

# 使用适用于 GC/TQ 的 Agilent MassHunter Optimizer 根据 US EPA 方法 8270 进行自动化 MRM 方法开发

## 作者

Anastasia Andrianova,  
He Liu, Alex Graettinger,  
Melissa Churley  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

本应用简报展示了如何使用适用于 GC/TQ 的 Agilent MassHunter Optimizer 实现高度自动化的整体多反应监测 (MRM) 数据采集方法开发。即使在存在色谱干扰的情况下，用于 GC/TQ 的 Optimizer 也可以通过质谱解卷积可靠地鉴定母离子。在开发 MRM 数据采集方法时，该工具可节省大量时间并减少手动审查工作。采用与美国国家环境保护局 (EPA) 方法 8270 相关的 83 种化合物的混合物挑战该工艺，并评估共流出物对 MRM 方法开发的影响。

Optimizer 工具的主要优势包括：

- 节省 MRM 方法的开发优化时间
- 自动完成并减少手工工作
- 重现性
- 从 GC/MSD 方法平稳过渡至 GC/TQ
- 内置审查工具

## 前言

GC/MS/MS MRM 离子对的开发是一个具有挑战性且耗时的多步过程，通常由于分析物共流出和基质干扰而变得更加复杂。传统上，需要由经验丰富的科学家进行手动干预。用于 GC/TQ 的 MassHunter Optimizer 可自动优化 MRM 模式下的数据采集参数。

整体 MRM 方法开发可高度自动化完成，无需用户交互。或者，可以单独执行各个优化步骤。这些步骤包括：

- 使用谱库搜索解卷积谱图鉴定分析物
- 鉴定母离子
- 在各种碰撞能量下鉴定子离子
- 选择子离子
- 优化碰撞能量

用于 GC/TQ 的 Optimizer 可使用多种工作流程，例如从扫描数据开始和从 SIM 离子开始，使新 GC/TQ 用户可以将现有的单四极杆扫描或 SIM 方法转换为三重四极杆 MRM 方法。现有 TQ 用户可采用从 MRM 开始工作流程重新优化当前 MRM 的碰撞能量，并更新其在新色谱条件下的保留时间。对于现有 MRM 方法，保留时间更新功能可用于确保无缝转换为修改后的色谱条件，例如新的色谱固定相或气相色谱柱箱温度程序。

在本应用简报中，针对 83 种半挥发性化合物（包括目标物、替代物和 US EPA 8270 的内标）开发出一种 MRM 采集方法。展示了四种工作流程，从不同的采集方法（例如扫描、SIM 和 MRM）开始：

- 从扫描数据开始时，鉴定出 83 种化合物。测定母离子和子离子，并优化碰撞能量
- 从 SIM 离子开始工作流程能够对导入的 SIM 离子进行子离子鉴定，并优化 83 种化合物的 351 种 MRM 离子对的碰撞能量
- 采用从 MRM 开始工作流程对 83 种化合物的碰撞能量进行重新优化
- 使用更新保留时间功能更新 MRM 方法的保留时间

利用包含 83 种半挥发性化合物的 8270 “全混合物” (AccuStandard) 挑战该过程并评估共流出物的影响。尽管整个 MRM 开发过程在很大程度上取得成功，但共流出物有时可能导致复杂化，需要进行审查和手动干预。

## 实验部分

用于 GC/TQ 的 MassHunter Optimizer 将随 Agilent MassHunter GC/MS 数据采集软件 10.0 及更高版本自动安装。支持与 Agilent 7000 系列和 7010 系列 GC/TQ 配合使用。使用安捷伦 GC/MS 配置工具配置 GC/TQ 仪器后，将创建一个桌面图标。需要采用现有的数据采集方法启动 MRM 开发。开发和优化 MRM 离子对时，将保留采集方法的所有气相色谱参数。

本应用简报介绍了四种工作流程，包括从扫描数据开始、从 SIM 离子开始、从 MRM 开始以及从 MRM 开始时的保留时间更新。本研究采用 Agilent 7890/7000D 三重四极杆气质联用系统、Agilent MassHunter GC/MS 数据采集软件 10.0 版和 Agilent MassHunter 未知物分析软件 10.0 版。先前已对初始采集方法进行了优化，将其成功应用于半挥发性化合物的 GC/MSD 分析，可满足 US EPA 8270 方法的性能要求<sup>[1]</sup>。

### 从扫描数据开始

从扫描数据开始工作流程包括以下步骤，依次执行：

- 采集或导入全扫描数据以鉴定目标化合物
- 鉴定母离子
- 鉴定子离子
- 优化碰撞能量

在本研究中，通过 MS1 扫描采集扫描数据，扫描时间为 450 ms，采样速率为每秒五个样品。从扫描开始时，MRM 开发的第一步是使用谱库搜索解卷积谱图来鉴定分析物。它可以正确鉴定目标分析物，即使在存在色谱干扰物质（如柱流失或共流出分析物或基质干扰物质）的情况下，也能够可靠地选择母离子。将质谱解卷积和谱库搜索算法与 Agilent MassHunter 未知物分析软件配合使用。用于 GC/TQ 的 Optimizer 支持的谱库格式包括 \*.L 和 \*.mslibrary.xml。允许灵活采用大型光谱库（如 NIST）或用户借助 Agilent MassHunter 谱库编辑器软件创建的小型谱库。在本应用简报中，采用 NIST17 质谱库进行化合物鉴定。

MRM 开发的后三个步骤可实现自动化，而无需用户干预。或者，可以在继续实施下一步之前查看每个步骤的结果。在继续操作之前，用户可以修改自动选择结果并根据需要选择额外的离子。在本应用简报中，继续执行以下优化步骤之前，首先对母离子和子离子选择进行审查。

从扫描数据开始工作流程能够在 6 小时内完成 12 次进样的优化。

### 从 SIM 离子开始

从 SIM 离子开始工作流程包括以下步骤，依次执行：

- 将目标化合物的 SIM 离子导入为 .CSV 文件，其中包括化合物名称和保留时间。或者，可以从先前创建的 SIM 采集方法中导入 SIM 离子
- 子离子扫描和鉴定
- 碰撞能量优化

从 SIM 离子开始工作流程能够在 5.5 小时内完成 11 次进样的优化。

### 从 MRM 开始

从 MRM 开始工作流程包括以下步骤：

- 从先前创建的 MRM 采集方法或 .CSV 文件导入 MRM 离子对
- 优化碰撞能量

所有这三种工作流程均包括碰撞能量优化步骤。从扫描或 SIM 开始时，将执行子离子鉴定。在从扫描数据开始工作流程中，首先必须执行化合物和母离子鉴定步骤。

完成 MRM 开发和碰撞能量优化后，可以将开发的采集方法另存为基于时间段的 MRM 方法或动态 MRM (dMRM) 方法。后一种选项允许用户定义最短驻留时间和每秒循环次数。

要更新保留时间，请导入现有的 MRM 或 SIM 方法，且必须执行色谱运行。

从 MRM 开始工作流程能够在 2 小时内完成 4 次进样的优化。

## 结果与讨论

### 从扫描数据开始：谱库搜索和母离子鉴定

使用采集的 EPA 8270 标准“全”混合物的全扫描色谱图，通过在 NIST17 质谱库中搜索解卷积质谱图，鉴定出 83 种半挥发性化合物（包括替代物和内标）。利用这 83 种半挥发性化合物挑战该过程并评估共流出物的影响，这些共流出物可能使 MRM 开发过程复杂化且需要进行手动审查。图 1A 显示了完成化合物鉴定后的 Optimizer 窗口。该窗口包括：

- 化合物表
- 包含标记谱峰的 GC/MS 色谱图
- 突出显示的化合物的解卷积质谱图
- 突出显示的化合物的母离子
- 针对所有鉴定出的化合物选择的所有母离子汇总

谱库匹配得分显示在图 1A 表中的“匹配结果得分”列下。谱库中可用的信息（例如化合物名称、CAS 号、分子式和分子量）将导入 Optimizer 的“化合物表”中。在化合物表中选中各种鉴定出的化合物时，将显示其解卷积质谱图。图 1A 的右下方显示了突出显示的化合物 2-甲基-4,6-二硝基苯酚 (DNOC) 的解卷积质谱图。质谱解卷积能够正确鉴定化合物，并可靠地选择母离子，即使存在色谱干扰物质（如柱流失或共流出峰）也是如此。建议的母离子以绿色突出显示。

请注意，软件建议的母离子基于丰度和  $m/z$  值进行选择。另外，从一个簇中选择的离子不超过两种。例如，尽管  $m/z$  168 的丰度低于离子  $m/z$  51 和 53，但由于其具有较高的  $m/z$  值和唯一性，因此自动选择其作为母离子。

用户可通过取消选中所选的离子并检查其他可用的离子，来覆盖软件建议的母离子。

在化合物表中选中相应的化合物时，将显示可用的母离子列表。DNOC 可用的母离子显示在 DNOC 表（图 1A 所示的 Optimizer 窗口中的第二个表）中。表中选择的离子由软件自动选择为母离子，因为已经将 Optimizer 方法设置为针对各种化合物选择不超过四种离子作为母离子，如图 1B 中的母离子鉴定参数所示。

A

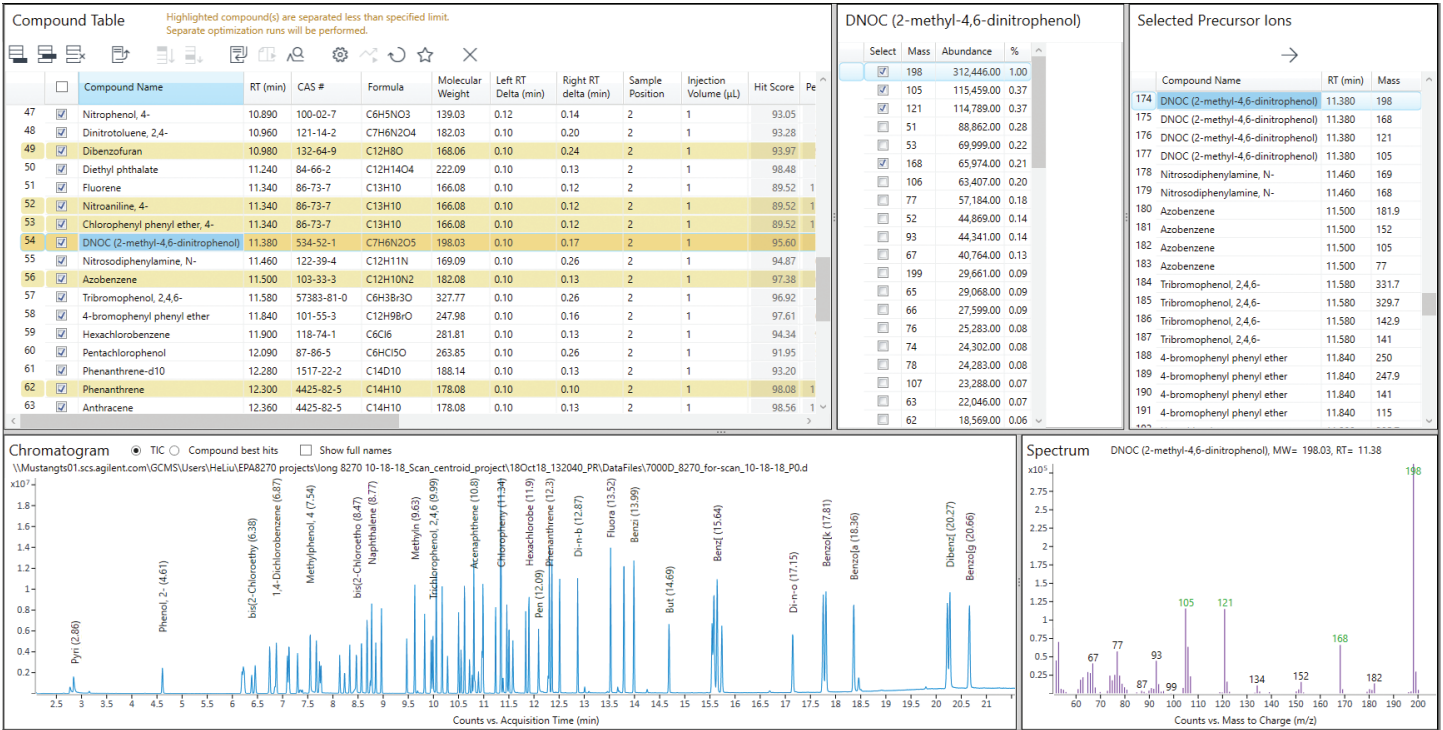


图 1A. 用于 GC/TQ 的 Agilent MassHunter Optimizer 窗口，示出化合物鉴定结果

以下 MRM 开发步骤（即子离子鉴定和碰撞能量优化）可自动化完成，用户只需审查最终优化的离子对。它也可以手动完成，允许用户在执行碰撞能量优化步骤之前审查子离子的选择。

### 从扫描数据开始：子离子鉴定

子离子优化可能需要多次进样，具体取决于每种分析物的母离子数量以及目标物的色谱分离度。建议使分析物实现色谱基线分离，以确保最有效的 MRM 开发。但是，如果共流出化合物的质谱图不同且化合物的响应丰度相当，则可以对共流出化合物进行 MRM 开发。为执行共流出目标物的 MRM 开发，可能需要进行额外的进样。

B

**Identify Precursor Ions** | Identify Product Ions | Optimize CEs | RT Delta | Miscellaneous

Maximum number of precursor ions to select

Select highest m/z values with normalized % intensity greater than

Select highest m/z values with abundance count greater than

Full scan mass range

Do not exclude masses

Exclude masses

m/z values  (separate by commas)

Identify compounds

Library

Min score (%)

Min peak area

RT tolerance (sec)  (0.017 Minutes)

Maximum hits for each peak

图 1B. 用于 GC/TQ 的 Agilent MassHunter Optimizer 窗口，示出母离子鉴定参数

在本研究中，在 22 分钟内分析了具有挑战性的 83 种分析物的混合物。如图 1A 化合物表中突出显示的黄色条目，83 种目标化合物中的某些化合物发生共流出。为了对 83 种目标化合物进行子离子扫描，需要进行七次进样。如果忽略共流出化合物，则可以通过三次进样对其余化合物进行子离子鉴定。

通过用户在子离子鉴定参数下定义的多种碰撞能量下的子离子扫描，进行各种母离子的子离子鉴定（图 2B）。子离子扫描最多允许采用四种碰撞能量。在本研究中，采用默认值 5、15、25 和 35 eV 执

B

Identify Precursor Ions
Identify Product Ions
Optimize CEs
RT Delta
Miscellaneous

Maximum number of product ions to be found

Select ions with % abundance greater than

Select ions with abundance greater than

Collision energy values  (separate by commas)

Profile data

Product ion scan low mass cutoff

m/z values

% mass (mz)

Do not exclude masses

Exclude masses

m/z values  (separate by commas)

图 2B. 子离子鉴定参数

A

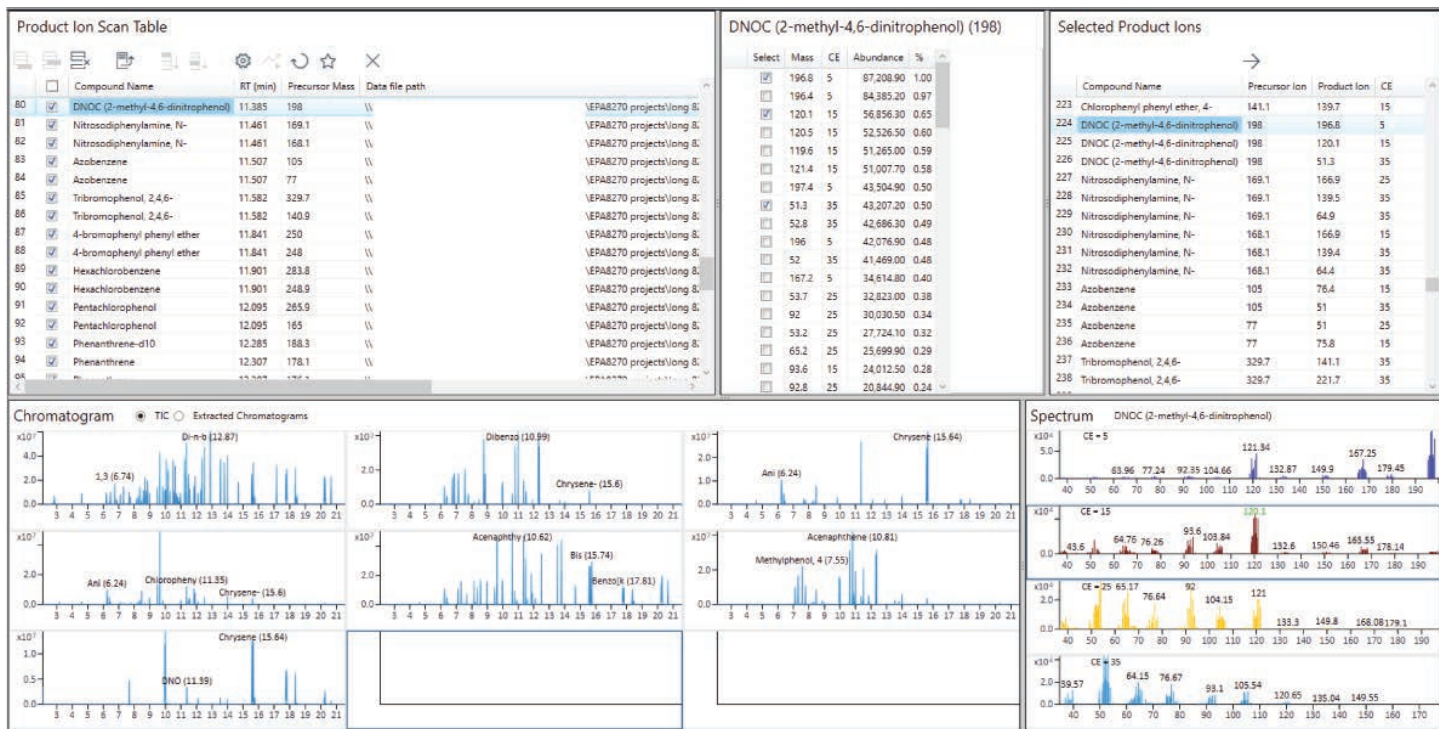


图 2A. 子离子鉴定结果，在子离子扫描表中突出显示了 DNOC 的子离子 ( $m/z$  198)

行子离子扫描实验。子离子鉴定结果如图 2A 所示，其中子离子扫描表中突出显示了 DNOC。该窗口包括：

- 子离子扫描表，其中每行对应一个母离子
- 子离子扫描的总离子色谱图 (TIC)
- 在四种不同碰撞能量下采集的突出显示母离子的子离子扫描质谱图
- 各种母离子的可用子离子表
- 选择的所有子离子汇总

子离子鉴定参数如图 2B 所示。子离子基于其丰度和聚类进行选择，如图 2A 中

DNOC 的  $m/z$  198 母离子所示。如果手动修改了子离子鉴定步骤，则用户可以通过取消选择所选离子并检查可用离子，来覆盖软件建议的子离子。

### 从扫描数据开始：碰撞能量优化

可在上一步中选择的值附近或在用户定义的范围执行碰撞能量优化。在本研究中，围绕子离子鉴定步骤中发现的四个值中的最佳值优化碰撞能量 (图 3B)。碰撞能量优化结果如图 3A 所示，其中 MRM 离子对表中突出显示了 DNOC 的  $198 \rightarrow 120.1$  离子对。该窗口包括：

- MRM 离子对表，其中每行对应一个 MRM 离子对
- 在各种测试的碰撞能量值下采集的 TIC
- 离子碎裂曲线，其中显示了 MRM 离子对丰度与碰撞能量的关系图
- 突出显示的 MRM 离子对的碰撞能量及相应丰度

为针对所有 83 种目标物开发的 MRM 执行碰撞能量优化，需要进行四次进样。如果忽略共流出化合物，则只需一次进样即可完成其余 MRM 离子对的碰撞能量优化。

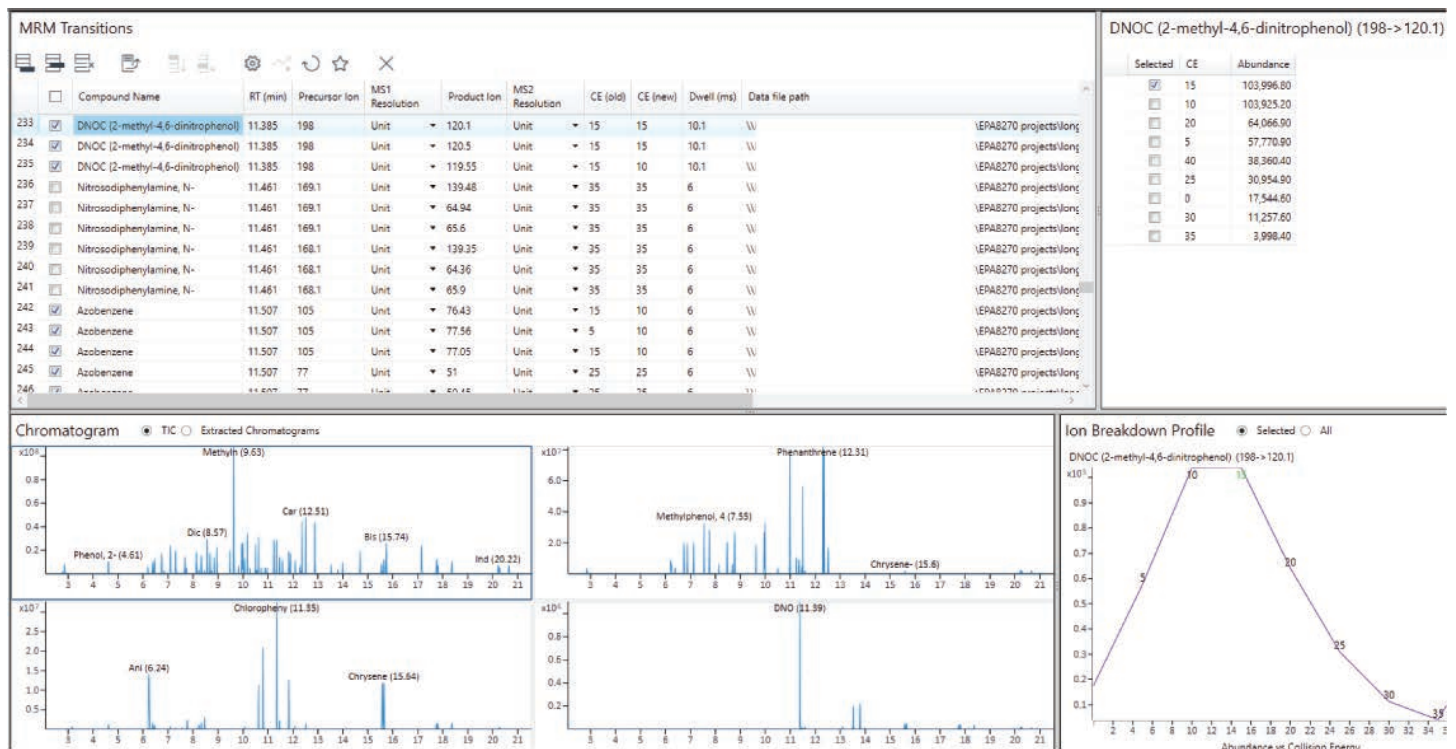


图 3A. 碰撞能量优化结果，其中 MRM 离子对表中突出显示了 DNOC 的  $198 \rightarrow 120.1$  离子对

## 从扫描数据开始：替代工作流程

从扫描数据开始工作流程有意采用包含 83 种半挥发性化合物的复杂混合物，以挑战该过程并评估共流出物的影响，这些共流出物可能使 MRM 开发过程复杂化且需要进行手动审查。另一种优化方法是将 83 种目标物拆分为多种不同的混合物，从而最大程度减少共流出以及手动修改和用户干预的需要。如果拆分样品很繁琐，则替代工作流程是将化合物列表拆分为多个项目。然后，分别优化每个列表中的化合物，并将结果保存为 .CSV 文件。可以将所有 .CSV 文件导入新项目中，以创建完整的 MRM 采集方法。该方法可最大程度减少共流出，并减少一个 MRM 开发项目中所需的进样次数。

## 从 SIM 离子开始

当 SIM 采集方法可用时（例如从现有的 GC/MSD 方法采集），要开发 MRM 离子对，可加载 SIM 采集方法或正确格式化的 .CSV 文件以启动从 SIM 离子开始工作流程。在本研究中，将 83 种化合物的 130 个 SIM 离子作为 .CSV 文件导入，其中包含有关化合物名称、离子和保留时间的信息（图 4A）。从 SIM 离子开始时，将导入的离子用作母离子，MRM 开发从子离子扫描开始，然后进行碰撞能量优化。如果当前色谱条件下的保留时间不同，则 Optimizer 允许用户采集并分析 SIM 数据以确定保留时间。更新后的保留时间显示在 SIM 离子表中，如图 4B 所示。

B

The screenshot shows a software interface with several tabs: "Identify Precursor Ions", "Identify Product Ions", "Optimize CEs", "RT Delta", and "Miscellaneous". The "Optimize CEs" tab is active. It contains the following settings:

- Use MRM
- Use dMRM
- Cycles per second:
- Min dwell (ms):
- Collision energy values:
  - Range:  Step size (eV):
  - +/-  steps around current CE Step size (eV):

图 3B. 碰撞能量优化参数

A

Highlighted compound(s) are separated less than specified limit. Separate optimization runs will be performed.

	<input type="checkbox"/>	Compound Name	RT (min)	CAS #	Formula	Molecular Weight	Left RT Delta (min)	Right RT delta (min)	Sample Position	Injection Volume (μL)	Peak Area
28	<input checked="" type="checkbox"/>	Naphthalene-d8	8.747				0.10	0.10	2	1	
29	<input checked="" type="checkbox"/>	Naphthalene	8.773				0.10	0.11	2	1	
30	<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroaniline, 4-	8.850				0.10	0.15	2	1	
31	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobutadiene	8.965				0.10	0.10	2	1	
32	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenol, 4-chloro-3-methyl-	9.470				0.10	0.17	2	1	
33	<input checked="" type="checkbox"/>	Methylnaphthalene, 2-	9.630				0.10	0.10	2	1	
34	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorocyclopentadiene	9.830				0.10	0.10	2	1	
35	<input checked="" type="checkbox"/>	Trichlorophenol, 2,4,5-	9.950				0.10	0.10	2	1	
36	<input checked="" type="checkbox"/>	Trichlorophenol, 2,4,6-	9.990				0.10	0.10	2	1	
37	<input checked="" type="checkbox"/>	1,1'-Biphenyl, 2-fluoro-	10.057				0.10	0.10	2	1	
38	<input checked="" type="checkbox"/>	Chloronaphthalene, 2-	10.172				0.10	0.11	2	1	
39	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 2-	10.282				0.10	0.15	2	1	
40	<input checked="" type="checkbox"/>	Dimethyl phthalate	10.500				0.10	0.10	2	1	
41	<input checked="" type="checkbox"/>	Dinitrotoluene, 2,6-	10.550				0.10	0.10	2	1	
42	<input checked="" type="checkbox"/>	Acenaphthylene	10.622				0.10	0.12	2	1	
43	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 3-	10.718				0.10	0.10	2	1	
44	<input checked="" type="checkbox"/>	Acenaphthene-d10	10.772				0.10	0.10	2	1	
45	<input checked="" type="checkbox"/>	Acenaphthene	10.807				0.10	0.10	2	1	
46	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenol, 2,4-dinitro-	10.830				0.10	0.10	2	1	
47	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrophenol, 4-	10.896				0.10	0.10	2	1	
48	<input checked="" type="checkbox"/>	Dinitrotoluene, 2,4-	10.966				0.10	0.13	2	1	
49	<input checked="" type="checkbox"/>	Dibenzofuran	10.986				0.10	0.10	2	1	
50	<input checked="" type="checkbox"/>	Diethyl phthalate	11.233				0.10	0.12	2	1	
51	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluorene	11.342				0.10	0.10	2	1	
52	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 4-	11.344				0.10	0.10	2	1	
53	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorophenyl phenyl ether, 4-	11.349				0.10	0.10	2	1	
54	<input checked="" type="checkbox"/>	DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385				0.10	0.14	2	1	
55	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461				0.10	0.10	2	1	
56	<input checked="" type="checkbox"/>	Azobenzene	11.507				0.10	0.10	2	1	
57	<input checked="" type="checkbox"/>	Tribromophenol, 2,4,6-	11.582				0.10	0.14	2	1	
58	<input checked="" type="checkbox"/>	4-bromophenyl phenyl ether	11.841				0.10	0.10	2	1	
59	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobenzene	11.901				0.10	0.16	2	1	
60	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachlorophenol	12.095				0.10	0.14	2	1	
61	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene-d10	12.285				0.10	0.10	2	1	

图 4A. 化合物表，列出从 SIM 离子开始工作流程中以 .CSV 文件格式导入的目标化合物

在本研究中，从 130 个导入的 SIM 离子开始，针对 83 种目标化合物开发出 351 个 MRM 离子对。子离子扫描步骤需要进行七次进样，然后进行四次进样以优化碰撞能量。因此，所有 83 种化合物的优化在 5.5 小时内完成。在该工作流程中，用于子离子鉴定和碰撞能量优化的参数与“从扫描数据开始”工作流程中的参数相同，如图 2B 和图 3B 所示。从 SIM 离子开始时得到的 MRM 开发结果按照与从扫描数据开始工作流程相同的方式显示，如图 3A 所示。自动创建 EPA 8270 MRM 方法，可使用 Optimizer 从 GC/MSD SIM 成功实现迁移。

**B**

	<input type="checkbox"/>	Compound Name	RT (old)	RT (new)	Mass	MS1 Resolution	Dwell (ms)	Data file path
70	<input checked="" type="checkbox"/>	Dinitrotoluene, 2,4-	10.966	10.966	165	Unit	▼ 27.36	
71	<input checked="" type="checkbox"/>	Dibenzofuran	10.986	10.986	168.1	Unit	▼ 28.26	
72	<input checked="" type="checkbox"/>	Dibenzofuran	10.986	10.986	139.1	Unit	▼ 28.26	
73	<input checked="" type="checkbox"/>	Diethyl phthalate	11.233	11.233	149	Unit	▼ 27.43	
74	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluorene	11.342	11.342	166.1	Unit	▼ 22.47	
75	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluorene	11.342	11.342	165.1	Unit	▼ 22.47	
76	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 4-	11.344	11.344	138	Unit	▼ 22.47	
77	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 4-	11.344	11.344	108	Unit	▼ 22.47	
78	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorophenyl phenyl ether, 4-	11.349	11.349	204	Unit	▼ 23.12	
79	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorophenyl phenyl ether, 4-	11.349	11.349	141.1	Unit	▼ 23.12	
80	<input checked="" type="checkbox"/>	DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	11.385	198	Unit	▼ 22.39	
81	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	11.461	169.1	Unit	▼ 26.86	
82	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	11.461	168.1	Unit	▼ 26.86	
83	<input checked="" type="checkbox"/>	Azobenzene	11.507	11.507	105	Unit	▼ 30.81	
84	<input checked="" type="checkbox"/>	Azobenzene	11.507	11.507	77	Unit	▼ 30.81	
85	<input checked="" type="checkbox"/>	Tribromophenol, 2,4,6-	11.582	11.582	329.7	Unit	▼ 32.42	
86	<input checked="" type="checkbox"/>	Tribromophenol, 2,4,6-	11.582	11.582	140.9	Unit	▼ 32.42	
87	<input checked="" type="checkbox"/>	4-bromophenyl phenyl ether	11.841	11.841	250	Unit	▼ 46.68	
88	<input checked="" type="checkbox"/>	4-bromophenyl phenyl ether	11.841	11.841	248	Unit	▼ 46.68	
89	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobenzene	11.901	11.901	283.8	Unit	▼ 53.84	
90	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobenzene	11.901	11.901	248.9	Unit	▼ 53.84	
91	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachlorophenol	12.095	12.095	265.9	Unit	▼ 49.1	
92	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachlorophenol	12.095	12.095	165	Unit	▼ 49.1	
93	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene-d10	12.285	12.285	188.3	Unit	▼ 42.02	
94	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene	12.307	12.307	178.1	Unit	▼ 42.03	
95	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene	12.307	12.307	176.1	Unit	▼ 42.03	
96	<input checked="" type="checkbox"/>	Anthracene	12.355	12.355	178.1	Unit	▼ 46.81	
97	<input checked="" type="checkbox"/>	Carbazole	12.512	12.512	167	Unit	▼ 73	
98	<input checked="" type="checkbox"/>	Di-n-butyl phthalate	12.869	12.869	149	Unit	▼ 106.33	
99	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluoranthene	13.528	13.528	202.1	Unit	▼ 106.31	
100	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluoranthene	13.528	13.528	201.1	Unit	▼ 106.31	

图 4B. 在从 SIM 离子开始工作流程中导入的 SIM 离子，包含目标化合物的原始保留时间和更新后的保留时间

## 从 MRM 开始

为重新优化现有 MRM 离子对的碰撞能量，将加载 MRM 采集方法以启动从 MRM 开始工作流程。在本研究中，导入 83 种化合物的 166 个 MRM 离子对（图 5）。如果当前色谱条件下的保留时间不同，则 Optimizer 允许用户采集并分析 MRM 或 dMRM 数据以更新保留时间。更新后的保留时间显示在 MRM 离子对表中，如图 5 所示。

在本研究中，通过四次进样重新优化了 83 种化合物的 166 个 MRM 离子对的碰撞能量。在该工作流程中，用于碰撞能量优化的参数与前文所述的从扫描数据开始和从 SIM 离子开始工作流程中的参数相同，如图 3B 所示。从 SIM 离子开始时得到的碰撞能量优化结果按照与从扫描数据开始或从 SIM 离子开始工作流程相同的方式显示，如图 3A 所示，其中额外的一列显示碰撞能量旧值。

当需要提高基质中分析的选择性时，从 MRM 开始工作流程可能特别有用。在基质中确定的最佳碰撞能量可能不同于在溶剂中优化的值。

MRM Transitions								
Select number of top ranked transitions <span>All</span>								
		Compound Name	RT (old)	RT (new)	Precursor Ion	Product Ion	CE	Data file path
100	<input checked="" type="checkbox"/>	Diethyl phthalate	11.233	11.233	149	65	25	
101	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluorene	11.342	11.342	166.1	165.1	25	
102	<input checked="" type="checkbox"/>	Fluorene	11.342	11.342	165.1	163.1	40	
103	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 4-	11.344	11.344	138	108.1	10	
104	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitroaniline, 4-	11.344	11.344	108	80	15	
105	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorophenyl phenyl ether, 4-	11.349	11.349	204	77	30	
106	<input checked="" type="checkbox"/>	Chlorophenyl phenyl ether, 4-	11.349	11.349	141.1	115.1	20	
107	<input checked="" type="checkbox"/>	DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	11.385	198	167.9	5	
108	<input checked="" type="checkbox"/>	DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	11.385	198	121	10	
109	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	11.461	169.1	168.1	20	
110	<input checked="" type="checkbox"/>	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	11.461	168.1	167.1	20	
111	<input checked="" type="checkbox"/>	Azobenzene	11.507	11.507	105	77.1	10	
112	<input checked="" type="checkbox"/>	Azobenzene	11.507	11.507	77	51	20	
113	<input checked="" type="checkbox"/>	Tribromophenol, 2,4,6-	11.582	11.582	329.7	140.8	50	
114	<input checked="" type="checkbox"/>	Tribromophenol, 2,4,6-	11.582	11.582	140.9	62	30	
115	<input checked="" type="checkbox"/>	4-bromophenyl phenyl ether	11.841	11.841	250	141	20	
116	<input checked="" type="checkbox"/>	4-bromophenyl phenyl ether	11.841	11.841	248	141	20	
117	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobenzene	11.901	11.901	283.8	213.9	40	
118	<input checked="" type="checkbox"/>	Hexachlorobenzene	11.901	11.901	248.9	214	20	
119	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachlorophenol	12.095	12.095	265.9	167	35	
120	<input checked="" type="checkbox"/>	Pentachlorophenol	12.095	12.095	165	130	30	
121	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene-d10	12.285	12.285	188.3	160.2	30	
122	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene-d10	12.285	12.285	188.3	158.2	45	
123	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene	12.307	12.307	178.1	152.1	30	
124	<input checked="" type="checkbox"/>	Phenanthrene	12.307	12.307	176.1	150.1	35	
125	<input checked="" type="checkbox"/>	Anthracene	12.355	12.355	178.1	152.1	30	
126	<input checked="" type="checkbox"/>	Anthracene	12.355	12.355	178.1	151.1	40	
127	<input checked="" type="checkbox"/>	Carbazole	12.512	12.512	167	139	40	
128	<input checked="" type="checkbox"/>	Carbazole	12.512	12.512	167	89	60	
129	<input checked="" type="checkbox"/>	Di-n-butyl phthalate	12.869	12.869	149	121	15	
130	<input checked="" type="checkbox"/>	Di-n-butyl phthalate	12.869	12.869	149	65	30	

图 5. MRM 离子对表，列出从 MRM 采集方法导入的目标化合物的 MRM 离子对，以及来自从 MRM 开始工作流程的原始保留时间和更新后的保留时间

## 更新保留时间

当修改色谱条件和预期保留时间发生变化时，用于 SIM 和 MRM 采集方法的 Optimizer 中提供的更新保留时间功能很有用。该功能可以在无需用户干预的情况下实现保留时间更新。如果多种化合物产生相同的 SIM 离子或 MRM 离子对，则建议对更新后的结果进行审查。图 6A 显示了保留时间更新前后的五种化合物的 MRM 色谱图。这些化合物的原始保留时间和更新后的保留时间如图 6B 所示。

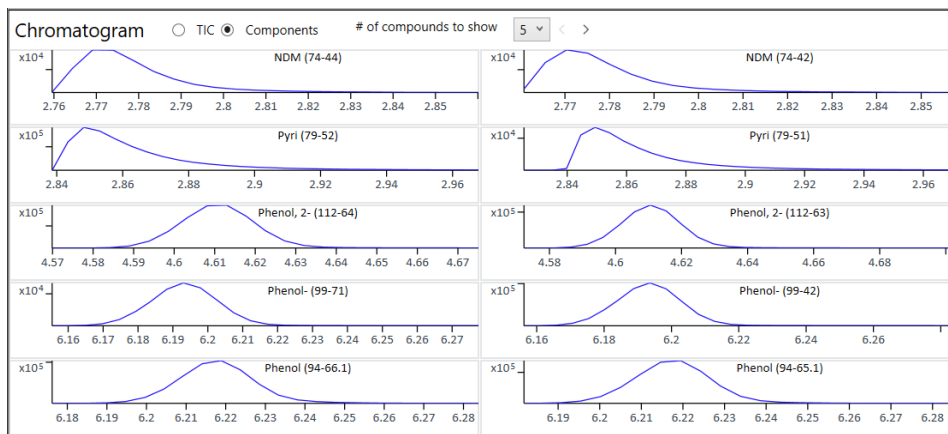
在开发 MRM 数据采集方法时，用于 GC/TQ 的 Optimizer 可节省大量时间并减少手动审查工作。本文中讨论的各种工作流程所需的时间和进样次数汇总于表 1 中。

## 审查结果并保存方法

完成碰撞能量优化后，可审查结果，并保存采集方法。有关所有开发出的离子对的信息，显示在图 7A 的扩展表视图中。要保存的排名最高的 MRM 离子对数量由选择排名最高的离子对数量中指定的数量定义；采集方法中将仅包括经过检查的 MRM 离子对。在本研究中，选中并保存所有开发出的 MRM 离子对。为简化方法审查，提供了结果表的嵌套视图（图 7B）。

可以将开发出的 MRM 采集方法另存为基于时间段的 MRM 方法或动态 MRM 方法（图 8）。保存方法时，用户可以定义最短驻留时间和每秒循环次数。也可以将开发出的离子对导出为 .CSV 文件。

A



B

Compound Name	RT (old)	RT (new)
NDMA	2.770	2.769
NDMA	2.770	2.769
Pyridine	2.861	2.848
Pyridine	2.861	2.848
Phenol, 2-fluoro-	4.607	4.611
Phenol, 2-fluoro-	4.607	4.611
Phenol-d6	6.189	6.194
Phenol-d6	6.189	6.194
Phenol	6.215	6.219
Phenol	6.215	6.219
Aniline	6.235	6.240

图 6. 五种化合物在保留时间更新前后的 MRM 色谱图 (A) 以及这些化合物的原始保留时间和更新后的保留时间 (B)

表 1. 8270 “全混合物” 优化所需的时间和进样次数

工作流程	本研究中所需的进样次数*	时间**
从扫描数据开始	12	6 小时
从 SIM 离子开始	11	5.5 小时
从 MRM 开始	4	2 小时
根据时间段窗口内的微小偏移更新保留时间	1	0.5 小时
根据较大的偏移更新保留时间	6	3 小时

\* 该表中的次数专门针对本 8270 研究。共流出化合物之间的干扰越少，所需的进样次数就越少。每种化合物的母离子越多，则需要越多的进样次数进行子离子扫描

\*\* 仪器分析周期为 30 分钟

A

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions:  Left RT Delta (min):  Right RT delta (min):

Nested View

	Compound Name	RT (min)	Precursor Ion	MS1 Resolution	Product Ion	MS2 Resolution	CE	Abundance	%	CAS #	Formula	Molecular Weight	Left RT Delta (min)	Right RT delta (min)	Sample Position	Injection Volume (μL)
233	<input checked="" type="checkbox"/> DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	198	Unit	120.1	Unit	15	56,856.34	1.00				0.10	0.14	2	1
234	<input checked="" type="checkbox"/> DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	198	Unit	120.5	Unit	15	52,526.46	0.92				0.10	0.14	2	1
235	<input checked="" type="checkbox"/> DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	198	Unit	119.55	Unit	10	51,265.01	0.90				0.10	0.14	2	1
236	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	168.1	Unit	139.35	Unit	35	434,381.53	1.00				0.10	0.10	2	1
237	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	169.1	Unit	139.48	Unit	35	260,821.55	0.60				0.10	0.10	2	1
238	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	169.1	Unit	64.94	Unit	35	238,973.06	0.55				0.10	0.10	2	1
239	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	168.1	Unit	64.36	Unit	35	230,751.62	0.53				0.10	0.10	2	1
240	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	168.1	Unit	65.9	Unit	35	175,412.81	0.40				0.10	0.10	2	1
241	<input checked="" type="checkbox"/> Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	169.1	Unit	65.6	Unit	35	149,990.39	0.35				0.10	0.10	2	1

B

Optimized MRM Transitions

Select number of top ranked transitions:  Left RT Delta (min):  Right RT delta (min):

Nested View

	Compound Name	RT (min)	Left RT Delta (min)	Right RT delta (min)	CAS #	Formula	Molecular Weight	Sample Position	Injection Volume (μL)
54	DNOC (2-methyl-4,6-dinitrophenol)	11.385	0.10	0.14				2	1
	Precursor Ion	Abundance							
	198.00								
	Product Ion	Abundance	%	CE					
	120.10	56,856.34	1.00	15.00					
	120.50	52,526.46	0.92	15.00					
	119.55	51,265.01	0.90	10.00					
55	Nitrosodiphenylamine, N-	11.461	0.10	0.10				2	1
56	Azobenzene	11.507	0.10	0.10				2	1

图 7. 放大图中的 MRM 离子对优化结果 (A) 和包含展开的 DNOC 结果的嵌套视图 (B)

**Create Method** ✕

Cycles per second:

Min dwell (ms):

Method folder:

Method name:

图 8. 采用适用于 GC/TQ 的 Agilent MassHunter Optimizer 创建方法

所开发和优化的 MRM 采集方法已成功用于半挥发性化合物分析，符合 US EPA 8270E 的性能要求，结果在其他文章中列出<sup>[2]</sup>。

## 结论

高度自动化 MRM 采集工具支持四种工作流程。展示了用于 GC/TQ 的 MassHunter Optimizer，针对包含 83 种半挥发性目标物的复杂的 US EPA 8270 “全混合物”进行 MRM 方法开发。利用 8270 “全混合物”挑战该过程并评估共流出物的影响。四种工作流程从不同的采集方法（例如，扫描、SIM 和 MRM）开始。从扫描数据和 SIM 离子开始，开发出 MRM 离子对并对碰撞能量进行了优化。自动创建 EPA 8270 MRM 方法，可使用 Optimizer 从 GC/MSD SIM 成功实现迁移。从 MRM 采集方法开始时，将更新目标化合物的保留时间，并重新优化碰撞能量。将优化后的结果另存为 dMRM 采集方法。

## 参考文献

1. Churley, M.; Szelewski, M.; Quimby, B, 采用 5977 惰性 Plus GC/MSD 重新优化 EPA 8270 实现最宽校准范围，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0350ZHCN，**2018**
2. Churley, M.; Quimby, B.; Andrianova, A, 采用 7000 系列三重四极杆气质联用系统在 MRM 模式下实现快速 EPA 8270 方法，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0691ZHCN，**2019**

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE.7847222222

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020  
2020 年 6 月 22 日，中国出版  
5994-2086ZHCN