

气相色谱 - 静电场轨道阱高分辨质谱系统 (Orbitrap - GC/MS) 在微量未知物质鉴定中的应用

彭兴 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司

摘要: 在未知物鉴定研究中, 由于测试样品基质复杂、化合物浓度较低, 对于化合物成分和结构的探究变得更加困难。气相色谱高分辨质谱串联仪 (GC-HR/MS) 通过气相色谱的分离和高分辨质谱的定性优势相结合, 可以对未知复杂成分进行有效区分。而随着分辨率的提升和质量精确度的提高, 仪器能够提供更可靠、准确的信息, 这也保证了未知物的准确鉴定。气相色谱 - 静电场轨道阱高分辨质谱 (Orbitrap-GC/MS) 作为一款以静电场轨道阱为核心技术的高分辨质谱 (分辨率 50,000 FWHM (200 m/z) 以上)^[1], 其分辨率可达 60,000 FWHM 以上, 主要以全扫描数据采集模式, 同时具备高质量精度 (数据的质量准确度可在 2 ppm 内), 高灵敏度 (常规检测可达 pg/mL), 在化合物鉴定方面提供了可靠、高效的保证。

关键词

Orbitrap-GC/MS; 未知成分; 鉴定

1. 引言

随着科学技术水平发展和科研方向的拓展, 借助于仪器对于未知化合物进行准确鉴定越来越重要。未知物化学成分的定性和定量分析已从常规的食品安全、环境检测、制药、化工等领域开始向空间科学、新物理学、新材料研发、生产过程控制、生产工艺优化等方面扩展。这些领域对于复杂未知物的成分和结构判定需求尤为重要。

由于这些研究需要分析的对象呈现复杂性、多样性、痕量性等特点, 解决复杂未知样品的分离与分析以及痕量化合物的测定已成为当前倍受关注的热点。



随着色谱 - 质谱联用技术的日趋成熟, 有效地及结合色谱的分离优势与质谱的分析优势, 为未知复杂成分的高效定性定量分析提供了解决方法。气相色谱及其联用技术由于其具有技术成熟、物质分离效果好、选择性高、方便快捷等特点在未知成分鉴定方面有广泛和成熟的应用。对于未知物的定性方面, 气相色谱及其联用技术能够提供丰富的质谱信息 (电子轰击离子源可提供丰富的碎片信息, 同时 GC-MS 的全扫功能尽可能地保留了数据的完整性)。但在面对复杂基质和低浓度样品测定时, GC-MS 往往由于其分辨率和灵敏度受到了限制。对于这类基质复杂、有害成分种类多且含量较低, 高分辨质谱可依靠其高分辨率和高灵敏度, 排除干扰获得有效可靠的数据。

Orbitrap-GC/MS 基于静电场轨道阱 (Orbitrap) 技术独特的高分辨率和高质量精度测定原理和优良的稳定性和操作性, 分辨率高达 60,000 FWHM (200 m/z) 及以上, 同时具备高灵敏度。结合高分辨精确质量数据库和商业化数据库, Orbitrap-GC/MS 可进行全面的未知物鉴定, 同时对于目标化合物进行定量研究。

本研究利用 Orbitrap-GC/MS, 结合未知物定性软件 (TracFinder) 建立了微量未知成分鉴定流程, 同时对仪器在灵敏度、质量准确度等方面进行了探索研究。

2. 质谱条件

仪器型号: Orbitrap-GC/MS 质谱仪

离子化类型: EI

离子源: 250 °C

采集模式: 高分辨全扫描 (FullScan)

质量分辨率: 60,000FWHM (200 m/z)

扫描范围: 40-550 m/z

3. 实验流程

Q Exactive-GC 采用全扫描 (FullScan) 采集模式, 在高通量数据采集的同时又保证了数据的可溯源性, 保证了样品信息的充分获取。在基于数据库实验流程如下:

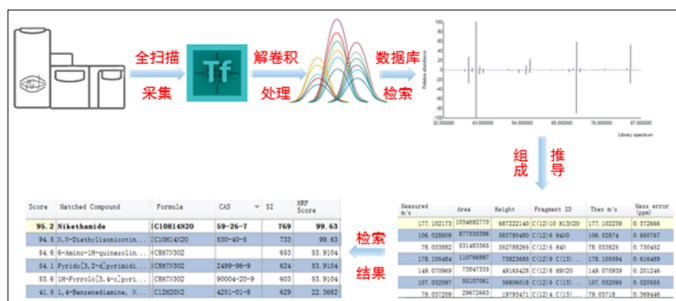


图 1 实验流程

4. 结构与讨论

4.1 高灵敏度, 保证低浓度化合物的检出

在未知物鉴定中, 化合物的浓度存在未知性, 尤其低浓度化合物时, 仪器的灵敏度受到限制。本实验通过测定不同浓度 (100 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$) 的苯对 Orbitrap-GC/MS 的灵敏度进行了探索。实验发现, 在浓度 1 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下, 苯可以完好检出 (信噪比 161), 特征离子 (78.04640 m/z) 质量偏差小于 1 ppm。

Orbitrap-GC/MS 在分析低浓度样品时表现出的稳定性和可靠性, 为微量化合物鉴定提供了保证。

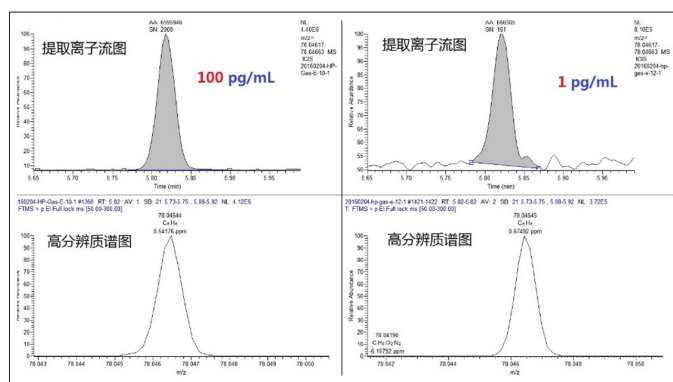


图 2 灵敏度测试结果

4.2 数据库检索

利用 TraceFinder 的解卷积功能, 可对获得的谱图进行快速处理, 去除相应的干扰。同时, 通过调用商业数据库 (NIST 库、Wiley 库) 以及高分辨数据库, 对解卷积后的结果自动分析和匹配, 完成定性处理。即便是利用低分辨率数据库, 也可通过高分辨过滤分值 (HRF Score) 的功能, 结合精确质量数和质量数偏差进一步判定结果进行过滤。如下图所示:

Score	Matched Compound	Formula	CAS	SI	HRF Score	M- m/z
127.008635	Crotonyl isothiocyanate	CSHSNOS	60034-28-8	727	62.2341	127.008635
84.093351	2-Pentene, 4-methyl-, (Z)-	C6H12	691-38-3	737	99.8346	84.093351

图 3 通过高分辨过滤分值检索结果

高分辨过滤分值 (HRF Score) 是基于 Orbitrap GC-MS 高分辨率和高质量精度而设定的参数, 可以准确的区分精确质量数和碎片离子接近的化合物 (偏差需在 5 ppm 以内)。

每个化合物都有相对应的特征碎片离子, 仪器可以采集到相关离子的精确质量数。根据检索结果 (可能的化合物) 的元素组成, 软件可自动计算出理论的化学式和精确质量数, 通过实际测定值和理论值的综合比较, 得到相应的高分辨过滤分值, 具体计算流程如下图所示。

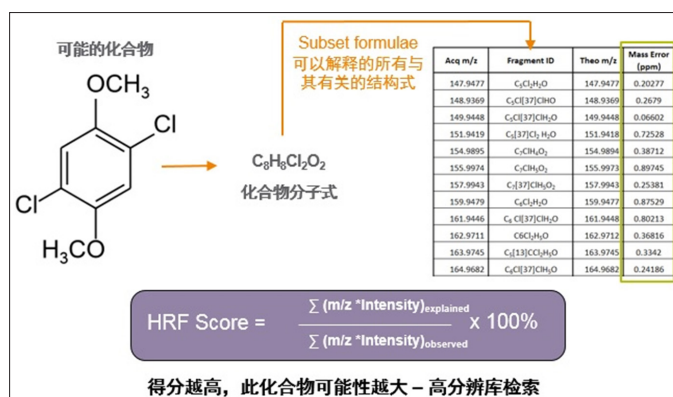


图 4 高分辨过滤分值判定

4.3 自定义检索功能

在一些情况下，在数据处理时会关注含有特定元素（如 O, N, S, Cl, Br 等）和特征碎片离子的化合物（如 C₆H₆）。通过自定义相关碎片离子和元素，设定相关精确质量数和质量偏差阈值来过滤结果，从而获得更精准的信息。

自定义元素时，通过元素及其同位素精确质量偏差进行结果过滤；特征碎片离子则通过特征碎片离子的精确质量数进行结果过滤。如下图所示：

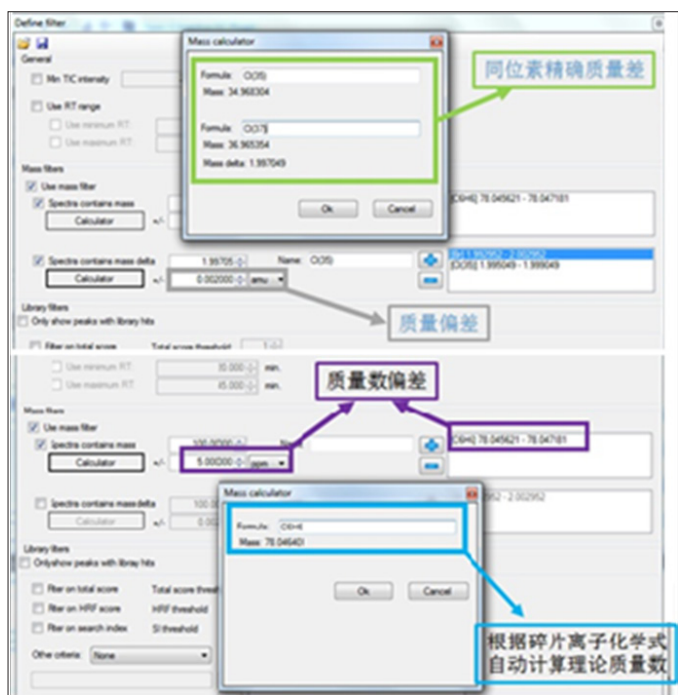


图5 自定义过滤参数

5. 实际样品分析

5.1 实际样品分析流程

样品为以苯为原料，经过相应工艺合成样品，使用 Orbitrap-GC/MS 测定其中的低含量化合物进行定性。苯是一种石油化工基本原料，其在工业上具有最重要的用途。苯可以合成一系列苯的衍生物，也常用于合成工艺研究中。本实验分别采集空白样品、实际样品共 2 批数据，总离子流（TIC）图如下所示。

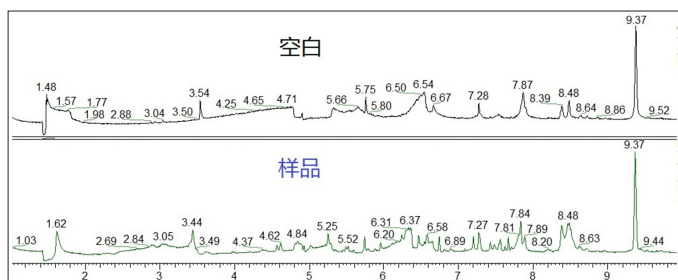


图6 样品 TIC 图

Orbitrap GC-MS 采用高分辨全扫描采集模式，通过高分辨率（60,000FWHM，200 m/z）保证数据的准确性，同时高质量精度和高灵敏度为数据的稳定性和痕量分析提供了强大支持。

TraceFinder4.1 解卷积检索后共检索出 70 种可能性化合物。运用自定义检索过滤功能，设定特征碎片离子为 C₆H₆（78.04640 m/z），7 个化合物得到有效定位。检索流程如下图所示。

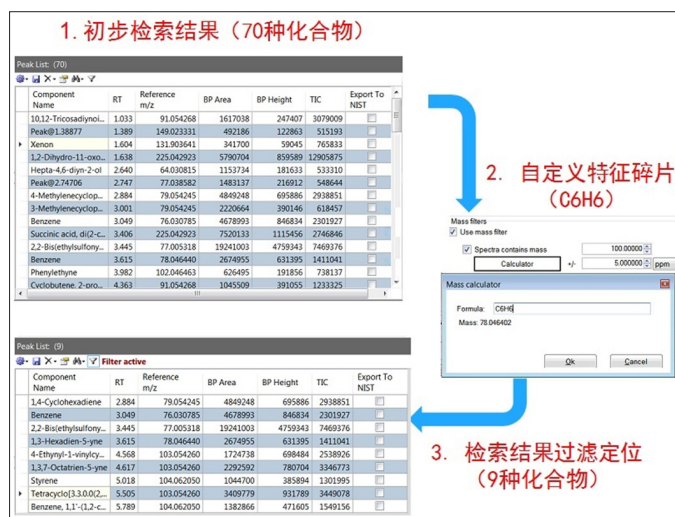


图7 自定义检索流程

5.2 实际样品分析结果

检索结果如下表所示。

表1 化合物检索结果

No.	RT (min)	基峰 (m/z)	峰面积	化合物名称
1	2.88	79.05425	4849248	1,3-Cyclohexadiene
2	3.62	78.04644	2674955	1,5-Hexadien-3-yne
3	4.57	103.05426	1724738	4-Ethynyl-1-vinylcyclobutene
4	4.62	103.05426	2292592	1,3,7-Octatrien-5-yne
5	5.02	104.06205	1044700	Styrene
6	5.51	103.05426	3409779	Tetracyclo[3.3.0.0(2,4).0(3,6)]oct-7-ene
7	5.79	104.06205	1382866	Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl) bis-, cis-

同时，对检出的原料物质苯进行了定量，其含量为 70 pg/mL。实验发现，Orbitrap GC-MS 可以保证 pg/mL 级别化合物的检出。对于微量未知化合物的鉴定，Orbitrap GC-MS 表现了高效的定性和定量能力。

6. 结论

Orbitrap GC-MS 作为一款气相色谱高分质谱，具有高分辨率、高质量精度测定、高灵敏度。其分辨率高达 60,000 FWHM (200 m/z)，对于复杂基质能够有效排除干扰，完美分离目标化合物；同时可测定准确的精确质量数信息，为化合物的定性提供可靠支持。

通过 Orbitrap GC-MS 获得高质量的数据，进而利用 TraceFinder 软件实现一站式数据解卷积、谱库检索、高分辨率检索等分析，可快速、准确鉴定未知物；高灵敏度和可靠定量效果，对于痕量化合物的测定、定量提供强有力保证。



Orbitrap 组
学俱乐部



赛默飞小分子质
谱应用技术群

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

www.thermofisher.com

全国服务热线：800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

thermo
scientific

A Thermo Fisher Scientific Brand