氟伏沙明为例：通过 MS<sup>1</sup> 预测出可能的分子式后，初步判断可能是氟伏沙明。利用 ACDmanager 软件中碎片离子预测的功能，比较理论的 MS<sup>2</sup> 碎片离子与实测的 MS<sup>2</sup> 质谱图，其结果吻合如图 4 所示（红色线部分表示匹配上的离子），再次确认  $m/z$  319.16309 为氟伏沙明。说明 4 号样本中含有氟伏沙明。

同样方法确认 4 号样本中含有利培酮和 9-羟基利培酮（如图 5-6）。9-羟基利培酮又名帕潘立酮，是利培酮主要的代谢产物，可以做为联合给药的一种，同利培酮一起给药。

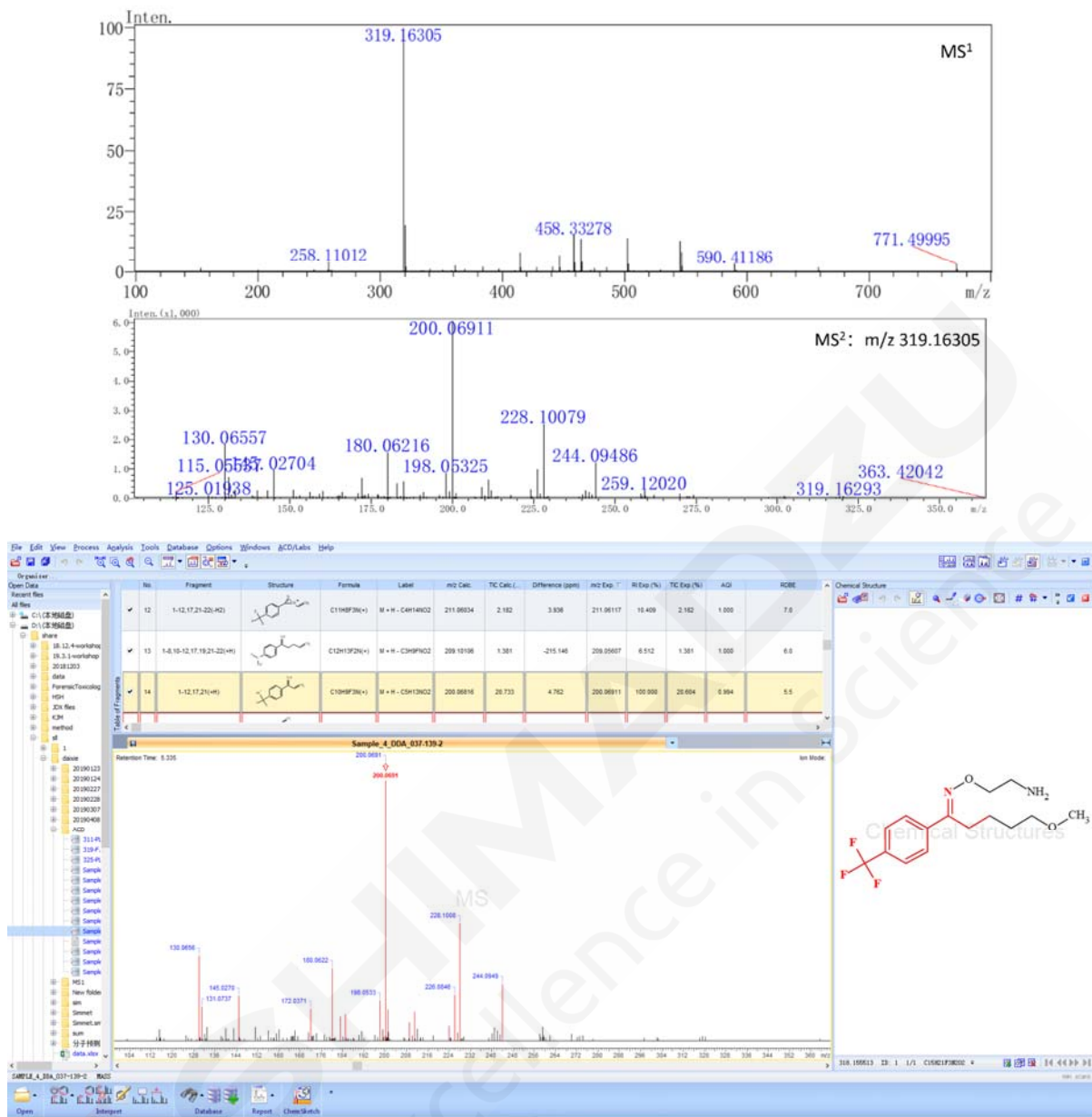
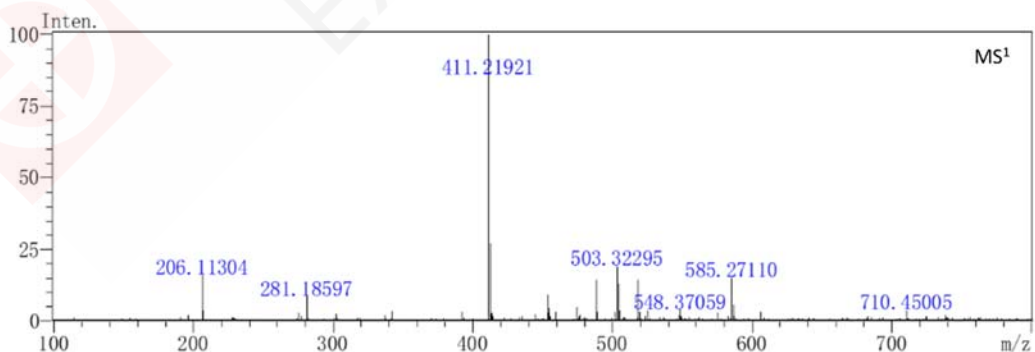


图 4.4 号样本中氟伏沙明 (m/z 319.16305) 的 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图及其 ACD 软件匹配结果



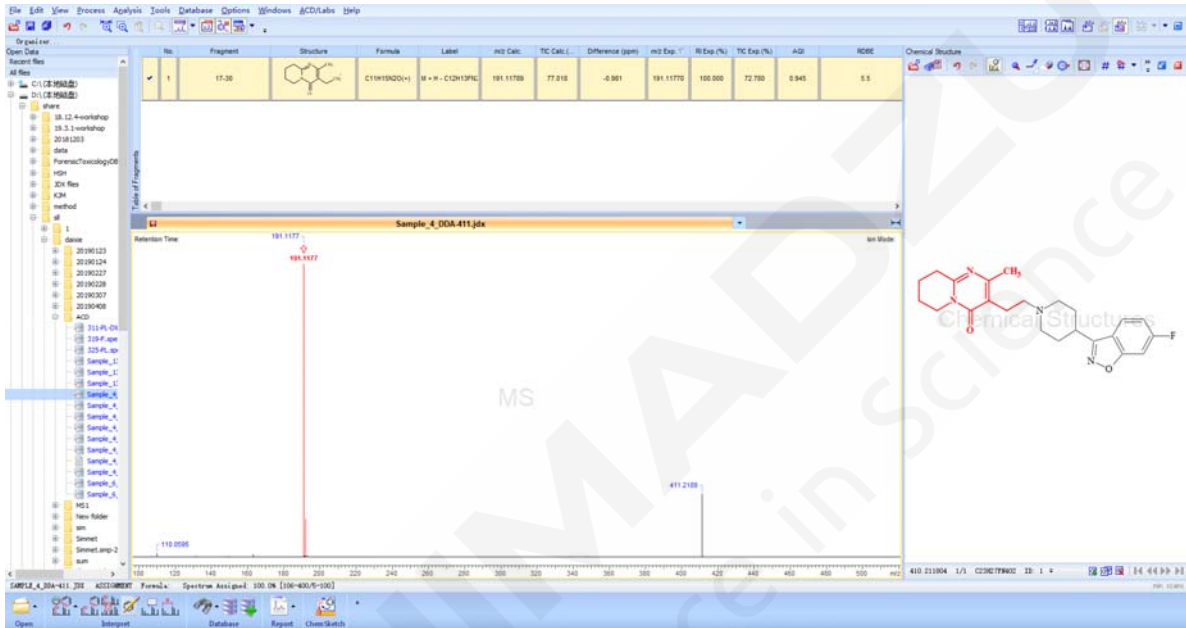
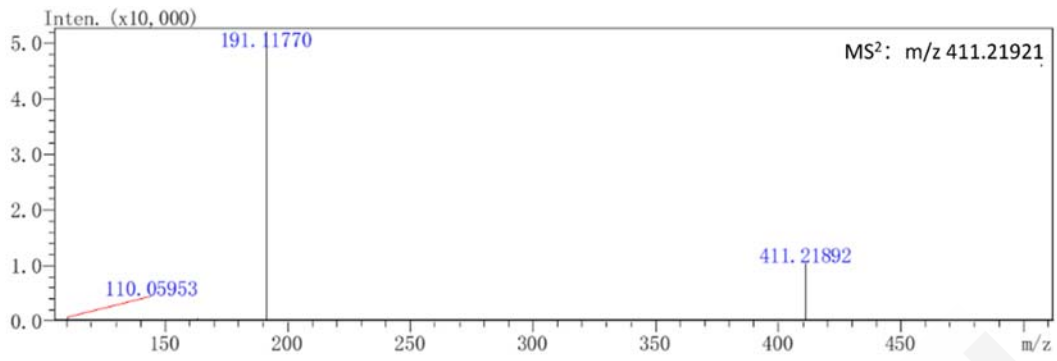


图 5.4 号样本中利培酮 (m/z 411.21921) 的 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图及其 ACD 软件匹配结果

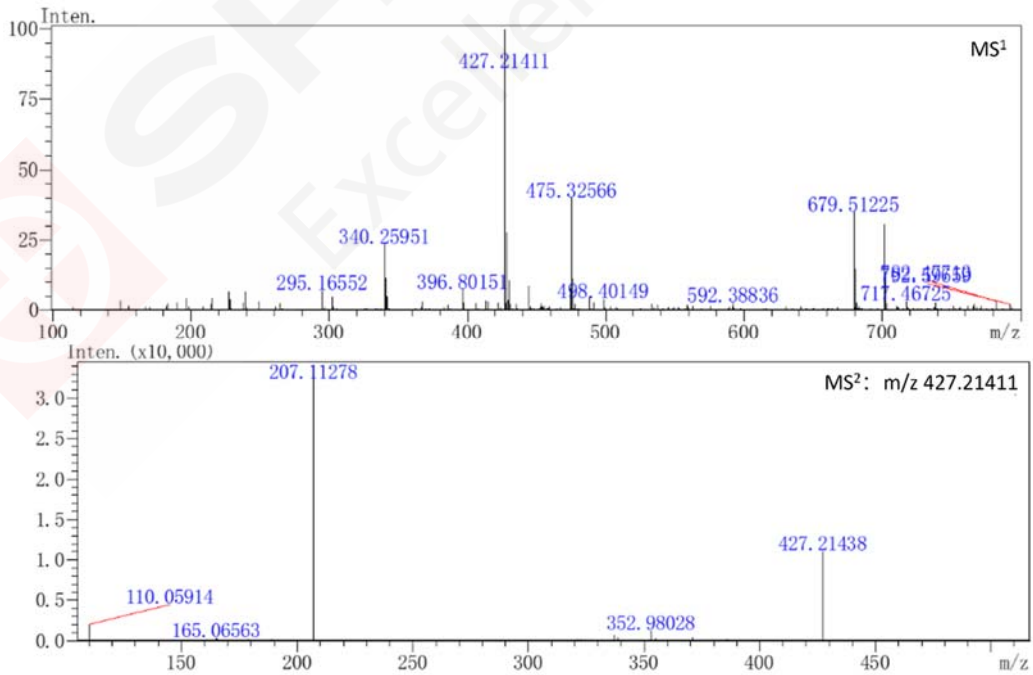


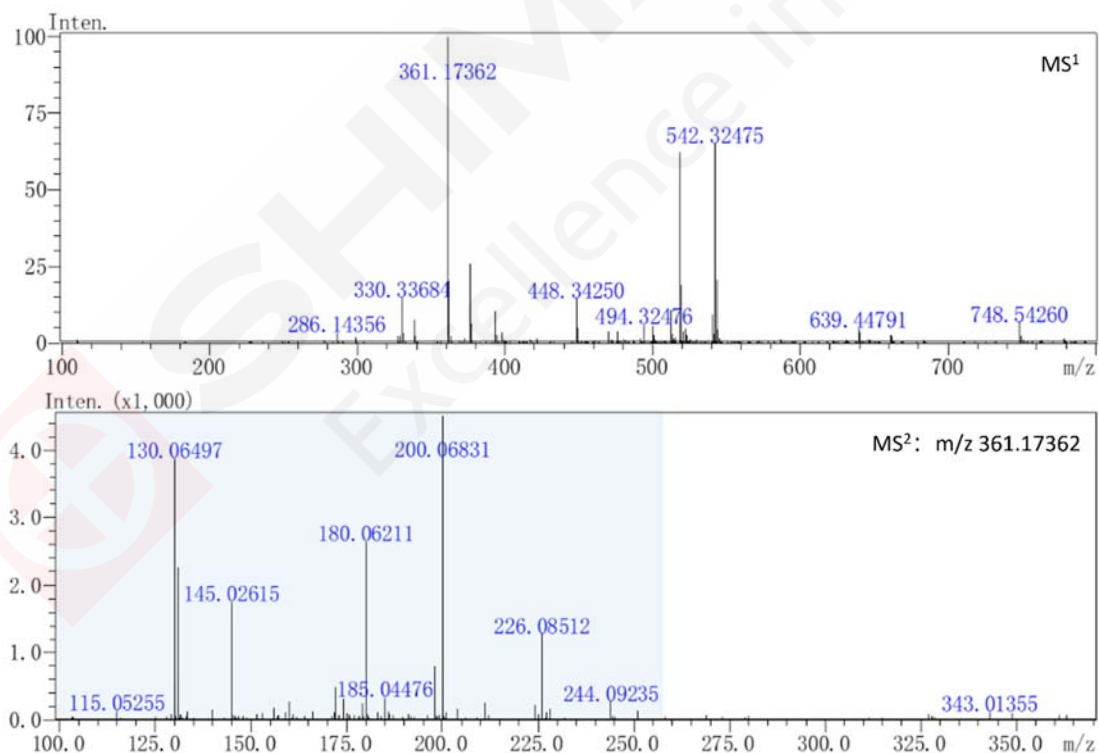


图 6. 4 号样本中 9-羟基利培酮 ( $m/z$  427.2141) 的 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图及其 ACD 软件匹配结果

## <2> 2 种氟伏沙明代谢物的 MS<sup>2</sup> 分析

### a、代谢物 1: $m/z$ 361.17363

代谢物 1 分子式是 C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>F<sub>3</sub> 和氟伏沙明分子式 C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>F<sub>3</sub> 相比, 相差了 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O, 将代谢物 1 的 MS<sup>2</sup> 质谱图与氟伏沙明的 MS<sup>2</sup> 质谱图对比, 两者的  $m/z$  258 以前的部分主要碎片离子是吻合的, 具体的碎片离子结果如图 7 所示, 因此该代谢物 2 可能是氟伏沙明乙酰化后的产物。



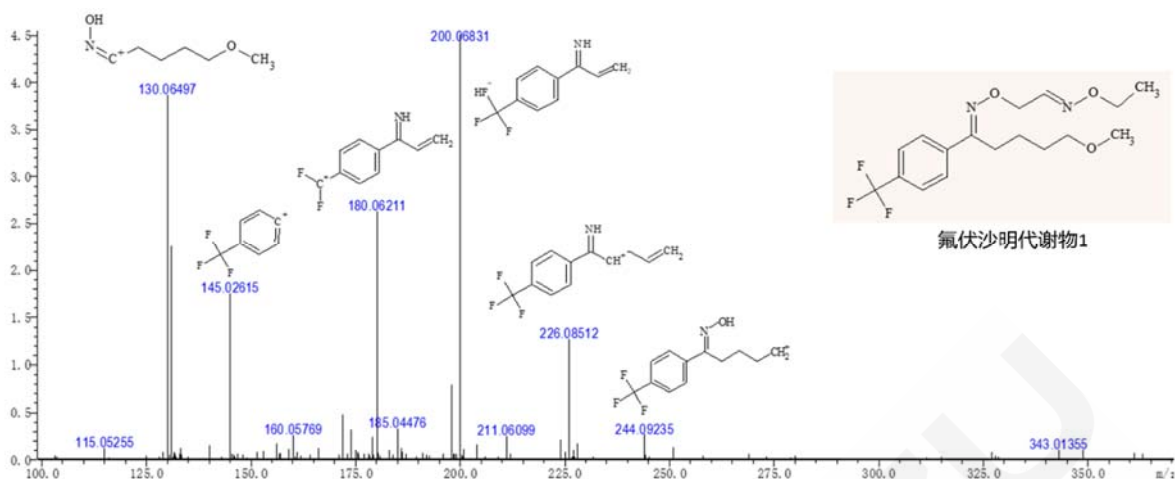


图 7. 氟伏沙明代谢物 1 的 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图 (上图) 以及 MS<sup>2</sup> 碎片离子解析结果 (下图)

b、代谢物 2: m/z 319.12657

代谢物 2 分子式是 C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>F<sub>3</sub>, 通过公共数据库 ChemSpider 或 Metlin 搜索, 得到其可能是 Fluvoxamine Acid, 根据其结构式, 利用 ACD 软件预测出理论的二级碎片离子, 并与实测的 MS<sup>2</sup> 质谱图上的离子比较。80% 以上的离子吻合, 说明代谢物 2 可能是氟伏沙明的代谢产物; 是氟伏沙明去甲基脱氢氧化 (+O,-CH<sub>2</sub>,-H<sub>2</sub>) 后的产物。

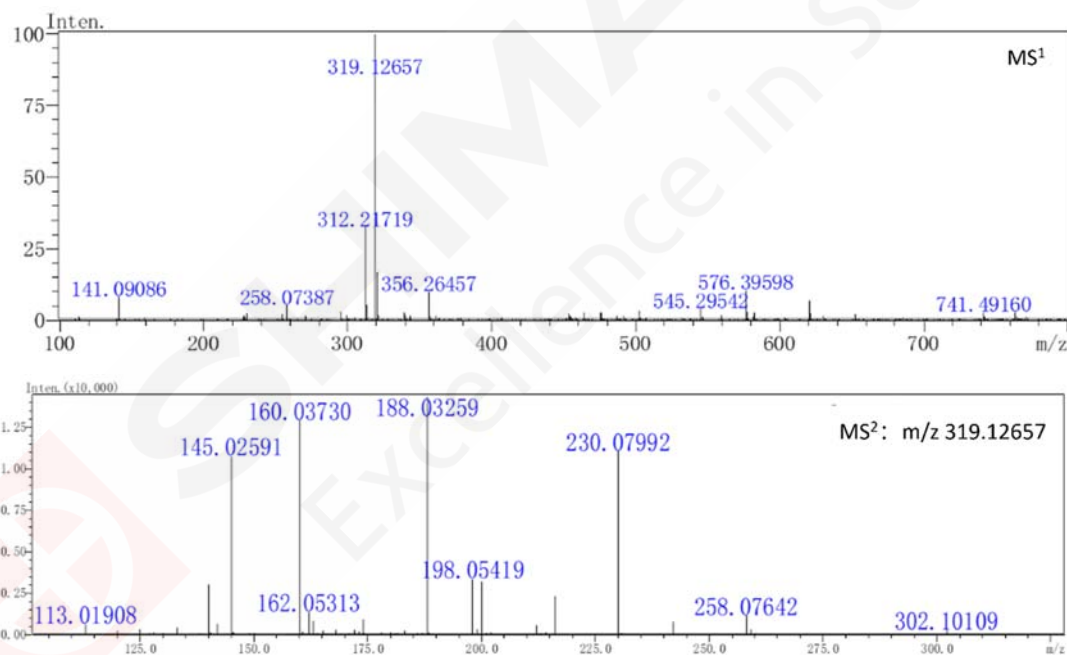


图 8. 氟伏沙明代谢物 2 的 MS<sup>1</sup> 和 MS<sup>2</sup> 质谱图

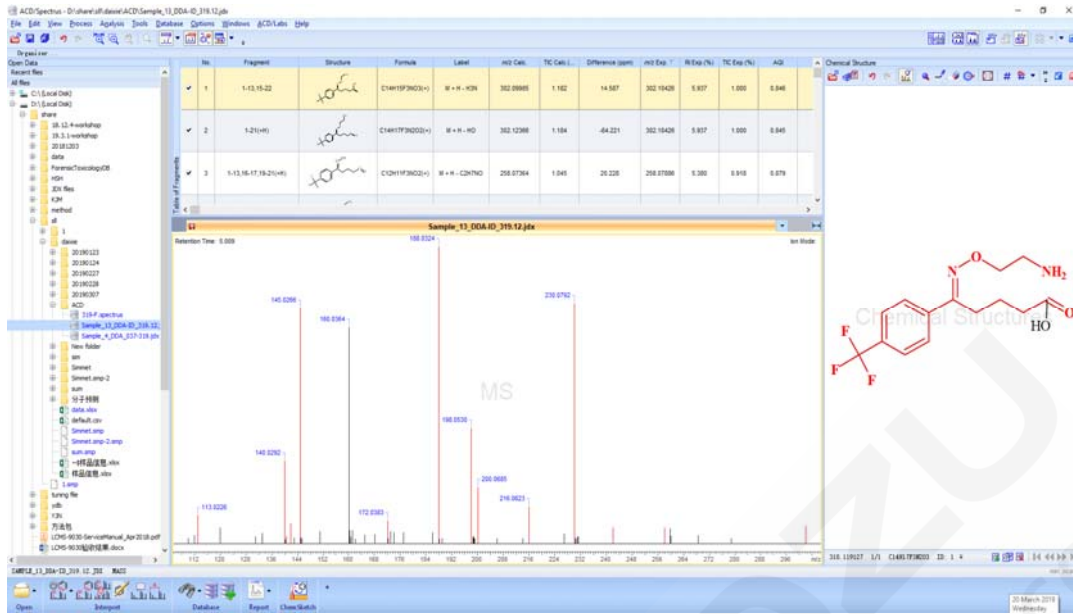


图 9. 代谢物 2 (m/z 319.12657) ChemSpider 搜索结果与 ACD 软件匹配结果

### 3.2 分析多个样品中利培酮、9-羟基利培酮、氟伏沙明及其代谢物

对含有利培酮、9-羟基利培酮和氟伏沙明药物的样本进行测试，并列出了利培酮、氟伏沙明及其代谢物的质量数精度与强度。即使质量数强度不同，质量数偏差都是 < 2 ppm。

表 3. 多个样品中利培酮、9-羟基利培酮的质量准确度及其强度

样本编号	利培酮 (理论 m/z 411.21908)			9-羟基利培酮 (理论 m/z 427.21400)		
	实测 m/z	偏差	峰面积	实测 m/z	偏差	峰面积
1 号	411.21922	0.34	206550	427.21410	0.25	290987
2 号	411.21923	0.36	223013	427.21425	0.60	235650
3 号	411.21940	0.78	153289	427.21439	0.92	179631
4 号	411.21921	0.29	179868	427.21411	0.24	175915
11 号	411.21974	1.56	33709	427.21472	1.51	306716

表 4. 多个样品中氟伏沙明及其代谢物的质量准确度及其强度

样本编号	氟伏沙明 (理论 m/z 319.16279)			氟伏沙明代谢物 1 (理论 m/z 361.17335)			氟伏沙明代谢物 2 (理论 m/z 319.12640)		
	实测 m/z	偏差	峰面积	实测 m/z	偏差	峰面积	实测 m/z	偏差	峰面积
1 号	319.16267	-0.37	239073	361.17339	0.10	239775	319.12632	-0.26	62926
4 号	319.16305	0.26	808066	361.17362	0.74	791777	319.12658	0.55	392141
13 号	319.16328	0.63	2500583	361.17391	1.10	1074572	319.12678	0.62	337791

### 3.3 14 个样本中定性出抗精神病药物与代谢物的结果汇总

参考 3.1 定性手段，从 14 个样本中定性出 23 种抗精神病药物及其代谢物，结果见表 5。

表 5. 23 种精神病药物及其代谢物的定性结果

编号	化合物	保留时间	理论 m/z[M+H] <sup>+</sup>	分子式	代谢途径
1	利培酮	4.71	411.21908	C23H27N4O2F	-
2	9-羟基利培酮	4.65	427.21400	C23H27N4O3F	氧化
3	氟伏沙明	5.30	319.16279	C15H21N2O2F3	-

4	氟伏沙明-代谢物 1	6.53	361.17335	C17H23N2O3F3	乙酰化
5	氟伏沙明-代谢物 3	4.95	319.12640	C14H17N2O3F3	氧化+去甲基+脱氢
6	阿立哌唑	5.32	448.15531	C23H27N3O2Cl2	-
7	阿立哌唑-代谢物 1	5.20	446.13966	C23H25N3O2Cl2	脱氢化
8	奥氮平	3.60	313.14814	C17H20N4S	-
9	奥氮平-代谢物 1*	4.51	329.14306	C17H20N4OS	氧化
10	阿普唑仑	5.72	309.09020	C17H13ClN4	-
11	舍曲林	5.49	306.08110	C17H17Cl2N	-
12	舍曲林-代谢物 1*	5.42	292.06543	C16H14Cl2N	去甲基化
13	舍曲林-代谢物 2	6.29	498.10808	C23H25NO7Cl2	氧化+葡萄糖醛酸化
14	舍曲林-代谢物 3	6.21	350.07153	C18H17NO2Cl2	-
15	舍曲林-代谢物 4*	6.67	306.04537	C16H13NOCl2	氧化+去甲基+脱氢
16	舍曲林-代谢物 5*	6.07	336.05551	C17H15NO2Cl2	羧基化
17	舍曲林-代谢物 6*	6.02	484.09243	C22H23NO7Cl2	去甲基+氧化+葡萄糖醛酸化
18	艾司西酞普兰	8.68	325.17110	C20H21FN2O	-
19	艾司西酞普兰-代谢物 1	5.06	311.15540	C19H19FN2O	去甲基化
20	氨磺必利	4.24	370.17950	C17H27N3O4S	-
21	齐拉西酮	4.97	413.11974	C21H21ClN4OS	-
22	齐拉西酮-代谢物 1*	5.76	429.11465	C21H21N4O2SCl	氧化
23	齐拉西酮-代谢物 2*	4.187	443.09392	C21H19N4O3SCl	羧基化

备注：“\*”：响应较弱，无法对二级碎片进行分析；仅通过 MS1 来推测的结果。

23 种药物及其代谢物在 14 个样本中 MS<sup>1</sup> 质量数偏差分布如图 10 所示，均在 2 ppm 以内；这些药物在样本中的具体检出结果如表 6 所示。

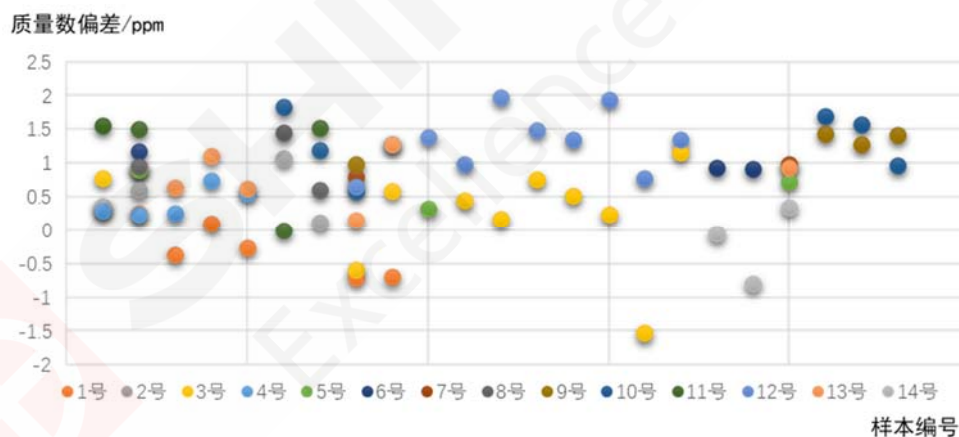


图 10. 14 个样本中 23 种代谢物质量数偏差的分布图

表 6. 23 种药物及其代谢物在 14 个样本中的检出结果 (●表示检出)

No.	化合物	理论 m/z [M+H] <sup>+</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	利培酮	411.21908	●	●	●	●							●			
2	9-羟基利培酮	427.21400	●	●	●	●	●	●		●			●			
3	氟伏沙明	319.16279	●			●										●



如图 11 所示。

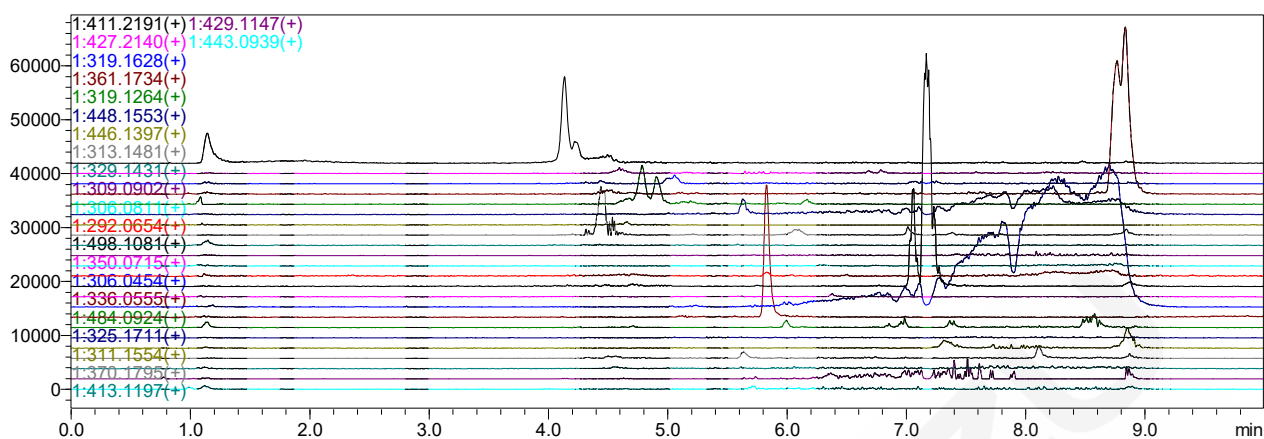


图 11. 空白血清的 MIC 图

#### 4. 结论

本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用仪定性分析临床病人血清中精神病药物及其代谢；从 14 个临床血清样本中定性分析出 10 种常见的抗精神病药物和 13 种其相关代谢物，定性出的 10 种原药与给药情况基本吻合。岛津 LCMS-9030 高分辨质谱具有质量数准确性高，一级质谱数的偏差均在 2 ppm 以内；分子式预测软件、ACD manager 软件等多元化的辅助定性软件，可以简单、快速的进行定性分析；为临床监控药物的快速定性分析提供参考。

## 第 3 章 Q-TOF 在食品及环境领域中的应用

作为一种正在发展的分析检测手段，UHPLC-QTOF-MS 技术在灵敏度、分辨率、分析速度及采集信息等方面都有着巨大的优势，结合 LabSolutions Insight™ Explore 软件强大的定性和定量分析能力，目前这种技术已经被广泛应用在了对食品及环境行业的检测当中。

LCMS-9030/9050 在农药和兽药残留检测的应用。随着“瘦肉精”和“孔雀石绿”事件等食品安全相关问题的频发，蔬果和动物中的药物滥用问题成为国内外学者广泛关注的热点，也成为食品安全领域的重要内容。我国药物残留检测标准主要是对目标物的定向筛查，效率较低，难以全面筛查。用 UHPLC-QTOF-MS 进行畜禽产品兽药残留检测，参数设定简单，适用于非定向化合物和未知化合物筛选。在 LabSolutions Insight™ Explore 软件中，利用 Formula Predictor 分子式预测功能进行了同位素丰度评价和分子式预测，结合 LabSolutions MS<sup>n</sup> 质谱库功能，构建了 UHPLC-Q-TOF 农药和兽药快速筛查质谱数据库，不仅提高了筛查效率和准确率，还大大缩短了兽药和农药残留的分析时间，为食品安全提供重要技术支撑。

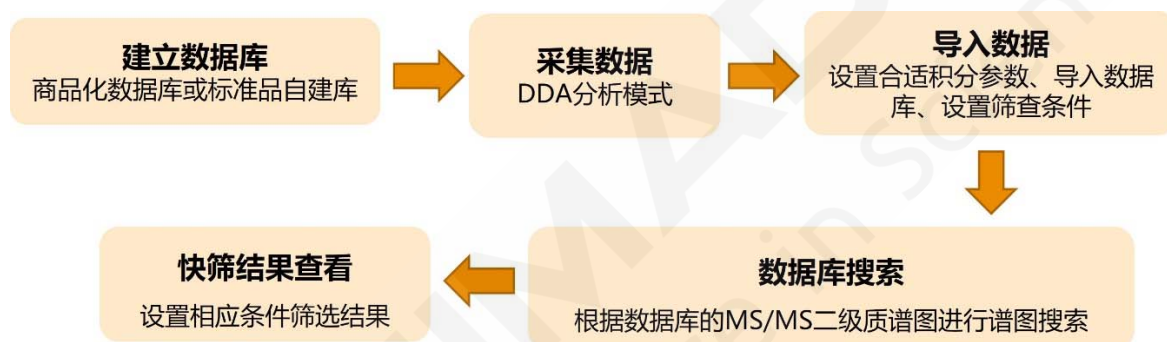


图 1. 搜库快筛的基本思路

LCMS-9030/9050 在抗生素残留检测的应用。抗生素是目前世界上应用最为广泛的药物之一，大量抗生素的使用，不可避免地给自然环境造成巨大的压力。通常抗生素浓度在痕量水平 (ng/mL)，目前普遍采用三重四极杆液质联用法检测水中的抗生素，此方法灵敏度高，但是该方法需要在目标化合物的标准品物质基础上建立分析方法。岛津 LCMS-9030 建立了快速定性筛查水中 15 种抗生素残留的方法。该方法分析时间仅为 10 min，检出限在 0.01 ng/mL ~ 0.07 ng/mL，一级质谱质量数准确度误差小于 1.5 ppm，同位素分布真实准确，二级谱库匹配度高，可适用于快速定性筛查水中多种抗生素。

本章内容主要介绍 UHPLC-QTOF-MS 对食品及环境领域的非法物质（农残、兽残、抗生素等）的快速筛查和定量检测，供相关行业从业人员参考。

# LCMS-9030快速筛查及定量检测蔬菜中多农药残留

**摘要:** 本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 建立了一种快速定性筛查定量检测蔬菜中 49 种例行监测农药残留的方法。该方法前处理简便快捷, 样品经乙腈提取, 盐析离心过滤后直接进样; 分析速度快, 检测时间仅 15 分钟; 灵敏度高, 检出限在 0.01 ng/mL - 0.75 ng/mL; 线性关系良好, 相关系数  $r$  均大于 0.99; 精密度高, RSD 均小于 5%; 具有优异的质量数准确性, 一级质谱质量数准确性小于 1 ppm, 同位素分布真实准确, 二级谱库匹配度高。该方法简便快速、灵敏度高、定性筛查及定量检测准确性及稳定性好, 可适用于快速定性筛查及定量检测蔬菜中多种农药残留。

**关键词:** LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 蔬菜 农药残留

《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中将食品农药最大残留限量指标增加到3650项, 新增1357项。针对蔬菜、水果、茶叶等鲜食农产品农药残留超标及多发、易发问题, 重点规定了鲜食农产品中农药残留限量, 为115个蔬菜种(类)和85个水果种(类)制定了2495项限量标准。面对大量的受管控农药和很低的允许残留量, 开发简便、快速、准

确、高灵敏度分析方法显得更为迫切。

食品中的农药残留筛查是食品安全中要求最苛刻的应用之一。本文利用岛津LCMS-9030超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 建立了一种快速定性筛查及定量检测蔬菜中49种例行监测农药残留的方法。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置: LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A<sub>SR</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪, LabSolutions V 5.96 工作站软件。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱	: Shim-pack GIST, 2.1 mm I.D. × 100 mm L., 2.0 μm, P/N: 227-30001-04		
流 动 相	: A: 1mM 醋酸铵水溶液; B: 甲醇		
进 样 体 积	: 1 μL	流 速	: 0.4 mL/min
柱 温	: 45 °C	洗 脱 方 式	: 梯度洗脱 (表 1)

#### 质谱条件

离 子 源	: ESI (+/-)	接 口 温 度	: 300 °C
接 口 电 压	: +4.5 kV/ -3.0 kV	D L 温 度	: 150 °C
雾 化 气	: 氮气 3.0 L/min	加 热 块 温 度	: 500 °C
干 燥 气	: 氮气 10.0 L/min	扫 描 模 式	: MS1 SCAN (m/z 130-1000)
加 热 气	: 空气 10.0 L/min		MS2 DDA (m/z 50-950)

表 1. 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	10
1.00	Pumps	Pump B Conc.	30
10.00	Pumps	Pump B Conc.	95
12.00	Pumps	Pump B Conc.	95
12.01	Pumps	Pump B Conc.	10
15.00	Controller	Stop	

## 2. 样品前处理

韭菜样品处理：称取 10.0 g 韭菜样品于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈，振荡提取 30 min 后，加入 5.0 g 氯化钠，剧烈振荡 1 min，以 5000 r/min 离心 3 min 后，取上层乙腈相，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，滤液用乙腈稀释 5 倍后待测。本实验韭菜加标样品的加标浓度为 100 ng/mL。

标准溶液配制：将 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合标准溶液使用乙腈逐级稀释成 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL 和 100.0 ng/mL、200.0 ng/mL 的不同浓度的标准样品，用于线性关系、检出限、定量限等考察。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 农药混标准质量数提取结果

按表 2 中 49 种例行监测农药理论  $m/z$  提取 5 ng/mL 49 种农药混标 EIC 谱图，如图 1 所示。

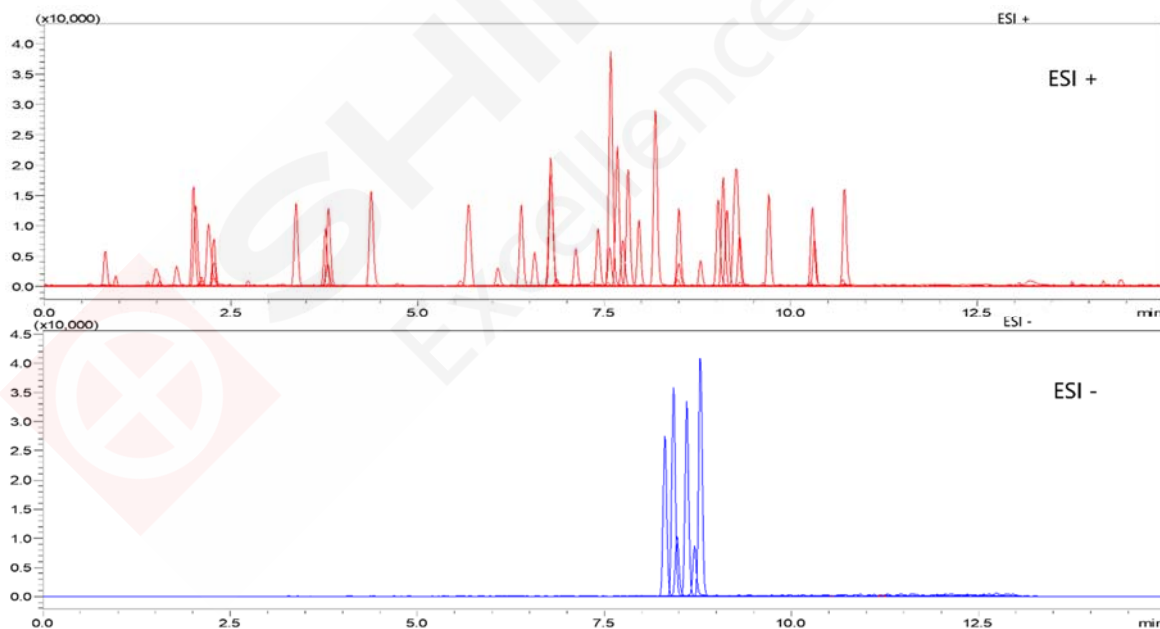
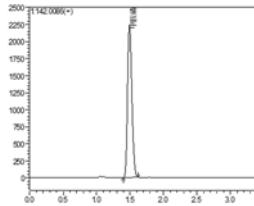


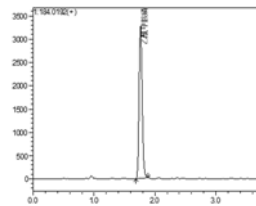
图 1. 5 ng/mL 49 种农药混标 EIC

### 3.2 定性筛查结果

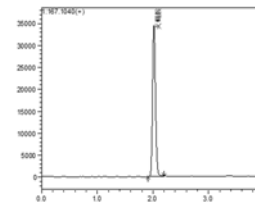
#### 3.2.1 韭菜加标样品（加标浓度 100 ng/mL）中提取得到的农药



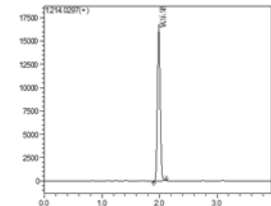
甲胺磷



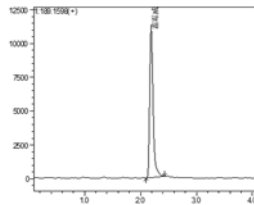
乙酰甲胺磷



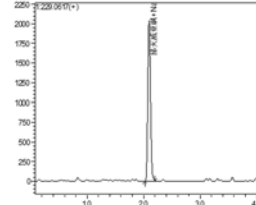
灭蝇胺



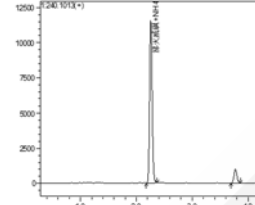
氧乐果



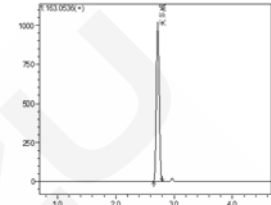
霜霉威



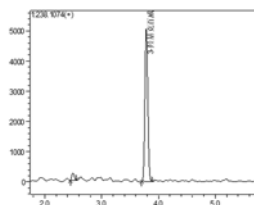
涕灭威亚砷



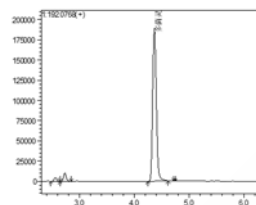
涕灭威砷



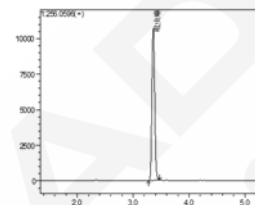
灭多威



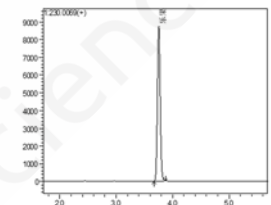
3-羟基克百威



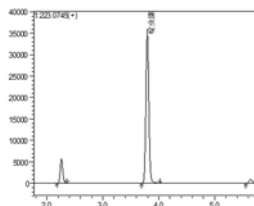
多菌灵



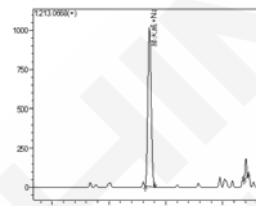
吡虫啉



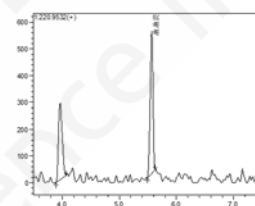
乐果



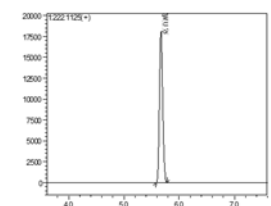
啶虫脒



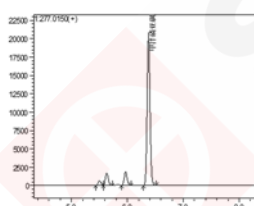
涕灭威



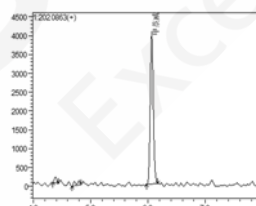
敌敌畏



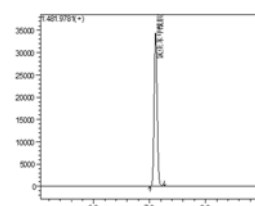
克百威



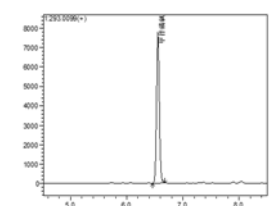
甲拌磷亚砷



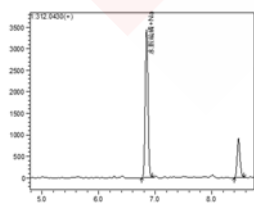
甲萘威



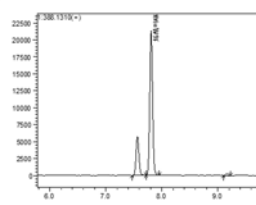
氯吡脞



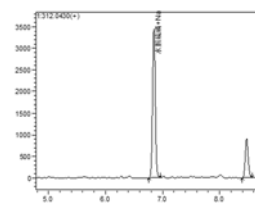
甲霜灵



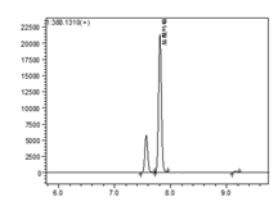
氯虫苯甲酰胺



甲拌磷砷



水胺硫磷



烯酰吗啉

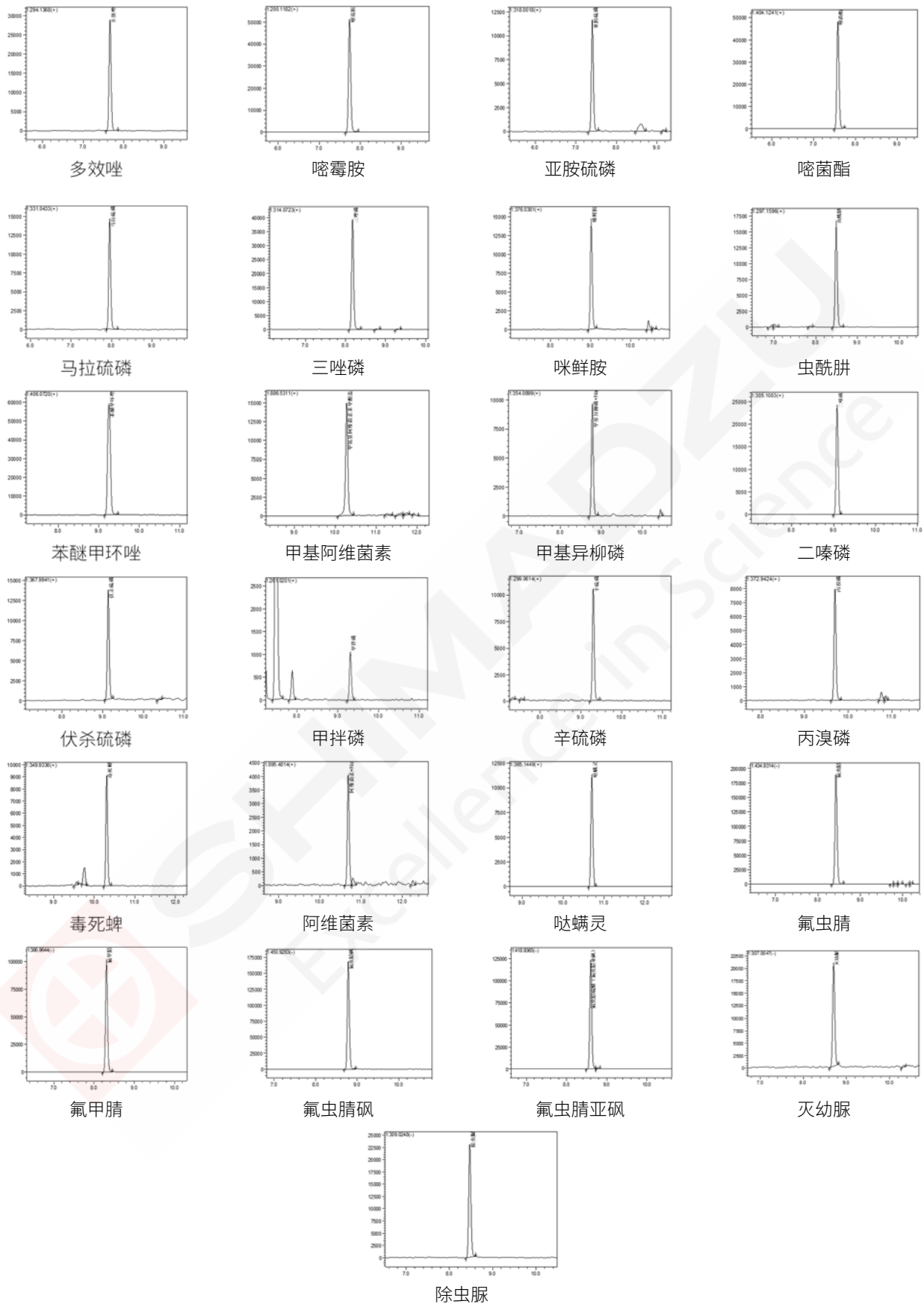


图 2. 韭菜加标样品中提取得到的 49 种农药的 EIC 图

使用该方法建立的例行监测农药筛查列表，从韭菜加标样品中共准确提取到 49 种农药的 EIC 图，经确认，其保留时间与列表中混标的保留时间一致。

### 3.2.2 MS<sup>1</sup> 质量数准确性评价

表 2. 韭菜加标样品中筛查得到的 49 种农药的质量数相对误差

编号	化合物	保留时间	理论 m/z	实测 m/z	相对误差 (ppm)
1	甲胺磷	1.401	142.008612	142.00853	-0.58
2	乙酰甲胺磷	1.718	184.019177	184.01911	-0.36
3	灭蝇胺	1.957	167.103971	167.10398	0.05
4	氧乐果	1.957	214.029741	214.02978	0.18
5	霜霉威	2.089	189.159754	189.15969	-0.34
6	涕灭威亚砷	2.073	229.061735	229.06184	0.46
7	涕灭威砷	2.277	240.101253	240.10133	0.32
8	灭多威	2.690	163.053575	163.05360	0.15
9	3-羟基克百威	3.736	238.107385	238.10731	-0.31
10	多菌灵	4.309	192.076753	192.07669	-0.33
11	吡虫啉	3.331	256.059579	256.05962	0.16
12	乐果	3.707	230.006897	230.00708	0.80
13	啶虫脒	3.764	223.074501	223.07455	0.22
14	涕灭威+Na	4.669	213.066820	213.06703	0.99
15	敌敌畏	5.491	220.953177	220.95331	0.60
16	克百威	5.608	222.112470	222.11268	0.95
17	甲拌磷亚砷	6.323	277.015019	277.01509	0.26
18	甲萘威	5.977	202.086255	202.08622	-0.17
19	氯吡脞	6.699	248.058516	248.05856	0.18
20	甲霜灵	6.699	280.154335	280.15455	0.77
21	氯虫苯甲酰胺	7.041	481.978068	481.97828	0.44
22	甲拌磷砷	6.518	293.009934	293.00987	-0.22
23	水胺硫磷	6.780	312.042987	312.04299	0.01
24	烯酰吗啉	7.772	388.131012	388.13125	0.61
25	多效唑	7.584	294.136767	294.13695	0.62
26	啉霉胺	7.697	200.118224	200.11823	0.03
27	亚胺硫磷	7.358	318.001812	318.00195	0.43
28	啉菌酯	7.508	404.124097	404.12435	0.63
29	马拉硫磷	7.885	331.043343	331.04337	0.08
30	三唑磷	8.092	314.072275	314.07231	0.11
31	咪鲜胺	8.995	376.038086	376.03798	-0.28
32	虫酰肼	8.431	375.204300	375.20435	0.13
33	苯醚甲环唑	9.202	406.071973	406.07219	0.53
34	甲基阿维菌素	10.312	886.531118	886.53190	0.88
35	甲基异柳磷	8.732	354.089937	354.09018	0.69
36	二嗪磷	9.033	305.108326	305.10811	-0.71
37	伏杀硫磷	9.089	367.994140	367.99431	0.46
38	甲拌磷	9.227	261.020105	261.02022	0.44
39	辛硫磷	9.240	299.061376	299.06125	-0.42

40	丙溴磷	9.654	372.942417	372.94245	0.09
41	毒死蜱	10.294	349.933560	349.93361	0.14
42	阿维菌素	10.651	895.481429	895.48145	0.02
43	哒螨灵	10.689	365.144888	365.14468	-0.57
44	氟虫腈	8.413	434.931430	434.93119	-0.55
45	氟甲腈	8.327	386.964445	386.96424	-0.53
46	氟虫腈砒	8.818	450.926345	450.92598	-0.81
47	氟虫腈亚砒	8.626	418.936515	418.93617	-0.82
48	灭幼脲	8.701	307.004657	307.00454	-0.38
49	除虫脲	8.511	309.024785	309.02462	-0.53

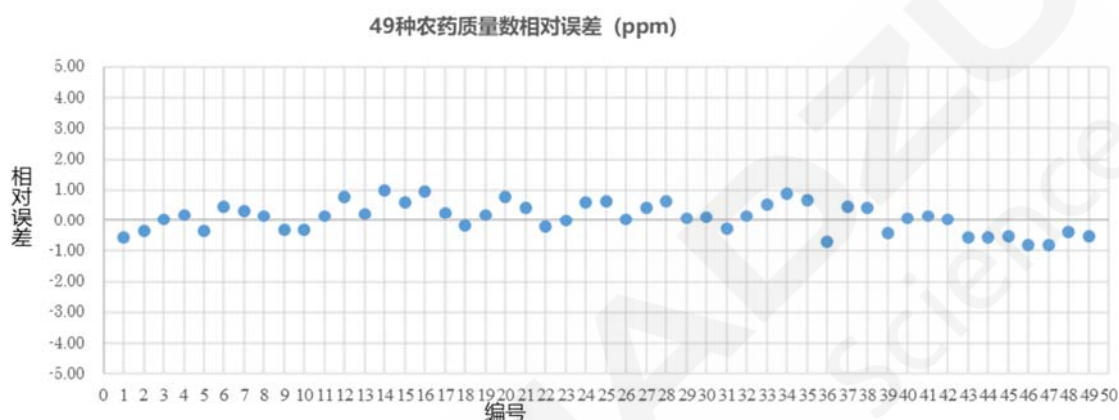


图 3. 韭菜加标样品中 49 种农药质量数准确性评价结果

通过 MS<sup>1</sup> 质量数准确性评价, 结果显示 49 种农药检测得到的质量数与理论质量数的相对误差均在 1 ppm 以内, 说明检测准确性非常好, 定性结果可靠。

### 3.2.3 同位素分布评价

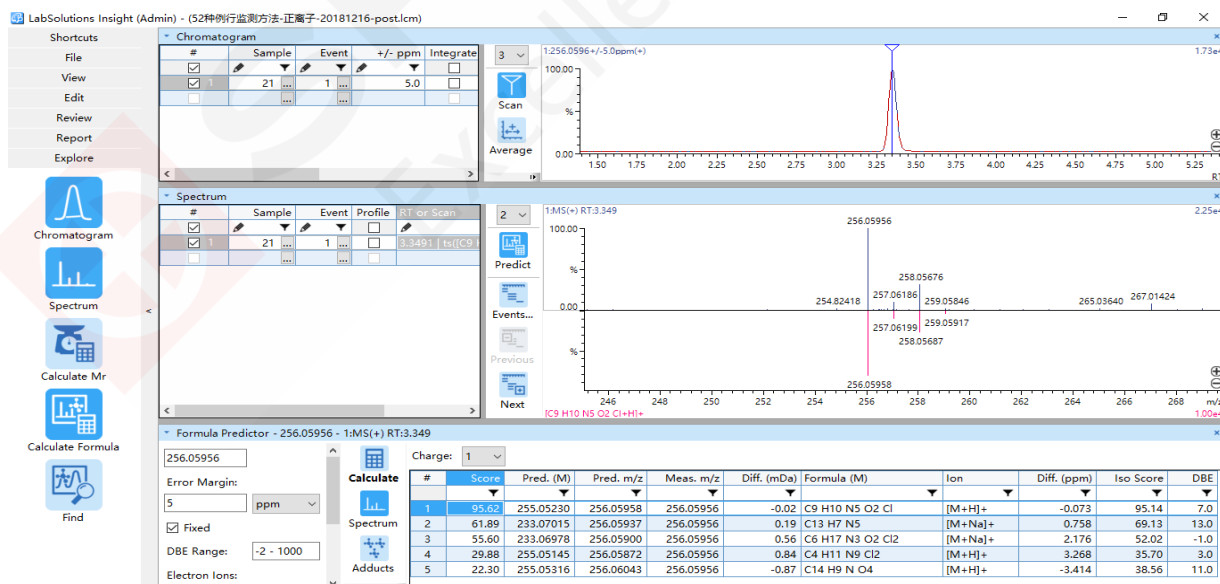


图 4. 吡虫啉同位素分布评价结果

同位素分布评价: 结果显示实测与理论同位素分布匹配度达到 95.14%, 所预测的排名第一的分子式与吡虫啉一致。

### 3.2.4 二级质谱库搜索匹配评价

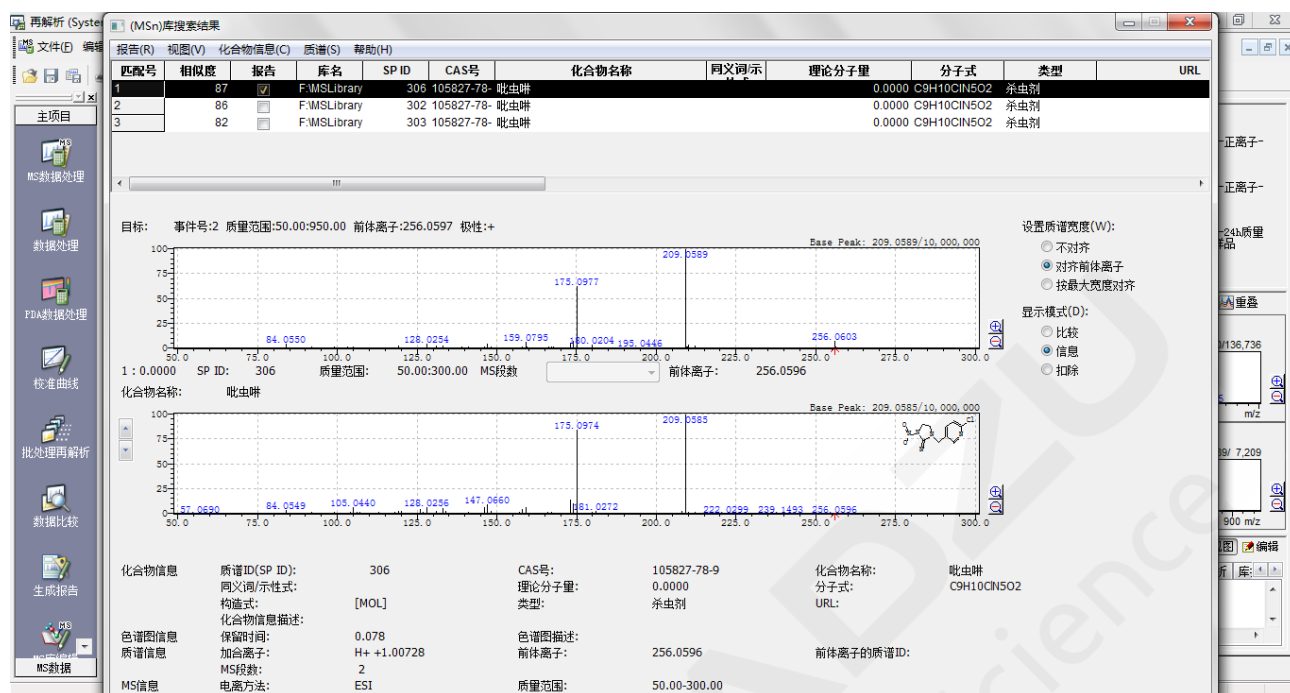


图 5. 吡虫啉二级质谱库搜索匹配评价

创建了 49 种农药的 MS<sup>2</sup> 二级质谱库，经过二级质谱库搜索，韭菜加标样品中检测的吡虫啉 MS<sup>2</sup> 质谱图与谱库中不同 CE 能量的质谱图相似度可达 80% 以上。

综合保留时间、MS<sup>1</sup> 质量数准确度、同位素分布、二级质谱库匹配等评价结果，可判定经例行监测农药筛查列表提取出的色谱峰与对应的农药品种一致。

## 3.3 定量检测结果

### 3.3.1 检测灵敏度评价

表 3. 49 种农药检出限汇总 (Peak to Peak)

编号	化合物名称	检出限 ng/mL	编号	化合物名称	检出限 ng/mL
1	甲胺磷	0.04	25	多效唑	0.02
2	乙酰甲胺磷	0.09	26	啉霉胺	0.05
3	灭蝇胺	0.13	27	亚胺硫磷	0.05
4	氧乐果	0.02	28	啉菌酯	0.07
5	霜霉威	0.16	29	马拉硫磷	0.11
6	涕灭威亚砷	0.39	30	三唑磷	0.09
7	涕灭威砷	0.12	31	咪鲜胺	0.06
8	灭多威	0.03	32	虫酰肼	0.10
9	3-羟基克百威	0.36	33	苯醚甲环唑	0.02
10	多菌灵	0.03	34	甲氨基阿维菌素	0.04
11	吡虫啉	0.09	35	甲基异柳磷	0.16
12	乐果	0.08	36	二嗪磷	0.01
13	啉虫脒	0.05	37	伏杀硫磷	0.08
14	涕灭威	0.52	38	甲拌磷	0.75

15	敌敌畏	0.75	39	辛硫磷	0.20
16	克百威	0.31	40	丙溴磷	0.05
17	甲拌磷亚砷	0.04	41	毒死蜱	0.06
18	甲萘威	0.49	42	阿维菌素	0.50
19	氯吡啶	0.03	43	哒螨灵	0.01
20	甲霜灵	0.01	44	氟虫腈	0.05
21	氯虫苯甲酰胺	0.08	45	氟甲腈	0.01
22	甲拌磷砷	0.09	46	氟虫腈砷	0.02
23	水胺硫磷	0.60	47	氟虫腈亚砷	0.02
24	烯酰吗啉	0.12	48	灭幼脲	0.39
			49	除虫脲	0.14

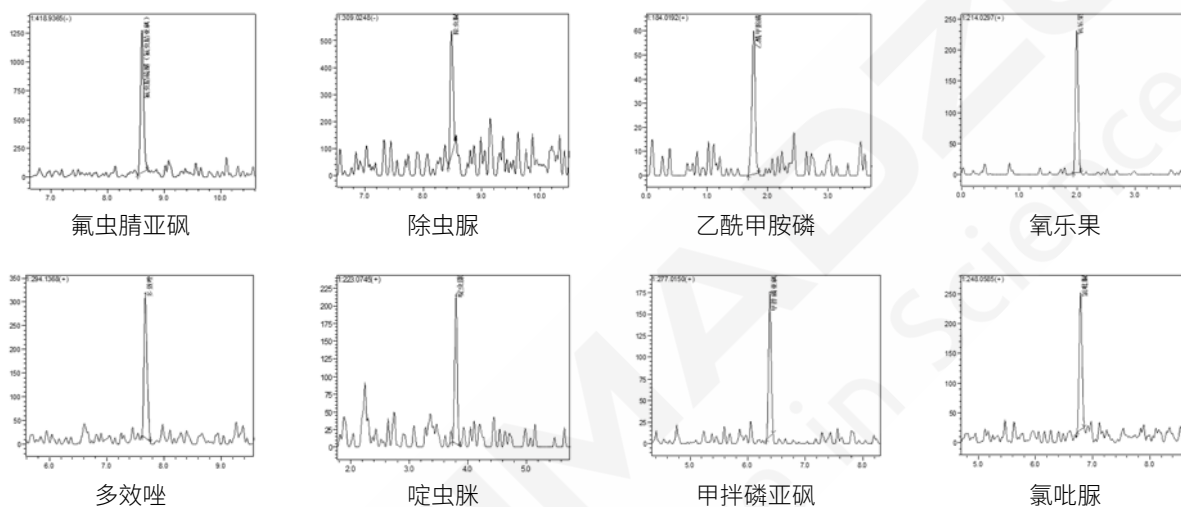


图 6. 0.1 ng/mL 部分农药混标 EIC 图

### 3.3.2 线性关系考察

将配制的不同浓度的标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用 LabSolutions Insight Explore 多数数据分析软件对数据进行处理，外标法制作校准曲线，线性良好，线性方程、相关系数和线性范围见表 4，部分农药的线性处理视图见图 7。

表 4. 线性关系及检出限

编号	化合物名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 ng/mL	检出限 ng/mL
1	甲胺磷	$Y=(2945.77)X(-728.732)$	$r=0.9993$	0.5-100	0.04
2	乙酰甲胺磷	$Y=(2677.55)X+(644.675)$	$r=0.9993$	0.5-100	0.09
3	灭蝇胺	$Y=(9089.28)X+(158.331)$	$r=0.9997$	0.1-20	0.13
4	氧乐果	$Y=(9973.93)X+(277.856)$	$r=0.9990$	0.1-50	0.02
5	霜霉威	$Y=(8413.94)X+(512.111)$	$r=0.9997$	0.5-100	0.16
6	涕灭威亚砷	$Y=(642.639)X+(143.659)$	$r=0.9997$	0.5-200	0.39
7	涕灭威砷	$Y=(4894.64)X+(782.660)$	$r=0.9997$	0.5-100	0.12
8	灭多威	$Y=(615.957)X+(424.367)$	$r=0.9998$	0.5-200	0.03
9	3-羟基克百威	$Y=(2648.93)X+(326.172)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.36
10	多菌灵	$Y=(11416.2)X+(71.0508)$	$r=0.9997$	0.1-50	0.03
11	吡虫啉	$Y=(9311.22)X+(1177.09)$	$r=0.9996$	0.5-50	0.09

12	乐果	$Y=(6543.48)X+(391.117)$	$r=0.9999$	0.1-50	0.08
13	啶虫脒	$Y=(8845.61)X+(298.502)$	$r=0.9994$	0.1-50	0.05
14	涕灭威	$Y=(536.243)X+(322.371)$	$r=0.9999$	1-200	0.52
15	敌敌畏	$Y=(950.784)X+(560.425)$	$r=0.9996$	1-200	0.75
16	克百威	$Y=(8982.81)X+(5395.41)$	$r=0.9995$	0.5-50	0.31
17	甲拌磷亚砷	$Y=(8485.83)X+(405.494)$	$r=0.9998$	0.1-100	0.04
18	甲萘威	$Y=(2403.33)X+(383.640)$	$r=0.9997$	0.5-200	0.49
19	氯吡啶	$Y=(13778.7)X+(619.311)$	$r=0.9999$	0.1-50	0.03
20	甲霜灵	$Y=(14761.2)X+(2960.26)$	$r=0.9997$	0.1-50	0.01
21	氯虫苯甲酰胺	$Y=(5196.93)X+(1737.31)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.08
22	甲拌磷砷	$Y=(4176.99)X+(899.458)$	$r=0.9991$	0.5-200	0.09
23	水胺硫磷	$Y=(1881.85)X+(1853.31)$	$r=0.9997$	0.5-200	0.60
24	烯酰吗啉	$Y=(14790.7)X+(3338.56)$	$r=0.9993$	0.5-50	0.12
25	多效唑	$Y=(15195.8)X+(540.844)$	$r=0.9995$	0.1-50	0.02
26	嘧霉胺	$Y=(5445.90)X+(696.557)$	$r=0.9997$	0.5-100	0.05
27	亚胺硫磷	$Y=(6956.28)X+(1651.98)$	$r=0.9996$	0.5-100	0.05
28	啉菌酯	$Y=(25778.6)X+(1492.92)$	$r=0.9995$	0.1-50	0.07
29	马拉硫磷	$Y=(7664.73)X+(943.469)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.11
30	三唑磷	$Y=(19060.9)X+(570.825)$	$r=0.9988$	0.1-50	0.09
31	咪鲜胺	$Y=(10086.6)X+(1892.45)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.06
32	虫酰肼	$Y=(8826.12)X+(303.637)$	$r=0.9990$	0.5-50	0.10
33	苯醚甲环唑	$Y=(18326.9)X+(2184.90)$	$r=0.9996$	0.1-100	0.02
34	甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	$Y=(10525.5)X+(3274.58)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.04
35	甲基异柳磷	$Y=(3845.00)X+(1479.92)$	$r=0.9999$	0.5-200	0.16
36	二嗪磷	$Y=(12020.6)X+(64.1595)$	$r=0.9993$	0.5-50	0.01
37	伏杀硫磷	$Y=(7816.49)X+(1668.19)$	$r=0.9999$	0.5-100	0.08
38	甲拌磷	$Y=(766.204)X+(605.861)$	$r=0.9999$	1-200	0.75
39	辛硫磷	$Y=(5813.93)X+(823.007)$	$r=0.9995$	0.5-100	0.20
40	丙溴磷	$Y=(9916.18)X+(1993.14)$	$r=0.9991$	0.5-100	0.05
41	毒死蜱	$Y=(5499.03)X+(1720.71)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.06
42	阿维菌素	$Y=(2158.54)X+(7417.24)$	$r=0.9997$	1-200	0.50
43	哒螨灵	$Y=(10423.7)X+(1949.73)$	$r=0.9986$	0.5-50	0.01
44	氟虫腈	$Y=(50195.7)X+(1097.82)$	$r=0.9996$	0.1-20	0.05
45	氟甲腈	$Y=(36029.0)X+(518.626)$	$r=0.9999$	0.1-20	0.01
46	氟虫腈砷	$Y=(56772.8)X+(1039.33)$	$r=0.9992$	0.1-20	0.02
47	氟虫腈亚砷	$Y=(44488.0)X+(233.093)$	$r=0.9997$	0.1-20	0.02
48	灭幼脲	$Y=(7012.05)X+(1553.52)$	$r=0.9998$	0.5-100	0.39
49	除虫脲	$Y=(7698.23)X+(1989.32)$	$r=0.9993$	0.5-100	0.14

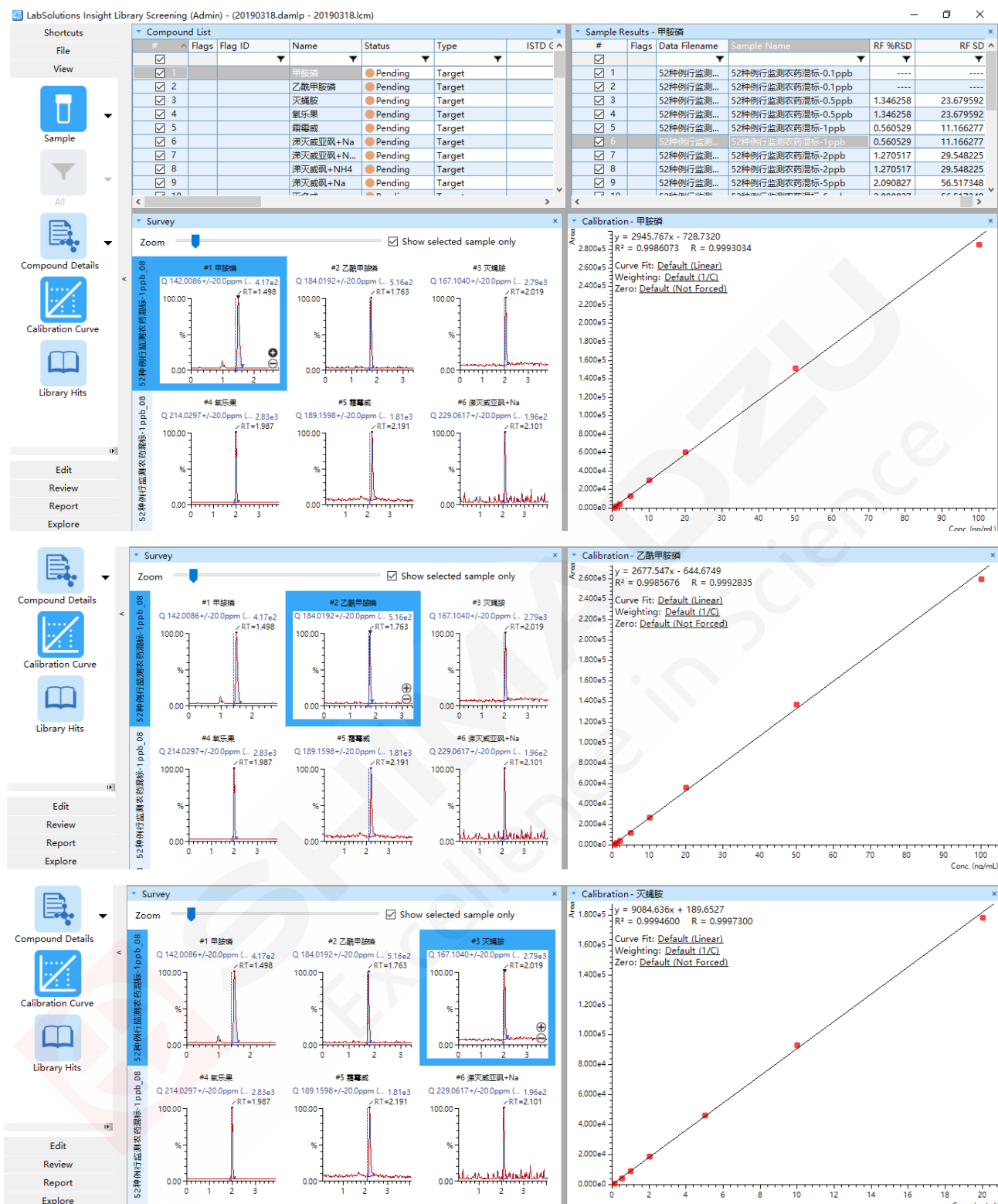


图 7. 部分农药线性关系处理视图

### 3.3.3 韭菜加标样品检测精密度考察

对韭菜加标样品按照 2 中处理方法处理后，连续 6 次进样，考察仪器的精密度，部分农药的浓度重复性结果如图 8 所示。其相对标准偏差分别在 0.45 - 2.08% 之间，仪器精密度良好。

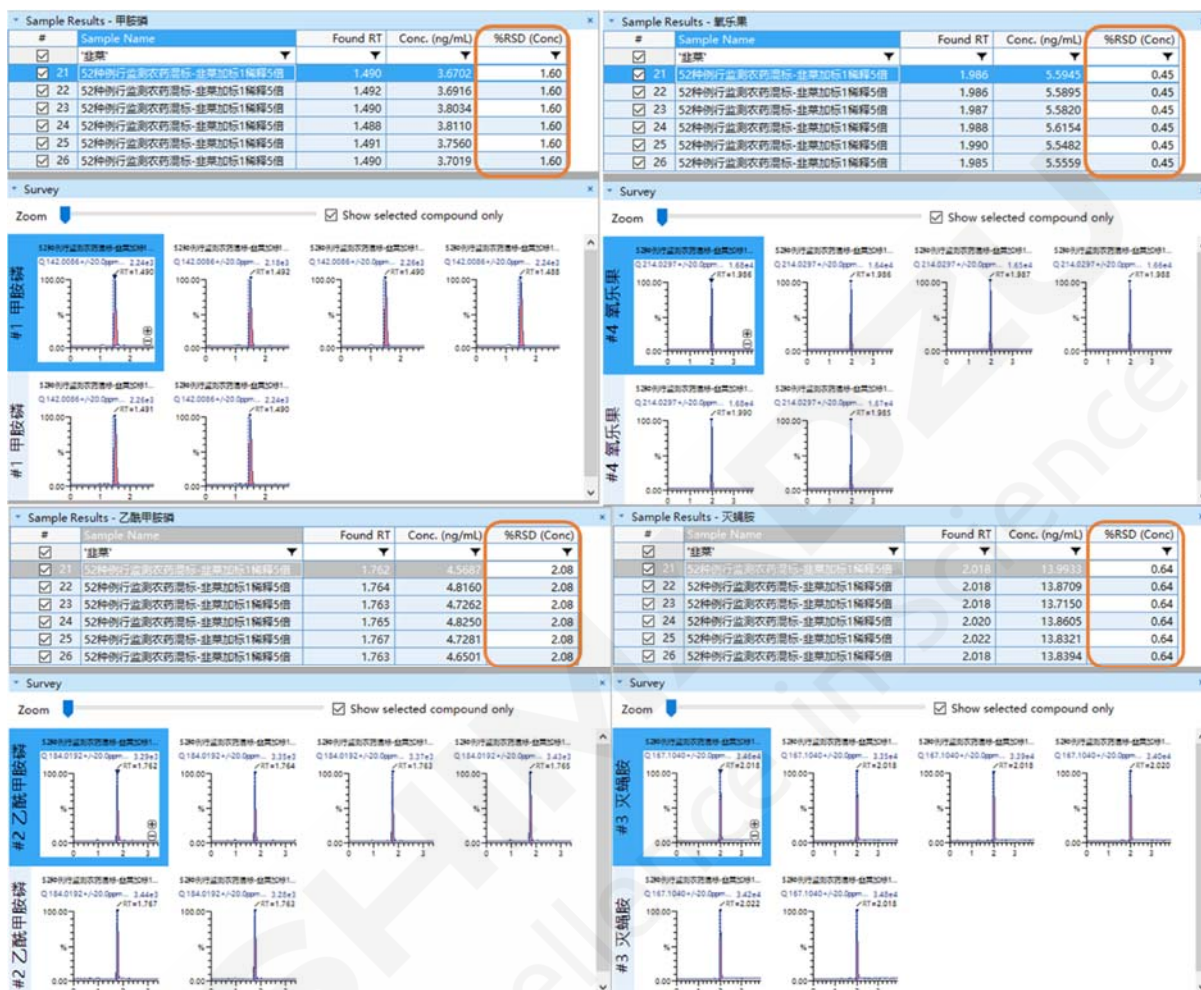


图 8. 韭菜加标样品中部分农药检测精密度 (棕色框内为%RSD 值)

## 4. 结论

本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用仪，建立了一种快速定性筛查定量检测蔬菜中 49 种例行监测农药残留的方法。通过简便快捷的样品前处理以及快速准确的定性定量检测方法，对韭菜加标样品中的多种例行监测农药成分进行了分析，并对该方法进行了整体评估。评估结果显示：该方法分析速度快，检测时间仅 15 分钟；灵敏度高，检出限在 0.01 ng/mL - 0.75 ng/mL；线性关系良好，相关系数  $r$  均大于 0.99；精密度良好，RSD 均小于 5%；具有优异的质量数准确性，一级质谱质量数准确度均小于 1 ppm，同位素分布真实准确，二级谱库匹配度高。经综合考察，该方法简便快速、灵敏度高、定性筛查及定量检测准确性及稳定性好，可适用于快速定性筛查及定量检测蔬菜中多种农药残留。

# LCMS-9030 快速筛查水中抗生素残留

**摘要：**本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱联用仪，利用其高质量准确度的特性，根据物质的理论质量数，直接对目标物进行一级质量扫描，提取目标化合物，建立一种快速定性筛查水中 15 种抗生素残留的方法。本文评估了 15 种抗生素化合物在 LCMS-9030 上分析的灵敏度和质量准确度，同时利用 LabSolutions Insight Explore 软件中 Formula Predictor 分子式预测功能进行了同位素丰度评价和分子式预测，结合 LabSolutions MS<sup>n</sup> 质谱库功能，建立 15 种抗生素化合物的二级质谱库，对水加标样品进行了二级质谱库搜索匹配评价。该方法简便快速、灵敏度高、定性筛查准确性好，可适用于快速定性筛查水中抗生素的残留。

**关键词：**LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 水 抗生素

抗生素是目前世界上应用最为广泛的药物之一，大量抗生素的使用，不可避免地给自然环境造成巨大的压力。由于工业生产、养殖、医疗及人日常生活活动等，使得环境中的抗生素通过各种途径进入水体，对水质安全及人类健康构成威胁。抗生素作为一种新型环境污染物，受到了各国普遍关注，同时也成为了研究热点。近年国内外文献报道，在城市污水、饮用水、江河湖泊以及地下水都检出抗生素。通常抗生素浓度在痕量水平 (ng/mL)，目前普遍采用三重四极杆液质联用法检测水中的抗生素，

此方法灵敏度高，但是该方法需要在目标化合物的标准品物质基础上建立分析方法，而通常在面对水中抗生素分析测试时，往往难以获得全部的抗生素标准物质，因此如能开发一种简便、快速、准确、高灵敏度且无需标准物质的快速筛查分析方法即可大大提高测试效率。

本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了一种快速定性筛查水中 15 种抗生素残留的方法。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A<sub>SR</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪，LabSolutions V 5.96 工作站软件，LabSolutions Insight Explore V 3.4（用于同位素丰度评价和分子式预测）。

### 1.2 分析条件

液相条件：

色 谱 柱 : InertSustain AQ-C18 HP 2.1 mm I.D.× 100 mm L., 3.0 μm, P/N: 5020-07416

流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液；B 相-甲醇

进 样 体 积 : 10 μL

流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 40 °C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱 (表 1)

质谱条件

离 子 源 : ESI (+)

接 口 温 度 : 300 °C



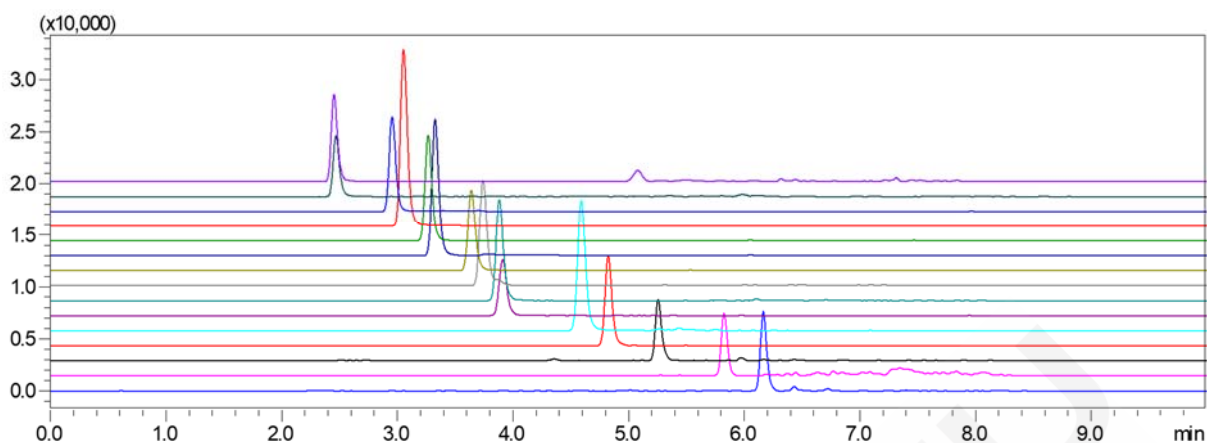


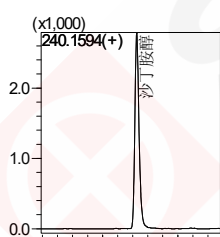
图 1. 1 ng/mL 15 种抗生素 EIC 谱图 (色谱图编号同表 2)

### 3.2 检测灵敏度

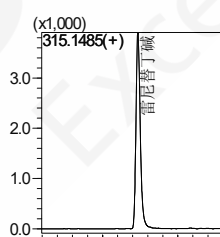
根据 15 种抗生素溶液 (1 ng/mL) 分析测试的信噪比, 计算各化合物的检出限 (S/N=3, ASTM), 计算结果如下:

表 3. 15 种抗生素检出限汇总

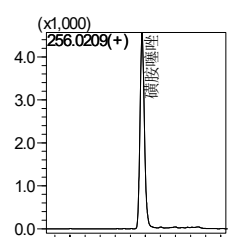
编号	化合物名称	检出限 (ng/mL)	编号	化合物名称	检出限 (ng/mL)
1	沙丁胺醇	0.06	9	沙拉沙星	0.04
2	雷尼替丁碱	0.02	10	磺胺氯吡嗪	0.03
3	磺胺噻唑	0.01	11	苯酰磺胺	0.02
4	磺胺吡啶	0.01	12	乙胺嘧啶	0.01
5	磺胺甲基嘧啶	0.01	13	苯海拉明	0.07
6	头孢氨苄	0.01	14	克拉红霉素	0.05
7	噻菌灵	0.01	15	法华林	0.02
8	双氟沙星	0.01			



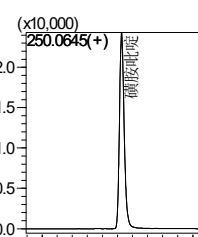
沙丁胺醇



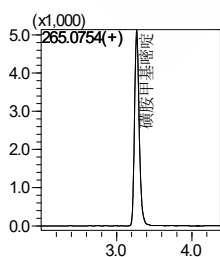
雷尼替丁碱



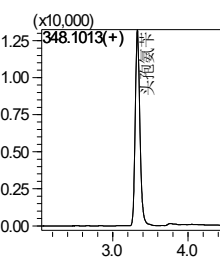
磺胺噻唑



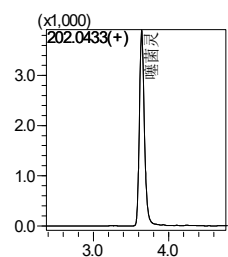
磺胺吡啶



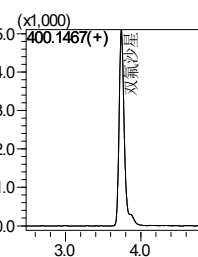
磺胺甲基嘧啶



头孢氨苄



噻菌灵



双氟沙星

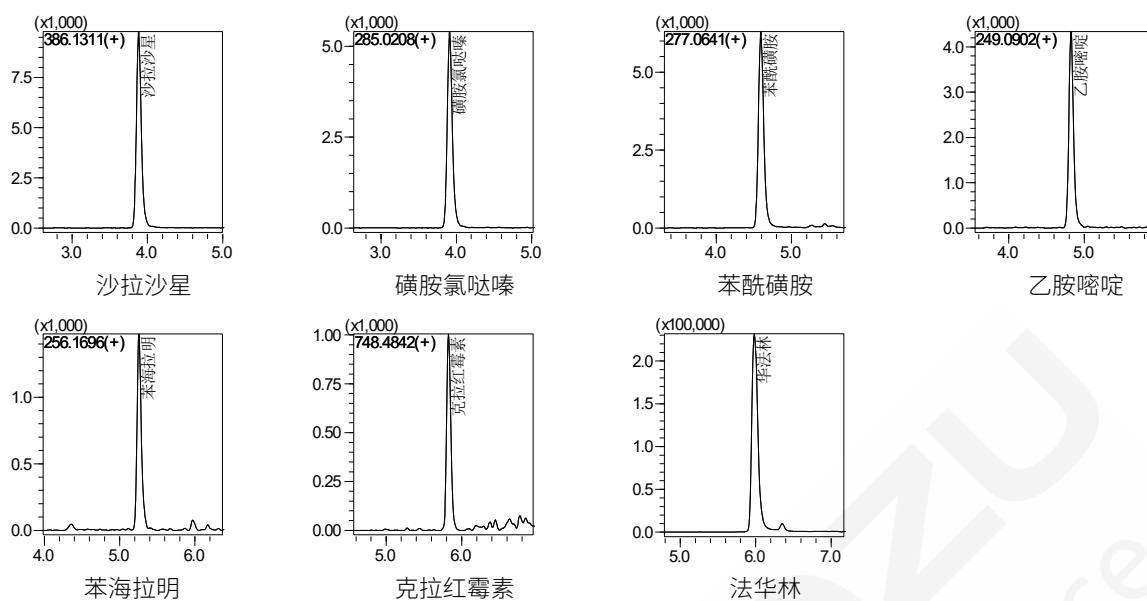


图 2. 15 种抗生素各化合物 EIC 图 (1 ng/mL)

### 3.3 MS<sup>1</sup> 质量数准确性评价

对 1 ng/mL 15 种抗生素的水加标样品溶液，进行一级 MS 扫描，根据 15 种抗生素化合物的准确质荷比信息，考察各物质的质量数准确度。从测试结果看（表 4），实测[M+H]<sup>+</sup>与理论值的绝对偏差均<1.5 ppm，优于定性的一般要求 (<5 ppm)。

表 4. 水加标样品中筛查得到的 15 种抗生素化合物的质量数相对误差

编号	化合物	保留时间(min)	理论 m/z	实测 m/z	相对误差 (ppm)
1	沙丁胺醇	2.386	240.15942	240.15931	-0.5
2	雷尼替丁碱	2.395	315.14854	315.14881	0.9
3	磺胺噻唑	2.889	256.02089	256.02107	0.7
4	磺胺吡啶	2.990	250.06447	250.06476	1.2
5	磺胺甲基嘧啶	3.201	265.07537	265.07561	0.9
6	头孢氨苄	3.259	348.10125	348.10157	0.9
7	噻菌灵	3.579	202.04334	202.04351	0.8
8	双氟沙星	3.680	400.14672	400.14701	0.7
9	沙拉沙星	3.818	386.13107	386.13143	0.9
10	磺胺氯哒嗪	3.841	285.02075	285.02092	0.6
11	苯酰磺胺	4.516	277.06414	277.06414	0
12	乙胺嘧啶	4.756	249.09015	249.09031	0.6
13	苯海拉明	5.188	256.16959	256.16985	1.0
14	克拉红霉素	5.771	748.48417	748.48515	1.3
15	法华林	5.992	309.11213	309.11172	-1.3

### 3.4 同位素分布评价

利用岛津 LabSolutions Insight Explore 中 Formula Predictor 分子式预测功能可以实现基于一级准确质荷比、同位素丰度比的匹配定性，得分在 70 分以上，可以判定为疑似目标物。使用该软件计算其同位

素丰度比例得分，设定误差范围 5 ppm，设定元素组成为 C、H、O、N、S、Cl。如鉴定沙丁胺醇，图 3 为沙丁胺醇的一级提取离子流图，图 4 为同位素丰度比与理论值的匹配度得分。结果显示， $C_{13}H_{21}NO_3$  排名第一，检索得分为 98.51 分，且与沙丁胺醇的理论元素组成一致。

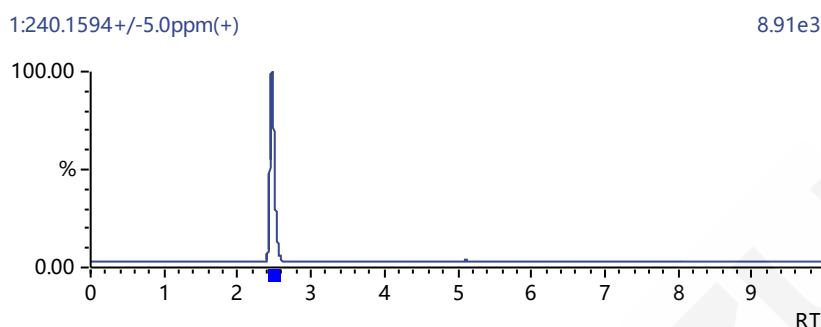


图 3. 沙丁胺醇的一级提取离子流图

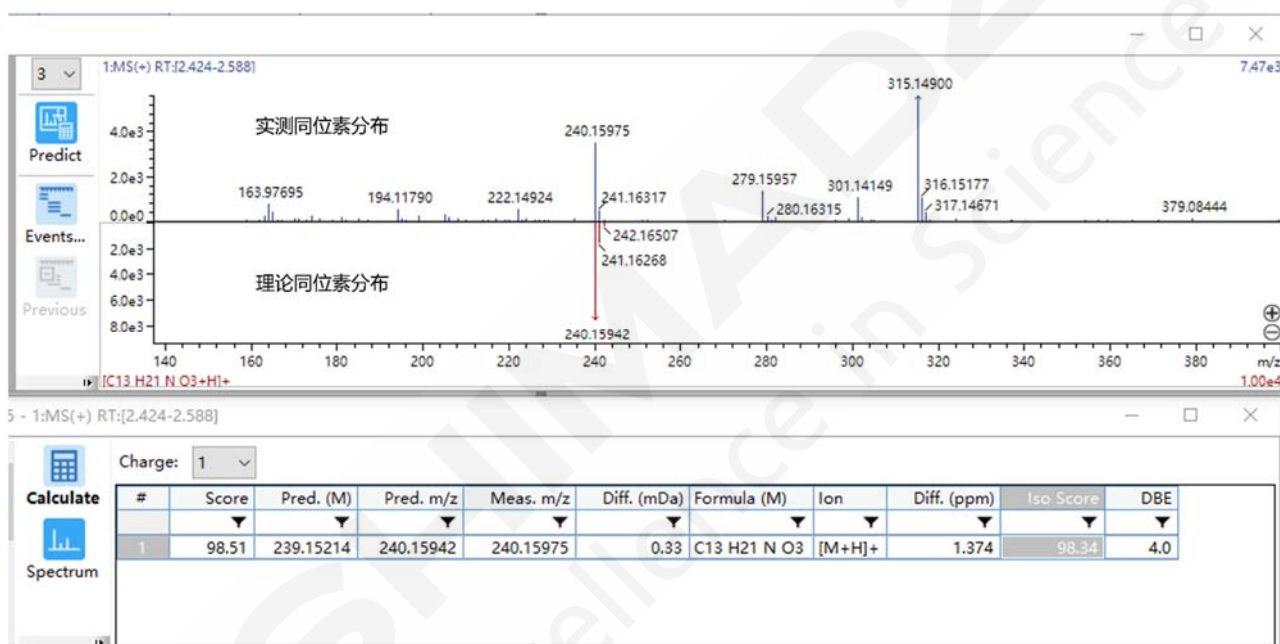


图 4. 沙丁胺醇同位素分布评价结果图

### 3.5 二级质谱库搜索匹配评价

对于目标化合物，采用  $MS^1+DDA$  质谱扫描方式，获得各目标化合物  $MS^1$  在指定 CE (15V-55V) 下的  $MS^2$  质谱图，并与建立的 15 种抗生素二级质谱库进行匹配搜索。如图 5 和 6，水加标样品中检测乙胺嘧啶  $MS^2$  质谱图与谱库中不同 CE 能量下的合并质谱图的搜索匹配度可达 80% 以上。

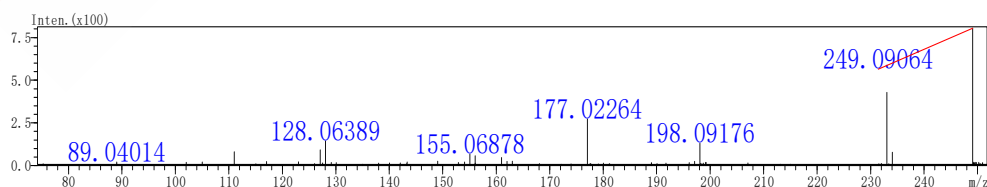


图 5. 乙胺嘧啶 ( $MS^1=249.0902$ ) DDA 时二级质谱图

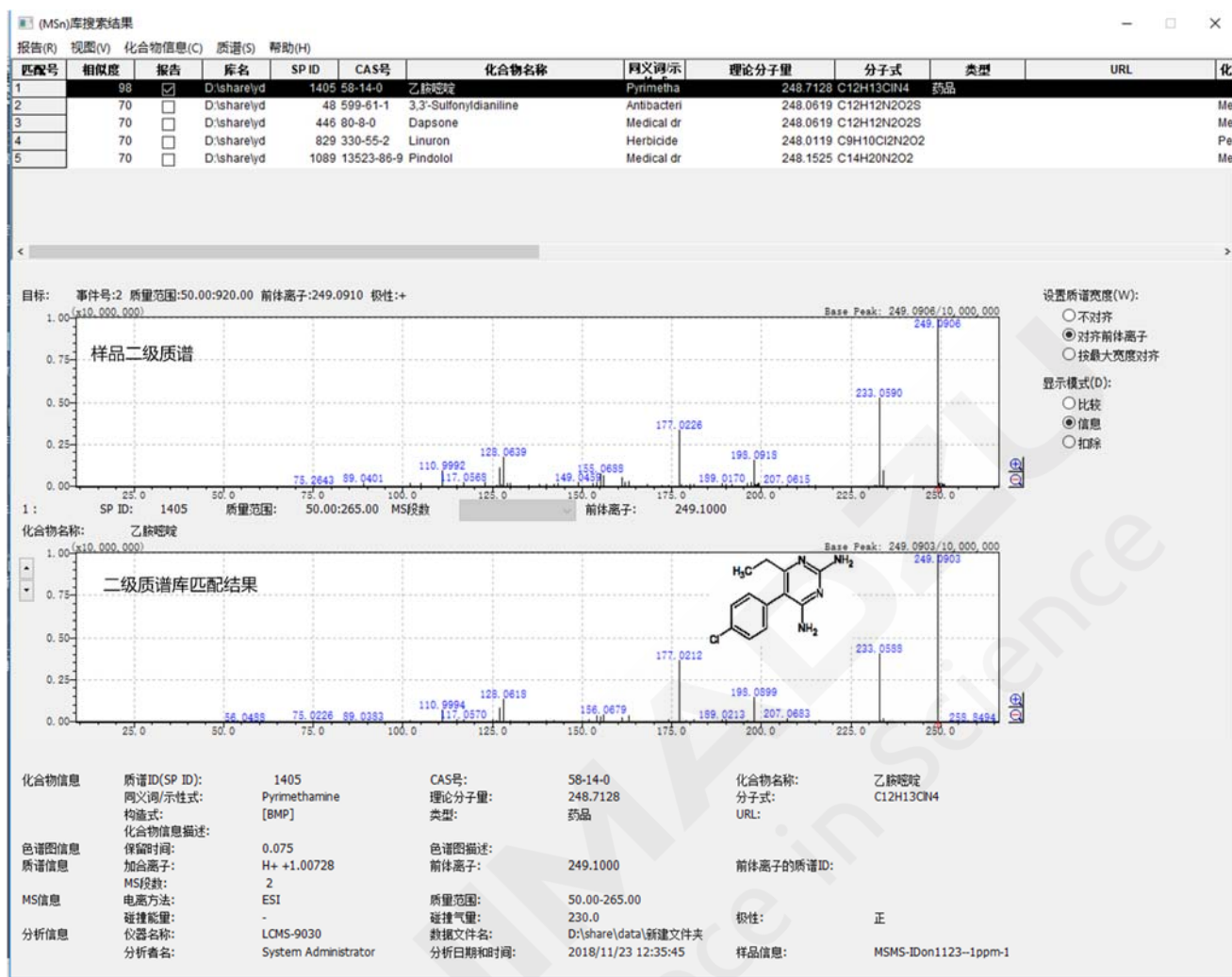


图 6.乙胺嘧啶二级质谱图谱库搜索结果

#### 4. 结论

本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了一种快速定性检测水中 15 种抗生素化合物残留的方法，同时创建了 15 种抗生素的二级质谱库。该方法分析速度快，分析时间仅为 10 min；灵敏度高，检出限在 0.01 ng/mL - 0.07 ng/mL。一级质谱质量数准确度误差小于 1.5 ppm，同位素分布真实准确，二级谱库匹配度高。该方法简便快速、灵敏度高、定性筛查准确性好，可适用于快速定性筛查水中多种抗生素。

# LCMS-9030 筛查尿液中 150 种兽药残留

**摘要:** 本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 建立了尿液中 150 种兽药的鉴别和确认方法。LabSolutions insight 建立了 150 种兽药的高分辨二级质谱库, 根据保留时间及精确质量数进行鉴别, 二级质谱库及典型二级碎片离子丰度比进行确认。100 ng/mL 浓度的加标样品, 其中 113 个化合物的回收率在 50-120%之间。本方法适用于畜禽尿液中多兽药残留的筛查。

**关键词:** LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 尿液 兽药

农业农村部2019年8月, 发布了第197号-9-2019公告《畜禽血液和尿液中150种兽药及其它化合物鉴别和确认 液相色谱-高分辨串联质谱法》, 规定了猪血、牛血、羊血和鸡血以及猪尿、牛尿、羊尿中150种兽药及其他化合物的液相色谱-高分辨串联质谱鉴别和确认方法。150种兽药包括磺胺类、喹诺酮类、咪唑与苯并咪唑类、苯并咪唑类、聚醚类、大环内酯类、甾体类、 $\beta$ 受体激素、精神类、兴奋剂、中枢神经类、抗组胺类、抗真菌类、非甾

体类等。标准于2020年1月1日起正式实施, 是首个动物养殖中检测跨类多残留的国家标准, 极大的提高了对非标注成分的监测能力和效率。

本文参考农业农村部197-9-2019号标准, 利用岛津 LCMS-9030超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱仪, 建立了一种150种兽药的鉴别与确认方法。本方法简便、快速、准确、灵敏度高, 供相关检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置为

输液泵	:LC-30AD×2	系统控制器	:CBM-20Alite
自动进样器	:SIL-20AC	飞行时间质谱仪	:LCMS-9030
柱温箱	:CTO-20AC	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.98
在线脱气机	:DGU-20A5R		LabSolutions Insight Ver. 3.7

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST-HP C18-AQ 150 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 $\mu$ m, P/N: 227-30807-03		
流动相	: A相-0.2%甲酸水+2 mM 乙酸铵; B相-0.2%甲酸甲醇		
洗针模式	: 进样前后洗针, External only (进样针外壁清洗), Rinse Port		
流速	: 0.25 mL/min	柱温	: 40°C
进样体积	: 2 $\mu$ L	洗针液	: 甲醇/水=1:1 (v:v)
洗脱方式	: 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1。		



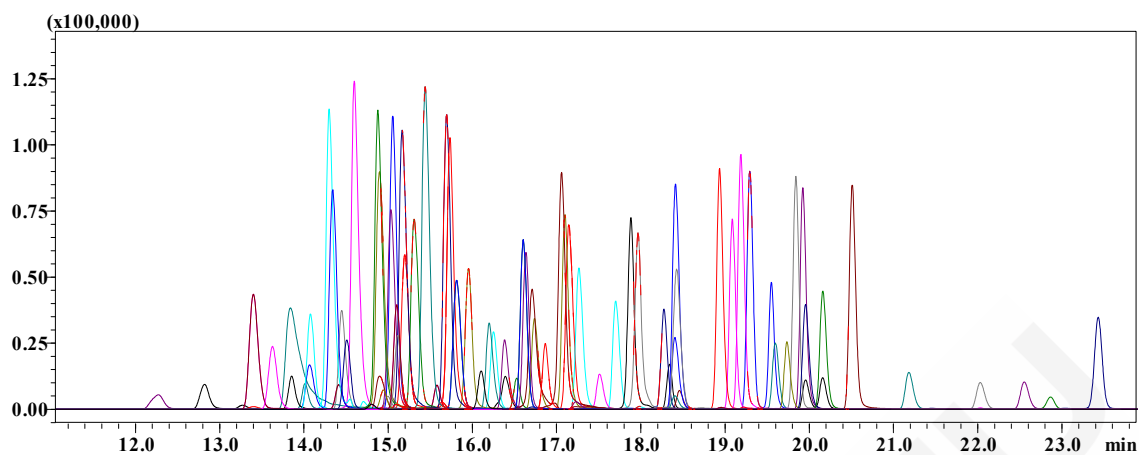


图 1. 150 种兽药提取离子流色谱图 EIC 图 (100 ng/mL)

## 2.2 方法检出限

配制浓度 100 ng/mL 的 150 种兽药混合标准样品，上机进行测定，150 种兽药的方法检出限 (ASTM, S/N=3) 为 0.03~39.5 mg/L，满足法规要求。150 种兽药品种信息、中英文名、CAS、一级精确质荷比、典型二级碎片离子、保留时间、检出限等结果见表 2。

表 2. 150 种兽药检出限

药物分组	编号	中文名称	英文名称	分子式	CAS 号	理论精确质量数	典型二级碎片离子 1	典型二级碎片离子 2	典型二级碎片离子 3	保留时间 (RT)min	仪器检出限 (ng/mL)	法规检出限 (ng/mL)
A 组	1	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	127-71-9	277.0641	156.0114	108.0444	92.0495	16.0	3.4	10
	2	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	68-35-9	251.0597	156.0114	108.0444	185.0822	13.6	0.1	50
	3	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	122-11-2	311.0809	156.0114	108.0431	92.0495	16.5	0.3	10
	4	磺胺二甲基嘧啶	Sulfamethazine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	57-68-1	279.091	186.0332	156.0114	92.0495	15.0	0.7	50
	5	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	2447-57-6	311.0809	156.0114	108.0431	92.0495	15.8	0.4	50
	6	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	127-79-7	265.0754	156.01	110.0713	199.0978	14.4	0.3	50
	7	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	144-82-1	271.0318	156.0114	108.0431	92.0495	14.8	0.1	50
	8	磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxy-pyridazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	80-35-3	281.0703	156.0114	108.0444	215.0927	15.0	0.2	50
	9	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	526-08-9	315.091	160.0869	222.0332	108.0444	16.1	0.3	5
	10	磺胺吡唑	Sulfapyrazole	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	852-19-7	329.1069	173.0947	156.0114	108.0444	16.5	0.3	10
	11	磺胺吡啶	Sulfapyridine	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	144-83-2	250.0645	156.0114	184.0869	108.0444	14.0	0.2	50
	12	磺胺喹恶啉	Sulfaquinolone	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	59-40-5	301.0754	156.0114	108.0444	92.0495	16.7	1.5	50
	13	磺胺噻唑	Sulfathiazole	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	72-14-0	256.0209	156.0114	92.0495	65.0386	13.8	0.2	10
	14	磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> NaO <sub>2</sub> S	515-64-0	279.091	124.0869	186.0332	156.01	13.4	0.7	50
	15	甲氧苄氨嘧啶	Trimethoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	738-70-5	291.1452	230.1162	123.0665	261.0982	14.4	0.2	50
A 组	1	西诺沙星	Cinoxacin	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	28657-80-9	263.0663	245.0557	217.0608	189.0295	16.6	0.5	5
	2	达氟沙星(单诺沙星)	Danofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	112398-08-0	358.1562	340.1456	314.1663	96.0808	14.9	0.6	10
B 组	3	双氟沙星	Difloxacin	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	98106-17-3	400.1467	382.1362	356.1569	299.0979	15.2	0.6	10
	4	恩氟沙星(恩诺沙星)	Enrofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	93106-60-6	360.1718	342.1612	316.182	245.1073	14.9	0.6	5
	5	氟甲喹	Flumequine	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> FNO <sub>3</sub>	42835-25-6	262.0874	244.0768	202.0288	174.0338	17.8	0.4	5
	6	加替沙星	Gatifloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	112811-59-3	376.1673	358.1562	332.1769	289.1347	15.4	0.2	10

	7	洛美沙星	Lomefloxacin	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3 \cdot HCl$	98079-51-7	352.1467	334.1362	308.1569	265.1167	15.0	0.5	10
	8	麻保沙星 (马波沙星)	Marbofloxacin	$C_{17}H_{19}FN_4O_4$	115550-35-1	363.1463	72.0781	345.1357	320.1041	14.3	0.2	10
	9	莫西沙星	Moxifloxacin	$C_{21}H_{24}FN_3O_4$	186826-86-8	402.1824	384.1718	358.1925	261.1022	15.7	0.4	10
	10	萘啶酸	Nalidixic acid	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	389-08-2	233.0921	215.0815	187.0502	159.0553	17.7	0.5	5
	11	氧氟沙星	Ofloxacin	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	82419-36-1	362.1511	318.1612	261.1022	344.1405	14.6	0.3	5
	12	奥比沙星	Orbifloxacin	$C_{19}H_{20}F_3N_3O_3$	113617-63-3	396.153	352.1631	378.1424	295.1053	15.1	0.3	10
	13	恶喹酸 (奥索利酸)	Oxolinic acid	$C_{13}H_{11}NO_5$	14698-29-4	262.071	244.0604	160.0393	216.0291	16.9	0.2	5
	14	沙拉沙星	Sarafloxacin	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	98105-99-8	386.1311	368.1205	342.1412	299.0980	15.3	0.6	10
	15	司帕沙星	Sparfloxacin	$C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$	110871-86-8	393.1733	375.1627	349.1834	292.1256	15.7	0.3	10
	16	妥舒沙星	Tosufloxacin tosylate	$C_{26}H_{23}F_3N_4O_6S$	1400591-39-0	405.1169	387.1063	314.0900	56.0495	16.0	0.1	50
C 组	1	阿苯达唑 (丙硫咪唑)	Albendazole	$C_{12}H_{15}N_3O_2S$	54965-21-8	266.0958	234.0696	209.1159	99.0411	18.1	2.1	5
	2	阿苯达唑-2-氨基砒	Albendazole-2-aminosulfone	$C_{10}H_{13}N_3O_2S$	80983-34-2	240.0801	198.0332	133.0635	72.0444	14.0	0.1	50
	3	阿苯达唑亚砒	Albendazole-sulfoxide	$C_{12}H_{15}N_3O_3S$	54029-12-8	282.0911	240.0437	159.0427	43.0532	16.2	17.2	50
	4	氨基甲苯咪唑	Mebendazoleamine	$C_{14}H_{11}N_3O$	52329-60-9	238.0975	105.0335	77.0386	51.0229	16.2	0.3	5
	5	噻苯哒唑 (噻苯咪唑)	Thiabendazole	$C_{10}H_7N_3S$	148-79-8	202.0433	175.0324	131.0604	92.0495	15.1	0.2	5
	6	二甲硝咪唑 (地美硝唑)	Dimetridazole	$C_5H_7N_3O_2$	551-92-8	142.0611	96.0682	81.0447	54.0338	13.3	0.1	50
	7	芬苯达唑 (苯硫苯咪唑)	Fenbendazole	$C_{15}H_{13}N_3O_2S$	43210-67-9	300.0801	268.0539	159.0427	190.0049	19.0	0.3	5
	8	氟苯达唑 (氟苯咪唑)	Flubendazole	$C_{16}H_{12}FN_3O_3$	31430-15-6	314.0936	282.0673	123.0240	195.0292	18.2	0.4	10
	9	羟基异丙硝唑	Hydroxyipronidazole	$C_7H_{11}N_3O_3$	35175-14-5	186.0873	168.0768	122.0839	82.0526	15.6	0.3	50
	10	异丙硝唑	Ipronidazole	$C_7H_{11}N_3O_2$	14885-29-1	170.0924	124.0995	109.0760	96.0682	16.4	0.1	5
	11	甲苯咪唑	Mebendazole	$C_{16}H_{13}N_3O_3$	31431-39-7	296.103	264.0768	105.0335	77.0386	18.1	0.1	10
	12	噻苯咪唑酯 (坎苯达唑)	Cambendazole	$C_{14}H_{14}N_4O_2S$	26097-80-3	303.091	261.0441	217.0524	243.0335	16.9	0.4	5

D 组	1	5-羟基噻苯咪唑	5-Hydroxythiabendazole	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> OS	948-71-0	218.0383	191.0274	147.0553	81.0335	14.5	0.3	5
	2	左旋咪唑	Levamisole	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S	14769-73-4	205.0794	178.0685	123.0263	91.0542	14.1	0.6	10
	3	甲硝唑 (甲硝哒唑)	Metronidazole	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	443-48-1	172.0717	128.0455	82.0526	45.0335	12.5	0.1	50
	4	奥芬达唑	Oxfendazole	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	53716-50-0	316.075	191.0689	284.0488	1590427	17.1	0.2	10
	5	丙氧苯咪唑	Oxibendazole	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	20559-55-1	250.1186	218.0924	176.0455	148.0505	17.0	0.2	5
	6	罗硝唑 (洛硝达唑)	Ronidazole	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	7681-76-7	201.0618	140.0455	55.0417	110.0475	13.2	0.7	50
	7	塞克硝唑	Secnidazole	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	3366-95-8	186.0885	128.0455	59.0491	111.0427	14.5	39.5	50
	8	替硝唑	Tinidazole	C <sub>7</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	19387-91-8	248.07	121.0318	202.0771	93.0005	14.2	0.0	50
	9	三氯苯达唑	Triclabendazole	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> OS	68786-66-3	358.9574	343.9339	273.9962	198.0008	20.5	0.4	10
E 组	1	尼日利亚菌素	Nigericin	C <sub>40</sub> H <sub>67</sub> NaO <sub>11</sub>	28380-24-7	747.4661	501.3195	237.1086	168.4700	22.8	0.4	5
	2	甲基盐霉素	Narasin	C <sub>43</sub> H <sub>72</sub> O <sub>11</sub>	55134-13-9	787.4982	431.2404	531.3292	179.1567	23.4	0.3	5
F 组	1	克林霉素	Clindamycin	C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	18323-44-9	425.1872	126.1277	377.1838	70.0651	16.7	0.2	5
	2	多拉菌素	Doramectin	C <sub>50</sub> H <sub>74</sub> O <sub>14</sub>	117704-25-3	921.4963	777.4185	449.2510	183.0628	22.1	0.0	50
	3	依普菌素	Eprinomectin	C <sub>50</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>14</sub>	123997-26-2	936.509	490.2773	352.1728	382.3535	21.2	0.2	50
	4	伊维菌素	Ivermectin	C <sub>48</sub> H <sub>74</sub> O <sub>14</sub>	70288-86-7	897.4963	753.4185	183.0628	329.2087	22.6	0.1	50
	5	柱晶白霉素	Sineptina	C <sub>40</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>14</sub>	1392-21-8	786.4633	174.1125	109.0648	558.3273	17.9	1.0	50
	6	螺旋霉素	Spiramycin	C <sub>43</sub> H <sub>74</sub> N <sub>2</sub> O <sub>14</sub>	8025-81-8	843.5213	174.1125	540.3167	699.4368	15.7	0.5	50
	7	替米考星	Tilmicosin	C <sub>46</sub> H <sub>80</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	108050-54-0	869.5733	174.1125	696.4681		16.4	0.1	50
	8	泰乐菌素	Tylosin	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>	1401-69-0	916.5264	174.1125	772.4451	598.3559	17.4	0.1	50
	9	维吉尼霉素 M1	Virginiamycin M1	C <sub>28</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	21411-53-0	526.2551	355.1289	508.2442	133.0648	18.3	0.1	5
G 组	1	倍氯米松	Beclomethasone	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>5</sub>	4419-39-0	409.1778	391.1671	355.1904	279.1744	18.3	0.1	50
	2	倍氯米松双丙酸酯	Beclomethasone dipropionate	C <sub>28</sub> H <sub>37</sub> ClO <sub>7</sub>	5534-09-8	521.2315	503.22	319.1693	411.2166	20.1	0.2	5
	3	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone dipropionate	C <sub>28</sub> H <sub>37</sub> FO <sub>7</sub>	5593-20-4	505.2596	411.2166	319.1693	279.1744	19.9	0.2	5
	4	倍他米松戊酸酯	Betamethasone valerate	C <sub>27</sub> H <sub>37</sub> FO <sub>6</sub>	2152-44-5	477.2647	355.1904	279.2744	337.1798	19.7	0.1	50

5	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone acetate	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> ClO <sub>4</sub>	302-22-7	405.1837	345.1616	309.1849	301.1354	19.7	0.2	5
6	氯倍他素丙酸酯	Clobetasol-17 propionate	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	25122-46-7	467.1995	355.1471	373.1577	279.1755	19.5	0.0	10
7	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone butyrate	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	25122-57-0	479.1995	343.1459	279.138	371.1408	19.9	0.2	10
8	可的松	Cortisone	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	53-06-5	361.201	163.1117	121.0648	343.1904	17.6	0.1	50
9	地夫可特	Deflazacort	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>6</sub>	14484-47-0	442.2224	424.2119	382.2013	400.2119	18.8	0.1	5
10	地塞米松	Dexamethasone	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub>	50-02-2	393.2072	355.1904	373.2010	337.1798	18.2	0.3	5
11	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone Diacetate	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> F <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	33564-31-7	495.2189	317.1536	335.1642	395.1853	19.0	0.0	50
12	表睾酮	Epitestosterone	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	481-30-1	289.2173	97.0648	109.0648	253.1951	19.5	0.2	5
13	氟氢可的松	Fludrocortisone	C <sub>21</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub>	127-31-1	381.2072	325.181	239.1442	343.1915	17.7	0.2	50
14	氟米松	Flumethasone	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> F <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	2135-17-3	411.1978	253.1223	391.1519	335.1642	18.0	0.1	10
15	特戊酸氟米松	Flumethasone pivalate	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> F <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	2002-29-1	495.2553	57.071	335.1642	253.1223	19.7	0.03	50
16	氟轻松	Fluocinolone acetonide	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> F <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	67-73-2	453.2083	413.1959	433.2021	337.1434	18.4	0.1	50
17	氟氢缩松	Flurandrenolide	C <sub>24</sub> H <sub>33</sub> FO <sub>6</sub>	1524-88-5	437.2334	361.181	341.1759	323.1653	18.7	0.1	50
18	氟米龙	Fluorometholone	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>4</sub>	426-13-1	377.2123	279.1744	339.1955	321.1849	18.5	0.2	5
19	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> F <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	80474-14-2	501.1917	313.1598	293.1536	205.0659	19.5	0.1	10
20	哈西奈德	Halcinonide	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> ClFO <sub>5</sub>	3093-35-4	455.1995	359.1408	377.1514	435.1933	19.7	0.2	10
21	氢化可的松	Hydrocortisone	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	50-23-7	363.2166	327.1955	121.0648	309.1849	17.9	0.1	5
22	甲地孕酮	Megestrol acetate	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	3562-63-8	343.2267	325.2162	267.1744	224.1559	19.6	0.2	5
23	醋酸美伦孕酮	Melengestrol acetate	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	2919-66-6	397.2373	337.2162	279.1744	187.1117	19.9	0.2	5
24	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	83-43-2	375.2166	357.2060	339.1955	161.0961	18.4	0.1	5

	25	莫米他松糠酸酯	Mometasone furoate	C <sub>32</sub> H <sub>32</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	83919-23-7	521.1492	503.1386	355.1459	279.1744	19.6	0.1	50
	26	泼尼卡酯	Prednicarbate	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>8</sub>	73771-04-7	489.2483	381.2060	289.1587	115.0390	19.7	0.2	5
	27	睾丸酮	Testosterone	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	58-22-0	289.2162	97.0648	109.0648	289.2162	19.2	0.1	5
	28	曲安奈德	Triamcinolone acetonide	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> FO <sub>6</sub>	76-25-5	435.2177	415.2115	397.2010	399.1591	18.4	0.3	5
H 组	1	班布特罗	Bambuterol hydrochloride	C <sub>18</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	81732-46-9	368.218	294.1448	312.1554	72.0444	16.0	0.2	10
	2	羟甲基克仑特罗	Hydroxymethyl clenbuterol	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	38339-18-3	293.0818	275.0713	203.0132	132.0682	14.9	0.0	10
	3	克伦塞罗	Clencyclohexerol hydrochloride	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1435934-75-0	319.0975	301.0869	203.0132	81.0670	14.6	0.2	5
	4	(暂无中文名)	Clenhexerol	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	38339-23-0	305.1183	203.0132	132.0682	85.1012	16.7	0.3	10
	5	异克伦潘特	Clenisopenterol hydrochloride	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	1435935-00-4	291.1027	273.0920	217.0289	188.0024	16.4	0.4	5
	6	克伦潘特	Clenpenterol hydrochloride	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	37158-47-7	291.1026	203.0137	273.0920	132.0682	16.1	0.3	10
	7	克伦普罗	Clenproperol	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	38339-11-6	263.0713	245.0607	203.0132	132.0682	15.0	3.2	10
	8	非诺特罗	Fenoterol hydrobromide	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	13392-18-2	304.1543	135.0804	286.1438	107.0491	13.8	0.1	5
	9	福莫特洛	Formoterol fumaratedihydrate	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	183814-30-4	345.1809	327.1703	149.0961	121.0608	15.5	0.1	5
	10	保泰松乙酸酯	Pirbuterol acetate	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	65652-44-0	241.1546	167.0815	149.0709	122.0600	11.9	0.5	5
	11	莱克多巴胺	Ractopamine hydrochloride	C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	90274-24-1	302.1751	284.1645	121.0648	91.0542	14.8	0.3	10
	12	利托君	Ritodrine hydrochloride	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	23239-51-2	288.1594	270.1489	121.0648	150.0913	14.1	0.0	5
	13	沙美特罗	Salmeterol	C <sub>25</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>4</sub>	89365-50-4	416.2795	398.2690	380.2584	232.1696	18.1	0.1	5
	14	索他洛尔	Sotalol hydrochloride	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	959-24-0	273.1267	255.1162	213.0692	133.0760	12.3	0.5	10

	15	特布他林	Terbutaline hemisulfate salt	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	23031-32-5	226.1438	152.0706	170.0812	208.1332	12.5	0.1	10
	16	妥布特罗	Tulobuterol	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> ClNO	41570-61-0	228.115	154.0413	172.0524	118.0651	15.8	0.2	5
I 组	1	对乙酰氨基酚	Acetaminophen	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	103-90-2	152.0706	110.0600	93.0330	65.0386	13.2	4.7	50
	2	氯丙嗪	Chlorpromazine	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> S	50-53-3	319.103	86.0964	58.0651	246.0139	18.2	0.4	5
	3	氯羟吡啶	Clopidol	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> NO	2971-90-6	191.9977	101.0153	51.0229	101.0153	14.8	0.2	10
	4	氨苯砜	Dapsone	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	80-08-0	249.0692	156.0114	108.0444	92.0495	15.0	0.1	10
	5	卡巴氧(卡巴多)	Carbadox	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	6804-07-5	263.0775	231.0513	145.0396	90.0338	15.6	0.0	10
	6	氟哌啶醇	Haloperidol	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> ClFNO <sub>2</sub>	52-86-8	376.1474	165.0710	358.1368	123.0241	17.1	0.3	5
	7	氮哌醇(阿扎哌醇)	Azaperol	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> FN <sub>3</sub> O	2804-05-9	330.1987	121.0760	312.1870	192.1183	14.6	0.2	5
	8	氮哌酮(阿扎哌酮)	Azaperone	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O	1649-18-9	328.182	165.0699	121.0760	147.0917	15.2	0.9	5
	9	丙酰丙嗪	Propionylpromazin hydrochloride	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> OS	7681-67-6	341.1686	86.0964	58.0651	268.0791	18.0	0.3	5
	10	甲苯噻嗪	Xylazine	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> S	7361-61-7	221.1107	90.0372	164.0528	58.0651	15.4	0.7	5
J 组	1	卡马西平	Carbamazepine	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	298-46-4	237.1022	194.0964	220.0757	179.0730	17.9	0.2	5
	2	苯海拉明	Diphenhydramine	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO	58-73-1	256.1696	167.0855	152.0621	141.0699	16.9	0.5	5
	3	氟西汀	Fluoxetine	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> NO	549910-89-3	310.1413	44.0495	148.1121		17.8	0.2	5
	4	丙咪嗪	Imipramine	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub>	50-49-7	281.2012	86.0964	58.0651	208.1121	17.7	0.4	5
	5	舒必利	Sulpiride	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	15676-16-1	342.1482	112.1121	214.0162	58.0651	12.6	0.7	10
	6	吡唑坦	Zolpidem	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O	82626-48-0	308.1757	235.123	263.1179	92.0495	15.9	0.4	5
K 组	1	咖啡因	Caffeine	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	58-08-2	195.0877	138.0662	110.0713	69.0447	14.9	1.1	5
	2	可待因	Codeine	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	76-57-3	300.1594	165.0699	199.0754	58.0651	13.5	0.4	10
	3	1,7-二甲基黄嘌呤	1,7-Dimethylxanthine	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	611-59-6	181.072	124.0505	96.0556	55.0291	13.9	0.2	50
L 组	1	氯普鲁卡因	Chloroprocaine	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	133-16-4	271.121	100.1121	154.0049	198.0316	14.3	0.7	10
	2	辛可卡因	Cinchocaine	C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	85-79-0	344.2333	271.1441	215.0815	74.0964	17.9	0.3	5
	3	利多卡因	Lidocaine	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	137-58-6	235.1805	86.0964	58.0651		15.0	0.6	10
	4	普鲁卡因胺	Procainamide	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O	51-06-9	236.1757	163.0866	120.0444	92.0495	11.7	2.3	5
	5	普鲁卡因	Procaine	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	59-46-1	237.1598	100.1121	120.0444	164.0706	13.2	1.2	5

	6	丁卡因	Tetracaine	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	94-24-6	265.1911	176.107	72.0808	220.1332	16.8	0.7	5
M 组	1	溴苯那敏	Brompheniramine	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> BrN <sub>2</sub>	86-22-6	319.0804	274.0226	167.0730	194.0964	16.6	0.2	10
	2	西替利嗪	Cetirizine	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	83881-51-0	389.1627	201.0465	187.1077	166.0777	18.1	0.2	10
	3	氯苯那敏	Chlorpheniramine	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub>	132-22-9	275.1313	230.0731	167.0730	202.0418	16.4	0.5	10
	4	氟奋乃静	Fluphenazine	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> OS	69-23-8	438.1821	171.1492	143.1179	280.0402	18.6	0.5	10
	5	羟嗪	Hydroxyzine	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	68-88-2	375.1834	201.0465	173.1284	166.0777	17.8	0.2	10
	6	异丙嗪	Promethazine	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> S	60-87-7	285.142	86.0964	198.0372	240.0842	17.5	0.1	50
	7	特非那定	Terfenadine	C <sub>32</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>2</sub>	50679-08-8	472.321	454.3105	436.2300	57.0699	18.6	0.2	10
N 组	1	联苯苄唑	Bifonazole	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub>	60628-96-8	311.1543	243.1168	165.0699	91.0542	18.1	0.5	5
	2	益康唑	Econazole	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	27220-47-9	381.0323	125.0153	193.0522	69.0447	18.6	0.5	5
	3	灰黄霉素	Griseofulvin	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> ClO <sub>6</sub>	126-07-8	353.0786	165.0546	215.0106	285.0524	18.3	0.2	5
	4	酮康唑	Ketoconazole	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	65277-42-1	531.156	82.0526	489.1455	255.0082	17.6	0.2	5
	5	萘替芬	Naftifine	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> N	65472-88-0	288.1747	117.0699	141.0699	170.0964	17.5	0.3	5
O 组	1	氟尼辛 (氟尼辛葡甲胺)	Flunixin	C <sub>38</sub> H <sub>50</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	42461-84-7	297.0845	279.074	264.0505	239.0615	19.7	0.3	5
	2	酮替芬	Ketotifen	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> NOS	34580-13-7	310.126	96.0808	82.0651	68.0495	16.1	0.3	5
	3	氯诺昔康	Lornoxicam	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	70374-39-9	371.9874	95.0604	121.0415	164.0818	18.1	0.2	50
	4	美利曲辛	Melitracen	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N	5118-29-6	292.206	247.1481	232.1247	84.0808	18.1	0.3	10
	5	奥沙普秦	Oxaprozin	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	21256-18-8	294.1125	276.1019	103.0542	234.0913	19.5	0.2	10
	6	安替比林	Antipyrine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	60-80-0	189.1022	56.0495	77.0386	104.0495	15.7	0.3	5

## 2.3 二级高分辨质谱库建立

配制 100 ng/mL 150 种兽药混合标准样品溶液，按照前述条件进行前处理，上机分析。进行一级 MS 扫描，以及 MS/MS(DDA)扫描，获得不同碰撞能 (10V、20V、30V、40V、50V、60V) 下的二级质谱图，使用 LabSolutions insight 软件进行二级质谱库的建立。150 种兽药高分辨二级质谱库收录了 1507 张二级质谱图，以及化合物的中英文名、分子式、保留时间、色谱条件，一级高分辨质荷比等信息。

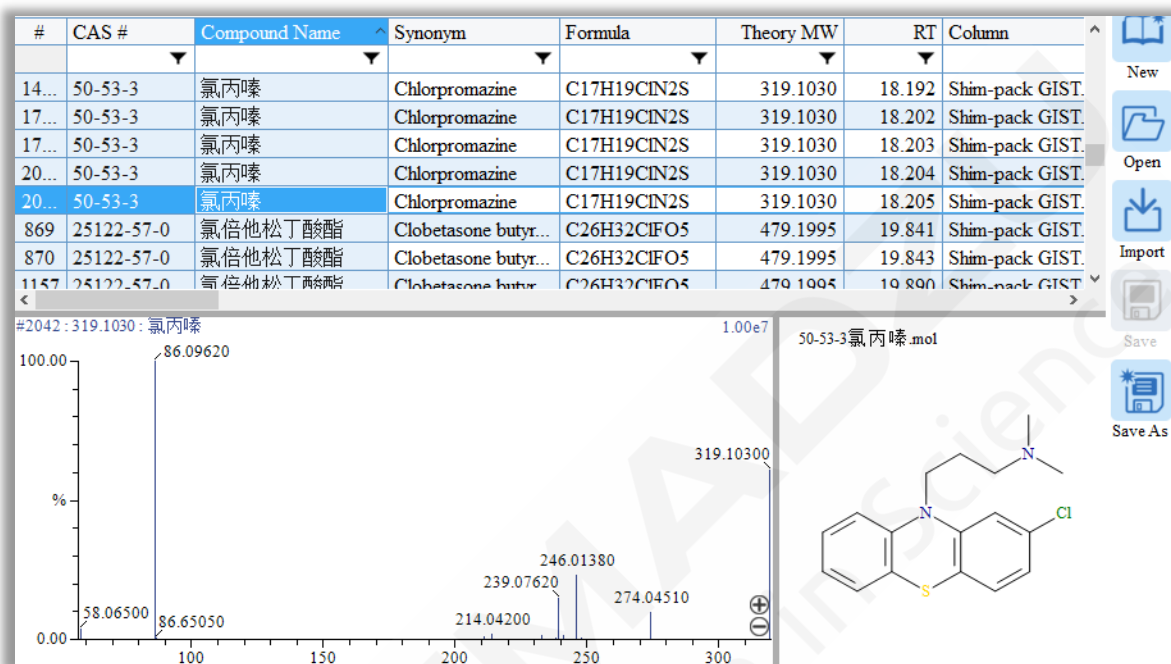


图 2. 150 种兽药二级质谱库预览

## 2.4 尿液样品加标鉴别与确认

按照前述分析条件，制备 100 ng/mL 尿液加标样品（样品编号“qc80\_008”），根据保留时间及精确质量数进行鉴别，二级质谱图或典型二级碎片离子丰度比进行确认。以氟奋乃静为例演示加标样品的定性过程，基质混标中氟奋乃静  $m/z$  438.1821 色谱出峰时间  $RT=18.433$  min，加标样品中  $m/z$  438.1821 色谱出峰时间  $RT=18.014$  min，可初步判定加标样含有氟奋乃静。利用岛津 LabSolutions Insight Explore 的谱库检索功能，对  $m/z$  438.1821 的二级质谱图进行谱库匹配，相似度得分 97 分如图 4 所示。典型碎片离子  $m/z$  143.1174、 $m/z$  171.1489、 $m/z$  280.0404 与标准谱库中质量偏差小于 5ppm，优于标准要求 10 ppm，如表 3 所示。

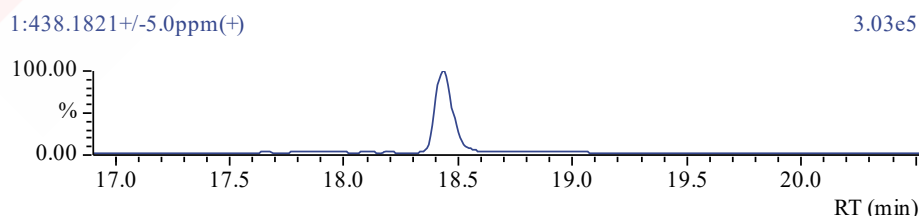


图 3.  $m/z$  438.1821 提取离子流图

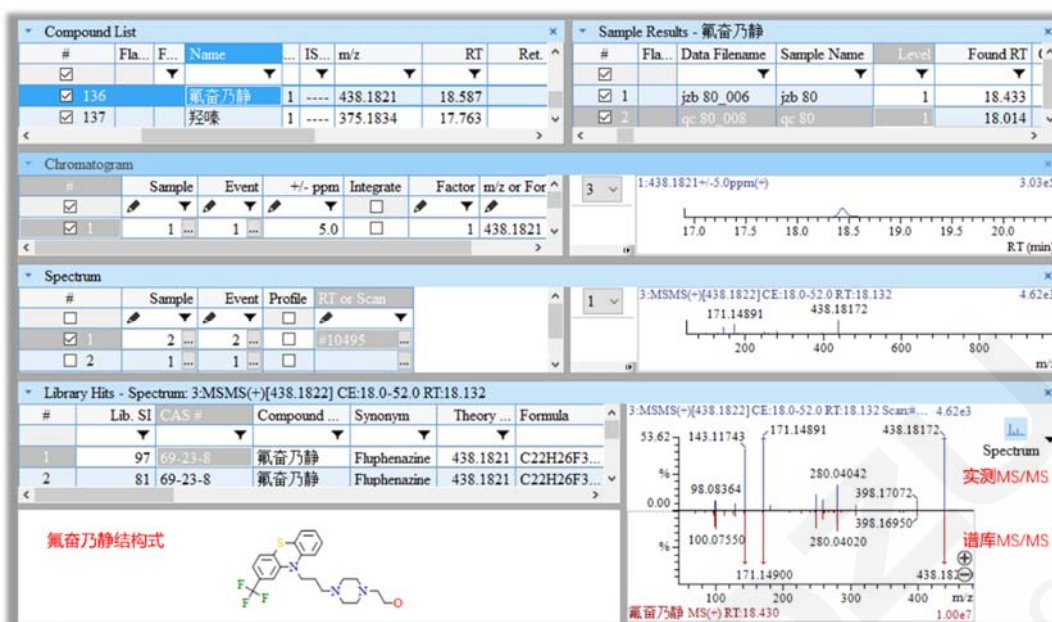


图 4. m/z 438.1821 二级质谱图谱库检索结果

表 3. m/z 438.1821 二级质谱图典型碎片离子质量偏差

化合物	典型二级碎片离子 1	典型二级碎片离子 2	典型二级碎片离子 3
标准谱库	143.1179	171.1492	280.0402
加标样品	143.1174	171.1489	280.0404
质量偏差	3.49 ppm	1.75 ppm	0.71 ppm

## 2.5 加标回收率

100 ng/mL 尿液加标样品进行计算加标回收率，回收率结果如图 5 所示，106 个化合物的加标回收率在 70%-120%之间，35 个化合物回收率>120%，7 个化合物回收率在 50-70%之间，仅 2 个化合物（塞克硝唑、保泰松乙酸酯）回收率低于 50%。

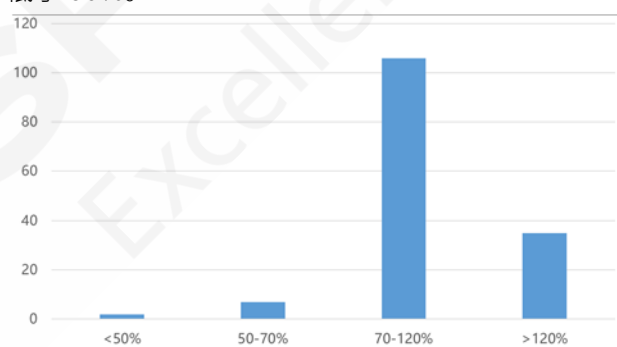


图 5. 回收率结果

## 3. 结论

本文采用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了尿液中 150 种兽药鉴别与确认的方法，同时创建了二级质谱库。方法检出限为 0.03~39.5 ng/mL，灵敏度高。一级质谱质量数准确度误差小于 5.0 ppm，二级质谱库匹配度好。该方法简便、灵敏、定性筛查准确性好，适用于尿液中多兽药残留的快速定性筛查

## 第 4 章 Q-TOF 在生物大分子研究中的应用

随着生物技术药物的快速发展，为了全方位、快速地对生物技术药物进行定性表征，近些年各大生物技术药物公司和相关仪器公司纷纷开发出各种质谱方法尤其是高分辨质谱用于该类药物的快速定性。以单克隆抗体为例，用 Q-TOF 可进行的定性表征主要包括分子量测定（整体蛋白分析、亚基分析等）、肽图分析（翻译后修饰）、二硫键分析等。

利用高分辨质谱进行单抗类药物的分子量测定时，不仅可以获得整体分子量信息，还可以得到其他有关蛋白质鉴定和糖基化谱图的有用信息。在 ESI 源电离模式下整个单抗分子一般带 40~70 个电荷，质荷比 ( $m/z$ ) 范围在 2000~4000 之间，亚基分析一般包括 Fc、Fab、轻链和重链分析。在单抗药物的生产过程中，为了更好地控制单抗药物的质量，需要将单抗药物酶解成肽段，在肽段水平评估其结构中出现的各种修饰，例如氧化、酰胺化、糖基化、异构化等，通过专业化的软件分析酶解后各个肽段的修饰基团以及修饰肽段所占比例等。Protein Metrics (PMI 公司) 软件可以无缝衔接处理岛津 Q-TOF LCMS-9030 采集的相关数据，通过快速的数据处理给出单抗药物的分子量信息、翻译后修饰、二硫键配对等信息。

本章内容主要介绍岛津 LCMS-9030 在生物大分子研究中的应用，目前集中在蛋白类药物定性表征方面，如整体蛋白分析、肽图分析（翻译后修饰）、二硫键分析等，供相关行业从业人员参考。

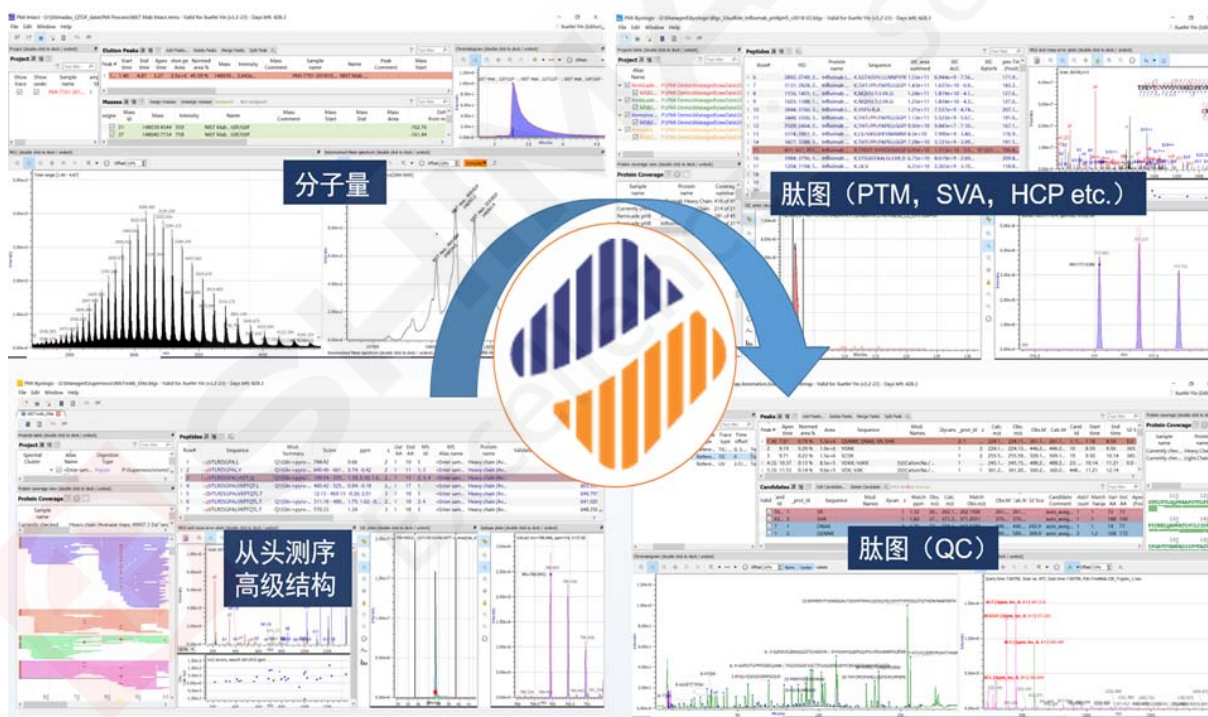


图 1. Protein Metrics 用于单抗分析

# LCMS-9030 对英夫利昔单抗药物肽图分析

**摘要：** 本文采用岛津 LCMS-9030 高分辨 Q-TOF 液质联用仪对英夫利昔单抗进行肽图分析，并结合岛津 LabSolutions 和 Protein Metrics 软件对肽图分析结果进行解析。结果显示在只应用胰蛋白酶的情况下，轻链和重链的序列覆盖率分别为 93.46%和 92.0%。利用 Protein metrics 软件对肽段上的修饰基团进行解析，结果显示该单抗的修饰类型主要有脱酰胺 (Deamidated)、糖基化 (NGlycan)、氧化 (Oxidation)、氨甲酰化 (Carbamyl) 等，大部分修饰肽段的比例在 0.5%以下。

**关键词：** Q-TOF 单抗 肽段

英夫利昔单抗 (Infliximab) 是1998年美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的第一个生物治疗药物。其机制包括拮抗肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 活性，对免疫细胞的直接细胞毒性和诱导T细胞凋亡。作为批准用于人治疗的第一个单克隆TNF抗体，英夫利昔单抗是纯化的重组DNA衍生嵌合人-小鼠IgG单克隆抗体，并且含有鼠重链和轻链可变区，连接到人基因组重链和轻链恒定区。

英夫利昔单抗可以迅速与人类可溶性或膜形式的TNF形成稳定的复合物，并终止TNF的生物活性以及信号。1998年被FDA批准后，英夫利昔单抗用于炎

症性肠病 (IBD) 治疗约18年，其临床疗效已得到很好的研究。

在单抗药物的生产过程中的质量控制环节，为了更好控制单抗药物的质量，需要将单抗酶解成肽段，在肽段水平评估单抗中出现的各种修饰，例如氧化、脱酰胺、酰胺化、异构化等。本文采用岛津 LCMS-9030 Q-TOF四极杆-飞行时间液质联用仪对英夫利昔单抗酶解后肽段进行分析，并结合岛津 LabSolutions和Protein Metrics软件对检测结果进行解析。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用 LCMS-9030 Q-TOF 系统。具体配置为 LC-30AD 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A lite 系统控制器，LCMS-9030 Q-TOF 质谱仪，LabSolutions Ver. 5.96 色谱工作站，Protein Metrics 数据处理软件 (PMi 公司)。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色 谱 柱 : Shim-pack GISS C18 2.1 mm I.D.  $\times$  100 mm, 1.9  $\mu$ m, P/N:227-30048-02

流 动 相 : A相-0.1%甲酸水溶液; B相-0.1%甲酸乙腈溶液

流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 60 $^{\circ}$ C

进 样 体 积 : 10  $\mu$ L

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
50.00	Pump	B.Conc	40
51.00	Pump	B.Conc	90
56.00	Pump	B.Conc	90
56.10	Pump	B.Conc	5
60.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI+	加热模块温度 : 400°C
雾化气流速 : 3.0 L/min	干燥气流速 : 10.0 L/min
加热气流速 : 10.0 L/min	扫描模式 : MS 和 MS/MS (DDA)
接口温度 : 300°C	接口电压 : 4.5 KV
D L 温度 : 250°C	事件时间 : 0.1 s

## 2. 样品前处理

利用超纯水将英夫利昔单抗粉末制剂配制成 1.0 mg/mL 的溶液，然后吸取 10  $\mu$ L 该溶液样品，加入 80  $\mu$ L 还原溶液（50 mM Tris-HCl，含 8 M 尿素和 5 mM DTT），在 37°C 下震荡 60 min，结束后加入 4  $\mu$ L IAA 溶液（500 mM），在室温条件下避光震荡 30 min，然后加入 600  $\mu$ L 酶解缓冲液（50 mM Tris-HCl）和 5  $\mu$ L 胰蛋白酶溶液（含 1  $\mu$ g 胰蛋白酶），在 37°C 下反应 6 小时，酶解结束后加入 10  $\mu$ L 50% 甲酸水溶液终止酶解反应。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 英夫利昔单抗肽段色谱图

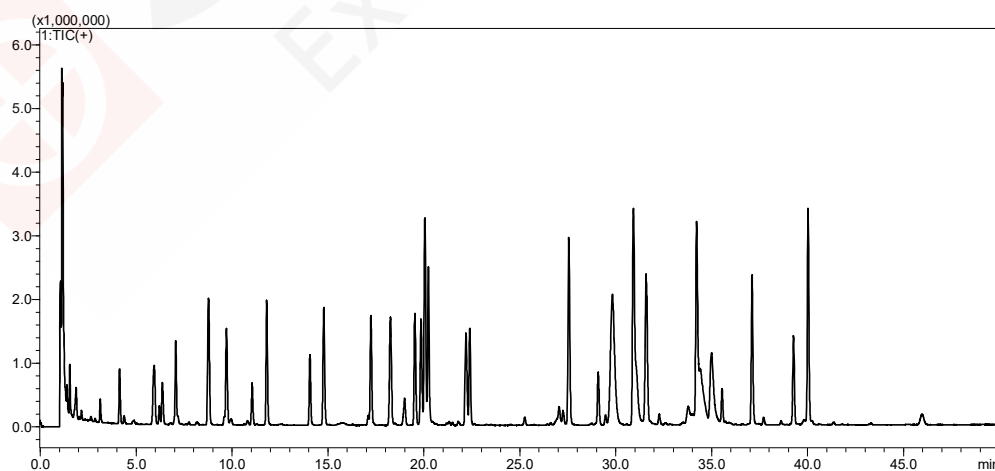


图 1. 英夫利昔单抗酶解后的总离子流色谱图

### 3.2 数据处理

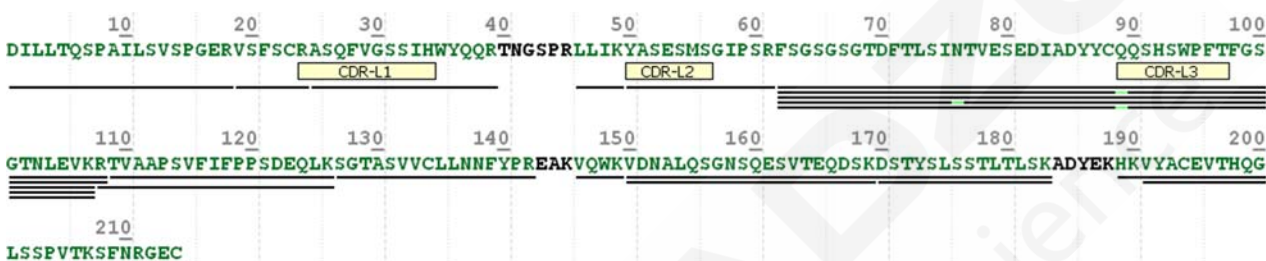
将 LabSolutions 采集好的数据直接导入到 Protein Metrics 软件的 PMi-PTM 模块，并导入英夫利昔单抗的

氨基酸序列，进行蛋白序列覆盖率的计算和蛋白修饰基团分析。在仅使用胰蛋白酶的条件下，由图2可知英夫利昔单抗重链的序列覆盖率为92.00%，轻链覆盖率为93.46%（表2和图2）。通过该软件PMi-PTM模块不仅查看个肽段的一级质谱图，还可以根据二级质谱图校对肽段的碎片，尤其是带修饰的碎片基团，以肽段DSTYLSSTLTLSK为例，可以根据二级质谱图清晰判断每个碎片的断裂位置（图3）。

表2. 酶解肽段序列覆盖结果

蛋白名称	覆盖的氨基酸个数/总氨基酸个数	序列覆盖率%
英夫利昔单抗轻链	200 / 214	93.46
英夫利昔单抗重链	414 / 450	92.00

*Infliximab light chain*



*Infliximab heavy chain*

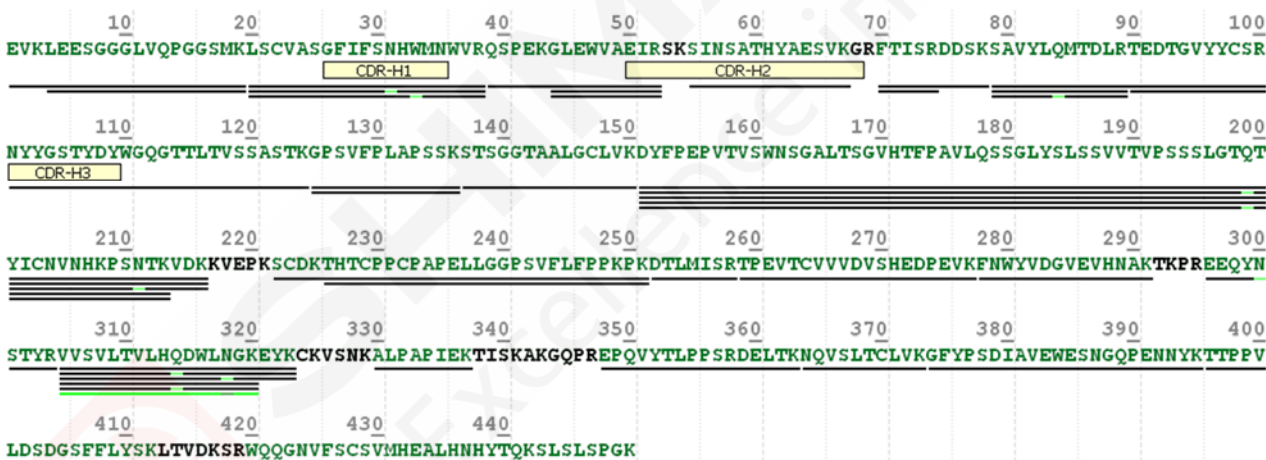
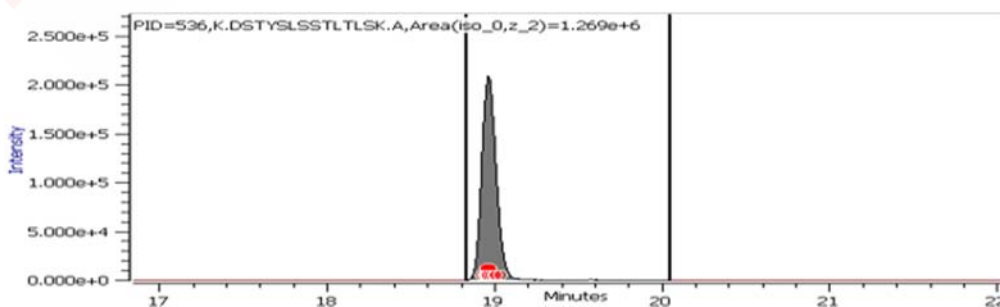


图 2. 英夫利昔单抗酶解后序列覆盖图



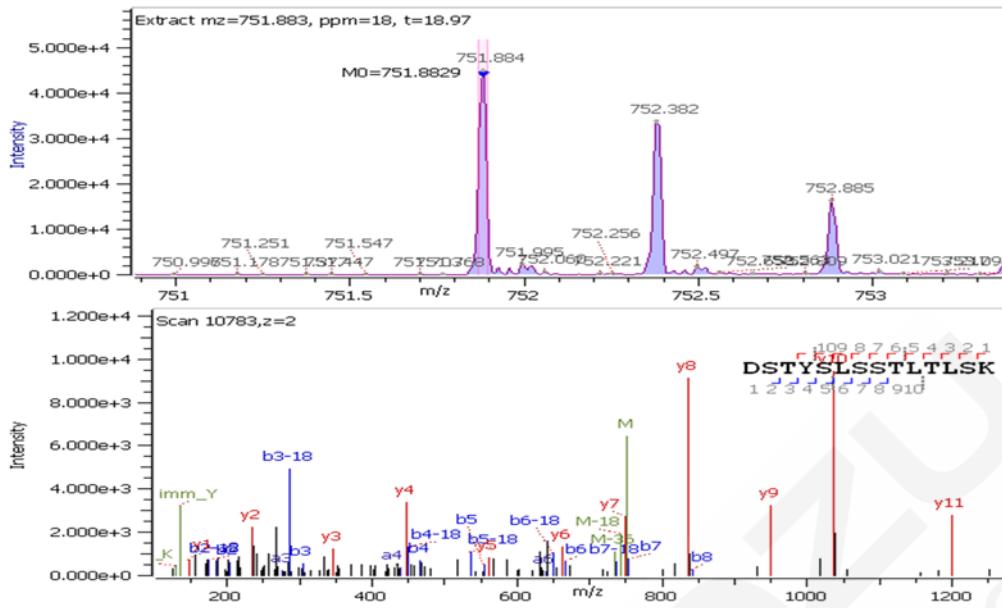


图 3. 肽段 DSTYLSSTLTLSK 的色谱图和质谱图

经软件分析发现该英夫利昔单抗上存在的修饰有脱酰胺 (deamidated)、糖基化 (NGlycan)、氧化 (Oxidation)、氨甲酰化 (Carbamyl) 等, 大部分修饰所占比例在0.5%以下 (表3)。以脱酰胺 (deamidated) 修饰为例, 肽段VWSVLTVLHQDWLNGK发生修饰后, 修饰后的肽段保留时间比未修饰的肽段要长, 且质谱图上也可看出明显差异, 未修饰肽段m/z 603.341 (带3个电荷), 修饰后肽段m/z 603.670 (带3个电荷) (图4)。

表 3. 英夫利昔单抗酶解后各肽段上检测到的修饰以及修饰肽段占比

蛋白名称	肽段名称	修饰类型	修饰氨基	修饰	修饰
			酸	位点	比例
重链	DYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS	Deamidated/0.9840	Q	199	0.38
	WTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK				
重链	DYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS	Deamidated/0.9840	N	211	1.25
	WTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK				
重链	DYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS	Deamidated/0.9840	Q	199	1.25
	WTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK				
重链	EEQYNSTYR	NGlycan/1241.4545	N	300	0.05
重链	GLEWVAEIR	Carbamyl/43.0058	NTerm	43	0.07
重链	GPSVFPLAPSSK	Carbamyl/43.0058	NTerm	124	0.09

重链	LSCVASGFIFSNHWMNWVR	Deamidated/0.9840	N	31	0.13
重链	LSCVASGFIFSNHWMNWVR	Oxidation/15.9949	W	33	0.11
重链	SAVYLQMTDLR	Deamidated/0.9840	Q	84	0.48
重链	VSVLTVLHQDWLNGK	Deamidated/0.9840	N	318	0.17
重链	VSVLTVLHQDWLNGK	Deamidated/0.9840	Q	314	0.53
重链	VSVLTVLHQDWLNGKEYK	Deamidated/0.9840	N	318	1.14
重链	VSVLTVLHQDWLNGKEYK	Deamidated/0.9840	Q	314	0.38
重链	FSGSGSGTDFLSINTVESEDIADYQCQSHSWPFTF GSGTNLEVK	Deamidated/0.9840	N	76	0.4
轻链	FSGSGSGTDFLSINTVESEDIADYQCQSHSWPFTF GSGTNLEVK	Deamidated/0.9840	Q	89	0.4
轻链	FSGSGSGTDFLSINTVESEDIADYQCQSHSWPFTF GSGTNLEVKR	Deamidated/0.9840	Q	89	0.22

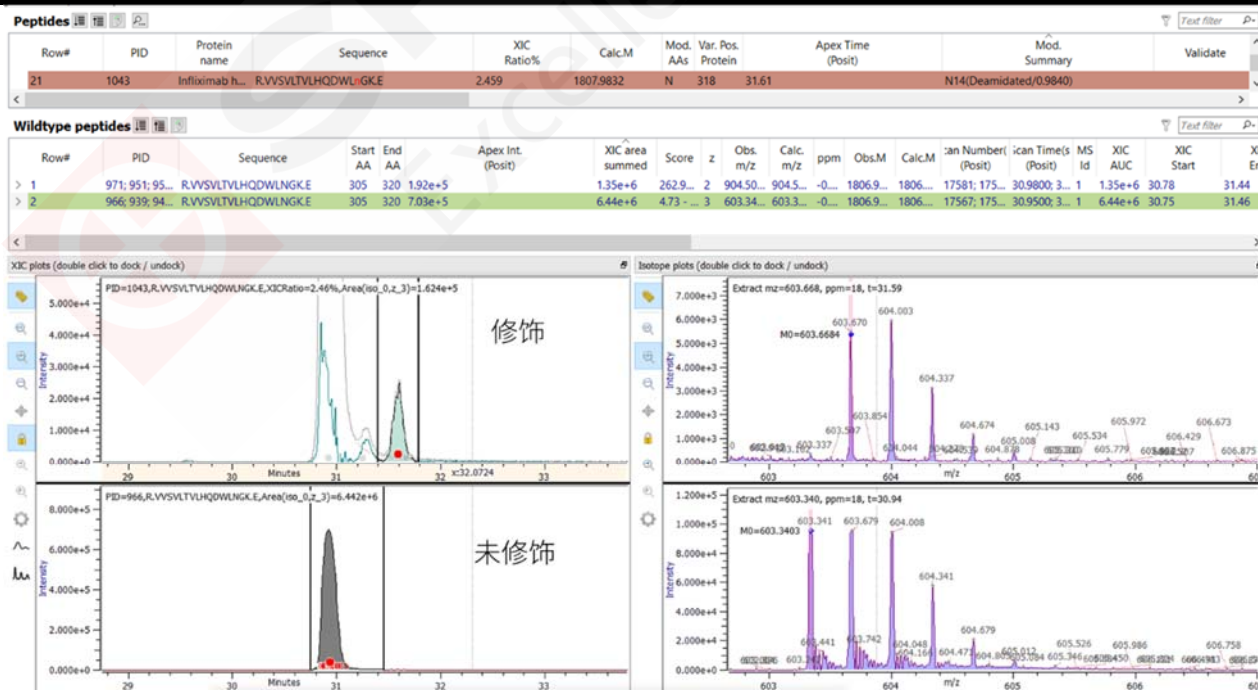


图 4. 肽段 VSVLTVLHQDWLNGK 修饰及未修饰肽段的色谱图和质谱图

#### 4. 结论

本文采用岛津LCMS-9030 Q-TOF液质联用仪对英夫利昔单抗样品进行肽图分析，并结合LabSolutions和Protein Metrics软件对肽图分析结果进行解析。结果显示在只应用胰蛋白酶的情况下，轻链和重链的序列覆盖率分别为93.46%和92.00%。经Protein metrics软件对肽段上的修饰基团进行解析，结果显示该单抗样品上的修饰类型有脱酰胺（deamidated）、糖基化（NGlycan）、氧化（Oxidation）、氨甲酰化（Carbamyl）等，大部分修饰类型所占比例在0.5%以下。



# 利用 LCMS-9030 对 NISTmAb 进行整体蛋白分析

**摘要：** 本文采用岛津 LCMS-9030 高分辨 Q-TOF 液质联用仪对重组人源化单抗 IgG1k NISTmAb 进行整体蛋白分析，并结合岛津 LabSolutions 和 Protein Metrics (PMi 公司) 软件对多电荷分析结果进行解卷积和修饰基团确认。结果显示该重组人单抗含有不同的糖基修饰，包含 G2F/G2F, G1F/G2F, G1F/G1F, G0F/G0F, G0F/G1F, G0F/G1F+NeuAc, 和理论值的偏差均小于 5Da。

**关键词：** Q-TOF 整体蛋白分析 糖基化

单克隆抗体药物作为一种具有独特优势的生物靶向治疗药物，已经成为目前全球药物研发的热点。单克隆抗体的制备可以有杂交瘤制备与基因重组制备两种方法，得到的单克隆抗体分别为免疫单克隆抗体和重组单克隆抗体。相较于免疫动物的制备方法，基因重组的方法需要事先知道抗体的基因序列，而优势是可以对抗体进行抗体的人源化。按照抗体人源化流程，可以将单克隆抗体分为：鼠源性抗体、人鼠嵌合抗体、改型抗体、全人源化抗体。目前正在进行临床试验的抗体药物多达几百种，尤其是全人源化单克隆抗体（单抗，mAb），由于其安全性，已经成为抗体制剂开发的主流，是目前生物技术药物研究中最活跃的部分。

良好的质量控制是单抗药物研发、生产的重要

环节。单抗药物的关键质量因素包括多个方面，分子量测定(整体蛋白分析、亚基分析等)、糖型分析、一级结构、高级结构、大小异质体分析、电荷异质性分析等，此类关键质量因素分析需要色谱、质谱、光谱等多机型分析手段进行监测分析。其中整体蛋白分析是蛋白类药物研发和质控的必测项目，一般利用高分辨质谱进行分析，在ESI源电离模式下单抗分子带40~70个电荷，质荷比(m/z)范围在2000~4000之间。

本文采用岛津LCMS-9030高分辨Q-TOF液质联用仪对重组人源化单抗IgG1k NIST mAb进行整体蛋白分析，并结合岛津LabSolutions和Protein Metrics (PMi公司)软件对多电荷分析结果进行解卷积和修饰基团确认。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用 LCMS-9030 高分辨 Q-TOF 系统。具体配置为 LC-30AD 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20Alite 系统控制器，LCMS-9030 Q-TOF 质谱仪，LabSolutions Ver. 5.96 色谱工作站，Protein Metrics 数据处理软件 (PMi 公司)。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色 谱 柱 : YMC-Triart Bio C4 2.1 mm I.D. × 50 mm, 1.9 μm, P/N: TPH12SP9-0502PT  
流 动 相 : A 相- 0.1%甲酸水溶液; B 相-0.1%甲酸乙腈溶液  
流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 60°C  
进 样 体 积 : 2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为10%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	pump	B.Conc	10
2.50	pump	B.Conc	90
3.50	pump	B.Conc	90
3.60	pump	B.Conc	10
4.50	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式：ESI+

加热模块温度：400°C

雾化气流速：3.0 L/min

干燥气流速：10.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

扫描模式：MS 一级质谱扫描

接口温度：300°C

接口电压：4.5 kV

D L 温度：250°C

事件时间：0.2 s

## 2. 样品前处理

将购买的 NISTmAb（重组人单抗 IgG1 $\kappa$ ）标准品溶液用超纯水稀释至 100  $\mu$ g/ml，待测。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 整体蛋白分析色谱图和质谱图

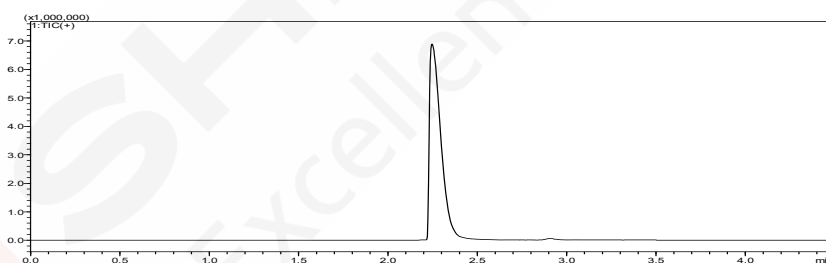


图 1. NISTmAb 色谱图

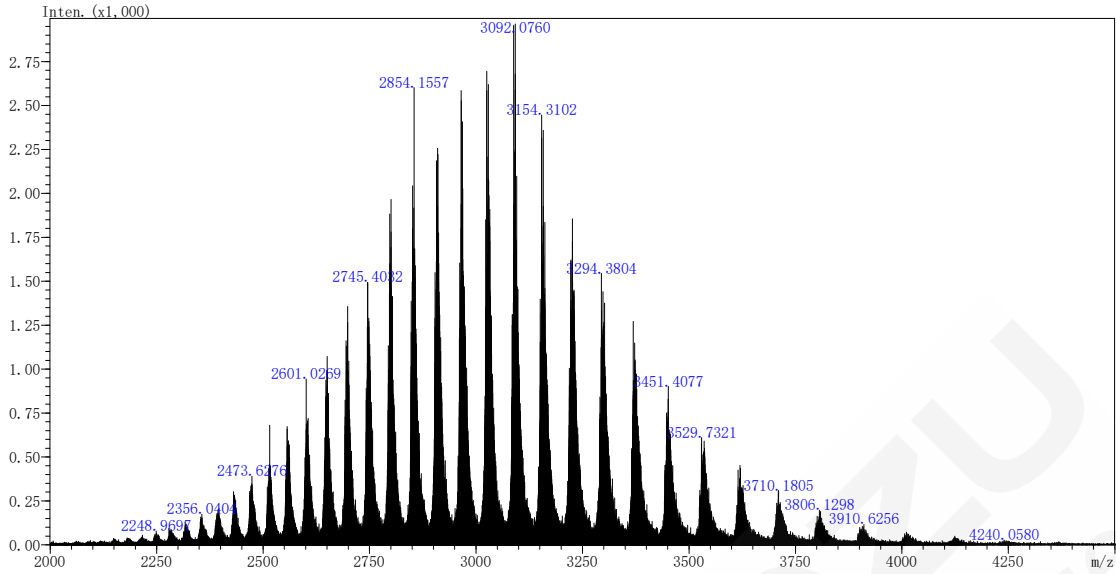


图 2. NISTmAb 质谱图

### 3.2 数据处理

将LabSolutions采集好的数据直接导入到Protein Metrics软件的PMi-Intact模块，并导入NIST mAb的氨基酸序列，进行数据解卷积和修饰基团分析，在软件中勾选可能的修饰基团（图3），并设置解卷积的其他相关参数。

Enable auto assign	Mass name	Mass (Dalton)
<input checked="" type="checkbox"/>	G0F/G0F-GlcNAc	2687.6
<input checked="" type="checkbox"/>	G0F/G0F-Fuc	2744.6
<input checked="" type="checkbox"/>	G0F/G0F-Lys	2762.6
<input checked="" type="checkbox"/>	G0F/G0F	2890.8
<input checked="" type="checkbox"/>	G0F/G1F	3053
<input checked="" type="checkbox"/>	G1F/G1F	3215.1
<input checked="" type="checkbox"/>	G1F/G2F	3377.3
<input checked="" type="checkbox"/>	G2F/G2F	3539.4
<input checked="" type="checkbox"/>	G2F/G2F+NeuAc	3830.7
<input checked="" type="checkbox"/>	- G0F	-1445.4
<input checked="" type="checkbox"/>	- 2Lys	-256.3
<input checked="" type="checkbox"/>	- GlcNAc	-203.2
<input checked="" type="checkbox"/>	- Fuc	-146.1
<input checked="" type="checkbox"/>	- Lys	-128.2

图3. PMi-Intact模块参数设置

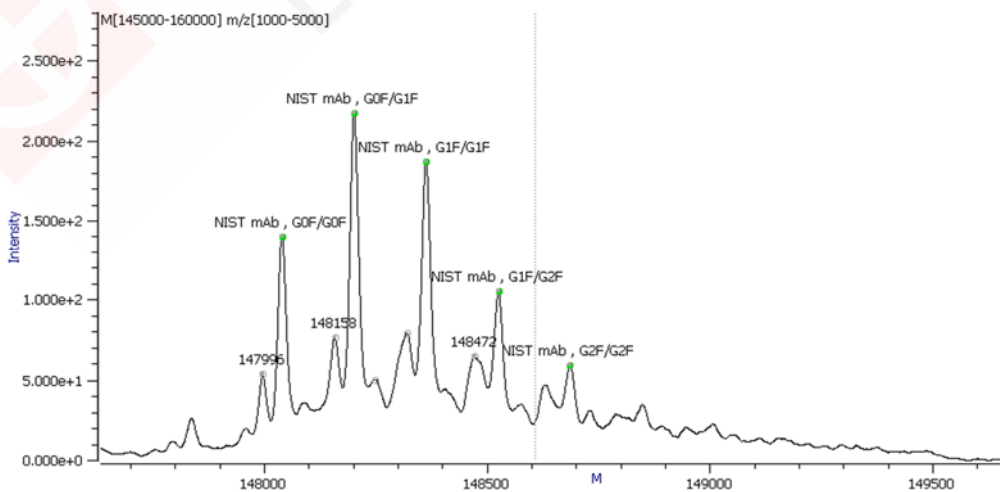


图4. 解卷积后的谱图

表2. 软件自动识别的不同修饰的NIST mAb结构

名称	实测值	理论值	偏差 (Da)	偏差 (ppm)
NISTmAb+G2F/G2F	148685.16	148685.88	-0.72	-4.87
NISTmAb+G1F/G2F	148525.65	148523.78	1.87	12.56
NISTmAb+G1F/G1F	148362.90	148361.58	1.32	8.87
NISTmAb+G0F/G1F	148201.37	148199.48	1.89	12.73
NISTmAb+G0F/G0F	148039.33	148037.28	2.05	13.84

#### 4. 结论

本文采用岛津 LCMS-9030 高分辨 Q-TOF 液质联用仪对重组人源化单抗 IgG1 $\kappa$  NISTmAb 进行整体蛋白分析, 并结合岛津 LabSolutions 和 Protein Metrics (PMi 公司) 软件对多电荷分析结果进行解卷积和修饰基团确认。结果显示该重组人单抗含有不同的糖基修饰, 包含 G2F/G2F, G1F/G2F, G1F/G1F, G0F/G0F, G0F/G1F, 和理论值的偏差均小于 3Da。

# 采用LCMS-9030进行曲妥珠单抗药物二硫键分析

**摘要：** 本文采用岛津 LCMS-9030 高分辨 Q-TOF 液质联用仪对曲妥珠单抗进行二硫键分析，并结合岛津 LabSolutions 和 Protein Metrics 软件进行结果解析。结果显示，在使用胰蛋白酶的条件下，曲妥珠单抗所有 9 对非冗余的二硫键都得到了鉴定。使用 Protein metrics 软件还可对鉴定到的二硫键连接肽段的提取离子流色谱图、一级质谱图和二级质谱图进行查看，对结果进行进一步确认。该方法快速、准确，为单抗药物的二硫键鉴定提供参考。

**关键词：** Q-TOF 单抗 二硫键分析

曲妥珠单抗（商品名：赫赛汀；英文名：Trastuzumab），是第一个抗HER-2（人类表皮生长因子2）的人源化单克隆抗体药物。主要被用于治疗HER-2过度表达的转移性乳腺癌。

二硫键是交联多肽链内或链间的两个半胱氨酸的共价键，是一种常见的单克隆抗体翻译后修饰，在形成稳定的蛋白质空间结构、保持正确的空间构

象、调节生物学活性方面至关重要。二硫键还是影响单克隆抗体药物有效性和安全性的重要因素，也是产品结构表征的关键环节。

本文采用岛津LCMS-9030 Q-TOF四极杆-飞行时间液质联用仪对曲妥珠单抗非还原酶解后肽段进行分析，并结合岛津LabSolutions和Protein Metrics软件对检测结果进行解析，快速进行二硫键定位。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用高效液相色谱仪 LC-30AD 与四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20Alite	脱气机：	DGU-20A <sub>5</sub>
输液泵：	LC-30AD × 2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.96

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18, 150 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 μm, P/N:227-30048-03  
流动相：A相-0.1%甲酸水溶液；B相-0.1%甲酸乙腈溶液  
流速：0.4 mL/min  
柱温：50°C  
进样体积：2 μL  
洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为3%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pump	B.Conc	3
50.00	Pump	B.Conc	50
51.00	Pump	B.Conc	90
56.00	Pump	B.Conc	90
56.10	Pump	B.Conc	3
60.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式	: ESI+	加热模块温度	: 400°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	干燥气流速	: 10.0 L/min
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: MS 和 MS/MS (DDA)
接口温度	: 300°C	接口电压	: 4.5 kV
D L 温度	: 250°C	事件时间	: 0.1 s

## 2. 样品前处理

使用超纯水将曲妥珠单抗粉末制剂配制成 1.0 mg/mL 的溶液，然后吸取 10  $\mu$ L 该溶液样品，加入 80  $\mu$ L 变性溶液 (50 mM Tris-HCl，含 8 M 尿素)，在 37°C 下震荡 60 min，结束后加入 4  $\mu$ L IAA 溶液 (500 mM)，在室温条件下避光震荡 30 min，然后加入 600  $\mu$ L 酶解缓冲液 (50 mM Tris-HCl) 和 5  $\mu$ L 胰蛋白酶溶液 (含 1  $\mu$ g 胰蛋白酶)，在 37°C 下反应 6 小时，酶解结束后加入 10  $\mu$ L 50% 甲酸水溶液终止酶解反应，然后转入低吸附 PP 材质的样品瓶，进行 LC/MS 分析。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 曲妥珠单抗非还原酶解肽段总离子流色谱图

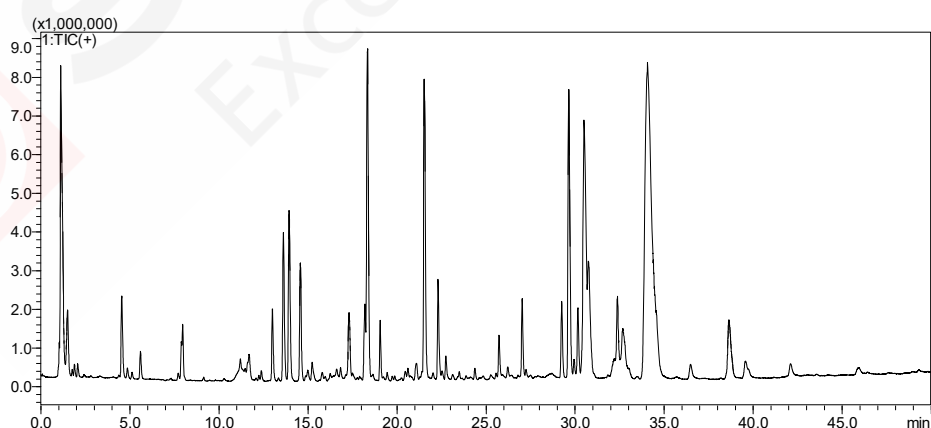


图 1. 曲妥珠单抗非还原酶解肽段总离子流色谱图

### 3.2 曲妥珠单抗理论二硫键连接

曲妥珠单抗属于 IgG1 型的单抗药物，此类抗体主要存在 16 对二硫键。其中重链内部有 8 对，轻链内部有 4 对，轻链和重链链间有 2 对，重链链间有 2 对。由于单抗结构的对称性，故非冗余的二硫键共有 9 对。曲妥珠单抗理论二硫键连接示意图和 9 对非冗余的二硫键清单见图 2。

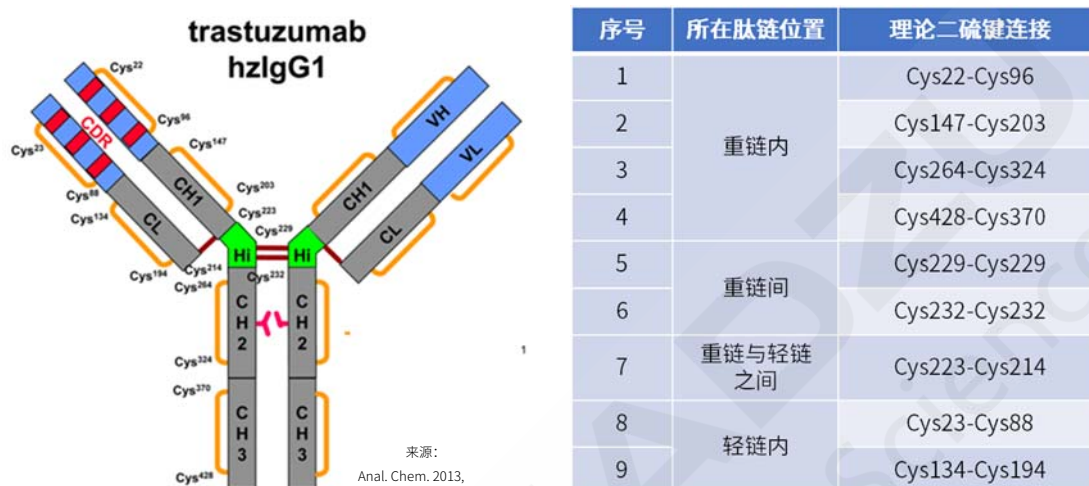


图 2 曲妥珠单抗理论二硫键连接示意图（左）和非冗余的 9 对二硫键清单（右）

### 3.3 Protein Metrics 结果解析

将 LabSolutions 采集好的数据直接导入到 Protein Metrics 软件的 PMi\_S-S 模块，并导入曲妥珠单抗的氨基酸序列，即可进行二硫键快速自动解析。曲妥珠单抗 Protein Metrics 二硫键解析结果软件截图见图 3，在仅使用胰蛋白酶的条件下，曲妥珠单抗所有 9 对非冗余的二硫键都得到了鉴定。通过 PMi\_S-S 模块，还可以进一步查看鉴定到的二硫键连接肽段对应的提取离子流色谱图、一级质谱图和二级质谱图，可对鉴定结果进行确认。重链内二硫键连接 Cys264-Cys324 的色谱图和质谱图见图 4。

Xlink Class	Protein name	Xlink Base Peptide Xlink Pos. in Protein	Xlink Partner Peptide Xlink Pos. in Protein
Expected	Anti-HER2 Heavy chain (1 and 2)	22	96
		147	203
		223	214
		229, 232	229, 232
		264	324
		428	370
		Anti-HER2 Light chain (1 and 2)	23
		134	194

Sequence	Xlink Partner Peptide Sequence	Xlink Partner Peptide Protein Name
R.LS.eAASGFNIK.D	R.AEDTAVVYCSR.W	(self)
K.STSGGTAALGdLVK.D	K.DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHIFPAVLQSSCLYLSVVTVPS SSLGTQTYICVNHKPSNTK.V	(self)
K.SeDK.T	R.GEC.-	Anti-HER2 Light chain (1 and 2)
K.THTePPePAPELLCGPSVFLFPPKPK.D	K.THTCPPePAPELLCGPSVFLFPPKPK.D	(self)
R.IPEVTeVVDVSHEDPEVK.F	K.CKV	(self)
R.WQQCNVFSdSV\IHEALHNHYTQK.S	K.NQVSLTCLVK.G	(self)
R.VTITeRA	R.SGTDFTLTISSLQPEDFATVYCCQHYHTPPITFCQCTK.V	(self)
K.SGTASVVeLLNNFYPR.E	K.VYACEVTHQGLSSPVTK.S	(self)

图 3. 曲妥珠单抗 Protein metrics 二硫键解析结果软件截图

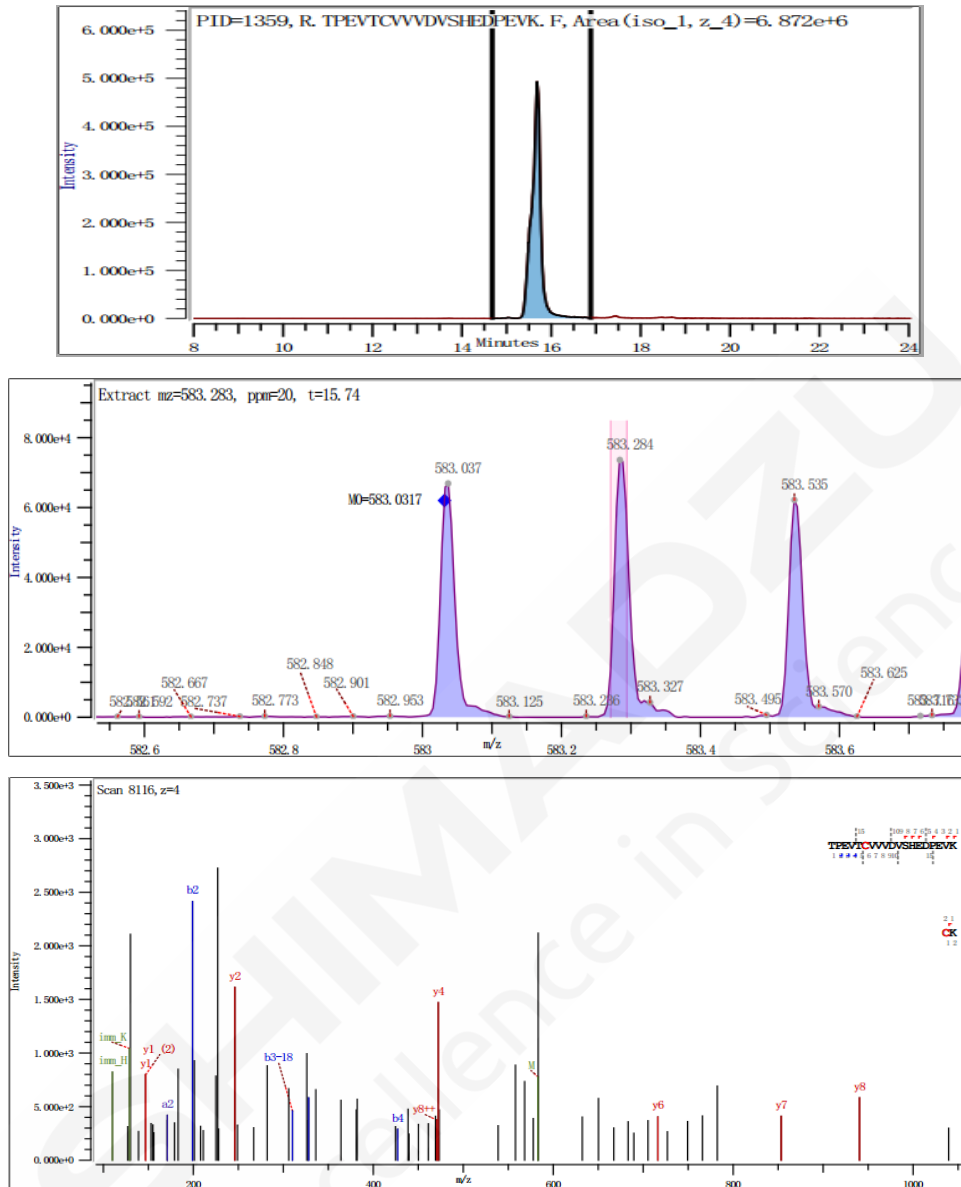


图 4. 重链内二硫键连接 Cys264-Cys324 的色谱图和质谱图  
提取离子流图（上）、一级质谱图（中）和二级质谱图（下）

#### 4. 结论

本文基于岛津LCMS-9030高分辨Q-TOF液质联用仪和Protein Metrics数据分析软件，成功鉴定到曲妥珠单抗中所有非冗余的9对二硫键。LCMS-9030高分辨、高质量数准确度的质谱数据，结合Protein Metrics快速、自动的二硫键鉴定流程，助力单抗药物二硫键结构表征，为生物药研发和产品质量保驾护航。

# LCMS-9050 用于 mRNA 药物加帽的分析

**摘要：**本文使用岛津 LCMS-QTOF 联用系统，建立了一种 mRNA 药物加帽分析的方法。在高温条件下，使用聚合物基质反相色谱柱对 5'-加帽序列，生物素标记探针等进行分离，并通过 LCMS-9050 四极杆飞行时间质谱对色谱峰进行鉴定。在 260nm 下计算各色谱峰的峰面积，单点外标法定量。该方法可用于 mRNA 药物加帽率的研究。

**关键词：**mRNA 加帽 反相色谱 LCMS-9050

真核生物的mRNA转录后，在5'端生成N7-甲基化的鸟苷三磷酸(m7GpppG)帽子结构，增强了mRNA稳定性，避免mRNA被核酸外切酶降解；同时帽子结构是翻译起始因子eIF4E识别位点，具有重要生理意义。mRNA药物一般以DNA为模板，经体外转录(IVT)制备。加帽工艺一般有两种：第一种称为“转录后加帽”工艺，运用复合酶体系，经四步反应，在mRNA依次生成5'端鸟苷三磷酸(GpppG, G Cap), N7-甲基化的鸟苷三磷酸(m7GpppG, Cap0)和核糖2位羟基甲基化(m7GpppmG, Cap1)；第二种称为“共转录”加帽，即在IVT时，RNA聚合酶将m7GpppG加入mRNA中，替换原有的GTP。然而加帽过程可能产生加帽不完全，或反向序列帽子等杂质，影响原料药的

质量及稳定性。

传统的5'帽子结构研究采用外切酶水解，经聚丙烯酰胺PAGE凝胶电泳或离子色谱法检测P<sup>32</sup>标记的5'-帽子。本文采用LCMS-Q-TOF等技术对加帽效率进行研究，无需放射性标记，更适合治疗用的mRNA药物。

本文对比了“转录后加帽”、“共转录”两种加帽工艺，并以合成对照品为对照，进行单点外标定量。Cap和uncapped片段，生物素标记探针以及mRNA片段经反相色谱分离，LCMS-9050采集质谱数据，经LabSolutions Insight软件解卷积分析，实现了对5'加帽产物的识别与加帽率研究。该分析条件稳定，可靠，供相关人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪-四极杆飞行时间质谱仪，配置信息如下：

系统控制器	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C X3
输液泵	: LC-40B X3	柱温箱	: CTO-40S
PDA检测器	: SPD-M40	质谱	: LCMS-9050

### 1.2 分析条件

#### 色谱条件

色谱柱 : SHIMSEN Ankylo C18-300S, 100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm (P/N:380-01202-73), 岛津(上海)实验器材有限公司

洗脱液 : A: 200 mM HFIP+8.3 mM TEA 水溶液  
 B: A相/MEOH=1:2  
 流速 : 0.25 mL/min 提取波长 : 260 nm  
 进样体积 : 5  $\mu$ L 柱温 : 55 $^{\circ}$ C  
 洗针模式 : R0,R3 均为甲醇/乙腈/异丙醇/水 (1:1:1:1, 加 1%FA)  
 洗脱方式 : 梯度洗脱, 起始为 20% B 相, 见表 1

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	70
17.00	Pumps	Pump B Conc.	95
20.00	Pumps	Pump B Conc.	95
21.00	Pumps	Pump B Conc.	20
25.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI- 加热模块温度 : 400 $^{\circ}$ C  
 雾化气流速 : 3.0 L/min 干燥气流速 : 10.0 L/min  
 加热气流速 : 10.0 L/min 扫描模式 : MS scan, m/z 500-5000  
 接口温度 : 300 $^{\circ}$ C 接口电压 : 4.5 kV  
 D L 温度 : 250 $^{\circ}$ C 事件时间 : 0.6 s

### 1.3 供试品的制备

供试品溶液: 参考 Beverly 等 (2016) 的文献, 为了保证体外转录的 mRNA 的稳定性, mRNA 需要进行 5' 端加帽, 加帽工艺有两种: 1、经过多种复合酶作用, 依次生成 G cap, Cap0 和 Cap1 的帽子结构(如图 1), 409 样品为此方式获得; 2、采用“共转录”方式, 在 5' 端加入 m7GpppG 替代 GTP, 再获得 Cap0 结构, 391 样品为此方式构建。为了采用 MS 对加帽核苷酸进行分析, 通常采用酶切的方式获得 5' 端寡核苷酸序列, 具体操作流程参考图 2, 生物素标记的探针与 mRNA 共同退火, 获得引物标记的序列, 经免疫磁珠捕获, RNAse H 酶解, 获得含帽子寡核苷酸序列, 经纯化得到上机溶液。具体样品信息如下表 2 所示。

表 2. 样品信息

样品	浓度	平均分子量 Da	备注
AGG-38nt Cap	5 $\mu$ M	12515.8	uncapped U 对照
Cap probe	5 $\mu$ M	9762.5	
391-S1	/	391k	酶解未纯化
391-S2	/	391k	磁珠纯化
409-S1	/	409k	酶解未纯化
409-S2	/	409k	磁珠纯化

uncapped	/	12825.6
Gcap	/	13089.8
Cap0	/	13104.8
Cap1	/	13119.2

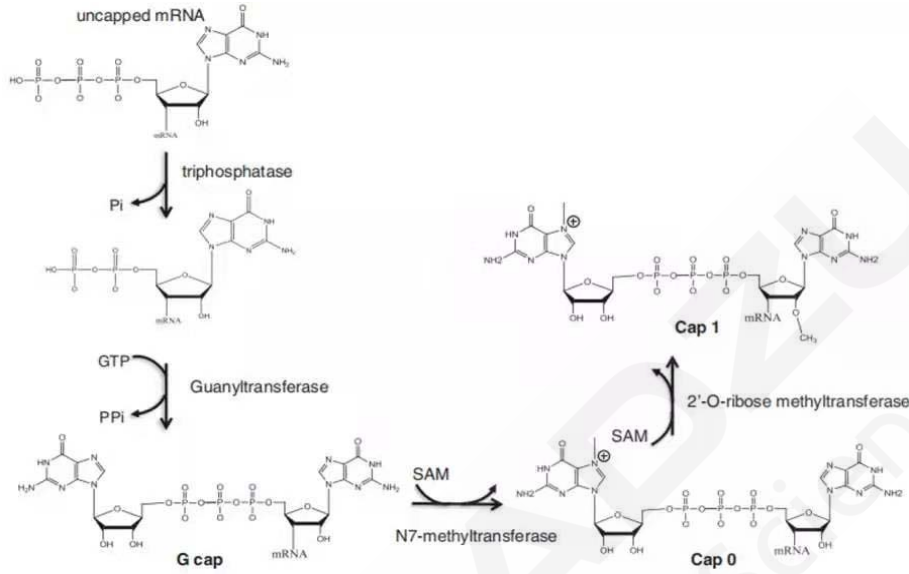


图 1. mRNA 体外转录后酶促加帽途径

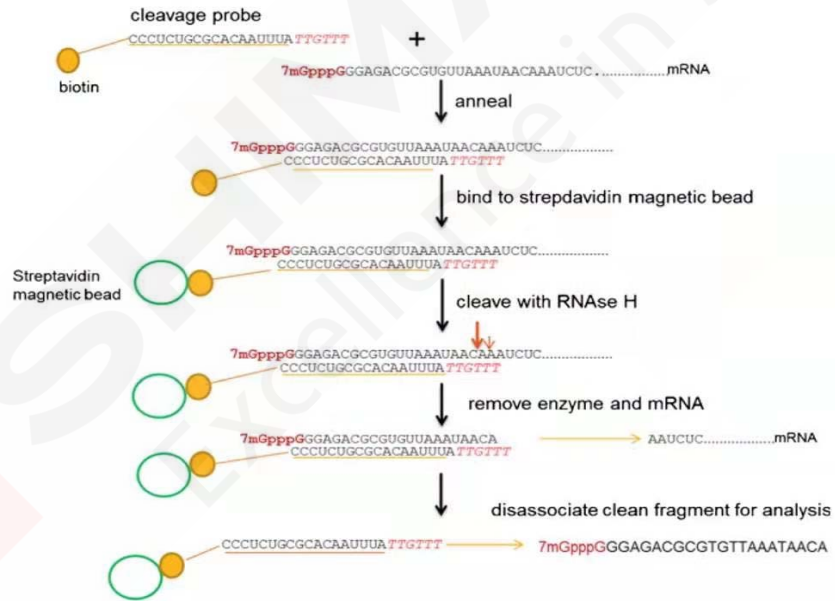


图 2. mRNA 5' 帽子酶切前处理 (序列仅参考)

## 2. 结果与讨论

### 2.1 AGG-38nt Cap 及 Cap probe 对照品分离及鉴定结果

AGG-38nt Cap 是化学合成的帽子结构，AGG-38nt Cap 保留时间为 3.8 min，如图 3 所示。MS 数据经 LabSolutions Insight 分析，可以观察到[M-4H]<sup>4+</sup>的 m/z 3128，[M-5H]<sup>5+</sup>的 m/z 2502...[M-14H]<sup>14+</sup>的 m/z 892 等，经 LabSolutions Insight 解卷积算法计算，平均质荷比[M-H]<sup>-</sup>为 12515，与理论值吻合。

Cap probe 是 3' 端带有生物素标记的探针序列, 与 AGG-38nt Cap 序列互补, 其 5' 端以 *TTGTTT* 起始, 可特异性结合 RNase H。Cap probe 出峰时间 4.8 min, 经 MS 确认,  $[M-3H]^3$  的  $m/z$  3253,  $[M-4H]^4$  的  $m/z$  2439... $[M-12H]^{12}$  的  $m/z$  812 等, 如图 4 所示, 经过解卷积分析, 平均质荷比  $[M-H]$  为 9762。

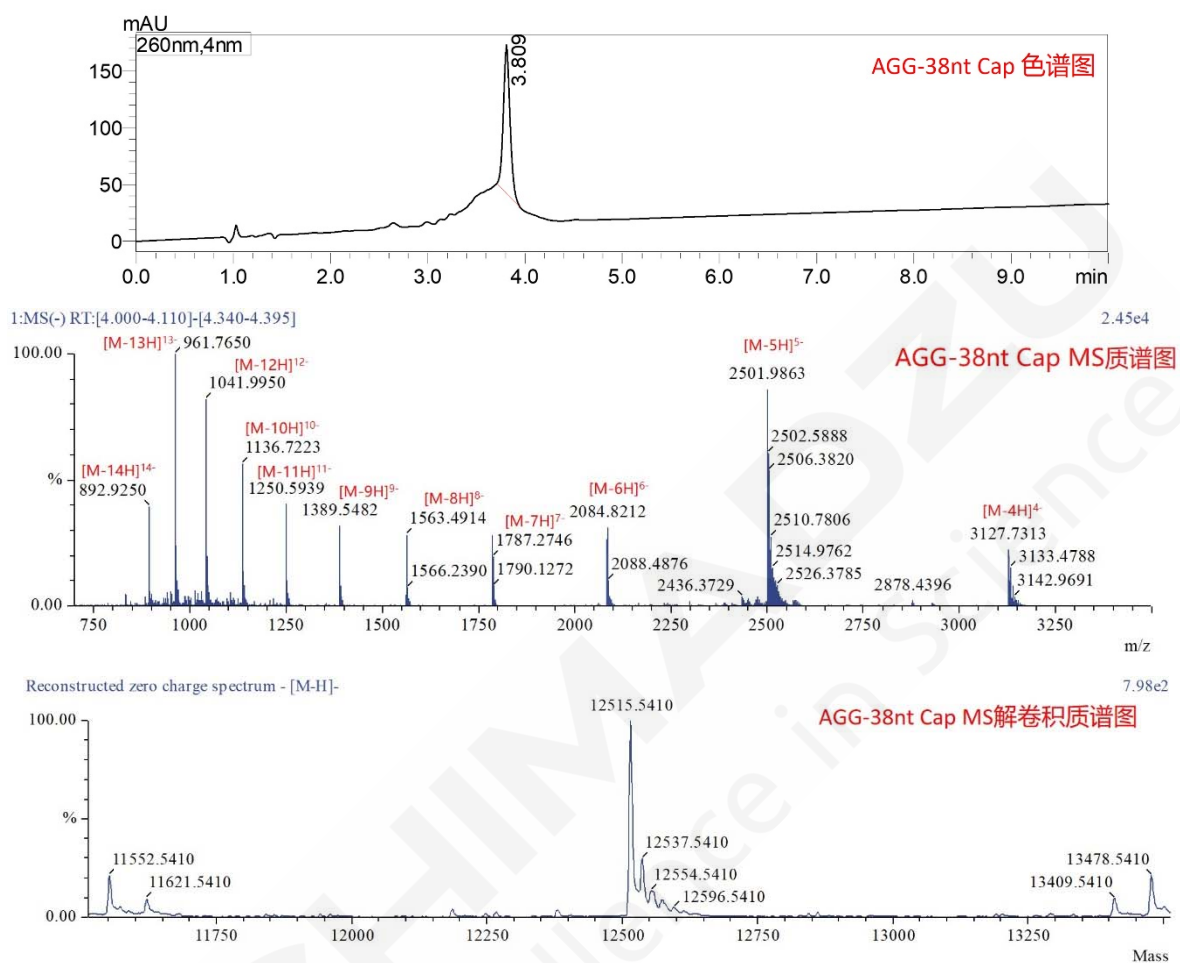
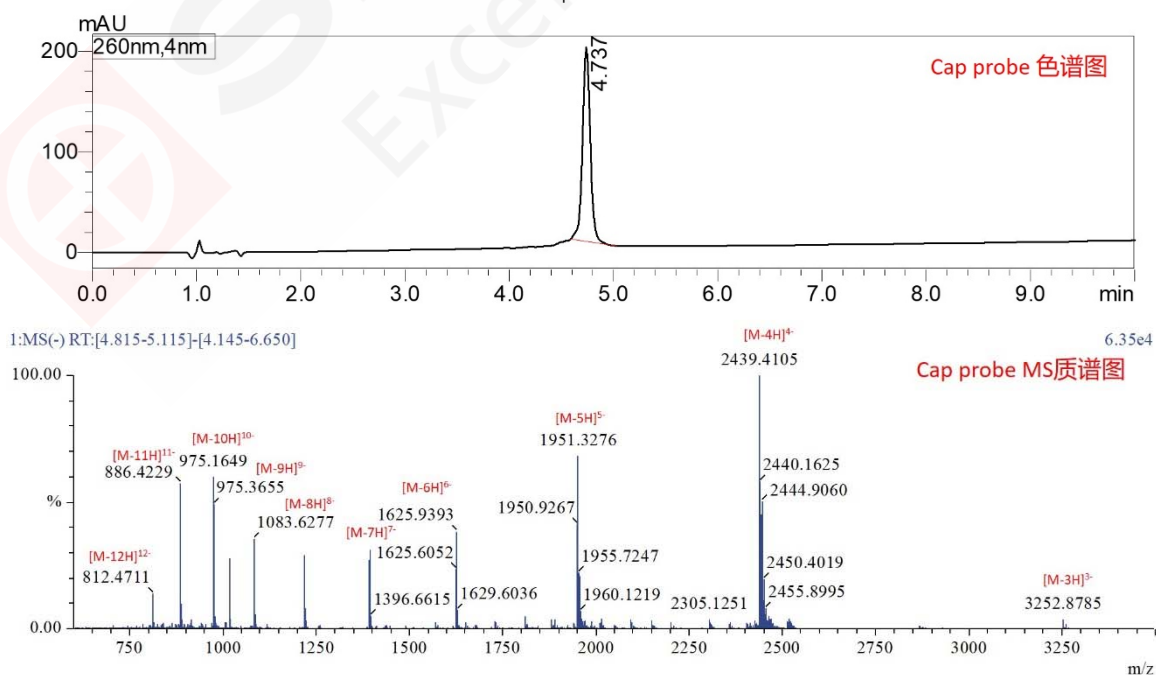


图 3. AGG-38nt Cap 色谱图及质谱解卷积结果



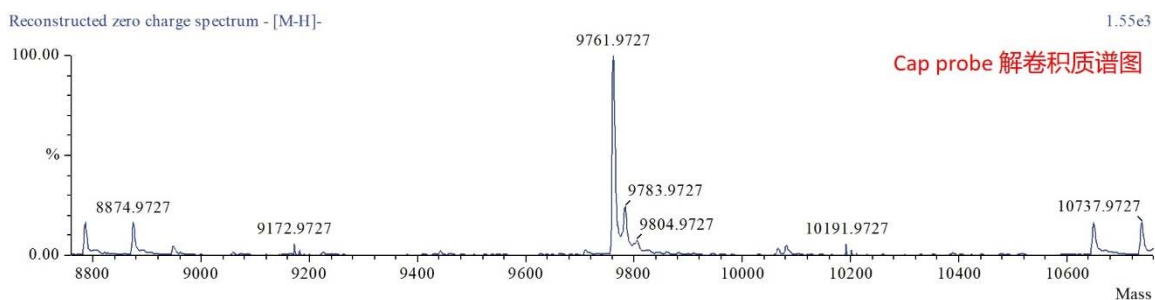


图 4. Cap probe 色谱图及质谱解卷积结果

## 2.2 391 样品结果解析

391-s1 未纯化，因此色谱图上能看到较大的 mRNA 残余峰，而 391-s2 经过链霉亲和素 (SAV) 磁珠纯化，除去了蛋白及 mRNA 长序列片段，色谱图及解卷积结果如图 5 所示。391-s2 RT=3.8 min 的色谱峰经 MS 分析，可以观察到  $[M-5H]^{-5}$  的  $m/z$  2623,  $[M-6H]^{-6}$  的  $m/z$  2185, ...  $[M-12H]^{-12}$  的  $m/z$  1092 等，如图 5 所示，经过解卷积分析，平均质荷比  $[M-H]$  为 13121，与理论值相当，RT=3.8 min 色谱峰均为 Cap1 结构。IVT 制备的 mRNA，其尿嘧啶 (U) 被甲基-假尿嘧啶取代，所以，Cap1 与对照品 AGG-38nt Cap 结构类似，色谱保留时间一致，但质荷比不同。RT=4.7 min 色谱峰经质谱确认，为 Cap probe。

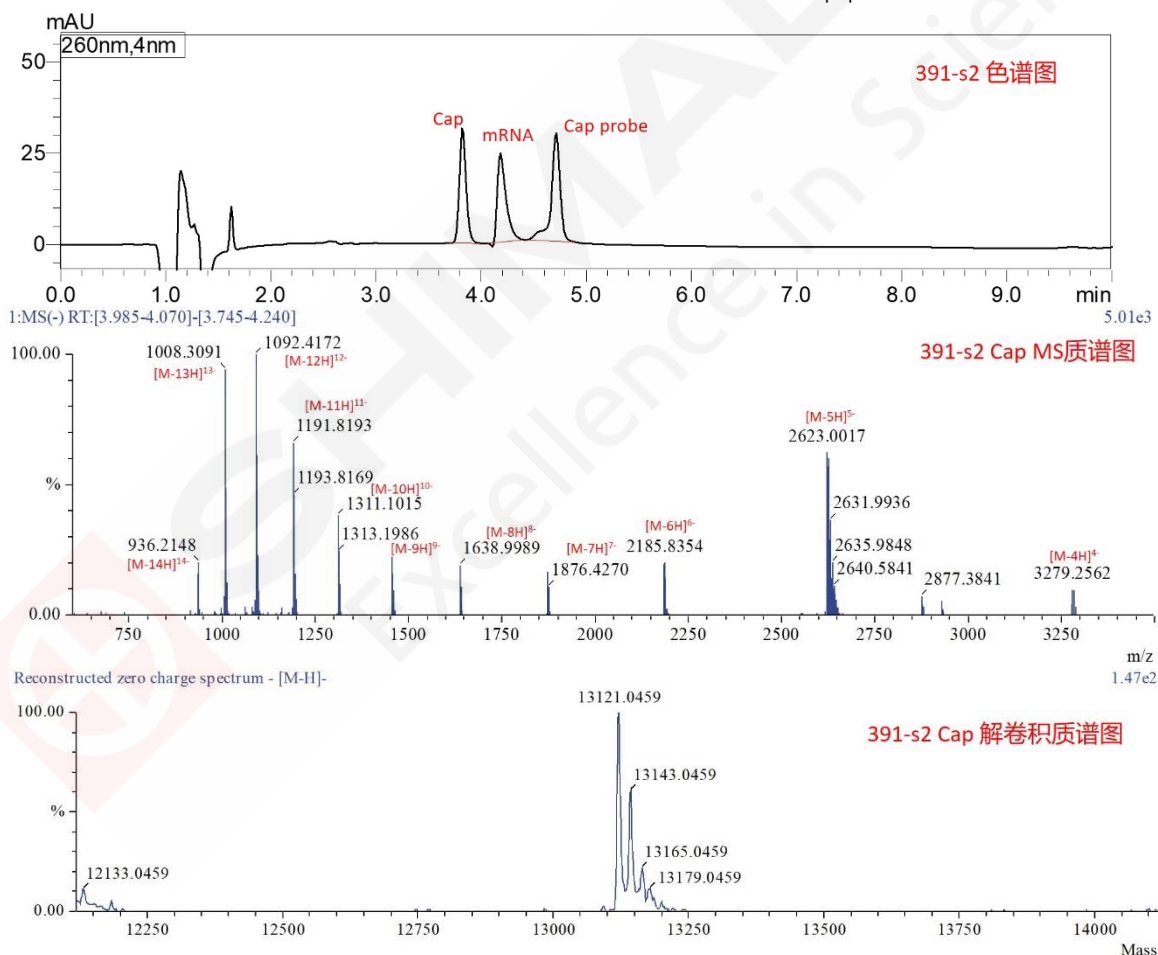


图 5. 391-s2 的色谱图及质谱解卷积结果

图 5 中 RT=4.18 min 色谱峰，经质谱分析，在  $m/z$  750-2000 范围内有微弱的一簇信号，如下图 6，推测为长序列 mRNA 片段，由于 ESI 模式的电荷分散效应，质谱信号极弱，无法解卷积。391-s2 经过 SAV 纯

化，除去了 mRNA 大片段及酶，因此，391-s2 中 RT=4.18 min 峰面积为 140174，仅为 391-s1 中 RT=4.18 min 的峰面积的 2.8%。

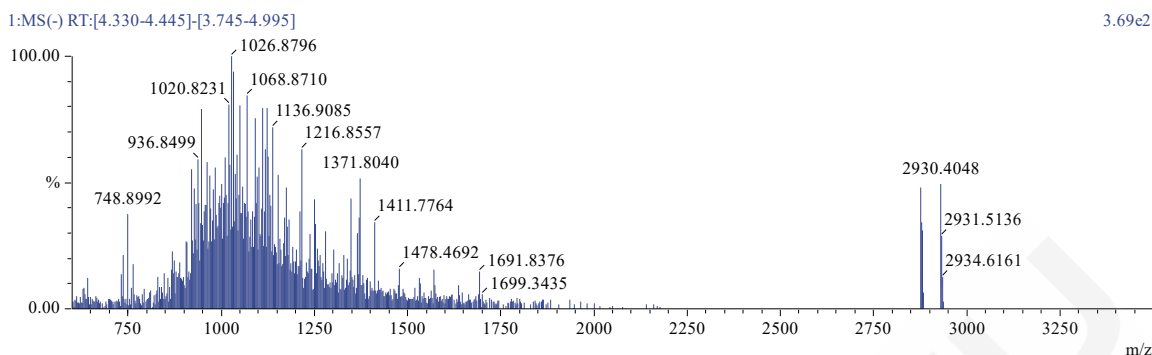


图 6. RT=4.18 min 的质谱图

### 2.3 409 样品结果解析

409-s1、409-s2 中 RT=3.8 min 的峰经 MS 分析，可以观察到  $[M-5H]^{-5}$  的  $m/z$  2608， $[M-7H]^{-7}$  的  $m/z$  1863，经解卷积分析，质荷比  $[M-H]^{-}$  为 13049，与理论值吻合，为 Cap1 结构。4.7 min 色谱峰经质谱确认，为 Cap probe；RT=4.2 min 色谱峰经质谱确认，推测为 mRNA 长序列片段。

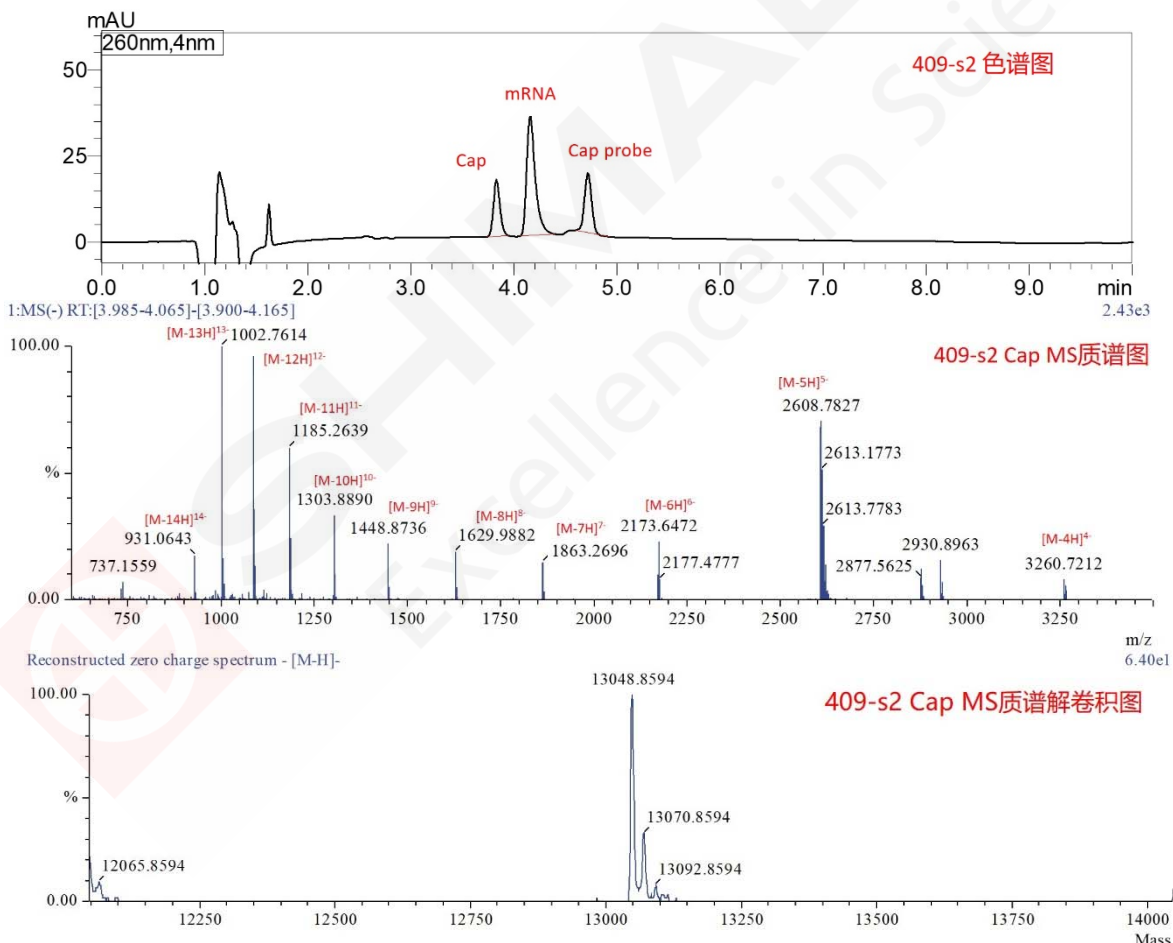


图 7. 409-s2 的的质谱图

### 2.4 Cap1 浓度分析

根据质谱定性结果，391 和 409 样品中 RT=3.8 min 峰均为 Cap1 结构，没有其他类似结构共流出。因此，以 AGG-38nt Cap 为对照品，根据紫外色谱峰面积，单点法计算各样品中 Cap1 的浓度，结果如下表 3

所示。s2 浓度均高于 s1，这表明磁珠纯化可以获得较高浓度的 Cap1，有利于色谱分离与检测；此外，391-s2 和 409-s2 浓度分别为 1.53  $\mu\text{M}$ 、1.72  $\mu\text{M}$ ，表明两种工艺加帽效率相当。对照品及样品对比色谱图如图 8 所示。

表 3. 样品中 Cap1 浓度

峰名称	保留时间	峰面积	稀释倍数	浓度 $\mu\text{M}$
AGG-38nt Cap	2.91	717439	1	5
391-s1	2.85	39957	3.5	0.97
391-s2	2.93	62794	3.5	1.53
409-s1	2.97	11575	3.5	0.28
409-s2	2.95	70627	3.5	1.72

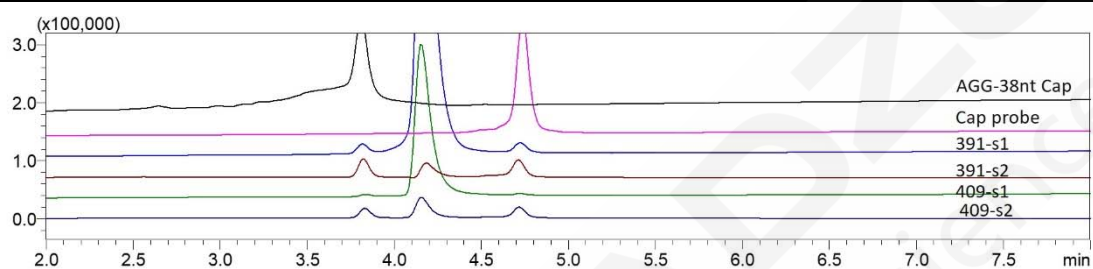


图 8. 对照品及样品色谱图 (260 nm)

### 3. 结论

基于岛津 LCMS-QTOF 联用系统，建立了一种 mRNA 加帽的质谱分析方法。核酸电负性强，本方法采用三乙胺离子对试剂，实现在反相模式分离，流动相中添加六氟异丙醇，促进了核酸在负模式下的电离，对酶解后的 mRNA 片段进行分离和检测，并分别采用紫外和质谱的数据进行了色谱定性和质谱多电荷解卷积分析，两种工艺的加帽样品均能准确定性 Cap1、Cap probe，以合成的 AGG-38nt-Cap 为标准，单点外标法计算 Cap1 含量，391-s2 和 409-s2 中 Cap1 浓度分别为 1.53  $\mu\text{M}$ 、1.72  $\mu\text{M}$ ，表明两种工艺加帽效率相当。该方法可用于 mRNA 加帽效率评估，也可供寡核苷酸质量控制提供参考。

## 第 5 章 Q-TOF 在代谢组学中的应用

代谢组学研究的是内源性小分子化合物，包括氨基酸、糖、有机酸、核苷酸及脂质等等。生物机体受到外界刺激或遗传因素的影响，体内的内源性小分子的含量会出现相应的上调或者下调。代谢组学的目的就是找到影响的小分子，并最终应用于相关疾病的诊断和药物筛选。代谢组学按照研究方法分为非靶向代谢组学和靶向代谢组学。非靶向代谢组学是一种代谢物的指纹分析，不分离鉴定某个单一组分，而是对整体内源性小分子进行分析，找到不同样品组之间的差异成分，确认生物标记物。

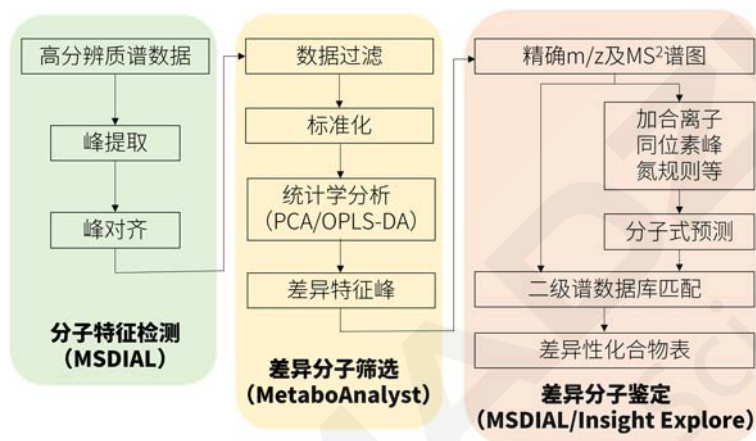


图 1 非靶代谢组学数据处理流程

代谢组学研究中的一大困难是代谢物极性跨度大，难以用一种方法完成分析。目前普遍的应对方案，是采用两种色谱分离方法，如亲水作用色谱柱和反相色谱柱，分别对应进行高极性物质和中低极性物质的分析。但这样的处理方式，往往需要耗费双倍前处理时间、分离分析时间，不利于提高分析效率；且会产生双份数据、交叉冗余数据，定性分析难度高。

岛津全谱二维液质系统拥有在线稀释专利技术和极性分流、双重梯度特色技术，是岛津独家产品，适合于代谢组学中全组分分析，可作为宽极性多目标物数据库的通用分离平台，并适用于极性相差较大的两类关联物质的同时分析，而且该系统内含一个 UHPLC 子系统，方便日常常规检测。该系统为新一代多功能质谱前端平台，可与三重四极杆和飞行时间质谱联用，助力复杂基质中宽极性痕量物质的定性、定量、筛查和分析。

本章内容主要介绍岛津全谱二维液相结合 LCMS-9030/9050 在非靶向代谢组学中的应用，供相关行业从业人员参考。



图 2 全谱二维液质联用系统

# 全谱二维液相-QTOF 用于大鼠抑郁症的非靶向代谢组学研究

**摘要:** 本文利用全谱二维液相系统结合四极杆-飞行时间质谱对抑郁症大鼠血浆进行了非靶向代谢组学分析。基于全谱二维液相系统,共找到 8083 个特征峰,其中第一维 2713 个,第二维 5370 个。正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)表明正常组与模型组有显著差异,共找到 247 种变量投影重要性(VIP)大于 1 的候选差异性代谢物,经数据库比对鉴定出 44 种,主要包括 39 种脂质、2 种氨基酸、3 种生物碱,主要影响的通路包括甘油磷脂代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、谷氨酸代谢等。

**关键词:** 全谱二维液相 四极杆-飞行时间质谱 非靶向代谢组学 抑郁症

抑郁症(depression)是当前造成非致死健康损失的最主要因素,重度抑郁症是致残率最高的疾病之一。据统计,全球有3.22亿人口患有抑郁症,占总人口的4.4%,中国和印度是患者最为集中的地区。据调查,2010-2019 年中国老年人抑郁症患病率高达26%,2015-2019年中国产妇产后抑郁症检出率为15%。抑郁症对患者及其家庭影响巨大,患病率持续上升,引起了越来越多的社会关注。

目前抑郁症的病理机理并不明确,在研究方面有不少病因假说,较为公认的有细胞因子假说、单胺假说、神经可塑性假说。尽管关于抑郁症的病因存在不少假说,但是这些假说都有其局限性,不能完全解释清楚抑郁症的发生。因此,仍然需要开展更多的研究来揭示抑郁症。

代谢组学是研究特定生物体系中整体代谢物水

平及其变化规律的独立学科,是疾病研究的重要手段之一。代谢组学研究中的一大困难是代谢物极性跨度大,难以用一种方法完成分析。本研究利用全谱二维液相系统,可以同时完成高极性和低极性的代谢物分析,大大节省了实验工作量和分析时间。该系统与岛津四极杆-飞行时间质谱LCMS-9030结合,可以进行宽极性目标物的非靶向代谢组学全组分研究。

本研究利用全谱二维液相-QTOF系统,以非靶向代谢组学的工作流程分析了健康大鼠和抑郁症大鼠的血浆样品,发现44种差异性代谢物,主要为脂质,此外还有氨基酸、生物碱等代谢产物,主要影响甘油磷脂代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、谷氨酸代谢。

## 1. 实验部分

### 1.1 抑郁症大鼠模型构建

采用慢性不可预知轻度应激(Chronic unpredictable mild stress, CUMS)建立抑郁症大鼠模型,建模 28 天,每天随机给予 1-2 种压力源。通过大鼠体重、旷场实验行为学得分、糖水偏好率、高架十字迷宫开放臂滞留时间、强迫游泳实验挣扎行为得分等 5 个指标共同评价抑郁症大鼠模型构建是否成功。

### 1.2 样品采集及处理

模型建立并评价完成后,采用眼眦静脉采血方式收集大鼠血液于抗凝管,随后将血液离心(4000 rpm, 8 min),小心吸取上层淡黄色血浆于已标记的离心管,用冰盒带回,储存在-80℃冰箱。

样品解冻后,取 50 μL 大鼠血浆,加入 200 μL 甲醇沉淀蛋白,再加入 50 μL 异丙醇,涡旋 60 s,在 10℃

下以 14,000 rpm 的转速离心 10 min，取 250  $\mu$ L 上清，真空冷冻干燥，50  $\mu$ L 异丙醇:水 (50:50) 复溶，上机分析。正常组与模型组各取 12 份样品进行分析，每份样品各取 10  $\mu$ L，均匀混合，制成质量控制 (QC) 样品。QC 样品在样品分析前连续进样 6 针，之后每分析 6 个样品插入 2 针 QC，通过 QC 样全程监测数据质量。

### 1.3 仪器介绍

仪器装置由全谱二维液相系统与 Q-TOF 联用，其中全谱二维液相系统核心部件由四个色谱泵、两根色谱柱（第一维为 HILIC 亲水作用色谱柱，第二维为 C8 反相色谱柱）、一个定量环、一个高压十通阀构成，检测器为 LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪。

该系统优势在于：① 极性覆盖范围宽：使用了“极性分流”技术，一针同时分离超宽极性目标物，极性范围宽达 -8.79~26.86，涵盖适用于 ESI、APCI 离子源的绝大多数化合物；② 分析效率高：将正相色谱和反相色谱合二为一，只需原来进样分析的一半时间，包括前处理、分离平衡、数据处理时间，大大提高分析通量；③ 一机多用，自由切换：内含一套标配 UHPLC，无需任何管路或软件改动，即可自由切换常规 UHPLC 和全谱二维液质系统，满足不同的分析需求。

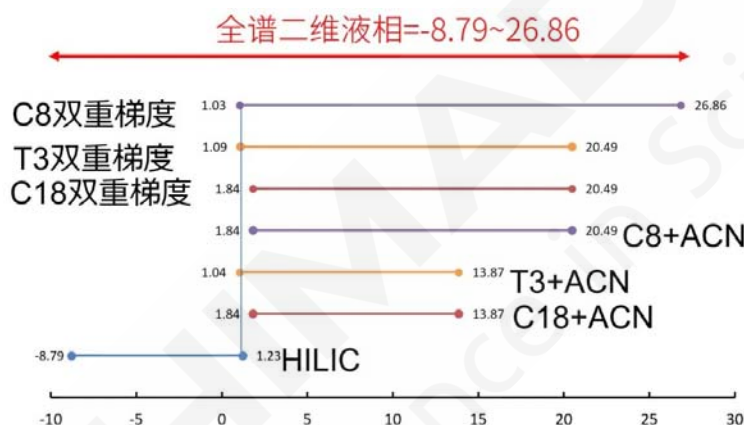


图 1. 全谱二维液相与各普通色谱系统的极性范围 (LogP 值) 对比

全谱二维液相的具体配置为：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵	: LC-30AD × 4	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	检测器	: SPD-M40
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.97	十通阀	: FCV-36AH

### 1.4 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: 第一维: Shim-pack GIST NH <sub>2</sub> , 100 mm × 2.1mm I.D., 3 $\mu$ m, P/N: 227-30291-05		
	第二维: Phenomenex Kinetex C8, 150 mm × 2.1 mm I.D., 2.6 $\mu$ m, P/N: 00F-4497-AN		
流动相	: 第一维: A相- 25mM 乙酸铵+25mM 氨水/水, B相-乙腈		
	第二维: A相-水, B相- 5mM 乙酸铵/乙腈: 异丙醇 (v/v, 6:4) +		
进样体积	: 2 $\mu$ L	流速	: 0.4 mL/min
柱温	: 45 °C	洗脱方式	: 梯度洗脱 (表 1)

质谱条件

离子源	: ESI	接口温度	: 300 °C
-----	-------	------	----------

接口电压：+4.5 kV/-3.5 kV      D L 温度：250 °C  
 雾化气：氮气 3.0 L/min      加热块温度：400 °C  
 干燥气：氮气 10.0 L/min      扫描模式：MS1 SCAN (m/z 50-1000)  
 加热气：空气 10.0 L/min      MS2 DDA (m/z 50-1000)

表 1. 液相梯度时间程序

时间 (min)	单元	命令	值
0.00	泵	B.Conc	90
0.00	泵	B.Conc3	20
0.00	柱温箱	CTO.RVR	0
1.50	泵	B.Conc	90
2.00	柱温箱	CTO.RVR	1
18.00	泵	B.Conc3	20
20.00	泵	B.Conc	60
22.00	泵	B.Conc	60
22.00	柱温箱	CTO.RVR	0
22.10	泵	B.Conc	90
35.00	泵	B.Conc3	100
39.50	泵	B.Conc3	100
39.60	泵	B.Conc3	20
40.00	泵	B.Conc3	20
40.00	泵	B.Conc	90
40.00	控制器	Stop	

## 1.5 数据处理

采用 Signpost MS 软件对谱图数据处理（离子提取、峰对齐、峰匹配、峰强度校正）后，将数据导入 SIMCA 软件进行统计分析，找出差异性代谢物，依据精确 m/z 及 MS<sup>2</sup> 谱图在 MS DIAL 及 HMDB 等平台搜索确认代谢物种类，然后在 MetaboAnalyst 平台进行代谢通路分析。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 色谱图与色谱峰

血浆样品典型色谱图如图 2 所示。

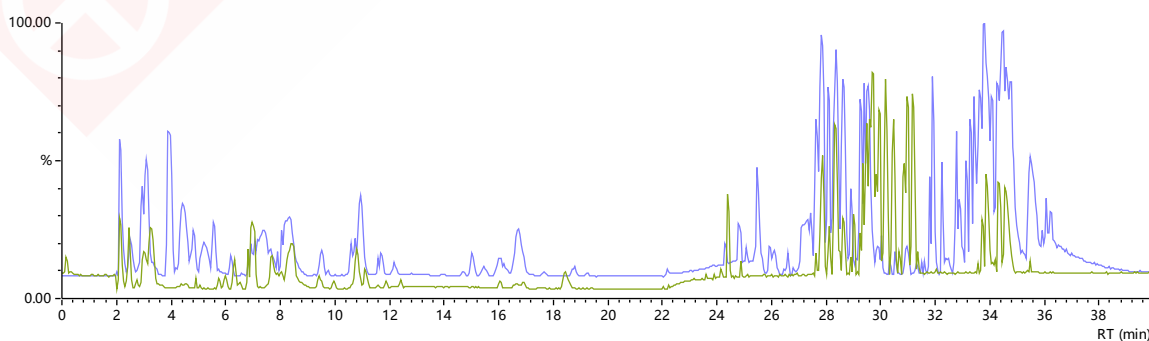


图 2. QC 样品 BPC 图 (蓝: 正模式; 绿: 负模式)

所有样品经过峰提取与峰对齐处理后，共得到 8083 个特征峰；经过 80%规则（在 80%以上的样品中都有检出）筛选后，还剩 2875 个特征峰；在这 2875 个特征峰中，剔除在 QC 样品中峰面积 RSD > 30%特

征峰，还剩 2752 个，将这 2752 个特征峰导入 SIMCA 软件，用于统计分析（表 2）。

表 2. 血浆样品分析特征峰数

特征峰数	正模式		负模式	
	第一维	第二维	第一维	第二维
初始	1484	3184	1229	2186
80%规则筛选	568	984	420	923
QC 样 RSD < 30%	551	882	411	908
VIP > 1	45	101	32	69

## 2.2 差异性代谢物查找

正交偏最小二乘判断分析（OPLS-DA）结果显示，正常组与模型组可以明显地区分，表明抑郁症大鼠与正常大鼠血浆代谢产物有显著差异（图 3）。

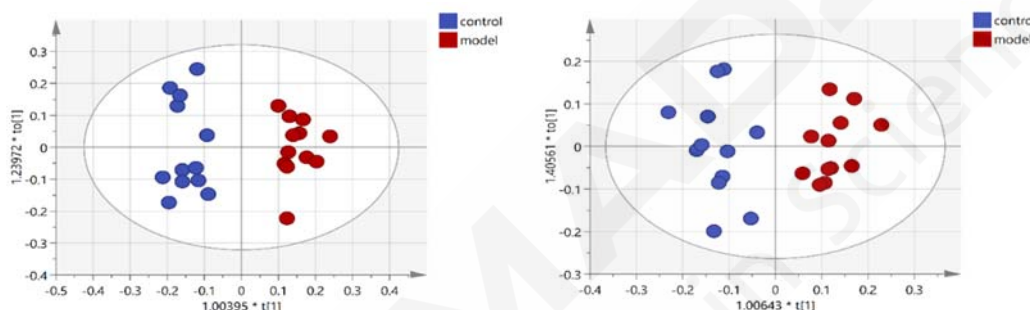


图 3. 正常组与模型组 OPLS-DA 得分图 (a: 正模式; b: 负模式)

以交叉验证的方式对上述 OPLS-DA 模型进行验证，结果表明：正模式下截距  $R^2=0.594$ ， $Q^2=-0.475$ ，负模式下  $R^2=0.481$ ， $Q^2=-0.617$ ，模型可靠，没有过拟合（图 4）。

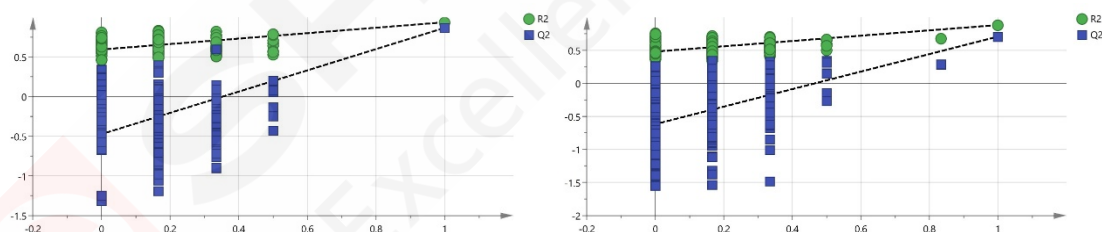


图 4. OPLS-DA 交叉验证结果 (a: 正模式; b: 负模式)

通过变量投影重要性(variable importance of projection, VIP)筛选差异性代谢物，选取  $VIP > 1$  的特征峰，二维色谱正负模式下候选差异性代谢物共 247 个(表 2)。

## 2.3 差异性代谢物鉴定

将 247 个  $VIP > 1$  的候选差异性代谢物进行 t 检验，将  $p < 0.05$  的物质谱图导入 MS-DIAL 软件，通过精确  $m/z$  和  $MS^2$  谱图匹配进行鉴定（图 5），所得结果与 HMDB 平台比对，共鉴定出 44 种差异性代谢物，包括 39 种脂质，此外还有脯氨酸、谷氨酸、肉碱、甜菜碱和脯氨酸甜菜碱；所有物质质量测定误差  $< 3$  ppm；16 种物质浓度水平上调，另外 28 个浓度下调；29 个物质 t 检验  $p < 0.01$ （表 3）。

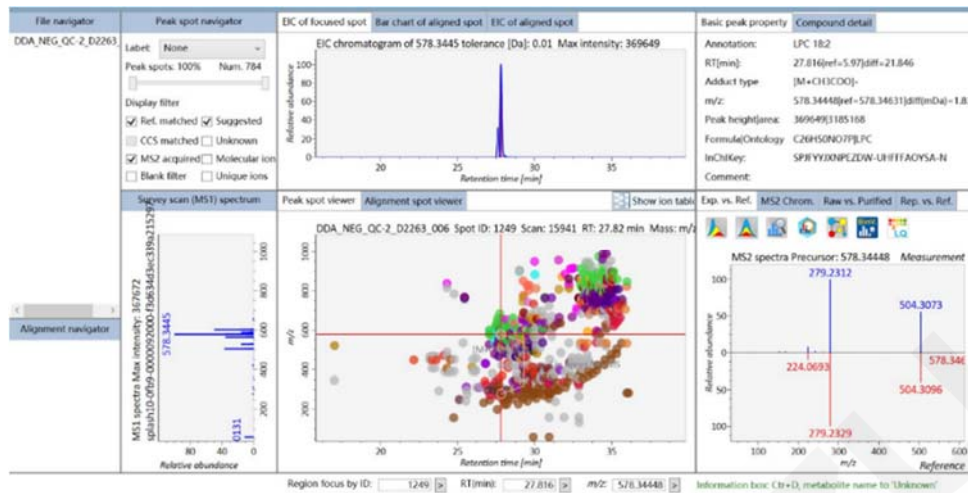


图 5. 利用 MS-DIAL 鉴定差异性代谢物

表 3. 差异性代谢物鉴定结果表

编号	物质	模式	R.T.(min)	实测 m/z	理论 m/z	误差 (ppm)	上/下调*
1	Proline betaine	+	4.96	144.1013	144.1019	0.59	↑+
2	Uric acid	-	7.14	167.0199	167.0210	1.10	↑++
3	Proline	+	7.17	116.0698	116.0706	0.78	↑+
4	Carnitine	+	7.71	162.1119	162.1125	0.53	↑++
5	Glutamic acid	+	12.56	148.0599	148.0600	0.09	↓++
6	LPC(20:5)	+	27.08	542.3233	542.3241	0.80	↑+
7	LPC(20:4)	-	27.77	602.3444	602.3463	1.89	↓+
8	LPC(18:2)	+	27.89	542.3207	542.3217	0.98	↑++
9	LPC(16:0)	+	28.34	518.3209	518.3217	0.80	↑++
10	LPC(18:1)	+	28.41	522.3544	522.3554	0.98	↑+
11	LPC(17:0)	+	28.90	510.3547	510.3554	0.67	↓++
12	LPC(20:2)	+	28.91	548.3701	548.3711	0.97	↓++
13	LPC(18:0)	-	29.23	568.3597	568.3620	2.32	↓+
14	LPC(20:1)	+	29.66	572.3679	572.3687	0.79	↓+
15	Oleic acid	-	30.38	281.2484	281.2486	0.19	↑+
16	Stearic acid	-	31.11	283.2654	283.2643	1.13	↑++
17	PC(38:7)	+	32.87	826.5347	826.5357	0.98	↑++
18	PC(42:10)	+	32.97	854.5682	854.5694	1.16	↓++
19	PC(40:8)	+	33.16	830.5688	830.5694	0.61	↓++
20	PC(37:6)	+	33.22	792.5534	792.5538	0.36	↓++
21	DG(44:10)	+	33.25	739.5247	739.5272	2.50	↑++
22	PC(35:4)	+	33.42	768.5529	768.5538	0.91	↓++
23	PC(40:7)	+	33.43	832.5840	832.5851	1.10	↓++
24	PC(38:6)	-	33.52	850.5577	850.5604	2.74	↑++
25	PE(34:2)	+	33.65	716.5216	716.5225	0.91	↑+
26	PC(42:8)	+	33.65	858.6005	858.6007	0.25	↓++
27	PC(36:4)	-	33.72	826.5580	826.5604	2.44	↓+

28	PC(32:1)	+	33.79	732.5530	732.5538	0.73	↑ <sup>+</sup>
29	DG(36:3)	+	34.02	641.5119	641.5115	0.43	↓ <sup>++</sup>
30	PE(38:4)	-	34.07	766.5372	766.5392	2.01	↓ <sup>++</sup>
31	PC(37:4)	+	34.07	796.5839	796.5851	1.22	↓ <sup>++</sup>
32	DG(34:1)	+	34.12	617.5133	617.5115	1.84	↓ <sup>++</sup>
33	DG(36:4)	+	34.13	634.5398	634.5405	0.74	↓ <sup>++</sup>
34	PC(42:7)	+	34.20	860.6149	860.6164	1.46	↓ <sup>++</sup>
35	PC(36:2)	-	34.59	830.5893	830.5917	2.38	↓ <sup>++</sup>
36	TG(60:12)	+	35.62	968.7688	968.7702	1.40	↓ <sup>++</sup>
37	TG(56:9)	+	35.66	918.7539	918.7545	0.61	↓ <sup>++</sup>
38	TG(58:10)	+	35.70	944.7702	944.7702	0.00	↓ <sup>++</sup>
39	TG(54:7)	+	35.72	894.7538	894.7545	0.74	↓ <sup>+</sup>
40	TG(58:9)	+	35.78	946.7860	946.7858	0.12	↓ <sup>++</sup>
41	TG(56:7)	+	35.94	922.7846	922.7858	1.22	↓ <sup>+</sup>
42	TG(58:8)	+	35.95	948.8001	948.8015	1.46	↓ <sup>++</sup>
43	TG(56:6)	+	36.10	924.8003	924.8015	1.22	↓ <sup>+</sup>
44	TG(54:3)	+	36.41	902.8168	902.8171	0.25	↓ <sup>+</sup>

\*: ↑ 上调, ↓ 下调, + p < 0.05, ++ p < 0.01.

## 2.4 通路分析

将表 3 中鉴定出的 63 个物质导入 MetaboAnalyst 平台进行通路分析, 发现患抑郁症大鼠主要受影响的代谢通路有甘油磷脂代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、谷氨酸代谢等 (图 6)。

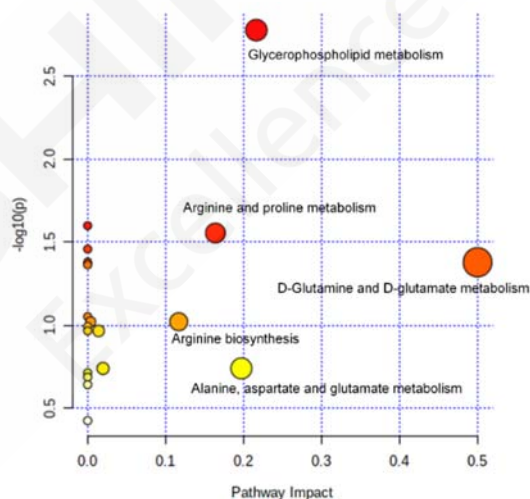


图 6. 抑郁大鼠受影响的主要代谢通路

## 3. 结论

本文利用全谱二维液相系统与四极杆-飞行时间质谱联用, 对抑郁症大鼠血浆进行了非靶向代谢组学研究。全谱二维液相系统扩大了代谢物分析的极性范围, 加上 Q-TOF 的高分辨定性能力, 共找到 8083 个特征峰。OPLS-DA 分析表明, 正常组与模型组血浆成分有显著区别, 利用 VIP 值 > 1 筛查到 247 种差异性代谢物, 通过准确 m/z 及 MS<sup>2</sup> 库搜索鉴定出 44 种。这些差异性代谢物主要影响甘油磷脂代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等。本研究表明全谱二维液相系统作为一种有力的工具可帮助研究者一次性分析极性跨度更大的代谢物。

# 全谱二维液相-QTOF 系统用于前列腺癌生物标志物筛选

**摘要:** 本文利用全谱二维液相系统结合四极杆-飞行时间质谱对前列腺癌患者和正常人的尿液外泌体样本进行了非靶向代谢组学分析。基于全谱二维液相系统,正和负模式下共得到 6840 个特征峰。偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 表明正常组与模型组有显著差异,共找到 451 种变量投影重要性(VIP)大于 1 的候选差异性代谢物,经数据库比对鉴定出 12 种差异性代谢物,主要影响的通路包括鞘脂代谢、泛酸和辅酶 A 的生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成等。

**关键词:** 全谱二维液相 四极杆-飞行时间质谱 外泌体

前列腺癌(prostatecancer, PCa)是一种较普遍的泌尿系统肿瘤,其发病率在世界范围内不断增加。PCa的早期筛查主要依赖直肠指诊和血清前列腺特异性抗原 (PSA) 检测,然而直肠指诊只能初步评估前列腺的基本情况,如大小、质地等,缺乏准确性。PSA也受良性前列腺增生及尿路感染等影响,对PCa诊断的特异性较差。因此,PCa的诊断和治疗急需准确、特异且无创的生物标志物。

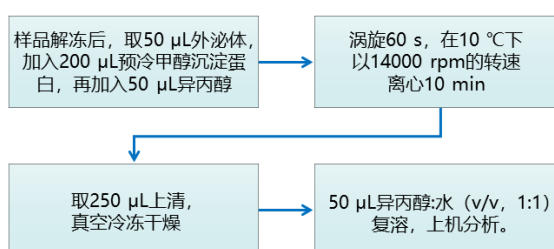
外泌体是细胞自发分泌的一种胞外囊泡,广泛存在于各类细胞,如尿液、血液、腹水及精液等,具有良好的稳定性及低毒性等特点,在肿瘤的发生、发展及血管生成和免疫调控中发挥着重要作用。因其具有独特囊泡结构及双层脂质膜,使其囊泡内核酸和肿瘤相关蛋白免遭外部酶的降解,故不少学者认为外泌体有可能成为PCa的非侵入性生物标志物。

代谢组学是研究特定生物体系中整体代谢物水平及其变化规律的独立学科,是疾病研究的重要手段之一。代谢组学研究中的一大困难是代谢物极性跨度大,难以用一种方法完成分析。本研究利用全谱二维液相系统,可以同时完成高极性和低极性的代谢物分析,大大节省了实验工作量和分析时间。该系统与岛津四极杆-飞行时间质谱LCMS-9030结合,可以进行宽极性目标物的非靶向代谢组学全组分研究。

本研究利用全谱二维液相-QTOF系统,以非靶向代谢组学的工作流程分析了前列腺癌患者与正常人的尿液外泌体样本,发现12种差异性代谢物,主要为脂质,此外还有有机酸、核苷酸等代谢产物,主要影响鞘脂代谢、泛酸和辅酶A的生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成。

## 1. 实验部分

### 1.1 样品采集及处理



正常组与模型组各取 7 份样品进行分析,每份样品各取 5  $\mu\text{L}$ ,制成质量控制 (QC) 样品。QC 样品在样品分析前连续进样 6 针,之后每分析 6 个样品插入 2 针 QC,通过 QC 样全程监测数据质量。

## 1.2 仪器

仪器由全谱二维液相系统与 Q-TOF 联用，其中全谱二维液相系统核心部件由四个色谱泵、两根色谱柱、一个定量环、一个高压十通阀构成，检测器为 LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪。具体配置为：

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40B XR × 2; LC-40B X3 × 2	自动进样器	: SIL-40C X3
定量环	: 500 μL	柱温箱	: CTO-40C
十通阀	: FCV-36AH	质谱仪	: LCMS-9030
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.97		

## 1.3 分析条件

### 液相色谱条件

色谱柱	: 第一维: Shim-pack GIST NH2, 100 mm × 2.1mm I.D., 3 μm, P/N: 227-30291-05 第二维: Phenomenex Kinetex C8, 150 mm × 2.1 mm I.D., 2.6 μm, P/N: 00F-4497-AN		
流动相	: 第一维: A相- 25mM 乙酸铵+25mM 氨水/水, B相-乙腈 第二维: A相-水, B相- 5mM 乙酸铵/乙腈: 异丙醇 (v/v, 6:4) +		
进样体积	: 2 μL	流速	: 0.4 mL/min
柱温	: 45 °C	洗脱方式	: 梯度洗脱 (表 1)

### 质谱条件

离子源	: ESI	接口温度	: 300 °C
接口电压	: +4.5 kV/ -3.5 kV	D L 温度	: 250 °C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	加热块温度	: 400 °C
干燥气	: 氮气 10.0 L/min	扫描模式	: MS1 SCAN (m/z 50-1000)
加热气	: 空气 10.0 L/min		MS2 DDA (m/z 50-1000)

表 1. 液相梯度时间程序

时间 (min)	单元	命令	值
0.00	泵	B.Conc	95
0.00	泵	B.Conc3	20
0.00	柱温箱	Oven Valve 2	0
1.90	柱温箱	Oven Valve 2	1
2.90	泵	B.Conc	95
15.90	泵	B.Conc	65
17.90	泵	B.Conc	40
19.90	泵	B.Conc	40
20.00	泵	B.Conc	95
20.00	泵	B.Conc3	20
20.30	柱温箱	Oven Valve 2	0
37.00	泵	B.Conc3	100
41.50	泵	B.Conc3	100
41.60	泵	B.Conc3	20
42.00	泵	B.Conc3	20

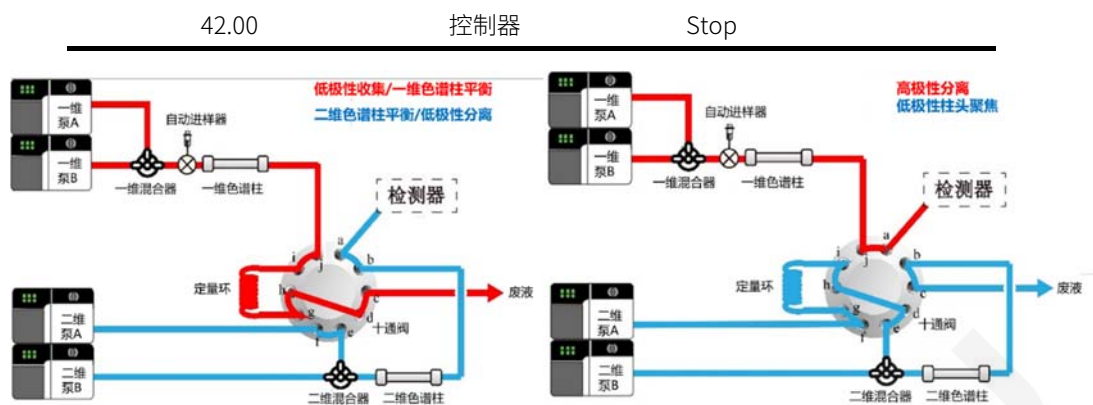


图 1. 全谱二维系统流程图 (左图: 初始状态; 右图: 切阀后)

## 1.4 数据处理

采用 Signpost MS 软件对谱图数据处理如离子提取、峰对齐等后, 将数据导入 MetaboAnalyst 和 SIMCA 软件进行统计分析, 找出差异性代谢物, 依据精确  $m/z$  及  $MS^2$  谱图在 MS DIAL 及 HMDB 等平台搜索确认代谢物种类, 然后在 MetaboAnalyst 平台进行代谢通路分析。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 色谱图与特征色谱峰

人尿液外泌体 QC 样品的基峰 (BPC) 色谱图如图 2 所示。与普通一维方法相比较, 全谱二维在 MS Dial 软件中检出亲水性小分子代谢物和亲脂性物质的数量有显著提升 (如图 3 所示), 也证实了全谱二维具有同时分离宽极性、多目标物的特点。

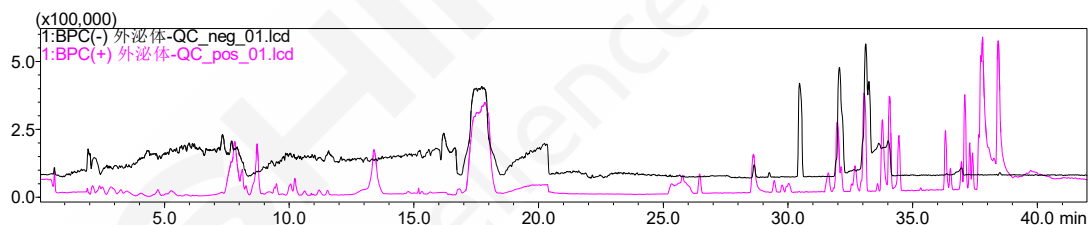


图 2. QC 样品 BPC 图 (红色: 正模式; 黑色: 负模式)

在正和负模式下, 将全谱二维采集的各数据导入 Signpost MS 软件, 提取峰表并对齐色谱峰后, 共得到 6840 个特征峰。随后对缺失值进行过滤, 利用“80%规则”(去除任何一组中出现频率都小于 80%的离子) 筛选特征峰, 且剔除在 QC 样品中峰面积  $RSD > 30\%$  的特征峰, 最后, 将剩余特征峰导入 SIMCA 软件用于下一步统计分析 (如图 4 所示)。

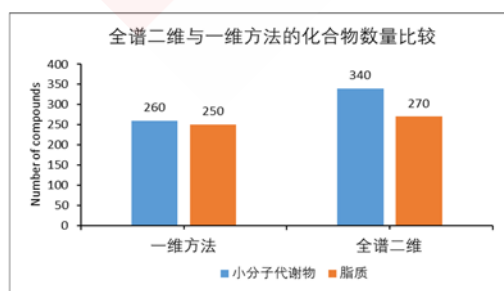


图 3. 全谱二维与一维方法化合物数量比较

将原始数据导入 Signpost MS 进行峰提取和峰对齐

经过“80%规则”筛选

剔除在 QC 样品中峰面积  $RSD > 30\%$  的特征峰

将特征峰导入 SIMCA 软件用于统计分析

图 4. 数据预处理流程

## 2.2 差异性代谢物查找

将正常组、模型组与质控组数据导入 SIMCA 软件进行偏最小二乘判断分析 (PLS-DA), 结果显示, 质控组 (QC) 数据聚集性良好, 表明仪器状态稳定, 正常组与模型组可以明显地区分, 表明前列腺癌患者与正常人的尿液外泌体代谢产物有显著差异 (图 5)。

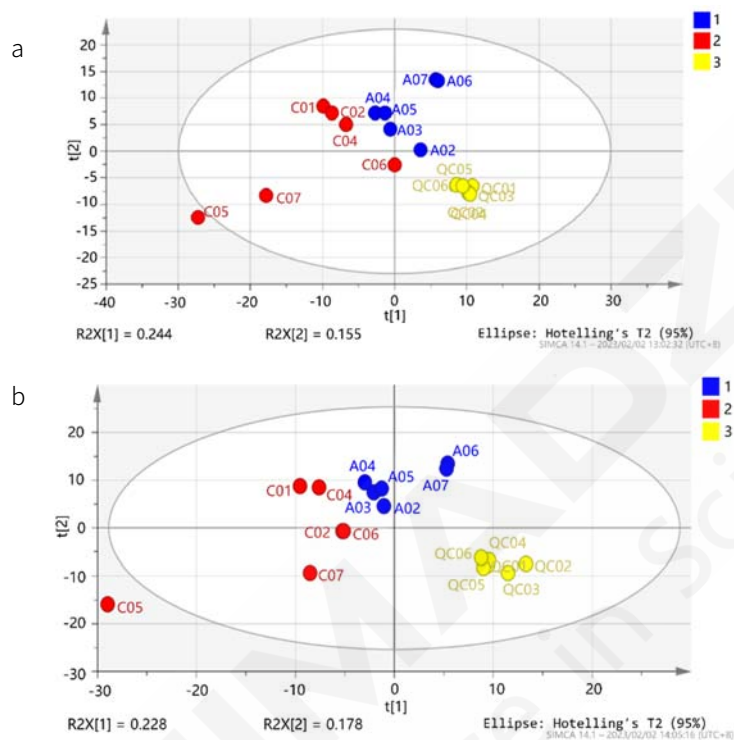


图 5. 偏最小二乘判断分析 (PLS-DA) 散点图

(图 a: 正模式; 图 b: 负模式; 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 质控组)

以交叉验证的方式对上述 PLS-DA 模型进行验证, 结果表明: 正模式下截距  $R^2=0.816$ ,  $Q^2=-0.366$ , 负模式下截距  $R^2=0.369$ ,  $Q^2=-0.264$ , 模型可靠, 没有过拟合 (图 6)。

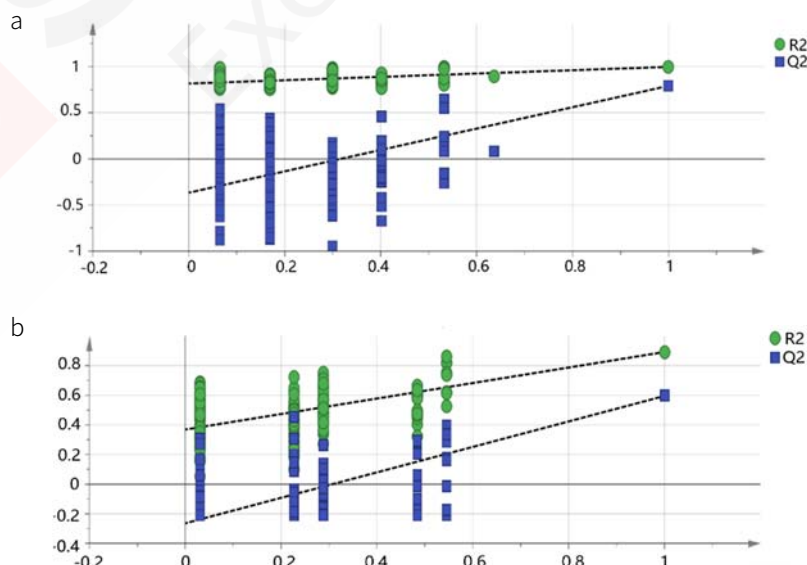


图 6. PLS-DA 200 次交叉验证结果 (图 a: 正模式; 图 b: 负模式)

通过变量投影重要性(variable importance of projection, VIP)筛选差异性代谢物。选取 VIP > 1 的特征峰, 认为对组间差异贡献较大, 是潜在的差异性代谢物。二维色谱正模式下候选差异性代谢物共 220 个, 负模式下候选差异性代谢物共 231 个 (图 7)。

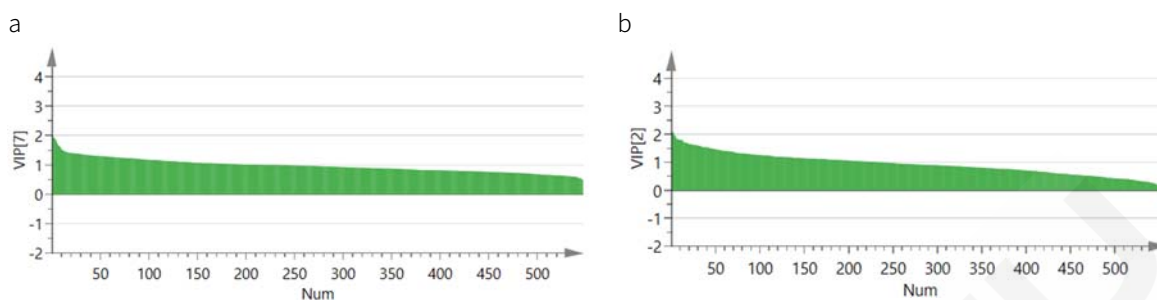


图 7. PLS-DA 各物质 VIP 值计算 (图 a: 正模式; 图 b: 负模式)

### 2.3 差异性代谢物鉴定

将所有 VIP > 1 的候选差异性代谢物进行 t 检验, 将  $p < 0.05$  的物质谱图导入 MS-DIAL 软件, 通过精确 m/z 和 MS<sup>2</sup> 谱图匹配进行鉴定 (图 8)。将所得结果与 HMDB 平台比对, 共鉴定出 12 种差异性代谢物; 所有物质质量测定误差 < 4 ppm; 11 种物质浓度水平上调, 另外 1 个浓度下调 (表 2)。

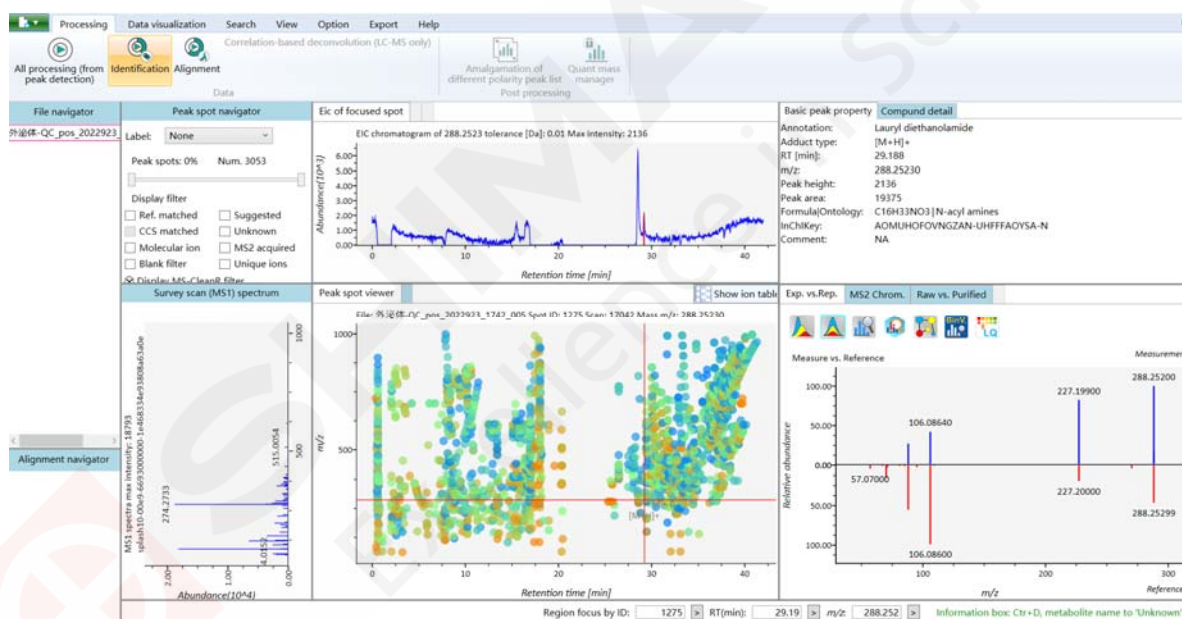


图 8. 利用 MS-DIAL 鉴定差异性代谢物

表 2. 差异性代谢物鉴定结果表

编号	物质	模式	R.T. (min)	实测 m/z	理论 m/z	误差 (ppm)	上/下调
1	C17-sphinganine	+	5.08	288.2892	288.2900	2.77	↑
2	Pantothenic acid	+	16.41	220.1084	220.1080	1.82	↓
3	Lauryldiethanolamine	+	34.46	274.2740	274.2740	0.00	↑
4	D-ribo-Phytosphingosine	+	5.86	318.3026	318.3030	1.26	↑
5	Boldenone	+	32.52	453.3293	453.3310	3.75	↑
6	NAE 20:2	+	31.53	352.3204	352.3210	1.70	↑
7	NAE 20:1	+	32.24	354.3358	354.3367	2.54	↑

8	Octadecanoic acid	-	38.72	283.2632	283.2640	2.82	↑
9	Pseudouridine	-	8.54	243.0618	243.0620	0.82	↑
10	C10-LAS	-	27.39	297.1518	297.1520	0.67	↑
11	Lignoceric acid	-	35.60	367.3593	367.3590	0.82	↑
12	2-acetoxy-6-pentadecylbenzoic acid	-	37.69	389.2691	389.2680	2.83	↑

\*: ↑ 上调, ↓ 下调

## 2.4 通路分析

将表 2 中鉴定出的 12 个物质导入 MetaboAnalyst 平台进行通路分析, 发现前列腺癌患者尿液外泌体主要受影响的代谢通路有鞘脂代谢、泛酸和辅酶 A 的生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成等 (图 9)。

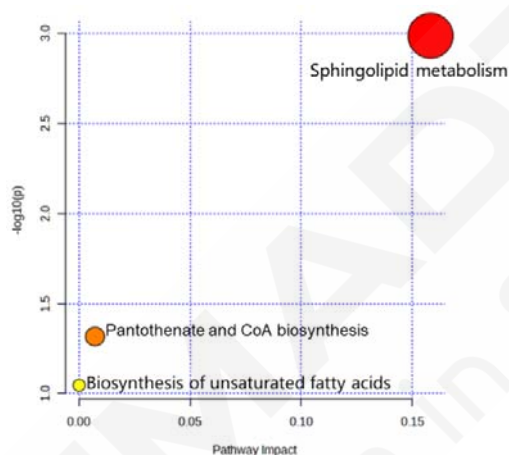


图 9. 前列腺癌患者尿液外泌体受影响的主要代谢通路

## 3. 结论

本文利用全谱二维液相系统与四极杆-飞行时间质谱联用, 对前列腺癌患者和正常人尿液外泌体样本进行了非靶向代谢组学研究。全谱二维液相系统扩大了代谢物分析的极性范围, 加上 Q-TOF 的高分辨定性能力, 正和负模式共得到 6840 个特征峰。PLS-DA 分析表明, 正常组与模型组尿液外泌体成分有显著区别, 利用 VIP 值 >1 筛查到 451 种差异性代谢物, 通过准确  $m/z$  及  $MS^2$  库搜索鉴定出 12 种差异性代谢物。这些差异性代谢物主要影响鞘脂代谢、泛酸和辅酶 A 的生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成等。本研究增进了对前列腺癌生物标志物筛选的认识, 同时表明全谱二维液相系统作为一种有力的工具可帮助研究者一次性分析极性跨度更大的代谢物。

## 第 6 章 Q-TOF 在公安司法领域中的应用

近年来，无机炸药已经在工业和军事方面得到广泛使用。同时，它也被犯罪分子用在恐怖活动等犯罪行为中，造成人民恐慌，如新疆暴恐事件、劫持航空器事件等。因此，了解和掌握爆炸案件现场爆炸残留物的检验方法，对于严厉打击利用爆炸物进行的犯罪活动有十分重要的意义。

通过对爆炸残留物的检验，能够为查明爆炸原因、侦破案件提供重要的线索和证据。随着分析仪器的更新发展，岛津 Q-TOF 质谱 LCMS-9030/9050 具有高分辨率、高质量准确度等优点，结合 Formula Predictor、ChemSpider、ACD/Labs 等多种辅助软件及数据库，成功用于可疑爆炸物中未知物的结果鉴定。

与此同时，在毒品问题全球化的大背景下，毒情形势也日益严峻，芬太尼类、合成大麻素类等新型毒品更新换代速度极快，毒品毒物的检测判定作为执法依据变得尤为关键。对于毒物研究会遇到很多挑战，最直接的问题在于标准品不齐全以及同类物质中多种同分异构体的存在而无法准确定性。从技术手段上来看，Q-TOF 区别于传统单位分辨率质谱仪，可以提供一级和二级高质量精度谱图，将二级碎片信息与一级结构式关联推导或与文献和数据库匹配来完成定性工作。

本章内容主要介绍岛津 LCMS-9030 在公安司法领域中的应用案例，供相关行业从业人员参考。



# LCMS-9030 定性检测可疑爆炸物中的未知物

**摘要：**本文利用岛津液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (LCMS-9030) 对可疑爆炸物中的未知成分进行定性分析。通过紫外色谱图确定未知物的出峰时间，获取对应时间的一级高分辨质谱信息，并用 Formula Predictor 软件预测可能的分子式。将可能的分子式导入 ChemSpider 数据库进行检索，检索结果显示该未知物可能是 HMX。将 HMX 的结构式导入 ACD/Labs 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，并推导可能的裂解规律，从而进一步确认了该未知物是 HMX。

**关键词：**液相色谱-四极杆飞行时间质谱 Q-TOF 爆炸物 HMX

爆炸活动现已成为恐怖袭击的主要手段，针对可疑爆炸物和爆炸残余物的探测分析技术不断发展。检测爆炸物的方法有很多，包括犬科动物识别、离子迁移谱、液相色谱质谱、气相色谱质谱等。离子迁移谱技术由于检测设备体积小检测速度快，在机场安检有广泛的应用。其原理是利用带电离子在电场作用下迁移率不同，对应的飞行时间不同而分析、检测。弊端是离子迁移谱技术对结构相近的物质分

别能力差，且对数据库列表之外的爆炸物无能为力。随着爆炸物品种越来越多，特别是一些自制炸药、混合炸药的出现，对爆炸物检测技术提出新的挑战。本文使用岛津高分辨液质联用仪 LCMS-9030，利用其高质量准确度，同时结合 ChemSpider 数据库快速锁定可能的化合物。最后通过二级谱信息，结合 ACD/Labs 软件进一步确认。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 Nexera 系统串联四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030。Nexera 系统包括 LC-30AD×2 (输液泵)，DGU-20A<sub>5</sub> (在线脱气机)，SIL-30AC 自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，SPD-M20A (二极管阵列检测器)，CBM-20A (系统控制器)。数据采集和分析由 LabSolutions Ver5.95 (工作站) 完成。质谱图结构分析由 ACD/Labs Ver2012 完成。

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST 2.1 mm I.D. ×100 mm L, 2.0 μm, P/N: 227-30001-04

流动相：A 相-5 mM 甲酸铵水；B 相-甲醇

流速：0.5 mL/min

柱温：40°C

进样量：2 μL

检测波长：190-800 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.0	Pumps	Pump B Conc.	5
8.0	Pumps	Pump B Conc.	60
12.0	Pumps	Pump B Conc.	60
12.1	Pumps	Pump B Conc.	5
15.0	Controller	Stop	

### 质谱条件

分析仪器：LCMS-9030

离子化模式：ESI (-)

加热气：空气 10.0 L/min

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10.0 L/min

碰撞气：氩气

接口温度：300°C

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

扫描模式：MS Scan m/z: 100-800

MSMS(DDA) m/z: 100-500 CE: 30±10 V

Loop time: 0.2 s

### 1.3 样品前处理方法

称取可疑爆炸物样品 10 mg，用 10 mL 甲醇超声 10 分钟，3000 rpm 离心 10 分钟，取上清液 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后至进样小瓶，待检。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 可疑爆炸物样品的紫外色谱图

可疑爆炸物的 254 nm 下紫外色谱图见图 1，图 1 中 4.72 min 处有明显色谱峰，可能是未知爆炸物。

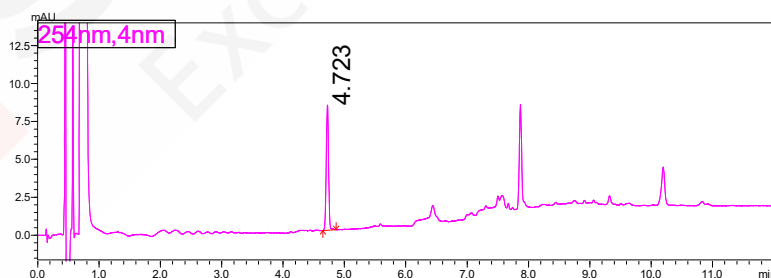


图 1. 可疑爆炸物样品紫外色谱图

### 2.2 RT 4.72 未知物的质谱图解析及分子式预测结果

图 2 为可疑爆炸物的质谱 BPC 色谱图，图中显示 4.77 分钟有明显的信号，与紫外色谱图 4.72 分钟的物质对应。后续将对 RT 4.72 的未知物进一步分析。

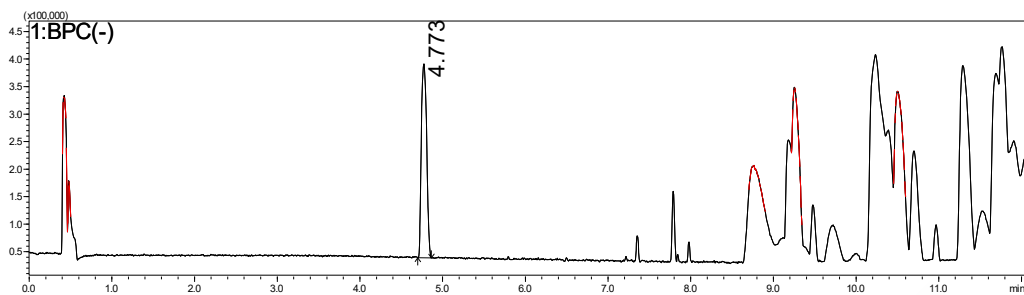


图 2. 可疑爆炸物样品 BPC 色谱图

图 3 为 RT 4.72 的一级质谱图及放大图。对 RT 4.72 进行高分辨质谱解析， $m/z$  331.0156 与  $m/z$  333.0120 满足 3:1 的关系，推测其为  $[M+C]^-$ 。利用岛津 LCMS-9030 高质量精度的特点，内标法质量轴准确度小于 1 ppm/hr。使用 Formula Predictor 软件预测其分子式，设置 C、H、O、N、Cl 各元素最大数目分别为：150、300、12、10、1。 $m/z$  331.0156 预测结构如图 5。得到唯一可能的分子式为  $C_4H_8N_8O_8$ ，质量数偏差 -0.90 ppm。图 4 为  $m/z$  331.0156 与  $m/z$  341.0447 的提取离子流图，图中显示两者均有相同的出峰时间，极有可能指向同一个化合物。对  $m/z$  341.0447 进行预测，预测结果见图 6。综合判定其为  $[M+HCOO]^-$ ，质量数偏差 -0.11 ppm，在预测列表中排名第一。

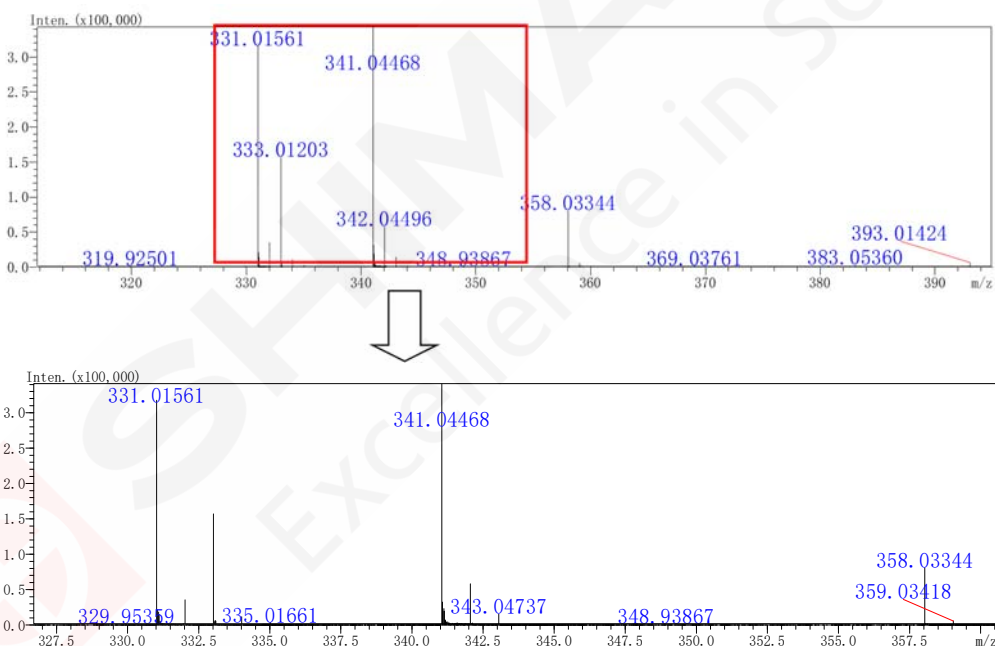


图3. RT 4.72的一级质谱图及放大图

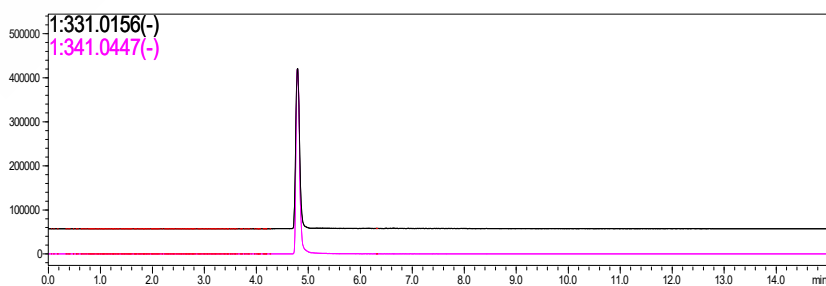


图4.  $m/z$  331.0156与 $m/z$  341.0447的提取离子流图

Formula Predictor - 331.015614 - MS(ESI-) RT: 4.755 - 4.797 Scan#: 2656 - 2678

Charge: 1

Error Margin: 2 ppm

Fixed

DBE Range: -2 - 1000

Electron Ions: Both configurations

Limit

HC Ratio: 0 - 3

Apply Nitrogen Rule

Max results: 500

#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	41.55	296.046509	331.015911	331.015614	-0.297	C4 H8 N8 O8	[M+C]-	-0.8961	35.56	5.0

图5. m/z 331.0156的分子式预测结果

Formula Predictor - 341.044675 - MS(ESI-) RT: 4.755 - 4.797 Scan#: 2656 - 2678

Charge: 1

Error Margin: 2 ppm

Fixed

DBE Range: -2 - 1000

Electron Ions: Both configurations

Limit

HC Ratio: 0 - 3

Apply Nitrogen Rule

Max results: 500

#	Score	Pred. (M)	Pred. m/z	Meas. m/z	Diff. (mDa)	Formula (M)	Ion	Diff. (ppm)	Iso Score	DBE
1	66.75	342.051989	341.044712	341.044675	-0.037	C5 H10 N8 O10	[M-H]-	-0.1091	63.08	5.0
2	66.74	296.046509	341.044712	341.044675	-0.037	C4 H8 N8 O8	[M+HCOO]-	-0.1091	63.08	5.0

图6. m/z 341.0447的子式预测结果

### 2.3 ChemSpider 库检索结果

ChemSpider (<http://www.chemspider.com/>) 是一个免费的化学化合物检索数据库，整合了来自 253 个平台的 6800 万个化合物信息。提供分子式、化学名、商品名、结构式等多样性的检索方式，是未知物结构鉴定使用最为广泛的数据库。将 2.2 预测出的  $C_4H_8N_8O_8$  导入 ChemSpider 进行检索，检索结果如图 7。唯一的候选化合物为 HMX。其中文名称为奥克托今，熔点  $282^{\circ}C$ ，密度  $1.96 g/cm^3$ ，常温下为白色晶体，易溶于丙酮、乙腈、氯仿等溶剂。是一种军用猛炸药，爆炸威力相当于 1.5 倍的 TNT 当量。

Home About us Web APIs Help Sign in

**ChemSpider**  
Search and share chemistry

Search ChemSpider

Simple Structure Advanced History

Found 1 result  
Search term: **C4H8N8O8** (Found by synonym)

**HMX**

Molecular Formula  $C_4H_8N_8O_8$

Average mass 296.155 Da

Monoisotopic mass 296.046509 Da

ChemSpider ID 16636

COMMENT ON THIS RECORD

Featured data source  
The Merck Index Online has more data on this compound

Advertisement  
Empower<sup>3</sup>  
CHROMATOGRAPHY SOFTWARE THAT WORKS THE WAY YOU DO.  
BE EMPOWERED  
Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE

Spotlight  
ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

图 7.  $C_4H_8N_8O_8$  的 ChemSpider 数据库检索结果

### 2.4 RT 4.72 二级谱结合 ACD/Labs 碎裂规律推测结果



# AOE+LCMS-9050 快速筛查生活污水中毒物药物

**摘要:** 本文利用岛津全自动在线固相萃取液相色谱联用系统-四极杆飞行时间串联质谱仪, 结合《法医毒物 QTOF 高分辨质谱库》建立了生活污水中毒物药物的快速筛查方法。利用该方法对 3 份生活污水样品中毒物药物进行定性分析, 结果显示: 三份污水样品分别筛查出 16、21 和 32 个化合物, 所有化合物的 MS1 质荷比偏差小于 $\pm 5$ ppm, 二级谱图的相似度得分均大于 54。使用该方法, 可通过一针进样, 快速完成目标物的定性筛查, 结果准确可靠。指控样品分析中保留时间

**关键词:** AOE LCMS-9050 生活污水 毒物药物

毒品的泛滥直接危害人民的身心健康, 给社会经济发展带来巨大威胁。因此如何预防毒品的使用及滥用成世界性问题, 如何监测毒品的滥用情况也成为禁毒的一项重要工作。

污水毒品检测技术是了解区域毒情的重要手段, 通过准确定量各类毒品的浓度可以推算出区域毒品消费量。当前毒品种类变化越来越快, 飞行时间质谱不仅能够快速定性区域内已知毒品, 更能够鉴定新出现的毒品, 掌

握毒品消费趋势。区别与三重四极杆质谱的分析模式, 飞行时间质谱具有分析目标物广泛、质荷比检测准确度高、二级谱图准确度高等特点, 非常适合做定性分析。

本文使用岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 建立了一种对生活污水中毒物药物快速定性的分析方法。对 3 份污水样品进行了分析, 可快速筛查出样品中的毒物药物, 该方法准确可靠。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置为:

输 液 泵	: LC-40B X3×2	系 统 控 制 器	: CBM-20
输 液 泵	: LC-40D XR (内置 LPGE 单元)	自 动 进 样 器	: SIL-40C X3
自 动 进 样 器	: SIL-16P	在 线 脱 气 机	: DGU-405×2
柱 温 箱	: CTO-40C(内置 FCV-36AH 十通阀)	飞 行 时 间 质 谱 仪	: LCMS-9050
色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.118; LabSolutions Insight Ver. 4.0SP2		

### 1.2 分析条件

色谱条件 (SPE)

固 相 萃 取 柱	: Oasis HLB Direct Connect HP (30 mm L. × 2.1 mm I.D., 20 $\mu$ m)
S P E 输 液 泵	: A-水, B-甲醇/乙腈/异丙醇 (1/1/1, v/v/v) C-0.1%甲酸 50%甲醇水溶液
S P E 流 速	: 初始流速为 0.5 mL/min, 初始流路为 A
进 样 量	: 2000 $\mu$ L

表 1. SPE 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	泵	C Flow	3
2.80	泵	SV(C)	C
5.00	泵	SV(C)	B
7.00	泵	SV(C)	A
11.00	泵	C Flow	3
11.01	泵	C Flow	0.1

注：FCV-36AH 十通阀切阀时间为 2.8 min

色谱条件 (UHPLC)

色 谱 柱 : Shim-pack GIST AQ-C18 ( 100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流 动 相 : A 相-0.1 %甲酸水溶液; B 相-乙腈

流 速 : 0.3 mL/min

柱 温 : 40°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 时间程序见表 2

表 2. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.80	泵	B.Conc	5
22.00	泵	B.Conc	98
25.00	泵	B.Conc	98
25.10	泵	B.Conc	5
30.00	控制器	Stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI(+)

加热模块温度 : 400°C

雾化气流速 : 3.0 L/min

DL 温 度 : 250°C

加热气流速 : 10.0 L/min

接 口 温 度 : 400°C

干燥气流速 : 10.0 L/min

扫 描 模 式 : MS Scan(m/z 100 - 600)

DDA MS/MS (m/z 50 -600)

1.4 样品前处理

1.4.1 样品前处理



图1. 样品前处理过程

### 1.4.2 质控样品配制

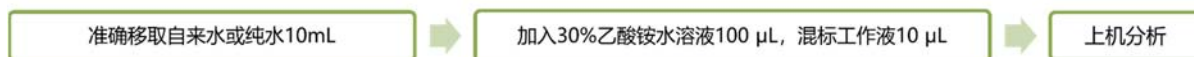


图2. 质控样品配制

## 2. 结果与讨论

### 2.1 稳定性

18种《法医毒物 QTOF 高分辨质谱库》中的化合物配制质控样品，化合物主要为毒品、安眠镇静药物等。将质控样品连续重复5次进样分析，分别统计所有化合物的质荷比偏差，所有化合物的质荷比偏差均小于2 ppm，保留时间和峰面积的相对标准偏差小于0.54%和6.06%。

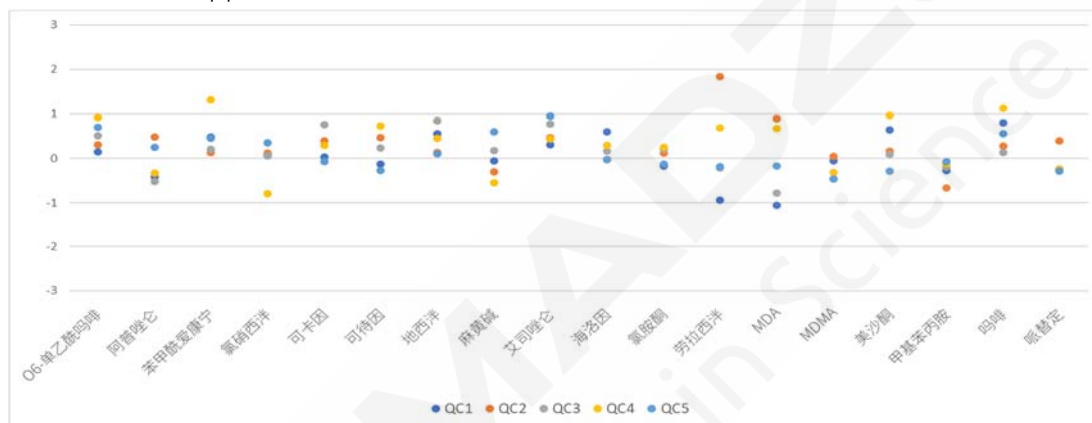


图3. 质控样品连续分析的质荷比偏差

表3. 质控样品保留时间和峰面积稳定性 (n=5)

序号	化合物	保留时间 RSD	峰面积 RSD	序号	化合物	保留时间 RSD	峰面积 RSD
1	吗啡	0.54%	2.96%	10	美沙酮	0.05%	1.14%
2	O6-单乙酰吗啡	0.06%	1.95%	11	海洛因	0.06%	2.27%
3	甲基苯丙胺	0.07%	1.50%	12	劳拉西洋	0.02%	6.06%
4	可卡因	0.05%	1.57%	13	地西洋	0.02%	1.50%
5	可待因	0.03%	1.62%	14	麻黄碱	0.05%	2.59%
6	苯甲酰爱康宁	0.03%	1.45%	15	氯硝西洋	0.05%	4.52%
7	MDA	0.02%	1.68%	16	艾司唑仑	0.11%	3.76%
8	MDMA	0.07%	2.51%	17	阿普唑仑	0.07%	3.94%
9	氯胺酮	0.04%	1.64%	18	哌替定	0.03%	1.58%

### 2.2 灵敏度

分析 10 ng/L 质控样品，所有物质均可检出；并利用得到二级质谱图，进行谱图检索确认。

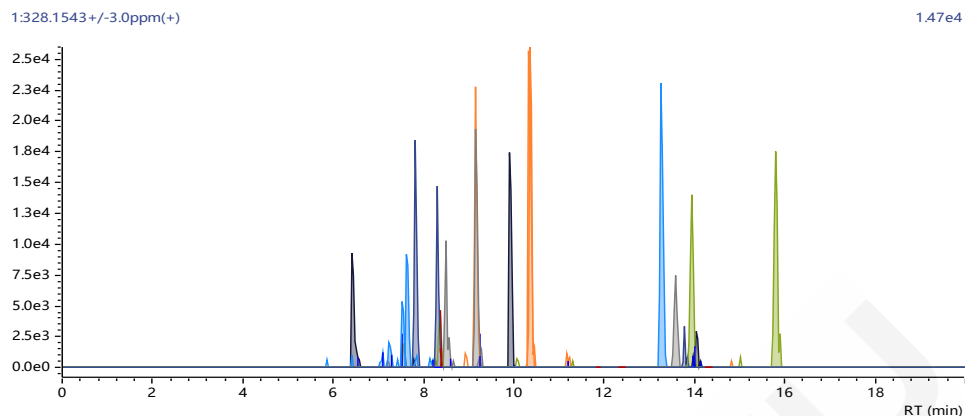


图 4. 10 ng/L 质控样品色谱图

### 2.3 污水样品分析

使用 DDA(+)模式对三份污水样品进行分析，结合《法医毒物 QTOF 高分辨质谱库》，使用 Insight Explore 软件的批量搜库功能，对每个样品中的毒物药物进行快速筛查。数据处理步骤如下：

导入质谱库中筛查化合物列表，设置积分参数

导入二级质谱库“法医毒物QTOF质谱库”

编辑“Flags”参数，设置定性筛选条件

导入样品数据，批量搜库，快速查看数据

### 2.4 样品结果

利用上述方式进行批量筛查，3份污水样品分别筛查出16、21和32个化合物，所有化合物的MS1质荷比偏差小于 $\pm 5$ ppm，二级谱图的相似度得分均大于54。具体如下表4：

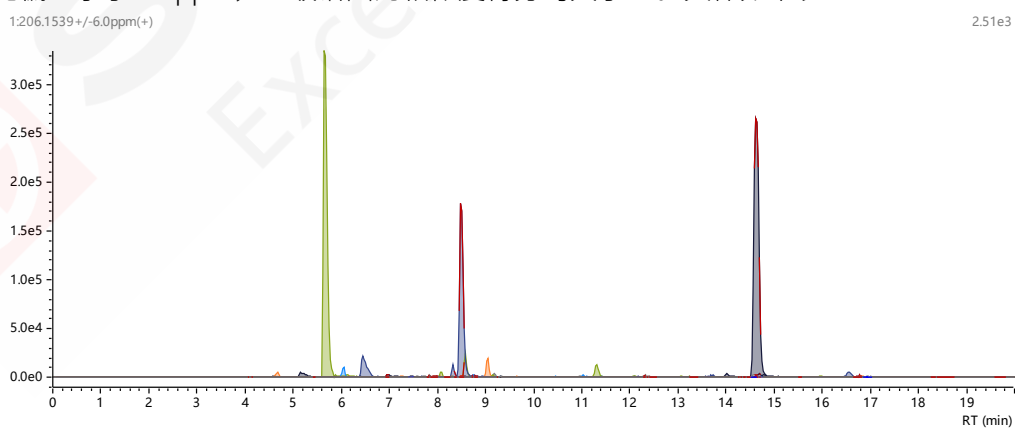


图5. 污水样品1中检出的物质提取离子色谱图

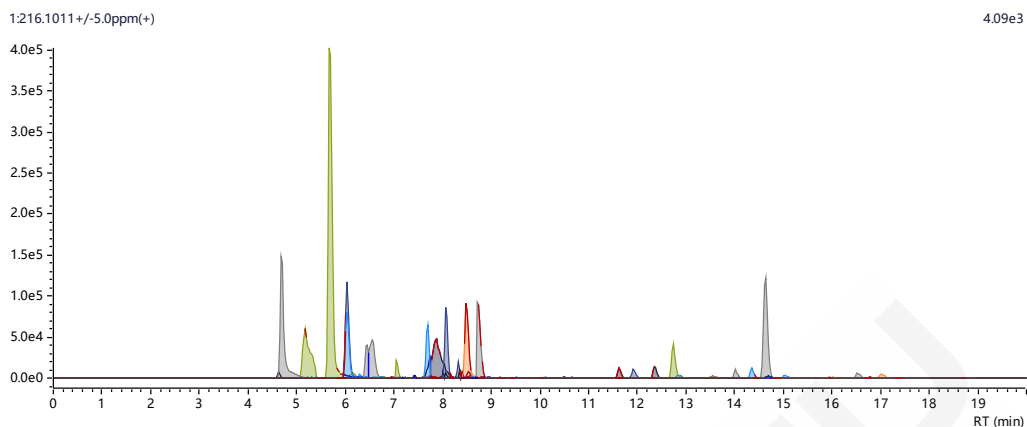


图6. 污水样品2中检出的物质提取离子色谱图

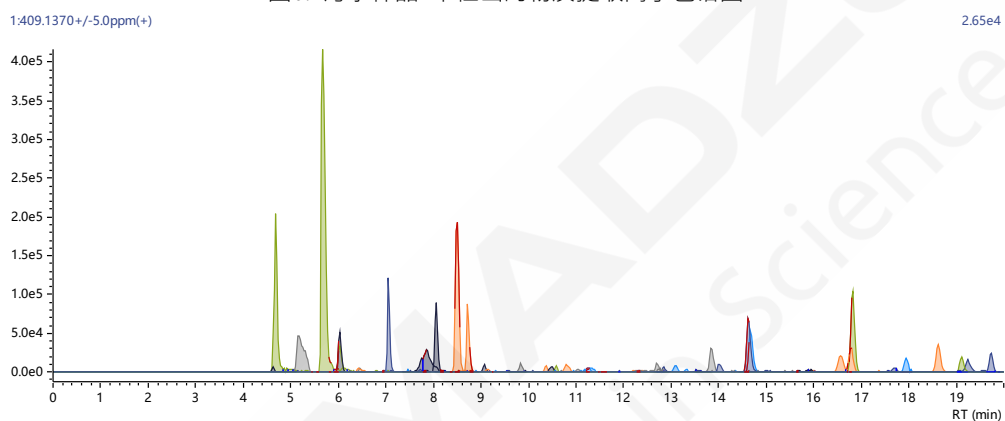


图7. 污水样品3中检出的物质提取离子色谱图

表 4. 三份污水样品搜库检索结果

序号	化合物	污水样品-1				污水样品-2				污水样品-3			
		是否检出	保留时间 (min)	MS1 m/z 偏差 (ppm)	MS2 搜库相似 度	是否检出	保留时间 (min)	MS1 m/z 偏差 (ppm)	MS2 搜库相似 度	是否检出	保留时间 (min)	MS1 m/z 偏差 (ppm)	MS2 搜库相似 度
1	乙胺丁醇	√	4.663	1.170	68	√	4.689	0.39	95	√	4.683	1.949	95
2	二甲双胍	√	5.139	1.998	94	√	5.169	0.615	95	√	5.16	1.845	96
3	拉米夫定	√	6.040	0.782	100	√	6.030	-0.357	99	√	6.023	1.826	100
4	吗啡	√	6.439	2.062	100	√	6.428	1.643	100	√	6.424	1.328	100
5	西米替丁	N.D.	-	-	-	√	7.051	0.395	92	√	7.047	1.817	98
6	麻黄碱	N.D.	-	-	-	√	7.683	1.565	93	N.D.	-	-	-
7	对乙酰氨基酚	√	7.865	1.249	83	√	7.866	-0.132	95	√	7.844	1.052	94
8	多菌灵	√	8.057	1.458	62	√	8.064	0.729	92	√	8.053	0.781	94
9	O6-单乙酰吗啡	√	8.312	0.213	67	√	8.313	1.798	71	N.D.	-	-	-
10	咖啡因	√	8.487	0.461	99	√	8.490	0.205	99	√	8.486	1.589	99
11	甲基苯丙胺	√	8.531	0.933	82	√	8.526	0.733	93	√	8.516	0.866	100
12	金刚烷胺	√	8.729	0.001	97	√	8.723	1.315	99	√	8.719	2.366	99
13	氨磺必利	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	9.064	0.945	63
14	氯胺酮	√	9.161	0.798	75	√	9.180	4.746	54	N.D.	-	-	-
15	安替比林	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	9.830	1.534	71
16	克林霉素	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	10.359	2.940	67

17	噻虫胺	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	10.472	2.320	66
18	氯苯那敏	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	10.572	2.399	74
19	去甲氯氮平	√	10.409	-4.727	84	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-
20	吡虫啉	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	10.787	1.836	78
21	氯氮平	√	11.020	1.498	60	N.D.	-	-	-	√	11.031	1.987	66
22	啶虫脒	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	11.237	2.107	97
23	依那普利	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	11.294	-1.007	73
24	右美沙芬	N.D.	-	-	-	√	11.616	2.094	100	√	12.308	1.972	65
25	苯海拉明	N.D.	-	-	-	√	11.916	2.537	70	N.D.	-	-	-
26	EDDP	N.D.	-	-	-	√	12.730	1.330	77	√	12.692	2.229	68
27	阿苯达唑	N.D.	-	-	-	√	12.849	1.015	74	√	12.837	2.443	93
28	美沙酮	N.D.	-	-	-	√	13.593	0.032	79	√	13.318	-3.610	66
29	克百威	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	13.843	2.431	97
30	避蚊胺	√	14.616	1.665	86	√	14.625	1.509	89	√	14.612	2.55	88
31	莠去津	√	14.679	-0.925	99	√	14.685	1.527	97	√	14.658	1.620	79
32	烯酰吗啉	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	15.901	4.200	60
33	噻菌酯	√	16.785	0.148	100	N.D.	-	-	-	√	16.811	2.598	72
34	双氯酚酸	N.D.	-	-	-	√	17.024	1.419	94	N.D.	-	-	-
35	丙环唑	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	17.940	1.696	76
36	苯醚甲环唑	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	18.609	2.635	66
37	吡唑醚菌酯	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	19.099	3.015	85
38	肟菌酯	N.D.	-	-	-	N.D.	-	-	-	√	19.720	1.833	75

\*注：N.D.表示未检出

### 3. 结论

本文利用岛津公司 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，结合《法医毒物 QTOF 高分辨质谱库》快速对 3 份生活污水样品中毒物药物进行筛查。结果显示：三份污水样品分别筛查出 16、21 和 32 个化合物，所有化合物的 MS1 质荷比偏差小于±5ppm，二级谱图的相似程度得分均大于 54。该方案可以实现一针进样，快速完成目标物的定性筛查，具有一定的实际应用价值，供相关人员参考。

# LCMS-9050 快速检测 17 种有机炸药

**摘要:** 本文建立了超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱测定涉爆案件中17种有机炸药(TNT、RDX、HMX、PETN、CE、2-Am-DNT、4-Am-DNT、PYX、2-HADNT、4-HADNT、1,2-DNG、1,3-DNG、3,5-DNA、R-SALT、4-NDPA、NTO、4,4'-DNDPA)的快定性定量方法。本研究将有机炸药爆炸残留物或原药经有机溶剂直接溶解,用PLD<sup>+</sup>净化柱或有机微孔过滤膜净化提取,提取液采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱进行定性定量检测。结果表明17种有机炸药的检出限在0.1~10 ng/mL之间,所有目标物在其相应的浓度范围内线性关系良好,日内相对标准偏差(RSD)为1.6%~5.3%(n=6)日间相对标准偏差(RSD)为17%~8.5%(n=24)。应用本方法可同时准确快速、高效地对涉爆案件中的17种有机炸药进行定性定量分析。

**关键词:** 微量物证 有机炸药 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 涉爆案件

各种有机炸药已经被越来越广泛地应用于军事民用爆破等行业中,由于其体积小、破坏作用大的特点,也常被不法分子所利用进行犯罪活动。对涉爆案件现场残留的痕量有机炸药成分进行准确检验已成为侦破案件的重要手段之一。以往对有机炸药残留物的检验,多采用GC-MS法、GC-MS/MS法、LC-MS法等。但有机炸药爆炸反应较完全,爆炸残留物较少,且爆炸带来的高温和燃烧对残留物造成进一步破坏,对检验仪器灵

敏度要求高;另一方面,来自土壤、生物检材等爆炸残留物载体中的基质干扰复杂,对检验选择性要求高,以上方法不能很好地满足痕量有机炸药检验的要求。

本文基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的高选择性、高质量精度、高灵敏度、高扫描速率和宽线性范围等特点,建立了17种有机炸药快速定性定量方法,可满足涉爆案件中17种有机炸药的检验需求。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪,具体配置为:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-20AD XR x 2	自动进样器	: SIL-20AXR
柱温箱	: CTO-20A	色谱工作站	: LabSolutions Ver 5.96

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack Velox Biphenyl (100 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-32015-03)		
流动相	: A-0.05mM 氯化铵水溶液; B-乙腈溶液		
进样体积	: 5 μL	柱温	: 40°C

流 速 : 0.3 mL/min                      洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 10%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	10
8.50	泵	B Conc	90
9.50	泵	B Conc	90
10.00	泵	B Conc	10
13.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI(-)                      加热模块温度 : 500 °C  
 加热气流速 : 空气 10.0 L/min              接 口 温 度 : 300 °C  
 雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min              D L 温 度 : 150 °C  
 干燥气流速 : 氮气 10.0 L/min              接 口 电 压 : -4 kV  
 扫 描 模 式 : MS<sup>1</sup> SCAN (m/z 40-800)、MS<sup>2</sup> DDA (m/z 40-800)

表 2. 17 种有机炸药的相关信息

序号	中文名称	英文简称	CAS 号	分子式	精确分子量
1	奥克托今	HMX	2691-41-0	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>8</sub> O <sub>8</sub>	296.04651
2	黑索今	RDX	121-82-4	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	222.03488
3	特屈儿	CE	479-45-8	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O <sub>8</sub>	287.01381
4	梯恩梯	TNT	118-96-7	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>	227.01783
5	2-氨基-4,6-二硝基甲苯	2-Am-DNT	35572-78-2	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	197.04366
6	4-氨基-2,6-二硝基甲苯	4-Am-DNT	19406-51-0	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	197.04366
7	季戊四醇四硝酸酯	PETN	78-11-5	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub>	316.01387
8	二苦氨基二硝基吡啶	PYX	38082-89-2	C <sub>17</sub> H <sub>7</sub> N <sub>11</sub> O <sub>16</sub>	621.00722
9	2-羟基胺-4,6-二硝基甲苯	2-HADNT	59283-76-0	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	213.03857
10	4-羟基胺-2,6-二硝基甲苯	4-HADNT	59283-75-9	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	213.03857
11	1,2-二硝酸甘油	1,2-DNG	621-65-8	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	182.01750
12	1,3-二硝酸甘油	1,3-DNG	623-87-0	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	182.01750
13	3,5-二硝基苯胺	3,5-DNA	618-87-1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	183.02801
14	环三亚甲基三亚硝胺	R-SALT	13980-04-6	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	174.05014
15	邻硝基二苯胺	4-NDPA	836-30-6	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	214.07423
16	硝基三唑酮	NTO	932-64-9	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	130.01269
17	4,4'-二硝基二苯胺	4,4'-DNDPA	1821-27-8	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	259.05931

## 1.3 样品前处理

可疑有机炸药样品	<ul style="list-style-type: none"><li>取液体样品约 10<math>\mu</math>L或固体样品约 10 mg, 加入10 mL甲醇, 涡旋振荡3离心后取上清液, 用甲醇稀释 1000 倍;</li><li>经PLD+净化柱净化或过0.22 <math>\mu</math>m 微孔滤膜后上机分析;</li><li>另取等量空白样品, 参照样品处理方式进行平行实验。</li></ul>
爆炸现场尘土检材	<ul style="list-style-type: none"><li>如提取到的检材量少于2 g, 取一半检材于试管中, 加入2 mL 丙酮浸泡;</li><li>如检材量大于2 g, 则取1 g于试管中, 加入4 mL丙酮浸泡(如检验结果为阴性, 可适当加大检材量与丙酮量重新提取);</li><li>涡旋振荡 10 min;</li><li>离心, 取上清液水浴 50 <math>^{\circ}</math>C 挥干, 再加入适量甲醇溶解, 过0.22 <math>\mu</math>m微孔滤膜后上机分析;</li><li>嫌疑人剪取的手指甲也同此处理。</li></ul>
包装物、捆绑物、填充物、死者或伤者衣物客体上烟熏痕等现场遗留检材	<ul style="list-style-type: none"><li>若体积较小, 可根据检材情况用适量丙酮反复冲洗检材表面或浸泡检材, 收集清洗液, 水浴 50 <math>^{\circ}</math>C 挥干, 再加入适量甲醇溶解, 过0.22 <math>\mu</math>m 微孔滤膜后进行仪器分析;</li><li>若体积较大, 则用丙酮棉球反复擦拭检材表面, 擦拭棉球按照尘土检材处理方法提取后上机分析</li></ul>
人的身体爆炸伤处和嫌疑人双手上的炸药残留物	<ul style="list-style-type: none"><li>用丙酮棉球擦拭提取, 擦拭棉球按照尘土检材的处理方法提取后上机分析。</li></ul>

## 2. 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的优化

#### 1) 色谱柱选择:

实验对比采用Shim-pack Velox Biphenyl ( 100 mm x 2.1 mmI.D., 2.7  $\mu$ m )和AccucoreaQ C18 ( 150 mm x 2.1 mmI.D., 2.6  $\mu$ m )两种色谱柱, 结果表明, 17种样品在Shim-pack Velox Biphenyl柱上的分离效果要优于在AccucoreaQ C18柱上的分离效果。

#### 2) 流动相的选择:

比较了甲醇/水和乙腈/水体系, 结果表明乙腈/水体系中各目标物的离子化效率更高。推测原因可能是因为乙腈是非质子溶剂, 而甲醇是质子溶剂, 在负离子扫描方式下甲醇对目标物的电离有微弱的抑制作用, 因此本实验采用乙腈/水体系作为流动相。

#### 3) 缓冲盐的选择:

实验发现用乙酸铵或者甲酸铵作为缓冲盐时, 无论如何调整缓冲盐的浓度, 不能使17种目标物均出现合适种类及强度的准分子离子峰。而采用氯化铵作为缓冲盐, 在其浓度为0.05 mmol/L时可获得比较理想的效果, 17种有机炸药的提取离子色谱图如图1所示。

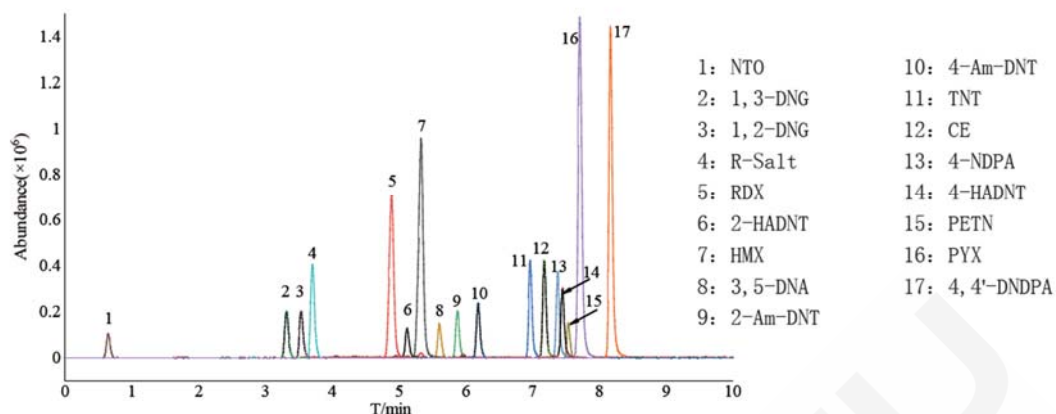


图 1. 17 种有机炸药的提取离子流色谱图

## 2.2 高分辨数据库建立

按 1.2 中的分析条件，对 17 种爆炸物进行一级 MS、二级 MS/MS 扫描，获得 ESI 模式下高分辨一级质谱图、5~35 V 动态碰撞能下的二级质谱图，使用 LabSolutions insight 软件进行质谱库建立。高分辨质谱库收录了 17 种有机炸药的化合物名称、保留时间、分子式、理论分子量、CAS 号、前体离子、前体离子  $m/z$  和二级质谱图等信息。

表 3. 17 种有机炸药的质谱信息

序号	名称	保留时间 (min)	前体离子	理论分子量 (m/z)	实测分子量 (m/z)	误差 (ppm)	碎片离子 1 (m/z)	碎片离子 2 (m/z)
1	HMX	5.34	$[M+^{35}Cl]^-$	331.01591	331.01627	1.09	182.9928	147.0161
2	RDX	4.89	$[M+^{35}Cl]^-$	257.00428	257.00405	-0.89	248.9729	45.99284
3	CE	7.20	$[M+^{35}Cl]^-$	321.98321	321.98387	2.05	245.9927	181.0251
4	TNT	6.97	$[M+^{35}Cl]^-$	226.01056	226.01016	-1.77	197.0053	45.99292
5	2-Am-DNT	5.88	$[M+^{35}Cl]^-$	232.01306	232.01268	-1.64	227.0917	196.0366
6	4-Am-DNT	6.19	$[M+^{35}Cl]^-$	232.01306	232.01352	1.98	227.0909	196.0369
7	PETN	7.54	$[M+^{35}Cl]^-$	350.98327	350.98311	-0.46	108.9891	61.98824
8	PYX	7.71	$[M-H]^-$	619.99995	619.99906	-1.44	572.9997	497.0091
9	2-HADNT	5.12	$[M-H]^-$	212.03129	212.03127	-0.09	194.0209	167.0101
10	4-HADNT	7.40	$[M-H]^-$	212.03129	212.03102	-1.27	182.0348	165.031
11	1,2-DNG	3.54	$[M+^{35}Cl]^-$	216.9869	216.98742	2.4	61.98803	
12	1,3-DNG	3.32	$[M+^{35}Cl]^-$	216.9869	216.98721	1.43	61.98803	
13	3,5-DNA	5.41	$[M+^{35}Cl]^-$	217.99741	217.99701	-1.83	153.0305	45.99291
14	R-SALT	3.71	$[M+^{35}Cl]^-$	209.01954	209.01900	-2.58	197.8086	162.8396
15	4-NDPA	7.38	$[M-H]^-$	213.06695	213.06664	-1.45	183.0691	45.99329
16	NTO	0.65	$[M-H]^-$	129.00541	129.00495	-3.57	55.01708	
17	4,4'-DNDPA	8.17	$[M-H]^-$	258.05203	258.0519	-0.5	198.0562	45.99324

## 2.3 定性分析

若只是通过对目标物进行一级精确质量质谱分析，有出现假阳性结果的可能。所以需对疑似化合物进行二级碎片离子信息进行确证，以进一步确证阳性化合物。根据欧盟 SANCO/12571/2013 决议，用高分辨质谱 TOF 进行确证时，至少需要两个确证离子，一个准分子离子和至少一个碎片离子，且一级质量偏差在 5 ppm 之内。根据化合物一级精确质量误差、二级质谱碎片离子和谱库的相似程度，结合提取离子流色谱图的保留时间对化合物进行定性分析。Labsolutions Insight Explore 软件可根据化合物列表，自动进行谱库检索，大大提高工作效率。

## 2.4 线性范围

按 1.2 中的分析条件进行测定，以各目标物浓度为横坐标，目标物准分子离子峰面积为纵坐标，以外标法绘制校准曲线。以 3 倍信噪比(S/N) 计算各化合物的检出限，17 种化合物的检出限(LOD)范围为 0.1~10.0 ng/mL，线性方程等参数见表 4。

表 4. 17 种有机炸药的方法学信息

序号	名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数	检出限 (ng/mL)
1	HMX	5~500	0.995	0.2
2	RDX	5~500	0.989	0.5
3	CE	20~500	0.992	5
4	TNT	20~500	0.999	5
5	2-Am-DNT	20~500	0.989	5
6	4-Am-DNT	20~500	0.996	5
7	PETN	50~500	0.989	10
8	PYX	5~500	0.979	0.2
9	2-HADNT	50~500	0.995	10
10	4-HADNT	20~500	0.994	5
11	1,2-DNG	50~500	0.988	10
12	1,3-DNG	50~500	0.999	10
13	3,5-DNA	20~500	0.990	5
14	R-SALT	20~500	0.990	5
15	4-NDPA	20~500	0.994	5
16	NTO	50~500	0.988	10
17	4,4'-DNDPA	5~500	0.993	0.1

## 2.5 精密度实验

按 1.2 中的分析条件进行测定，配制 17 种目标物低、中、高(20、100、500 ng/mL)三个浓度的质控样品，每天取各浓度水平的 6 个样本进行分析，每个样品重复进样 3 次，连续 4 天，根据各目标物准分子离子峰面积的相对标准偏差(RSD%)计算日内和日间精密度，方法的日内及日间精密度均小于 10%。，结果如表 5 所示。

表 5. 日内精密度和日间精密度结果

序号	名称	日内精密度 (n=6h) 峰面积 RSD%			日间精密度 (n=24h) 峰面积 RSD%		
		20 ng/mL	100 ng/mL	500 ng/mL	20 ng/mL	100 ng/mL	500 ng/mL
1	HMX	3.2	2.4	2.7	3.8	3.8	4.0
2	RDX	4.5	2.2	3.3	2.5	2.9	6.1
3	CE	3.9	4.4	4.4	3.2	5.0	6.9
4	TNT	3.3	5.2	4.4	1.7	7.7	4.9
5	2-Am-DNT	3.1	5.0	2.4	3.8	4.4	5.4
6	4-Am-DNT	2.9	4.2	3.6	3.5	5.1	6.3
7	PETN	3.9	2.9	1.9	5.7	3.8	5.1
8	PYX	1.6	5.3	3.1	2.3	7.9	5.7
9	2-HADNT	2.0	2.7	3.0	3.4	3.6	4.2
10	4-HADNT	2.2	5.2	2.7	5.2	6.1	3.9
11	1,2-DNG	4.3	2.4	2.9	5.2	3.4	7.1
12	1,3-DNG	2.7	2.2	2.5	3.4	6.3	8.5
13	3,5-DNA	2.2	2.2	3.5	2.7	3.7	3.9
14	R-SALT	4.7	4.5	3.0	5.7	6.7	4.8
15	4-NDPA	3.8	1.7	2.8	2.9	3.7	7.1
16	NTO	2.2	1.6	2.5	4.3	5.5	6.1
17	4,4'-DNDPA	1.8	2.2	4.2	5.2	3.6	5.1

### 3. 结论

本研究建立了梯恩梯等 17 种有机炸药的 LCMS-Q-TOF 筛查与确证方法, 对流动相组成色谱条件、质谱条件进行优化, 可实现涉爆案件中 17 种有机炸药的快速准确筛查及定量。本方法快速高效、准确度高, 能够满足日常办案的需要, 本方法也具有很好的兼容性, 可进一步扩充数据库, 以实现更多有机炸药的快速筛查。

本文研究内容已正式发表, 完整内容请参考文献:

李晓飞, 谢伟宏, 徐洁蕾. UPLC-Q-TOF/MS 快速检验 17 种有机炸药[J]. 刑事技术, 2023,48(3): 300-305.



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

## ⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

### 北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层  
邮政编码: 100020  
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

### 沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
邮政编码: 110016  
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

### 西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501  
邮政编码: 710065  
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座  
邮政编码: 830002  
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

### 郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
邮政编码: 450007  
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋  
邮政编码: 200233  
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

### 成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼  
B座12层  
邮政编码: 610063  
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

### 南京

南京市鼓楼区汉中中路2号亚太商务楼27层B座  
邮政编码: 210005  
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

### 重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座  
邮政编码: 400010  
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

### 武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室  
邮政编码: 430060  
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

### 广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦  
邮政编码: 510656  
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

### 昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室  
邮政编码: 650021  
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

### 深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C  
邮政编码: 518040  
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

### 长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室  
邮政编码: 410005

### 香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室  
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,  
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG  
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439  
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准  
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知