

提高谱图检索匹配的基本方法

汪聪慧 董凤霞

(公安部第二研究所 北京 100038)

[摘要] 谱库检索是确定色谱峰归属的一个有效捷径, 因此如何获得高的谱库检索匹配率是质谱数据处理的关键。本文介绍进行本底扣除提高匹配率的五种经验方法并附以具体的实例予以说明。

关键词: 本底扣除 匹配率 谱图检索

高分辨 GC/MS 技术已经广泛应用于各个领域。毛细管色谱具有高的分离效率和灵敏度, 因而逐渐成为 GC/MS 连用的主要分离手段。国内大部份仪器属于 HRGC/LRMS 的连用, 这意味着将依靠谱库检索的办法来推测色谱峰的归属。众所周知, 谱库检索对于异构体来说常常难以奏效, 因此, 人们辅以二种方法来帮助确定被分析组分的结构。一是用已知标准样品作保留时间的比对, 这是为各国所公认的最有效方法。不足之处是这些标准化合物不一定都能找到; 另一方法是利用文献报道的数据, 即利用常备的标准毛细管柱 (如 SE54 石英熔融毛细管交链柱), 在与文献相接近的实验条件下确定各异构体的相对位置。必要时可以加入用作保留时间指示的内标化合物。

无论如何, 首要的问题是使获得的质谱图尽可能消除或减少各种人为影响谱图变形的因素, 如仪器的正确调谐以保持高低质量峰的正确比值; 保持足够的色谱峰强度; 设置合适的汽化温度、柱温、传输线温度以及离子源温度。对于前三种温度的设定主要考虑减少样品的热解。一般认为在电子电离的条件下有机化合物蒸汽分子在电离前约与电离室器壁碰撞 50 次左右。因此, 过高的离子源温度会影响分子离子峰的丰度, 尤其是对脂肪族化合物。Spiteller M^[1] 曾试验过正三十烷的温度效应。在 340℃ 源温时, 分子离子峰为基峰 (m/z 57) 的 1%, 而当温度为 70℃ 时则达到 86%。可计算出 340℃ 时分子离子的内能增加 3 eV, 因而导致分子离子进一步裂解的强烈倾向。其次选择正确的程序升温速率, 尽可能使混合物体系能得到比较完善的分离。注意这些因素就可以确保色谱峰在没有其它组份干扰的情况下, 获得与标准谱图相比拟的质谱图, 有利于在检索中获得高的匹配率。

尽管如此, 在一个复杂体系的 GC/MS 分析中不可避免会出现峰间干扰, 乃至重叠。这是因为通常在 60 分钟的毛细管 GC 分析时间内以 10 秒的峰宽计算, 理论上可以允许有良好分辨的色谱峰 360 个。对于并不很复杂的体系来说, 这样的分离能力足以将被分析物一一分离, 并通过本底扣除获得良好的质谱图, 供谱库检索用。但是有不少领域中往往

1993 年 2 月 8 日收

遇到的是一个很复杂的体系(例如石油产品,煤焦油馏份,环境污染物,香料物质等),这些被分析的混合物中少则含有100多个成份,多则达数百个,且不是均匀分布在总离子流图上。这是导致峰不被完全分离的一个原因;另一原因是许多难以分离的化合物主要集中在异构体上(包括位置异构,几何异构,立体异构,光学异构等),它们之间往往由于结构上的极其相似而在保留时间上很接近;第三个原因是有机化合物如此之多,即使从30℃至400℃,以每分钟1℃的升温速率,最多容纳2000左右的窗口,显然会有许多化合物的保留时间是落在同一窗口内。最后,色谱柱的柱效降低也是一个常见的因素。

本文主要讨论如何从相互有干扰的色谱峰中通过合理的处理来获得高匹配率的检索结果,提高谱库检索的命中率。本文使用的仪器为PE QMass910 GC/MS,以煤炼焦过程中获得的粗苯(180℃以下的馏出组份)为例,该样品出峰的保留时间跨度为60分钟,约有170个色谱峰,现挑选一些典型的峰加以说明。

1 常规的本底扣除是取样品峰的任何一侧,条件是峰的二侧无明显的干扰峰。取图1中A峰的最高处获质谱图(图2)。用该图进行检索,得不到合适的匹配结果(相似率低于30%)。如果仅扣除右边的本底值,该图几乎与图2一致。分析命中率低的原因是来自 m/z 84峰的干扰。这一化合物质谱图是典型的烃类,而如此明显的 m/z 84峰却暗示了氧元素的存在。现按图1中A峰的右左二边扣除本底则获得图3。用该质谱进行检索,从9个候选化合物中倾向于正庚烷。用已知正庚烷测定其保留时间,证明是正确的。相似率达96%(见图4)。由此可见, m/z 84是干扰峰。A峰左边的大峰为苯, m/z 84峰来自主峰与A峰之间的区域。

2 图5中峰1和2属于部分迭加的二个组份。对1号峰,取它的左半部几个谱图号累加,然后扣除左边的本底,即可获得图6。检索结果为辛烯(相似率为93%)。对2号峰取它右半部的几个谱图号累加,然后扣除右边的本底,即可获得图7。检索结果为二甲基环己烷(相似率为94%)。图5中的阴影部分表示在此区域中谱图累加时彼此间的干扰是很小的。图8中的3号主峰,其二侧是不对称的。如果用虚线表示它应有的对称性,则主峰右侧明显暗示有另一个成份的存在,主峰为甲苯。为了减少它对另一未知成份的干扰,在取4号峰的质谱图时尽可能偏离主峰,如图8中黑线所示位置处累加样品峰,并扣除右边的本底,可获得比较满意的结果。如果要进一步提高4号峰匹配率,则除了在右边扣除本底外,还应在3号峰的左侧(如扫描数200—224)进行扣除,则获得图9。检索结果为甲基噻吩(2位或3位),匹配率95%。

3 图10中一组复合峰,内含四个组份,其总积分面积为最强峰苯的0.16%,图10是放大后的情况。1号峰和4号峰的扣除可以参照图5的方法,其结果为谱图11和12,相似率分别为99%、98%。图10中的2号峰和3号峰的扣除方法与1号、4号峰不同,因为它同时受到左右二个峰的干扰。扣除的方法是在它们的最强峰值处取2个谱图,然后分别把它们的右左波谷作为本底扣除,能够获得满意结果,见图13和14,相似率均达95%以上。

4 图15中的B色谱峰,其峰宽比周围的峰稍大一些,怀疑为未分离的二个峰,B峰放大后的色谱图为图16。在扫描号1750处的质谱图明显反映一个分子量为132的组份,在扫描号1756处的质谱图为另一个分子量134的组份。按图8的4号峰的方法对图16中1号峰处理。扣除左侧的本底得图17,经检索为二甲基取代的苯乙烯(匹配率大于90)。峰

2 的处理比较困难,二峰重叠比较大,峰 1 的干扰比较严重,见图 18。以 m/a 132 的峰高作为扣除本底好坏的标准,如仅扣除峰 2 左边的本底,均未获得满意的结果,相似率低于 50%。最后再用适当扣除峰 1 的贡献的方法,才得到改善的结果(见图 19),检索后相似率达 81% 以上。

5 图 15 中的 D 峰从外观上看像一个组份的色谱峰,实际上其质谱图(见图 20)明显是一个混合物谱图。按照谱图解析来看,估计是三个成份(即 m/z 108、117、120 分别属于三个化合物的分子峰)的重叠结果。按照谱图解析和保留时间值确定分子峰为 108,是邻甲基酚,标准图见图 21;分子峰为 120 的为苯乙酮,标准图见图 22。这二个标准化合物在上述实验条件下的实际保留时间基本相同。分子峰为 117 的曾怀疑为苯乙腈,其谱图与图 18 中出现的峰及其相应的强度一致。但其保留时间与上述二个化合物不一致,故推测它应为甲基取代的苯甲腈。由于未找到标准品,故暂不能确属何异构体。可以认为图 15 为上述三种化合物按一定比例迭加的结果。对于二个组份的重叠峰的检索可以使用反检索的程序进行尝试,国内已有单位编制软件加以解决,但对三个组份的重叠,估计难度会更大。

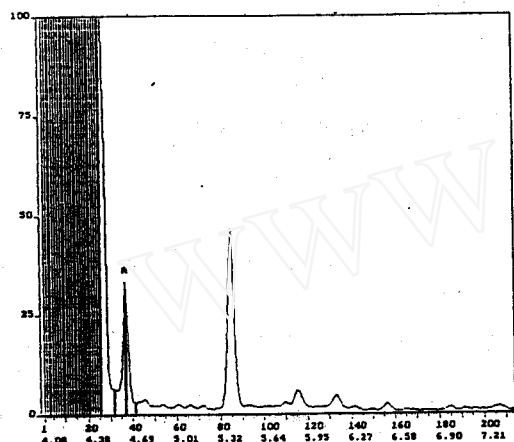


图 1

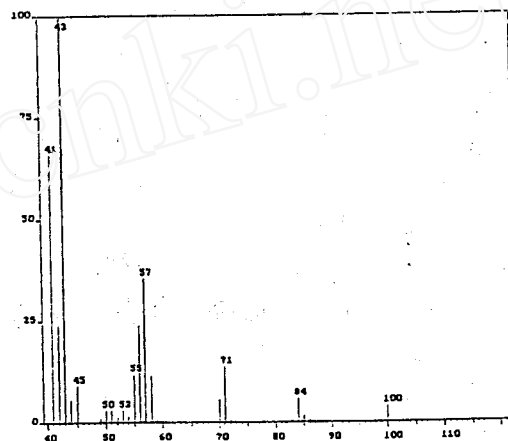


图 2

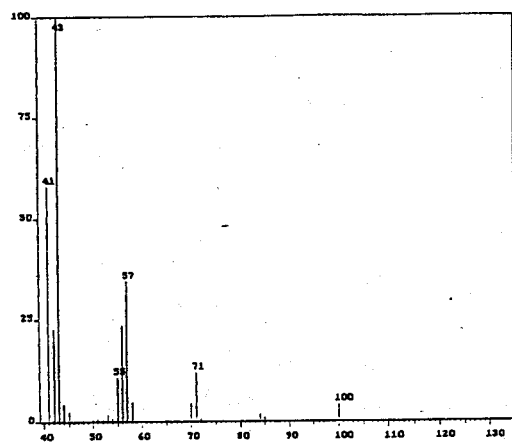


图 3

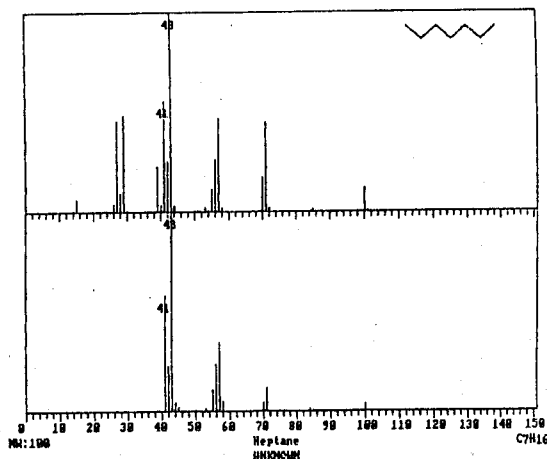


图 4

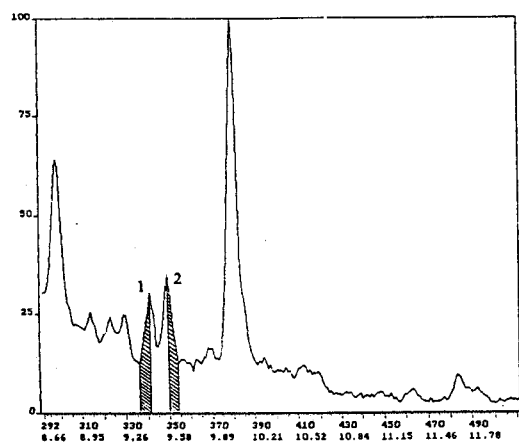


图 5

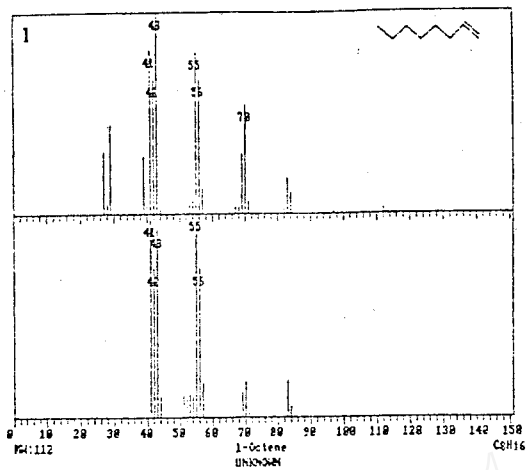


图 6

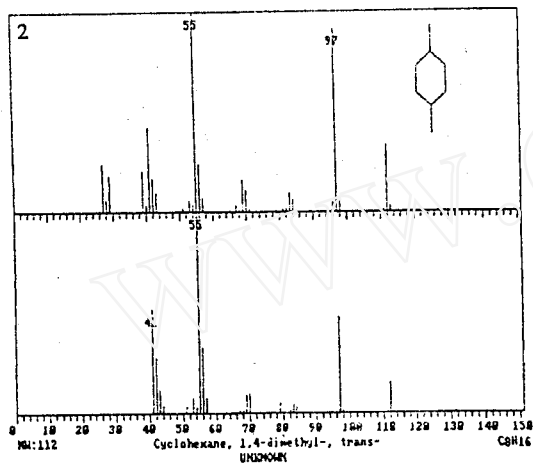


图 7

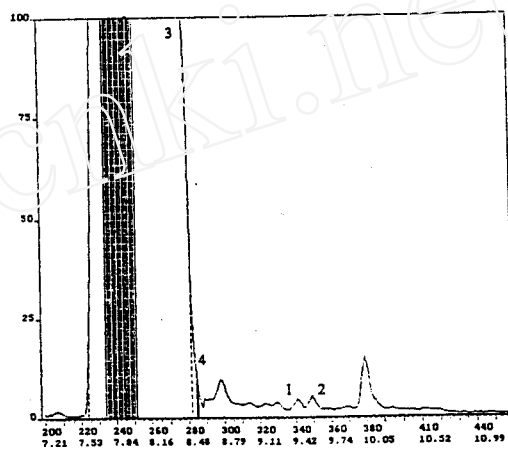


图 8

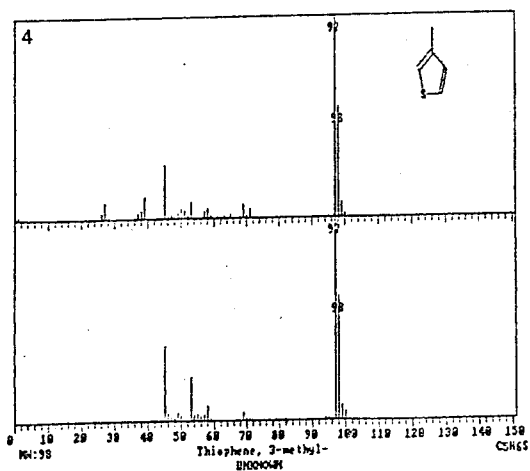


图 9

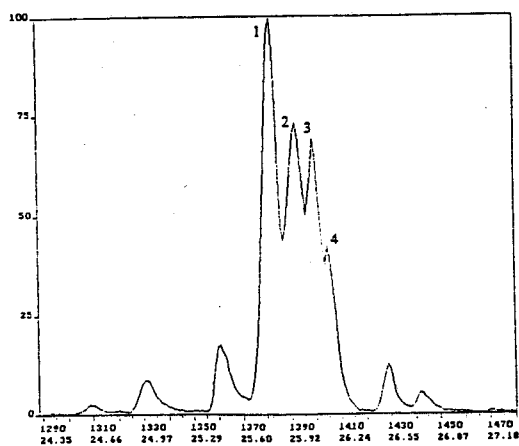


图 10

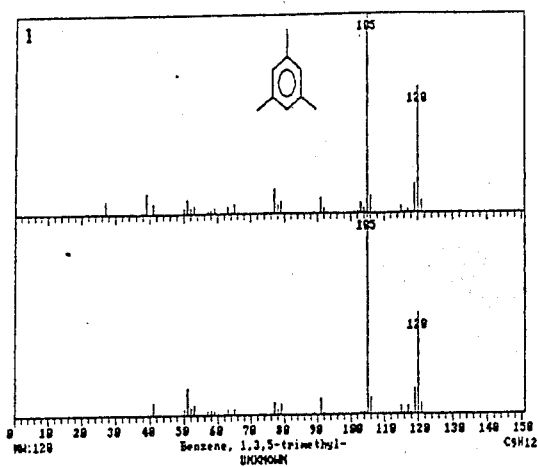


图 11

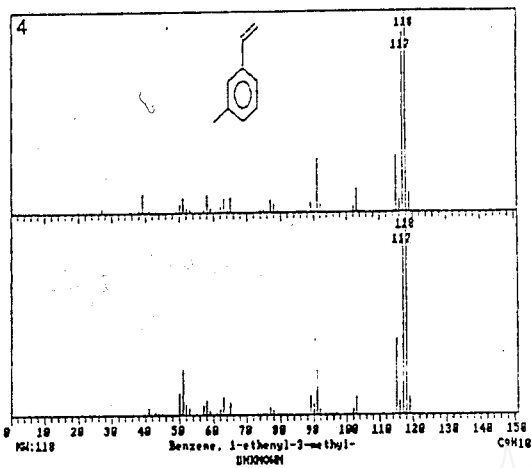


图 12

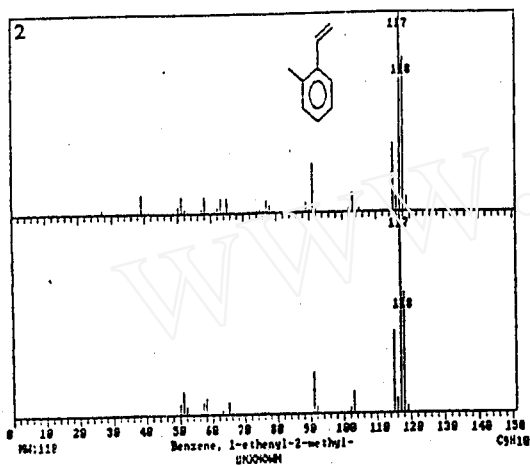


图 13

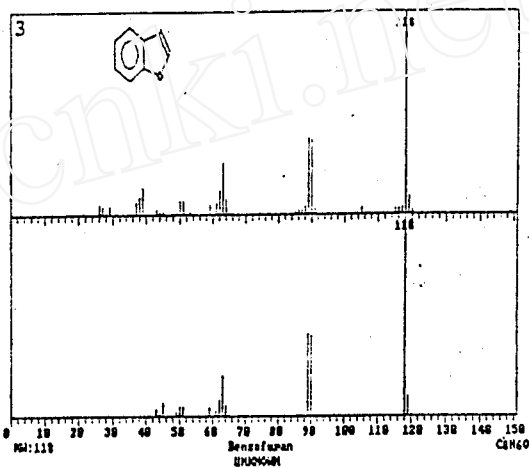


图 14

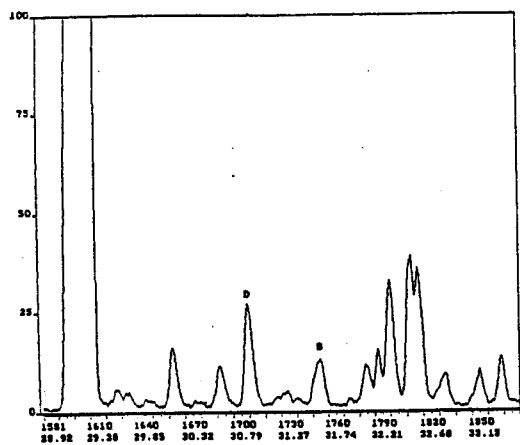


图 15

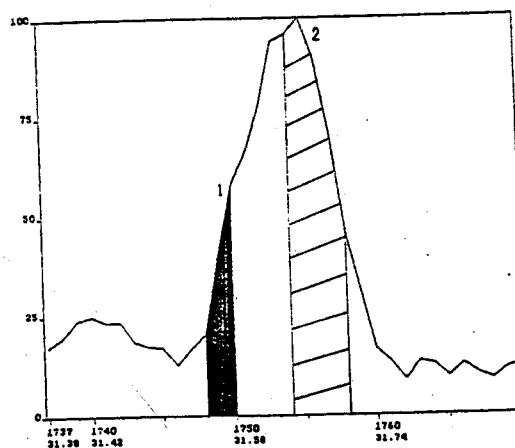


图 16

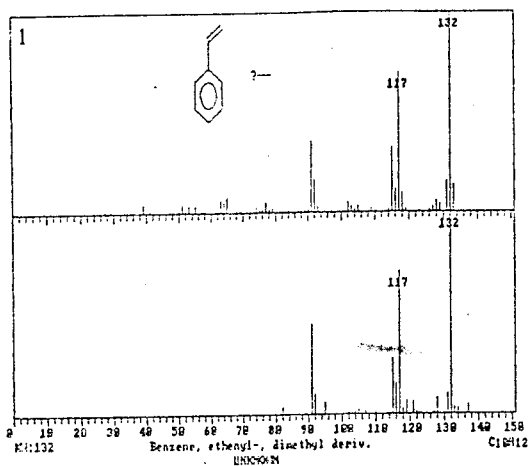


图 17

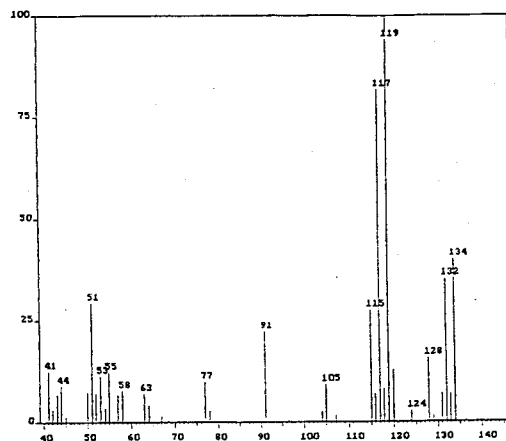


图 18

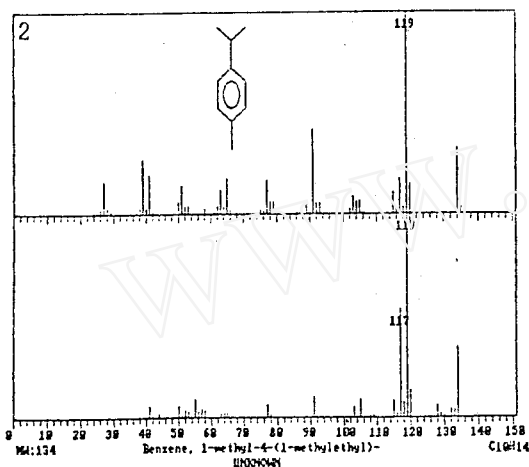


图 19

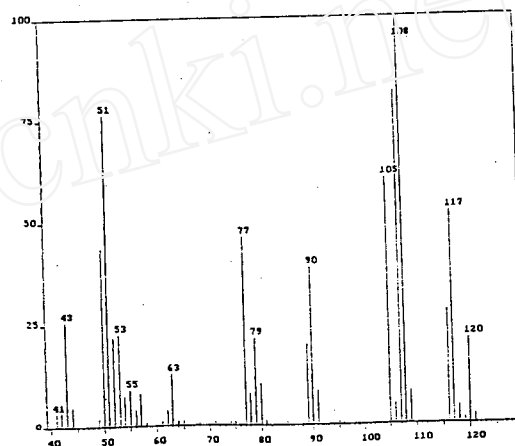


图 20

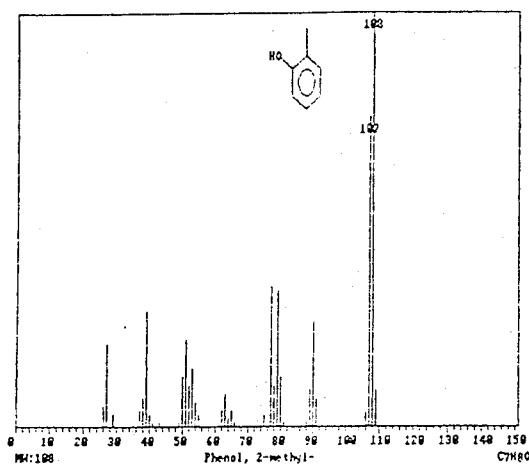


图 21

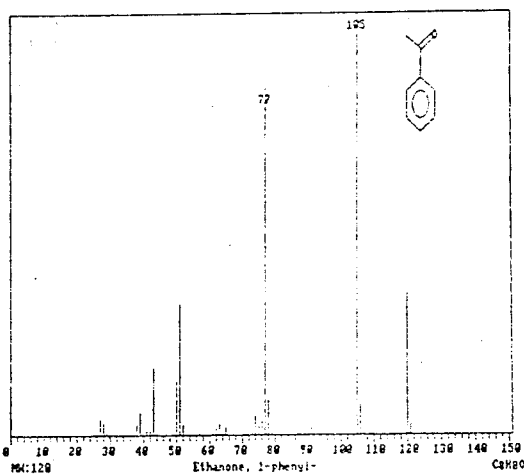


图 22

参 考 文 献

- 1 Spiteller M. Monatshefte für Chemie, 1964, 95:1740.

Some Background-subtracted Methods to Improve the Degree of Match in Library Search

Wang Conghui, Dong Fengxia

(Institute of Forensic Science, Beijing 100038, China)

Received 1993-02-08

Abstract

Library search of MS has been an effective shortcut to assign the chromatographic peak, so how to get a high degree of match found between the unknowns and the reference spectra is a key in the processing of MS data. In this paper five experimental skills for background-subtracted method are recommended and some specific examples are also illustrated.

Key Words: background-subtracted method, degree of match, library search.