

多功能 GC-Orbitrap 质谱用于南极洲企鹅血中超痕量持久性有机污染物的检测

作者

Nicholas A. Warner¹, Cristian I. Cojocariu²

¹NILU-Norwegian Institute for Air Research, Fram Centre, Tromsø, Norway

²Thermo Fisher Scientific, Runcorn, United Kingdom

关键词

持久性有机污染物, POPs, 多氯联苯, PCBs, 有机氯农药, 帝企鹅血液, 液液萃取, GC Orbitrap 高分辨质谱, 全扫描, 选择离子监测, 精确质量数, 全扫描 / 选择离子同步扫描

目标

本研究使用 Thermo Scientific™ Q Exactive™ GC Orbitrap™ 质谱仪对来自南极洲的企鹅血液中的持久性有机污染物进行常规分析, 并评估了仪器性能。

引言

过去五十年来, 持久性有机污染物 (POPs) 因其毒性, 和在全球环境中传播和暴露的持久性而被广泛研究。诸如“斯德哥尔摩公约”等国际条约, 早在 2004 年, 就已禁止或限制多氯联苯 (PCBs) 和有机氯 (OC) 农药等 POPs 的使用。然而, 如今环境中仍存在许多这类的化学物质, 这些化学物质即使在痕量水平下, 也会在食物链中不断累积对生物群和人类构成风险。通过大气或洋流的远距离传输, 这些污染物会不断沉积在偏远极地地区。因而 PCBs 和 OC 是在这里发现的主要污染物¹。POPs 在北极地区的暴露研究很广泛, 但关于南极洲暴露情况的资料却很少。历史上, 南半球的化学品使用量与北半球相比一直较低, 由于浓度更低, 因此检测 POPs 更具挑战性。但是, 南极大陆的确因大气传输, 受

到了 POPs 的污染²。随着南半球工业和农业活动的增加，这一地区面临着风险，解决与监测南极洲生物基质中 POPs 相关的分析挑战尤为重要³。

鉴于环境中的浓度与当前分析仪器的检测能力十分接近，因此样品量和样品制备非常关键。然而，通过非侵入性取样（即血液或血浆）获得的样品材料通常是被限制的。采用过多的样品净化步骤会增加样品处理时间和成本，并且造成低浓度目标物的损失，因此有可能导致检出频率降低。此外，稀释样品以减少共提取基质的影响可能会将目标分析物稀释至检测限以下并降低检出频率。高分辨率 Orbitrap™ 质谱具备出色的性能，能够实现 60,000 质量分辨率（ m/z 200, FWHM）下进行常规全扫描和 / 或选择离子监测（t-SIM）分析，大大提高了目标物的选择性，能够从共提取基质干扰中分离目标物，减少化学噪音并降低检测限。

实验条件

样品前处理

帝企鹅的血样（湿重 0.5-1.0 克）中加入 ^{13}C 质量标记的内标（多氯联苯和有机氯农药），并用液液萃取法提取。然后，将 2mL 乙醇、2mL 用硫酸铵饱和的去离子水和 6mL 正己烷加入到样品中，涡旋混合后收集正己烷上清液。将上清液蒸发至干，然后加入 0.5mL 正己烷中复溶，并使用 1 克活化的 Florisil®（450°C）进行自动固相萃取。随后用 12mL 的 10% 二氯甲烷 / 正己烷洗脱。将样品提取物蒸至近干并定容转移到用于 GC 自动进样器的装有内衬管的进样小瓶中。加入 ^{13}C 标记的 PCB159 作为进样器内标。考虑到相应的内标响应和单点校准的使用，对样品中的目标化合物进行同位素稀释定量。

仪器和方法设置

使用 Q Exactive GC Orbitrap 质谱仪分析样品。使用 Thermo Scientific™ TriPlu™ RSH™ 自动取样器进行自动化进样，并且使用 Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 气相色谱仪和 Thermo Scientific™ TraceGOLD™ TG-5SilMS 30 m × 0.25 mm（内径）× 0.25 μm（膜厚）毛细管色谱柱（配备有 5 m 长的集成保护柱（P/N 26096-1425）实现色谱分离。采用全扫描和 t-SIM 采集进行样品分析。其他的仪器参数列举在表 1 和表 2 中。

表 1. 气相色谱和进样条件

TRACE 1310 GC 系统参数	
进样体积:	1 μL
衬管:	Thermo Scientific™ LinerGOLD™ GC 衬管 (P/N 453A1345-UI)
进样口温度:	250°C
载气:	He, 1.2 mL/min (恒流)
柱温程序	
温度 1:	40°C
保持时间:	1.5 min
温度 2:	180°C
升温速率:	25°C/min
保持时间:	0 min
温度 3:	280°C
升温速率:	5°C/min
保持时间:	0 min
温度 4:	320°C
升温速率:	40°C/min
保持时间:	5 min

表 2. 使用全扫描和选择离子监测（t-SIM）同步扫描模式进行数据采集的质谱条件

Q Exactive 气相色谱质谱仪参数	
传输线温度:	280°C
电离模式:	电子电离 (EI)
离子源温度:	250°C
电子能量:	70 eV
数据采集模式:	全扫描和选择离子监测
提取窗口:	8 Da
质量范围:	50–600 Da
分辨率:	30,000 & 60,000 (m/z 200, FWHM)
锁定质量数, 柱流失:	207.03235 m/z

数据处理

使用 Thermo Scientific™ TraceFinder™ EFS（4.1 版）采集数据。采用 Q Exactive GC Orbitrap 质谱仪，在全扫描和 t-SIM 采集模式下分析帝企鹅血液中的 POPs 来评估仪器性能。对于目标物分析，使用 TraceFinder 软件从目标物中自动采集目标离子和定性离子的精确质量数。在质量精度 ± 5 ppm 内检测目标离子和定性离子，并且化合物的目标 / 定性离子比率与标品离子比率的偏差在 20% 以内，即可判定阳性。所有浓度需进行空白校正（如果检测到），分别用空白值方差的 3 倍和 10 倍作为检测限和定量限。

结果和讨论

具有三重四极杆灵敏度的全扫描采集

图 1 和图 2 列举了使用 Q Exactive GC Orbitrap 质谱仪获得的 POPs 的灵敏度水平的例子。在全扫描模式下，对 PCBs 和 OC 农药的溶剂标品都有很好的响应。在偏远地区的生物基质内发现的几种典型化合物被突出显示，柱上进样 1 至 38 pg 所获得的响应范围为 $4e^5$ 至 $1e^7$ （取决于化合物种类）。在企鹅血液萃取物的全扫描分析中可以观察到大量的化学噪音（图 3）。大于 $1e^{10}$ 的总离子

流图（TIC）表明，尽管采用了净化处理，但仍然存在大量共萃取的基质。然而，即使存在如此高水平的化学背景，也可以用全扫描检测到多种多氯联苯（28/31,66,153）和 OC 农药（HCB, pp-DDE 和 灭蚁灵）（图 4）。Q Exactive GC Orbitrap 质谱仪具有很高的分辨能力，可从共萃取的基质离子中选择性分离出目标化合物（ ± 5 ppm 提取窗口）。

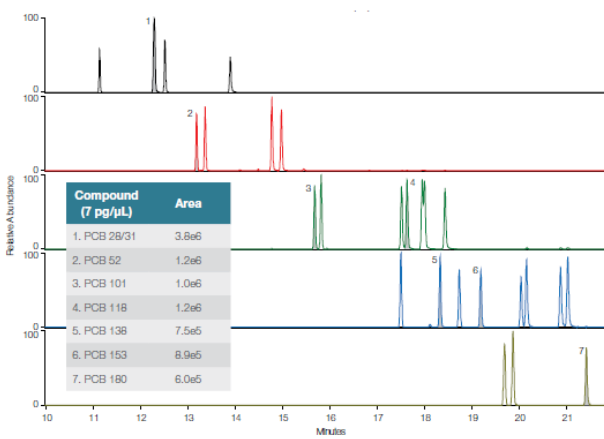


图 1. 全扫描采集三、四、五、六和七氯 PCB 标品（7 pg/ μ L）的提取离子色谱图

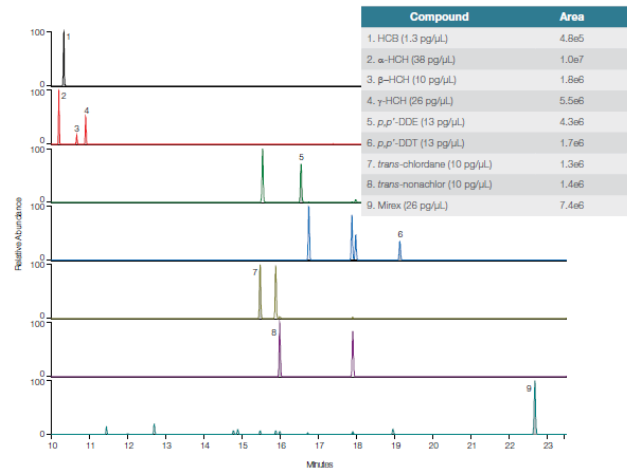


图 2. 全扫描采集 OC 农药标品的提取离子色谱图。单个农药的浓度范围为 1 至 38 pg/ μ L。

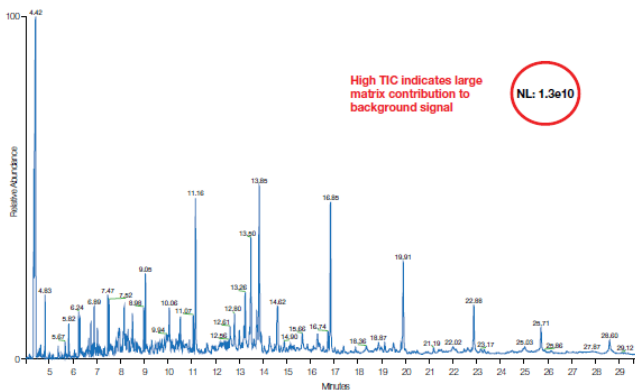


图 3. 帝企鹅血液萃取物的全扫描总离子流图（TIC）显示了保留在最终萃取物中的共存基质带来的大量化学噪音

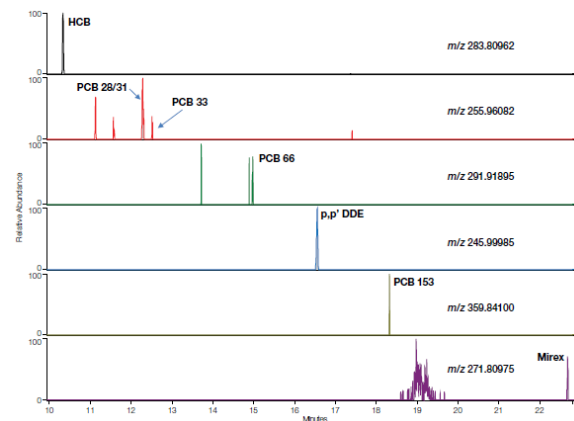


图 4. 全扫描模式下采集的帝企鹅血液中检测到的多氯联苯和 OC 农药的提取离子色谱图

增强的灵敏度 / 检测能力

对于那些存在共萃取的复杂样品，采用 t-SIM 数据采集模式可以帮助进一步提高检测限 / 能力。利用先进的四极杆技术 (AQT) 确定感兴趣的质量数区域 (即提取窗口)，从而尽可能少地引入共萃取样品基质到 Q Exactive GC Orbitrap 系统的 C-trap 中。同样的帝企鹅血液萃取物，使用 t-SIM 采集模式比先前全扫描模式检

测到更多的 PCBs (图 5) 和 OC 农药 (图 6)。除了在全扫描 (图 4) 中检测到的 PCB 28/31, 33,66 和 153 之外，采用 t-SIM 采集模式还检测到了几种其他 PCB 同系物 (图 5)。对于具有 HCH 异构体的 p,p'-DDD、p,p'-DDT、氯丹和非天然异构体以及 HCB、p,p'-DDE 和灭蚁灵的 OC 杀虫剂也观察到类似的现象 (图 6)。

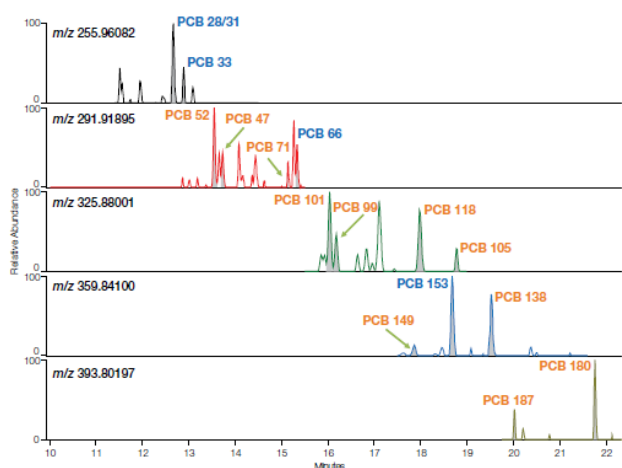


图 5. t-SIM 采集模式下帝企鹅血液萃取物中多氯联苯的提取离子流图。在全扫描模式中未检测到的化合物标记为绿色。

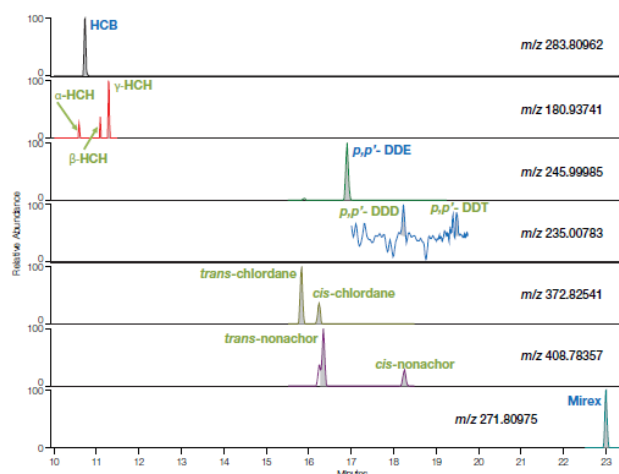


图 6. t-SIM 采集模式下帝企鹅血液萃取物中 OC 农药的提取离子流图。在全扫描模式中未检测到的化合物标记为绿色

企鹅样品中 POPs 的定量检测

在帝企鹅血液中检测到的空白水平以上的化合物浓度在 ppt 级别 (表 3 和表 4)。HCB 的检出浓度最高 (290 pg/g ww)，而五溴联苯醚的检测浓度为 0.9 pg/g ww，表明 Q Exactive GC Orbitrap 系统的灵敏度高。基于空白水平的不同物质定量限

(LOQ) 范围为 0.1 至 14.2 pg/g ww。Q Exactive GC Orbitrap 系统采用 t-SIM 采集模式，能够避免包含共萃取样品基质的质量区域进入 C-trap，从而增加低 ppt 浓度水平的检出率。

表 3. 帝企鹅血液样本中 PCBs 浓度 (pg/g 湿重)

PCB 同系物	浓度 (pg/g 湿重)
52	11.5
101	16.3
118	6.4
138	13.2
149	3.8
153	11.6
180	5.3
183	1.4
187	2

表 4. 帝企鹅血液样本中存在的 OC 农药浓度 (pg/g 湿重)

农药	浓度 (pg/g 湿重)
HCB	290
aHCH	3.9
p,p'-DDT	1.4
p,p'-DDD	4.7
p,p'-DDE	101
trans-chlordane	11.7
cis-chlordane	3.5
trans-nonachlor	11.7
cis-nonachlor	0.9
Mirex	38

使用全扫描与 t-SIM 的同步扫描增加化合物覆盖范围

全扫描和 t-SIM 模式分析结果的比较表明，全扫描采集方式会因进入 C-trap 的共萃取样品基质，阻碍 ppt 浓度范围的目标化合物的检测。然而，仍然可以在不牺牲痕量目标物分析灵敏度的前提下获得全扫描质谱数据。使用 Q Exactive GC Orbitrap 系统，即可在一次 GC 运行中同时获得全扫描和 t-SIM 采集的数据。因为 t-SIM 能够选择性地提取目标物周围的质量窗口，所以可以设置较低的质量分辨率以确保对色谱峰进行最优次数的数据扫描，同时保持足够的质量分辨率用于化合物识别 / 检测。使用全扫描 (R=60,000) 与 t-SIM 采集 (R=30,000) 结合同步扫描方法对帝企鹅血液样品的检出率 / 灵敏度进行了评估。结果显示，PCB 同系物数量 (14) 略低于单独 t-SIM 法 (16)，但比单独全扫描法的检出数量 (4) 更多 (图 7)。由于同步扫描未检出 HCH 异构体、p,p'-DDD、p,p'-DDT 和顺氯丹，OC 杀虫剂的检出率变低。然而，检出率仍然比单独全扫描采集获得的结果高。这表明，同步扫描方式下，将全扫描数据用于识别可能具有潜在环境 / 健康风险的未知化合物时，Q Exactive GC Orbitrap 系统仍可保持痕量分析的灵敏度。

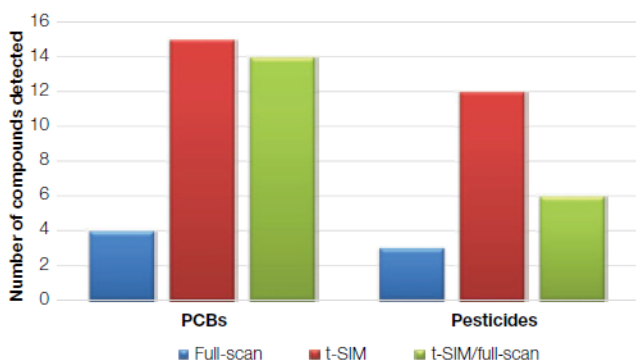


图 7. 分别采用全扫描 (蓝色)、t-SIM (红色) 和全扫描与 t-SIM 采集同步扫描 (绿色) 检测到的帝企鹅血液中 PCB 和 OC 杀虫剂数量。同步扫描的 t-SIM 采集使用分辨率 30,000，全扫描采集中使用分辨率 60,000。

结论

这项研究的结果表明，Q Exactive GC Orbitrap 高分辨质谱仪具有出色的灵敏度、选择性和灵活性，能够很好应对偏远地区环境样品中痕量分析的挑战。

- 尽管有相当多的共萃取基质干扰，但使用 60,000 质量分辨率的全扫描采集可以检测到 ppt 水平的几种 POP 物质。
- 使用 t-SIM 采集可以获得更佳的检测限 / 检测能力。使用 t-SIM 可将帝企鹅血液中检测到的化合物数量增加 4 倍。
- Q Exactive GC Orbitrap GC-MS/MS 系统能够在不显著降低目标物灵敏度情况下，实现全扫描质谱数据的采集。全扫描和 t-SIM 的同步采集模式，可对部分目标化合物进行定量分析，同时采集全扫描质谱数据，以识别潜在影响偏远环境的 ppt 级未知化合物。

参考文献

1. AMAP, AMAP Assessment 2009 - Persistent Organic Pollutants (POPs) in the Arctic. Science of the Total Environment Special Issue, 408, 2851-3051. Elsevier, 2010.
2. Kallenborn, R.; Breivik, K.; Eckhardt, S.; Lunder, C. R.; Man? S.; Schlabach, M.; Stohl, A., Long-term monitoring of persistent organic pollutants (POPs) at the Norwegian Troll station in Dronning Maud Land, Antarctica. Atmos. Chem. Phys. 2013, 13, (14), 6983-6992.
3. Bengtson Nash, S., Persistent organic pollutants in Antarctica: current and future research priorities. Journal of Environmental Monitoring 2011, 13, (3), 497-504.



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
和质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC