

环境学院分析测试中心明星仪器推介

【第二期】高分辨气相色谱质谱仪

推介人：赵雅辉 13500890255

为充分利用仪器设备资源，提高服务科研和人才培养水平，促进资源共享和优化配置，学院分析测试中心特开展“明星仪器设备与技术推介”系列专题活动。

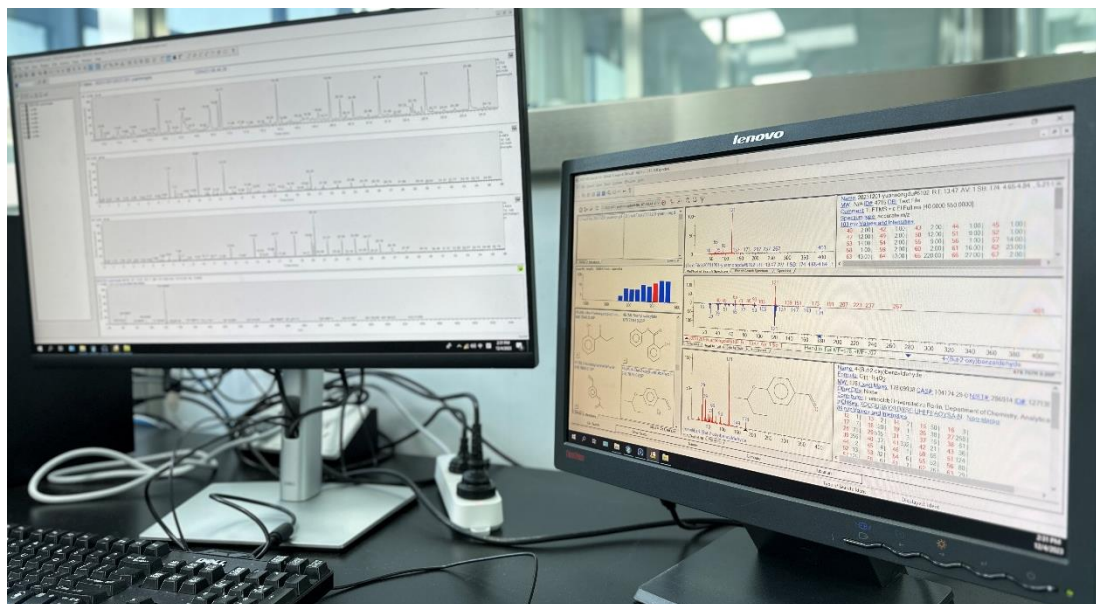
本期推出的明星仪器为高分辨气相色谱质谱仪（Thermo Scientific Orbitrap Exploris GC，赛默飞世尔科技）



仪器简介

Thermo Scientific™ Orbitrap Exploris™ GC 系统是基于 Orbitrap 高分辨质谱技术的气质联用系统。它拥有高分辨率和高质量精度的完美性能，是气相色谱仪和 Orbitrap 质谱仪的完美结合。

具有高分辨率，高灵敏度，高准确度和宽动态范围的统一；可靠、耐用、操作简单的软件系统，同时具备准确性定量功能；智能数据处理，可进行定量、筛查、和鉴定分析。



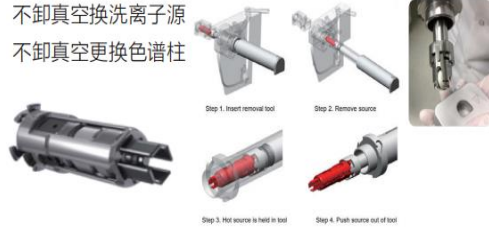
➤ GC 和 Orbitrap 技术的完美结合

1. 模块化 GC Trace 1600 系列



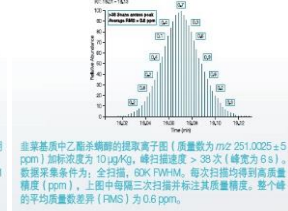
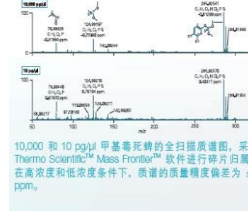
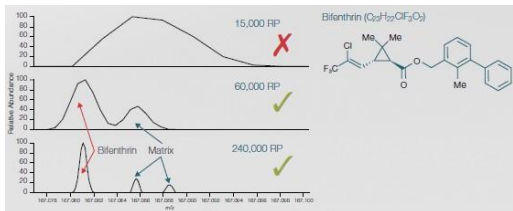
2. 真空锁设计

不卸真空换洗离子源
不卸真空更换色谱柱

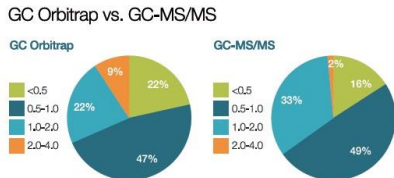


3. Orbitrap 质谱技术

- 高分辨率 (R = 60000 FWHM at m/z = 200)
- 稳定的精确质量数 (质量偏差 < 1 ppm)

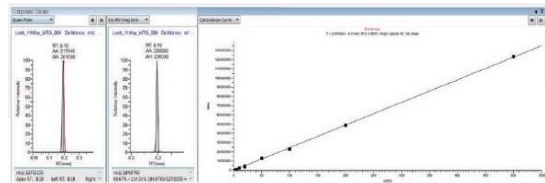


- 高分辨率下的高灵敏度 (ppb 级别)



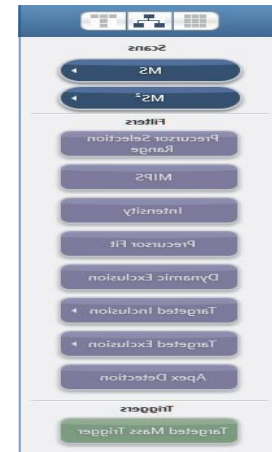
使用 GC Orbitrap 系统 (以 60K 分辨率 (@ m/z 200) 进行采集) 和具有快速 GC 分离的 GC-MS/MS 系统 (SRM), 检测混合蔬菜基质中 150 种农药化合物的仪器检测限 (IDL)。

- 宽线性范围 (六个数量级)



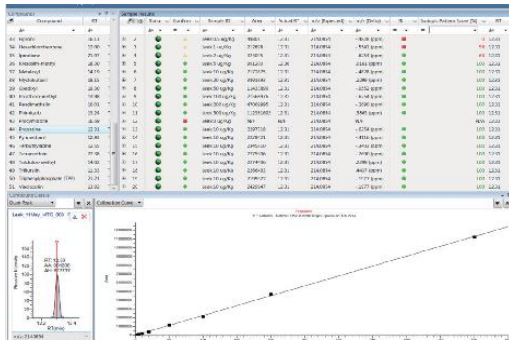
敌敌畏 (0.5-500 µg/Kg) 的非菜基质标准曲线, 包括 1 µg/Kg 下的定量离子和定性离子提取离子流图。以 60K 分辨率 (@ m/z 200) 进行采集。

- 多种扫描方式可选, 得益于高分辨的选择性, 大多数应用可用 Full Scan 完成

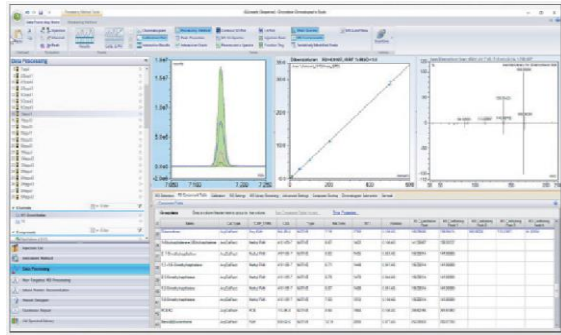


➤ 智能识别的强大软件

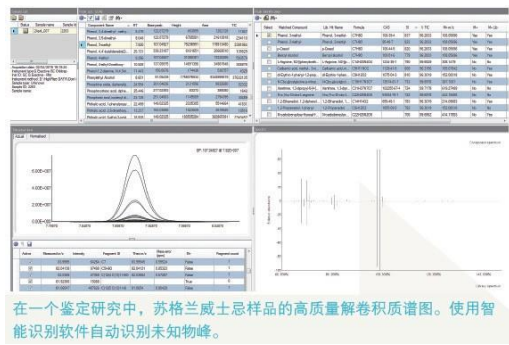
- TraceFinder 高通量筛查和定量



- Chromeleon CDS 符合法规要求的定量分析



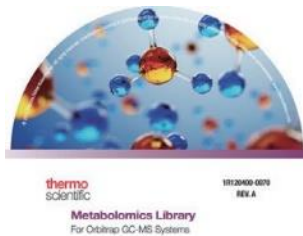
- 高分辨卷积 (Deconvolution)



- Compound Discoverer 高效组学分析软件

Compound Discoverer 3.3
Integrated Solutions for Small Molecule Research
Configuring catalog for MEF
thermo scientific

- 高分辨数据库



Thermo SCIENTIFIC

1R120706-0100
REV. A

Pesticide and Environmental Contaminants Spectral Library

For Q Exactive GC and Exactive GC Orbitrap GC-MS Systems

➤ 应用广泛



代谢组学

非靶向代谢物组学
靶向代谢物组学
代谢物研究



食品与饮品

农药残留筛查
常见污染物筛查
目标污染物分析
食品轮廓分析
掺杂、真实性及溯源研究



工业

结构鉴定
风味与香料
杂质分析
化合物代谢
产品轮廓分析
产品真伪鉴定
石油组学



环境

环境污染物筛查
环境行为研究
消毒副产物
新型化合物研究



制药

杂质分析
药品开发



公安与司法

毒物筛查
违禁药物
法医毒理学

仪器配置

- EI 离子源和 CI 离子源:提供两种电离模式,满足更多样品的需求。
- 分流/不分流进样口, 最大分流比 12500:1。
- 2020 版 NIST 谱库: 配合 TraceFinder™ 软件使用, 可提供高分辨率精确质量 (HRAM) MS/MS 谱图, 适合用于对数以千计的化合物进行鉴别、确认和定量分析。
- AI/AS 1610 液体自动进样器



155 位样品容量专为满足繁多的高处理量需求而设计, 能够可靠、自动地注射液体样品。

- TriPlus™ 500 GC 顶空自动进样器



经典可靠的阀 - 定量环技术 + 创新的无线传输, 全方位提升分析效率和实验的重复性。

典型应用

基于 Orbitrap GC-MS 的非靶向代谢组学

关键词

法医学；代谢组学；GC-Orbitrap 系统；多变量统计分析

代谢组学旨在表征和定量生物系统中的完整小分子代谢通路或代谢物组。代谢物组包含小分子多元混合物（包括氨基酸、糖和磷酸糖、生物胺和脂质）。非靶向代谢组学极具挑战性，因为其要求定性和定量上百个不同种类化合物。

本项研究展示了 GC-Orbitrap 完整非靶向代谢组学工作流程，检测大鼠模型中的生物标记物，以判定其死亡时间。

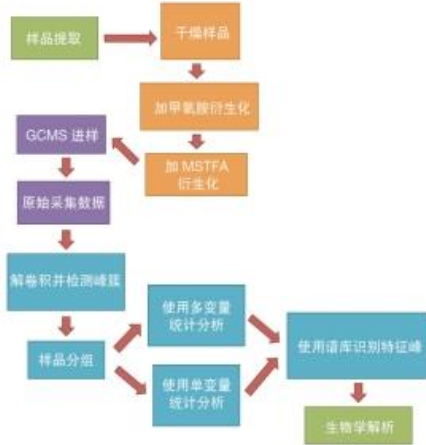


图 1. Q Exactive GC 系统代谢组学研究的工作流程。以不同颜色显示工作流程包中的任务分工：绿色用于生物技术人员；橙色用于实验室技术人员；紫色用于仪器操作人员；蓝色用于生物学信息处理人员。

使用 SIMCA 软件进行多变量统计分析。将 Y 类别设为各时间点，生成数据的偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 模型。从本次分析可知，死亡后立即取样的样品 (RAT_TO) 聚集在一起，与已分解的大鼠样品 (T1-T3) 具有显著性差异。从 T1-T3 样品中可以观察到分组聚集和持续分解。X 或 Y 轴上的位移表示某一代谢物对分数图中样品群组之间分离的作用大小。在本例中，X 轴将 TO 与 T1-3 分开，Y 轴将 T1、T2 和 T3 分开 (图 6)。

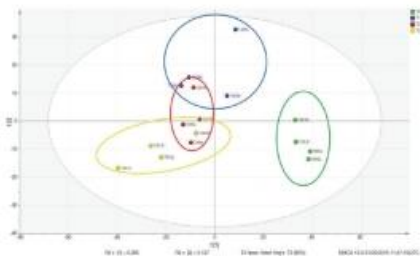


图 6. 分解数据的 PLS-DA 模型。该模型为多变量统计分析，将原始数据 (X 轴，大鼠体内不同代谢物) 的值为质量数精度中主要含 126 几种化合物。在本例中，X 轴是生成时间，Y 轴是生成时间。注意，本项研究中样品进行了适当聚类，每个数据点聚在一起。TO 已标记为其他数据点。

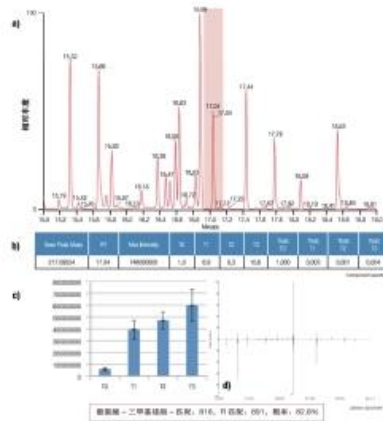


图 5. 数据分析流程的总结。

对原始数据进行峰检测和解卷积 (a)，然后将其以基峰的形式显示在 IDEOM 代谢组学软件中 (b)，含量信息和定量统计方法。IDEOM 软件也提供定量图形信息 (c)，该图显示了每种条件下的平均强度和标准偏差，本例中每种条件下含四份相同的生物样品。使用 NIST 库归属目标峰，(d) 证实了质谱数据的匹配的结果，图下方含已归属衍生化氨基酸的 Nist 分数值。

表 4. 分解期间含量不断增加的代谢物的鉴定 ID 列表。可以通过精确质量数和分子式推定进行化合物确认。只有在高分辨率质谱数据精度条件下才能检测到这些，并将其从背景离子中鉴别出来。

推测化合物 ID	RT / min	NIST 正向匹配	与 TO 相比的相对强度	基峰碎片分子量 (m/z)	ppm 精度 (误差)	ppm 精度 (分子离子)
L 谷氨酸, 3TMS	10.71	796	2.8	C ₇ H ₁₄ NOSi	0.27	0.13
L 天冬氨酸, 3TMS	11.78	707	7.0	C ₇ H ₁₂ N ₂ O ₄ Si	0.18	0.34
L 甲硫氨酸, 2TMS	12.40	749	15.0	C ₇ H ₁₄ N ₂ OSi	0.24	0.04
L 谷氨酸酯-3TMS	15.32	815	2.0	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ Si	0.53	0.21
脯氨酸, 4TMS	16.18	870	2.0	C ₇ H ₁₄ N ₂ OSi	0.05	N/A
精氨酸, 4TMS	16.88	732	5.1	C ₇ H ₁₄ N ₂ OSi	0.19	0.05

结论

样品制备—自动衍生化—GC 分离—质谱检测—数据分析—结果报告，的工作流程使 GC-Orbitrap 系统成为挥发性化合物和需衍生化非挥发性化合物进行代谢组学分析的独特分析工具。

卓越的色谱分离能力、可重现的色谱分离结合快速数据采集使 GC-Orbitrap 系统成为复杂代谢组学分析的理想平台。

超高分辨率、始终如一的亚 ppm 的精确质量数测量为复杂生物分解基质中存在的多种代谢物提供了可靠和高选择性的分析。

较宽的动态范围为分析样品中的代谢物提供高灵敏度和持续检测，且质量数精度丝毫不受影响，同时为已检测到的代谢物提供精确的相对定量。

可依据已有商用库使用获得的 EI 数据对化合物进行初步识别，使研究人员对结果进行评价。同时，得到的精确质量数允许对数据进一步分析。

本例中，氨基酸信号的时间依赖性演变为检测死亡时间提供了一种简便的生化法医分析检测法。

GC Orbitrap GC-MS HRAM 代谢组学数据库探索代谢组学的奥秘

识别更多的代谢物

生物学是复杂的。为了解释这些复杂性，代谢组学分析需要复杂的分析技术和先进的软件解决方案。Thermo Scientific™ Orbitrap™ GC-MS HRAM 代谢组学库是第一个商用高分辨率精确质量 (HRAM) 电子电离 (EI) 代谢组学数据库。包含超过 800 种代谢物的 900 条专门的保留指数索引，范围涵盖植物、动物和微生物中初级和次级代谢产物 (包括挥发物)。将功能强大的 Orbitrap 质谱技术和独特的 Thermo Scientific 软件数据处理工具相结合，能够比以往更容易地应对代谢组学实验中非靶向检测带来的困难和挑战。

- 在 60 k (m/z 200) 分辨率下采集高质量精度、高分辨数据。
- 精细质谱同位素用于确证 EI 碎片的元素组成
- Kovats 保留指数索引
- 各代谢物拥有唯一 PubChem 数据库 ID
- 可与现有商业数据库结合使用



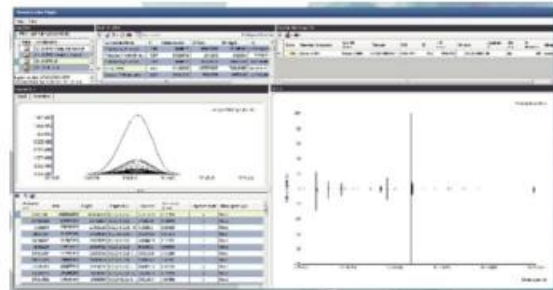
图 1 毒物 (吡啶类 黄酮类 蝶呤啉啉类 糖类 醌类 核苷酸辅酶 异香豆素类 唑系 糖酸 甘油磷脂 糖醇 荷尔蒙辅酶 Q 酰胺类 尿素及衍生物 药物代谢物 类胡萝卜素 脂肪醇 氨基甘油酯 喹啉类 甾醇类 醛类)

代谢物的自动识别

以非靶向方式执行化合物自动鉴定，曾是虚幻。如今，Orbitrap™ GC-MS 和独特的专用数据挖掘工具相结合将它变成现实。

Orbitrap GC-MS 的高灵敏度、高选择性和宽动态范围为 GC-MS 应用提供了前所未有的化合物覆盖范围，并通过自动化软件工作流程智能地采集数据集，最终识别样品中的代谢物。

数据的解读可在几分钟内完成，而不需几周时间，在您的实验室释放出全新的可能性。



Orbitrap 质谱法—代谢组学研究成功的核心推动力

代谢组学研究的成功取决于经过验证的 Thermo Scientific™ Orbitrap™ 技术。包括 Orbitrap 质谱仪在内的工作流程已经广泛应用于蛋白质组学等生命科学领域。根据已发表的报告可知，同样的技术也适用于代谢组学。Orbitrap 质谱仪代表了领先的质谱 (MS) 技术，尤其在高通量化化合物的检测以及复杂基质样品的应用中，如：血液、食品和尿液等。此外，通过结合色谱分离技术和数据分析软件，Orbitrap 质谱仪帮助研究人员成功地分析代谢组学中的待测理化物质，使我们成为代谢组学的领导者，进而为您提供有效的解决方案，助您站在科学前沿。

Orbitrap GC-MS: 帮助解决氯化石蜡分析挑战

¹ 欧盟饲料和食品中二恶英和多氯联苯分析参比实验室;
² Thermo Fisher Scientific

关键词

氯化石蜡, GC Orbitrap 质谱, 筛查, 定量, 准确质量数, 高分辨率, TraceFinder

氯化石蜡 (CPs) 常以异构体和同系物这种高度复杂混合物存在, 无法实现色谱分离, 加之样品浓度低, 使得其在食品中的检测和定量倍加困难, 针对食品和饲料中 CPs 的常规监测仍没有经过验证的方法。

为了深入研究同族体中氯化的部分, 分析实验室越来越多地将 GC 与高分辨准确质量数 (HRAM) 质谱联用应用其中, 如 Q Exactive GC Orbitrap GC-MS/MS 系统。高分辨率和稳定的亚 ppm 级质量精确度即使在复杂基质中也可以提供高选择性检测和优异的定量结果。

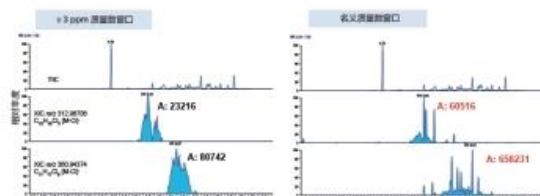


图 3 显示了真实样品 (鲑鱼) 的分析结果。NCl 模式下以 60k 分辨率全扫描采集数据。提取与 C10 和 C11 对应的离子的精确质量数, 限定一个较窄的提取窗口 (± 3 ppm) 从而得到选择性更高的提取离子流色谱图 (图 3, 左图)。该方法屏蔽了样品中可能存在的基质、其他 CPs 和其他卤代物 (如 PCBs) 的化学干扰。相比之下, 使用低分辨率仪器和名义质量数提取窗口 (图 3, 右图) 分析同样样品中两种 CP 离子 (C_{10} 和 C_{11}) 时不能提供足够的选择性, 从而无法准确定量。

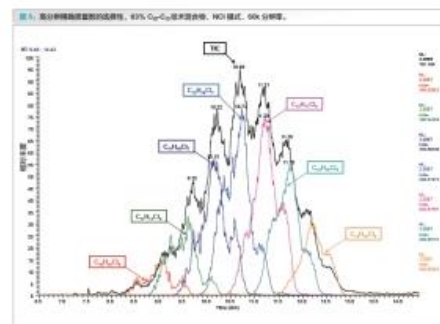
CP 分析示例

基于 CPs 化合物的复杂性, 即使多维技术也无法完全分离各个异构体。通过将样品裂解成更多的亚体进行分析, 可提供更多有关环境处置、区域指纹识别和不同部分相对毒性评估的相应信息。

本项研究使用 TG5-SilMS 15 m x 0.25 mm x 0.25 μ m 色谱柱进行分离。这种短而宽的气相色谱柱和快速升温速率无法实现异构体的最佳分离, 因此该分析主要是为了评价异构体的相对丰度。

采用 NCl 进行分析。将分辨率设置为 60k, 因为在该分辨率下可对同族体甚至同源物分离。在 m/z 50-630 的质量数范围内进行全扫描采集数据。对分子离子的相对丰度进行评价, 包括 [M]⁻、[M-HCl]⁻ 和 [M-Cl]⁻。研究发现, [M-Cl]⁻ 离子的丰度最高,

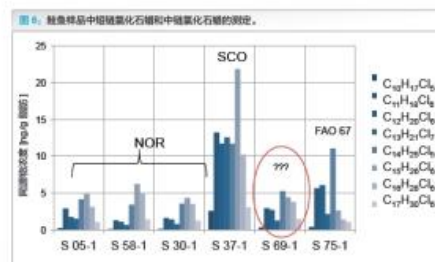
但氯化程度低 (六个或以下氯原子)。其中, [M-HCl]⁻ 离子的响应信号最佳。浓度为 25 ppb 时, 重复进样 ($n=10$) 的相对标准偏差为 4% 以下。如图 5 所示, 复杂混合物形成特征性的色谱图, 其中一些基团出现明显变化。



使用 Orbitrap 质量分析器可将这些亚体与未分离的同质量物质分离, 范围从 $C_{10}H_{15}Cl_6$ 到 $C_{13}H_{19}Cl_6$ 。使用含 55.5% Cl

好线性。同时, 对存在的高浓度 PCBs 进行了检测, 研究发现其对相同名义质量数的化合物峰形没有影响。

利用该方法对阿拉斯加州野生捕捞鲑鱼和东北太平洋农场饲养鲑鱼样品进行分析。试验评价潜在干扰污染物的影响, 如 PCBs、狄氏剂、DDT 和 DDD, 研究发现它们在排除干扰的同时能轻易地检测出。与采用 GC-EI-LRMS/MS 测得的结果相比, SCCP 和 MCCP 的预估总浓度仅偏离 10-20%, 同系物的定量为样品分析提供了新的洞察能力, 如下图所示。



使用 Orbitrap 质量分析器可将特征峰卷积成单个异构体组。相对丰度的分布似乎提供可识别的区域来源的指纹信息。挪威样品均显示出相似的分布, 而野生捕获鲑鱼的分布可变性更高, 可能是由于被捕获前动物的迁移性高, 或仅仅由于其脂肪含量较低。挪威和苏格兰鲑鱼中 $C_{10}H_{14}Cl_6$ 和 $C_{14}H_{22}Cl_7$ 的含量显著不同, FAO 67 (白令海/东太平洋) 所分析野生鲑鱼的含量明显更高。

基于 Q Exactive-GC 精确质量数据库筛查及确证食品中 435 种农药多残留

彭兴¹, 朱曼洁¹, 李春丽¹, 芦荟²
¹赛默飞世尔科技(中国)有限公司 ²Thermo Fisher Scientific, Liverpool, UK

关键词

Orbitrap 质谱仪; 精确质量数据库; 多农药残留

本研究利用气相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(GC-Orbitrap)建立了435种农药化合物的精确质量数据库,并结合相应的数据处理软件,在此基础上建立了农药多残留快速筛查流程。实验结果表明,在实际样品检测中,分辨率60,000 FWHM(200 m/z)及以上,质量准确度<2.0 ppm,筛查准确度会有大大改善。同时仍然可以保持高灵敏度,完全满足食品中农药残留检测要求。

扫描速度、准确的精确质量数和超高分辨性能

GC-Orbitrap在60,000分辨率下,仍能达到7.0 spectrum/s以上的采集速率,使数据获得足够多的扫描点数。同时更重要的是每个扫描点数上质量准确度可以保持在1.0 ppm以内,保证了数据的稳定性和可靠性。

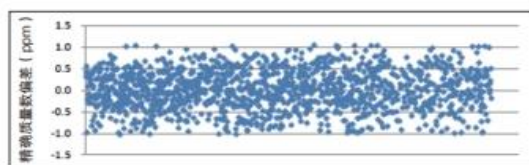


图2 1,345个碎片离子精确质量数偏差

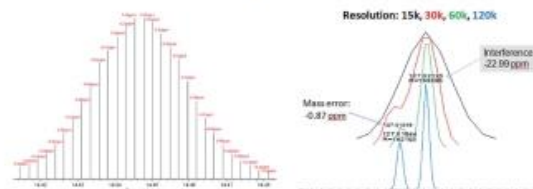


图3 毒死蜱(Chlorpyrifos)中碎片离子(196.91964)扫描点的质量偏差(< 0.5 ppm)

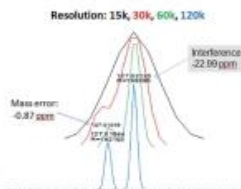


图4 氯吡啶(Chlorpropram)不同分辨率下的测定结果

超强抗干扰能力

实验同样考察了对于相对复杂的基质,GC-Orbitrap基于高分辨率及高质量精度,可通过精确质量数达到完美的色谱分离。

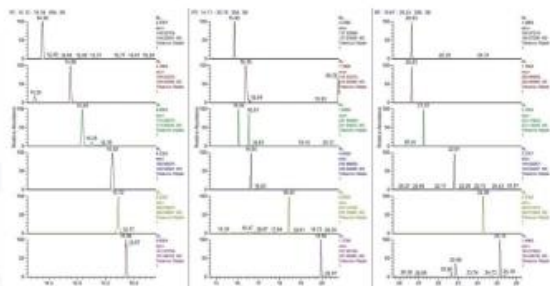


图5 复杂基质中10.0 µg/L浓度下18种农药色图



筛查数据库(Database)的建立

本实验选取了435种农药化合物,配制成2.0 mg/L的混合标准溶液,由仪器测定,在全扫描模式(FullScan)下获得相应化合物的保留时间,碎片离子的精确分子量、化学式等信息。每种化合物选取2-5个碎片离子,获得离子信息(精确质量、化学式)。数据导入TraceFinder中,建立相关数据库(Database)。如图6所示。TraceFinder不仅可以实现数据快速、批量、自动化处理,而且集成定性、定量及方法建立等功能,根据建立的Database可实现目标物筛查(Targeted Screening),对检测样品中的农药残留进行快速筛查。Database中主要包含化合物名称、CAS登记号、碎片离子信息(精确质量、化学式),保留时间等信息。



图6 TraceFinder建立Database

筛查结果

本实验配置了溶剂标准与基质标准对农药化合物数据库进行了验证,选取了2种常见的水果蔬菜样品(苹果及黄瓜)。结果显示,10.0 µg/kg浓度下,435种化合物均能检测到。即使在1.0 µg/kg及以下浓度,检出农药占比分别也高达为92.4%和93.6%。

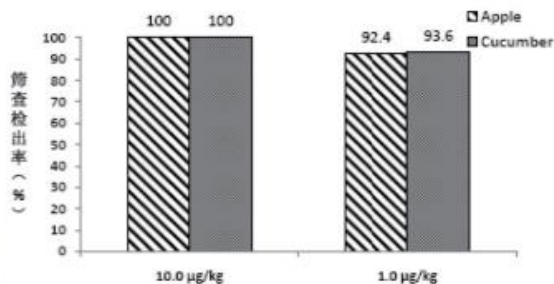


图10 2种基质中筛查检出限

GC-Orbitrap 非靶标分析：鉴定调味料和草药真伪的有力工具

Giulia Riccardino¹, Dominic Roberts¹, Cristian Cojocariu¹ 和 Michele Suman²;
¹Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK; ²Barilla SpA – Advanced Research Laboratories, Parma, IT

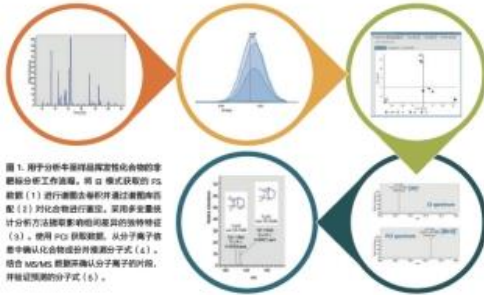
关键词

牛至, 调味料, 草药, 造假, 掺杂, 挥发性有机化合物 (VOC), 气相色谱, GC, 高分辨率质谱, HRMS, 全扫描, ExtractaBrite, 电子电离, EI, 正化学电离, PCI, 未知物

在本研究中, 利用 GC-Orbitrap 技术结合筒型固相微萃取 (SPME) 对人为掺假的和天然的牛至样品的挥发物图谱进行了分析。采用全扫描电子电离 (EI) 模式采集数据, 并使用 Compound Discoverer™ 软件进行了数据分析。在正化学电离 (PCI) 模式下, 利用精确的质量信息、同位素匹配 (测量值和理论值) 和特定加合物信息来确认分子离子的元素组成。采集到的二级质谱图经过谱图匹配, 可用于解析鉴定化合物的可能的化学结构。

评估牛至样品中挥发性成分和鉴别掺假样品的工作流程

使用 Compound Discoverer 3.2 软件分析天然和掺假样品的全扫描 (FS) 数据, 进行化学计量评估和推测识别的色谱峰。完整的工作流程包括: 分离特定组分, 高度可信地鉴定化合物, 并检测可能存在的掺杂化合物。图 1 显示了所使用的工作流程。



掺假样品中的化合物鉴定

Compound Discoverer 平台包括一个简化的 GC EI 数据工作流程, 实现提取、解卷积和基于谱图库的对未知元素的推导识别。图 3 显示了这种工作流程的一个示例, 在软件中显示了在 9.04min(m/z 93.06982) 的色谱峰的重叠的 XIC (提取离子色谱图)、匹配度最高的鉴定结果、以及去卷积后 XIC 与 NIST 谱图库的对比结果。

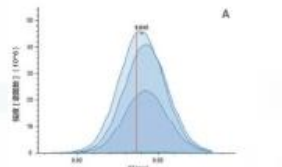


图 3. 根据 Compound Discoverer 的结果, 9.04min 的洗脱峰 (m/z 93.06982), 其被推定为桉油酚。A: 重叠 XIC 基峰 m/z 93.06982; B: 基于库检索和保留索引鉴定出的匹配化合物的结果表; C: 采集到的桉油酚的 EI 谱图与 NIST 谱图库的对比。

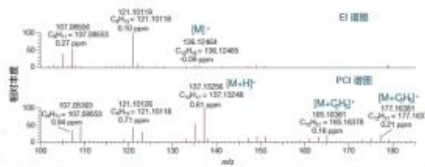
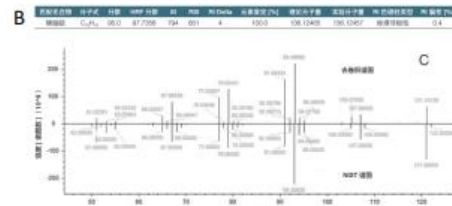


图 4. 桉油酚的 EI 谱图与 NIST 谱图比较 (RT=9.04 min)。在 EI 谱图中可以看到, 分子离子 (m/z 136.12464) 的质量精度 (误差为 1 ppm)。在 PCI 谱图中, 可清楚地看到在使用甲氧基气体时形成的典型加合物, 从而证实了分子离子和推测的桉油酚的分子式。



多变量统计分析: PCA 和差异分析

Compound Discoverer 3.2 软件可用于进行多变量统计分析。PCA 是一种众所周知的统计方法, 能够突出样本组之间的差异, 即使在复杂的数据集中也可直观地看到样本间的差异。图 4 显示了一个 PCA 图的示例。PCA 图清楚地显示了天然牛至样品与掺假样品之间的明显差异。

使用火山图 (V-plot) 进行差异分析, 有助于快速识别由重复数据组成的大型数据集的变化。图 5 中显示了根据掺假百里香的牛至样品和天然牛至样品比较得到的 V 图。

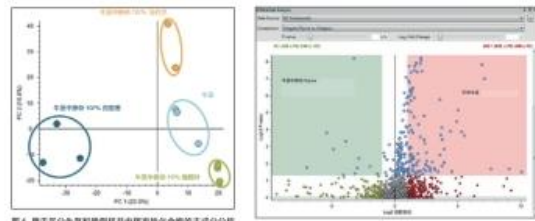


图 6. 用于区分天然和掺假样品中挥发性化合物的主成分分析 (PCA) 分析图。可以看到样品组之间的成分完全分离。

利用 PCI 进行化合物确认

Compound Discoverer 平台通过从 PCI 谱图中寻找常见的加合离子来鉴定母离子的元素组成, 可进一步对鉴定的化合物进行确认。

另外, PCI MS/MS 数据可用于确认推测的分子式并可用于结构阐释。Mass Frontier 软件可用于推断 MS/MS 谱图中离子的结构。在质量精度小于 1 ppm 的条件下得到的碎片离子能够帮助推断分子式的详细信息。



图 7. 在 PCI 谱图中, m/z 为 136.12464 的分子离子经二级质谱扫描, 该二级离子谱图经过了质量精度、元素组成、理论质量、质量精度 (ppm) 和同位素化学式的验证。