

## 利用Xevo™ G3 QToF质谱仪分析天然产物解决方案

---

Lisa Reid, Mark Towers, Lee A. Gettings, Jayne Kirk

Waters Corporation

---

### 摘要

利用Waters™ Xevo G3 QToF质谱仪进行天然产物的快速、准确筛查，展示了一个强大、稳定且灵活的自然产物分析平台。这款紧凑型台式QToF质谱仪的动态范围高达五个数量级，质量分辨率约为30,000 FWHM，质量精度非常高 - 对于小分子应用，通常在2 ppm以内，非常适合用作天然产物筛查和真伪检验的常规平台。它能够提供灵活的解决方案，数据采集可以使用多种采集方法，例如，MS、MS<sup>E</sup>、MRM、DDA或SONAR，并提供两种仪器控制软件平台可供选择：waters\_connect™或MassLynx™，具体取决于实验室的合规性要求。

### 优势

- 系统性能稳定、可重现，能够为天然产物活性化合物提供高质量精度、优异的质量分辨率和宽泛的线性动态范围
- 通用系统，可根据分析目标选择多种采集方法
- 提供全面的筛查数据库，可实现快速数据处理和报告
- 可根据实验室合规性要求选择仪器控制软件

---

## 简介

在欧盟和美国，市面上任何声称具有治疗特性的天然产物都必须遵守严格的法规要求。这些地区只允许销售经英国药品和健康产品管理局(MHRA)或美国食品药品监督管理局(FDA)等机构评估的产品。这些机构强制要求制造商必须遵守严格的质量控制程序，证明产品按照严格的标准生产，并确保其所含活性成分的剂量一致且清晰标注。法规指出，制造商和合同检测机构必须明确证明其产品中所含天然材料的来源、纯度和数量。

如果生产商和/或监管机构希望对天然产物中活性成分的含量进行质量控制，液相色谱-质谱联用(LC-MS)系统可以作为一个可靠、完善的测量平台。这类系统能够分离各种异构体（例如，儿茶素和表儿茶素），并具有更高特异性，能够可靠地区分目标组分与其他高丰度的复杂基质分析物，例如黄酮类物质（山柰酚、槲皮素）或多酚类物质（如茶倍素）。为确保检测的速度和效率，如果该方法对这些变化性较大的天然化合物表现出较宽的线性范围，将是非常有益的。

数千年来，人们采用快速蒸煮并干燥的方式将新鲜采摘的山茶(*Camellia sinensis*)叶制成绿茶<sup>1</sup>。绿茶含有一系列酚类化合物，特别是黄烷-3-醇类（称为儿茶素）<sup>2</sup>。据大量文献报道，儿茶素是一类具有抗炎和抗氧化特性的分子，研究人员认为，正是这些分子产生了与饮用绿茶产品相关的健康益处。但是，市售绿茶中的抗氧化剂含量可能因生长条件、采摘时间、加工、储存和最终制备等因素不同而存在显著差异<sup>1</sup>。此外，绿茶也有可能对健康产生不利影响，例如常见与喝绿茶相关的肝毒性，尤其是儿茶素过量暴露以及可能被吡咯里西啶生物碱(PA)污染<sup>2</sup>。

本文所述方法根据色谱保留时间、精确质量数和碎片离子谱图（基于理论谱图和分析推导得出）来鉴定和定量绿茶已知成分。本研究重点关注活性成分（儿茶素），证明了所述方法的选择性以及提供多种不同采集模式的灵活平台的优势。

---

## 实验

### 样品描述

用25:75 v/v甲醇:水将绿茶基质（部件号：[186006962](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/standards--reagents/186006962-green-tea-extract-mix.html) <  
<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/standards--reagents/186006962-green-tea-extract-mix.html>>，沃特世，英国威姆斯洛）稀释为浓度8.25 mg/mL的溶液，涡旋混合，超声处理30 min，然后在4 °C下以10,300 g离心10分钟以除去颗粒。

用25:75 v/v甲醇:水稀释购自Sigma（英国多塞特）的100 µg/mL儿茶素标准品，绘制儿茶素标准曲线。

## 液相色谱条件

|         |  |
|---------|--|
| 液相色谱系统: | ACQUITY™ I-Class Premier FTN   |
| 色谱柱:    | ACQUITY Premier UPLC™ HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)                           |
| 柱温:     | 40 °C  |
| 进样体积:   | 1 μL   |
| 流速:     | 0.6 mL/min   |
| 流动相A:   | 0.1%甲酸的水溶液   |
| 流动相B:   | 0.1%甲酸的乙腈溶液  |
| 绿茶梯度:   | 流动相A在99%下保持0.5 min, 在0.5~16 min从99%减至65%, 在16~18 min保持1%, 然后在18~20 min重新平衡至初始条件。 |

## MS条件

|            |              |
|------------|--------------|
| MS系统:      | Xevo G3 QTof |
| 毛细管电压(kV): | 1.5 (正离子模式)  |
| 采样锥孔电压:    | 20 V         |
| 离子源补偿:     | 80 V         |
| 离子源温度:     | 120 °C       |

|              |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| 脱溶剂气温度:      | 600 °C                             |
| 锥孔气流速:       | 150 L/h                            |
| 脱溶剂气流速:      | 800 L/h                            |
| StepWave模式:  | 软传输 <sup>3</sup>                   |
| 检测器自动增益:     | 开                                  |
| 分析仪模式:       | 灵敏度                                |
| 数据格式:        | MS <sup>E</sup> 连续采集/MRM/DDA/SONAR |
| 采集范围:        | 50-1200 Da                         |
| SONAR采集\范围:  | 250-500 Da (10 Da窗口)               |
| 扫描速度:        | 10 Hz (SONAR为5 Hz)                 |
| 碎片离子CE:      | 25-45 V                            |
| Lockspray流速: | 10 µL/min                          |
| LockSpray设置: | 每60秒平均扫描3次                         |
| IDC:         | 关                                  |

---

## 结果与讨论

本分析所用样品为市售绿茶基质和儿茶素混标，样品制备方法是：先简单稀释液体标准品或复溶冻干基质，然后离心以除去颗粒。绿茶基质未经过净化处理。

---

使用ACQUITY Premier UPLC色谱系统和Xevo G3 QToF质谱仪，在正离子模式下，采用MS<sup>E</sup>、MRM、DDA和SONAR采集模式分析1 μL进样体积的8.25 mg/mL绿茶基质标准品和儿茶素标准品。系统采用全新的StepWave™设计，通过软电离参数采集数据，确保四极杆前的母离子碎裂降至最低，提供理想的分析物传输性能<sup>3</sup>。

图1中的数据展示了单次进样儿茶素标准品（显示的化合物为表儿茶素-3-没食子酸酯）的选定组分响应值，视图中包括一个表格，其中提供有所选定化合物的所有分析数据、选定样品和组分色谱峰的XIC，以及选定分析物的高能量和低能量谱图。堆叠图显示了两张谱图（母离子和碎片离子）的匹配结果，高能量谱图中显示了鉴定结果为阳性的碎片离子，这些碎片可以展开显示拟议的相应化学结构（如图所示）。

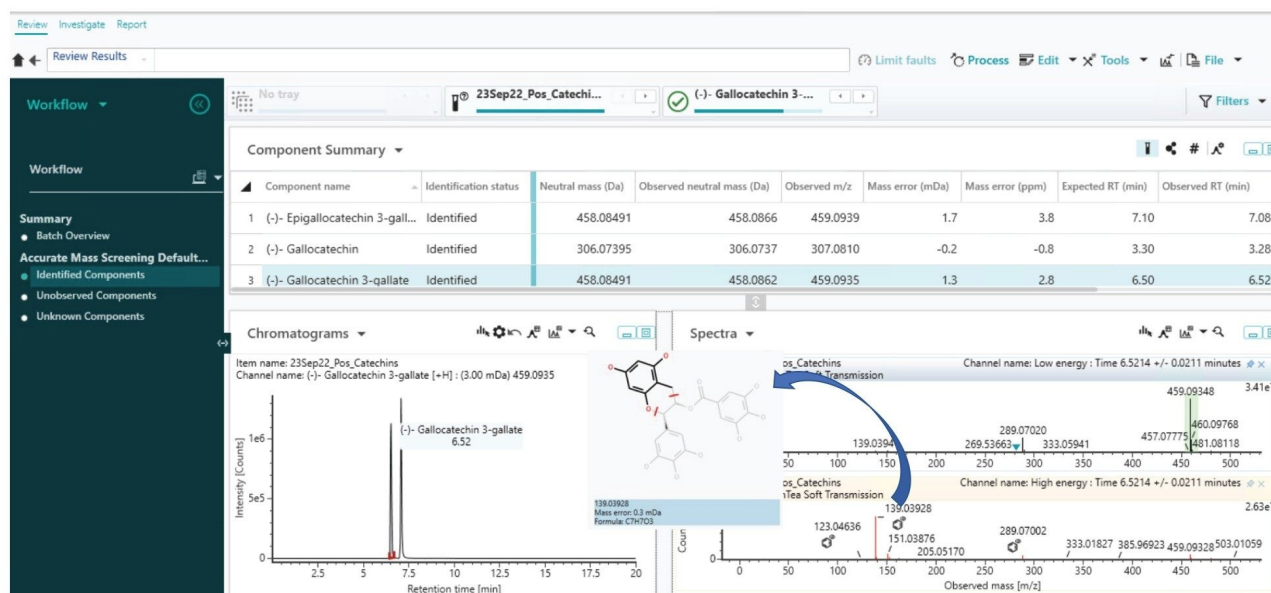


图1. waters\_connect/UNIFI™软件界面，展示了一次选定进样的鉴定结果表，其中包括各种化合物汇总、选定化合物的XIC（在本例中为没食子儿茶素-3-没食子酸酯）以及选定化合物的低能量和高能量谱图。高能量谱图显示了鉴定出的碎片离子，可展开这些碎片离子以查看碎片离子质量数信息和结构，如图所示。

Xevo G3 QToF质谱仪为用户提供了MassLynx和waters\_connect两个仪器控制软件选项，用户能够根据实验室环境定制他们的仪器控制软件。waters\_connect信息学平台支持用户利用UNIFI应用程序进行数据处理，在处理数据时，比对可下载的山茶(*Camellia sinensis*)数据库。该谱库根据色谱保留时间（对于给定方法）、质量精度以及相比理论碎片离子谱图存在的碎片离子来辅助化合物鉴定。在UNIFI应用程序中执行并处理MS<sup>E</sup>筛选采集后，可以查看“未鉴定”的组分以及谱库中包含的组分。筛选出不明化合物，将其纳入处理部分或从中排除，具体取决于需要确认已知成分还是进行全面筛查。

通过山茶(*Camellia sinensis*)筛选后的UNIFI谱库(包含27种天然绿茶化合物)处理绿茶进样产生的数据,在正离子极性模式下得到24个匹配的鉴定结果(其中8个通过标准品确认,16个仅通过质量数和理论碎片匹配推断获得),在负离子极性模式下得到23个匹配的鉴定结果(其中7个通过标准品确认,16个仅通过质量数和理论碎片匹配推断获得)。

MS<sup>E</sup>是一种数据非依赖型分析模式(DIA),允许分析质量范围内的所有离子通过四极杆,在低能量通道中进行检测,然后将质量范围内的所有离子碎裂并显示高能量通道内的所有碎片离子数据。高能量谱图将显示来自共洗脱物质的所有离子,因为所有离子都通过四极杆传输。这是生成母离子和子离子信息最不受限制的采集方法,可提供信息量丰富的数据集。

Tof-MRM功能是在Xevo G3 QTof质谱仪上进行DIA采集,其原理与在串联四极杆质谱仪上进行MRM实验的原理相同,非常适合用于获取定量信息。这种实验具有靶向性,用户选定的母离子在四极杆中被选择,然后在碰撞室中进行碎裂。低能量母离子信息和高能量/子离子信息都可作为数据集的通道。在该模式下可以获得高灵敏度,因此非常适用于需要靶向定量信息的实验。

SONAR功能是一种DIA采集模式,利用扫描四极杆技术来选择目标质量范围,例如200–500 Da,四极杆会根据用户设定的质量数窗口,如2 Da,来过滤离子,这些离子随后会在碰撞室碎裂,并随时可检测。这样可以单独对每个质量数差异大于设定窗口的化合物进行碎裂,并将数据存储在低能量功能通道中。这种采集模式能够提供干净的谱图,不会因手动设置目标分析物(MRM)或仅选择信号最强离子(DDA)而导致化合物数据丢失。由于扫描四极杆的特性,这种数据的强度会低于其他采集模式产生的强度。建议使用宽度≤300 Da的扫描四极杆质量范围来提高采集的灵敏度,超出此范围的化合物质量数将不会被采集。

如需了解更多信息,请参阅:沃特世白皮书720006033 <

[https://www.waters.com/waters/library.htm?locale=en\\_US&cid=134908444&lid=134944704](https://www.waters.com/waters/library.htm?locale=en_US&cid=134908444&lid=134944704)>。

数据依赖型采集(DDA)模式可根据强度分离和碎裂母离子,可以使用包含列表或电荷态(通常用于生物分子),也可以基于离子强度。通过四极杆分离后,离子将在碰撞室内碎裂,然后系统分析子离子。由于四极杆用于选择和传输目标离子,因此可以获得了MS/MS子离子谱图,有助于进行母离子的分配和鉴定。DDA示例的设置可以优化,确保在复杂基质中选择适当数量的母离子,同时尽可能减少基质或背景离子的切换。

使用上述所有采集模式分析绿茶样品时,靶向/半靶向:MRM、DDA和SONAR采集模式可提供更清晰的谱图,并提高离子鉴定的可信度。图2展示了四种分析模式下表儿茶素的高能量谱图比较。在正离子模式下,在图3中,目标分析物主要碎裂为 $m/z$  123.1(化学式 $C_7H_7O_2$ )、 $m/z$  139.0(化学式 $C_7H_7O_3$ )、 $m/z$  147.0(化学式 $C_9H_7O_2$ )、 $m/z$  165.0(化学式 $C_9H_9O_3$ )。所有分析模式下均可观察到所有碎片离子。然而,在MS<sup>E</sup>采集模式下,共洗脱物质的碎裂会产生许多其他离子。使用采集期间调谐参数选项中的背景扣除功能减少这些噪音。在四极杆分离母离子碎片离子的采集模式下,来自共洗脱峰的干扰被减少或消除。

$MS^E$ 采集模式是筛查未知化合物的理想模式。SONAR ToF MRM和DDA分析可去除背景或共洗脱（替代 $m/z$ ）物质产生的离子，降低高能谱图的复杂性，让这些模式更适合靶向/半靶向应用。

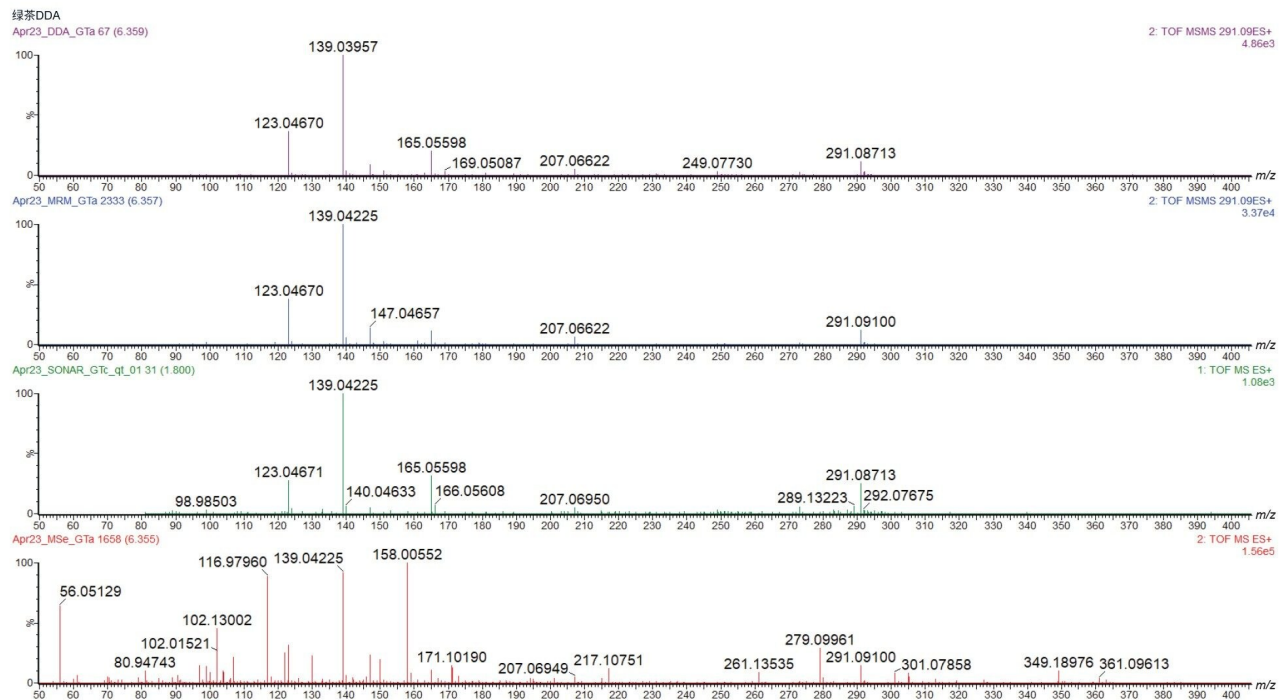


图2.表儿茶素母离子 $m/z$  291.1 Da的 $MS^E$ 、MRM、DDA和SONAR分析的高能谱图。谱图A（红色）显示了目标分析物的 $MS^E$ 高能谱图，谱图B（绿色）显示了目标分析物的SONAR高能谱图，谱图C（蓝色）显示了目标分析物的MRM高能谱图，谱图D（紫色）显示了目标分析物的DDA高能谱图。



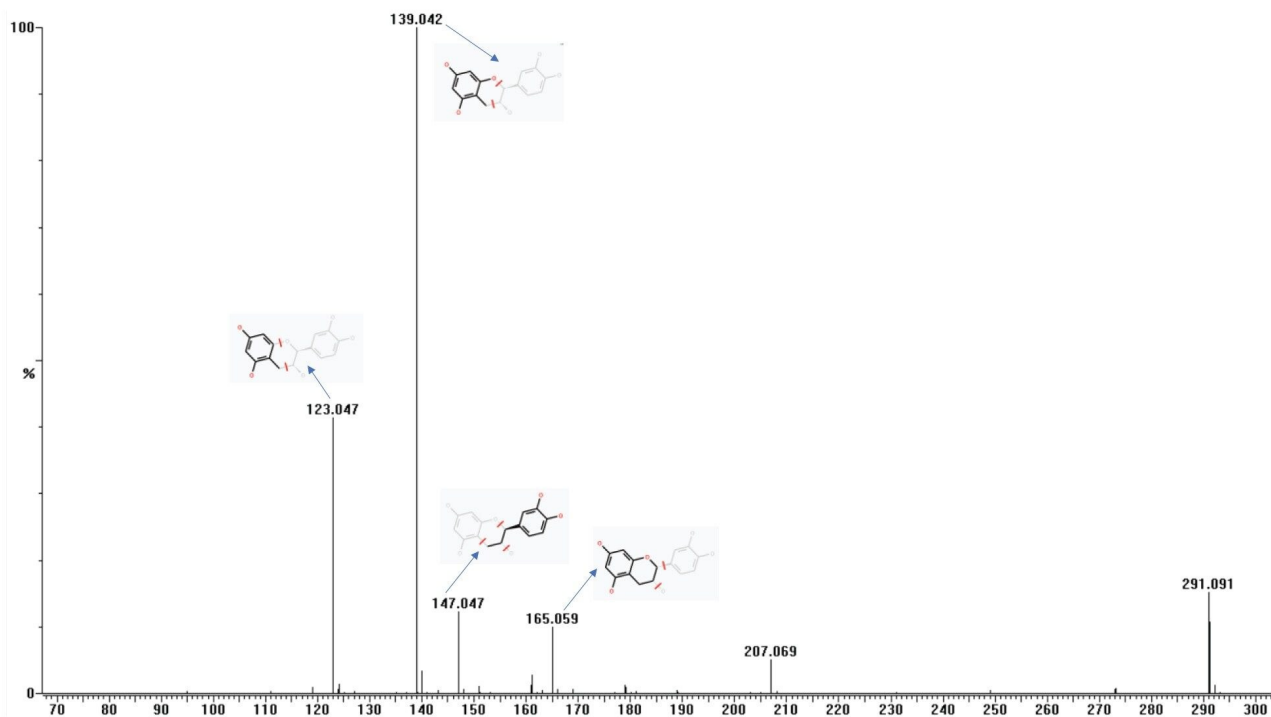


图3.显示表儿茶素母离子  $m/z$  291.1 Da碎片离子谱图的预期高能量谱图(MRM)。

## 结论

Xevo G3 QToF平台为天然产物筛查应用提供了一个强大的解决方案。

它的多种采集模式可根据提出的问题为分析人员提供灵活选择。无论是针对已知化合物的靶向实验，还是针对复杂样品的全面筛查，该平台都能提供合适的实验类型。

软件平台的选择可根据实验室环境、应用或用户要求量身定制。全新的StepWave设计能够根据目标化合物的易碎裂性优化传输，确保目标分析物的灵敏度得到提高。Xevo G3 QToF质谱仪具有出色的质量精度、灵敏度和宽泛的动态范围，配备了有效分析天然产物所需的所有必要工具。



---

## 参考资料

1. Pinto, G; Illiano, A; Carpentieri, A; Spinelli, M; Melchiorre, C; Fontanarosa, C; Di Serio, M; Amoresano, A. Quantification of Polyphenols and Metals in Chinese Tea Infusions by Mass Spectrometry, *Foods* 9(6):835; June 2020.
2. Younes, M; Aggett, P; *et al.* EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Scientific Opinion on the Safety of Green Tea Catechins, *EFSA Journal* 16(4); April 2018.
3. Lisa Reid, David Pickles. 使用StepWave™ XS改善Xevo™ G3 QToF质谱仪上不稳定物质的传输, 沃特世应用纪要720007794ZH, 2022年11月.

---

## 特色产品

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

Xevo G3 QToF <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html>>

UNIFI科学信息系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134801648>>

waters\_connect <[https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/waters\\_connect.html](https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/waters_connect.html)>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720008021ZH, 2023年8月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

---

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)  
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)