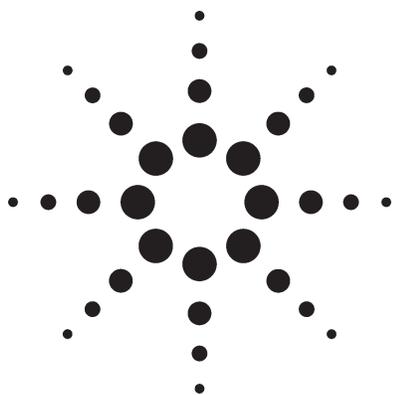


使用 LVI-PTV-GC/MSD 实现半挥发物的 ppt 级校准



应用

环境

作者

Mike Szelewski
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

由于分析物的活性、背景污染以及仪器灵敏度的限制，对 ppt（万亿分之一）浓度范围的半挥发物的分析具有很大难度。方法的要求各不相同，一般要求能够分析 1 μL 的进样和进行全扫描数据采集。大体积进样 (LVI)、程序升温气化 (PTV) 进样口以及在 SIM 模式下采用质量选择检测器 (MSD) 能够实现对低浓度水平的半挥发物的校准。通过缩短样品制备量可以得到更低的检测限。

前言

低浓度半挥发物分析用来同时测定饮用水或水源中的酸、碱、中性物和农药的混合物。大多数实验室采用的色谱方法能在 25-40 min 的运行时间内分析 100 多种化合物。样品萃取采用配备 C18 萃取盘或小柱的液-固萃取法 (LSE)。使用二氯甲烷等溶剂的液-液萃取是另一种替代技术。萃取物进样一般采用 1 μL 热不分流进样，全扫描模式 MSD 检测，这与某些常用方法如 U.S. EPA 525.2 方法要求一致 [1]。

实验室寻求改善的一个重要性能参数是灵敏度。影响灵敏度的因素有样品制备、萃取物进样体积、仪器调谐、信号采集和总的系统活性。

PTV 进样口通过大体积进样获得更高的灵敏度。该方法中，常规进样分析的是 25 μL 相对纯净的样品萃取物而非传统的 1 μL 。通过 PTV，活性分析物的降解程度降到最低，从而能够获得比热不分流进样更低的检测限。

半挥发物的分析方法中通常规定用保留时间 (RT) 以及定性离子与靶离子的比值来鉴定分析物。用选择离子检测 (SIM) 采集代替全扫描可以使灵敏度或者信噪比提高 10-50 倍。

U.S. EPA 方法 525 中指出，低浓度半挥发物的典型校准范围是 0.1 至 10 ppm。而本应用摘要将介绍一种校准范围比该范围低 1,000 倍，而范围宽 10 倍，即 0.1 至 100 ppb 的分析方法。为实现这一性能，采用了 LVI-PTV GC/MSD 系统，该系统在保留时间锁定 (RTL) 下以 SIM 模式进行数据采集。本应用摘要是参考文献 2 的后续内容，可参考该文献了解更多背景资料。



Agilent Technologies

实验部分

仪器操作参数

推荐的仪器操作参数在表 1 中列出。这些条件在别的实验室使用时可能需要进行优化。

表 1. 气相色谱及质谱条件

GC	安捷伦科技公司 7890A 或 6890N			前进样器	
进样口	电子气路控制 (EPC) PTV			样品冲洗	0
模式	溶剂放空			样品抽取	2
温度梯度	°C/min	目标温度 °C	保持时间 min	进样体积	25 µL
初始		20	0.60	进样针规格	50 µL
梯度 1	600	350	1.30	进样前溶剂 A 洗针次数	0
梯度 2	10	250	0.00	进样前溶剂 B 洗针次数	1
冷却	打开			进样后溶剂 A 洗针次数	2
冷却使用温度	100 °C			进样后溶剂 B 洗针次数	2
冷却暂停时间	10.00 min (打开)			粘度延迟	1 秒
冷却故障	打开			推杆速度	变量
压力	11.77 psi (打开)			进样速度	50 µL/min
放空时间	0.60 min			抽取速度	600 µL/min
放空流量	100.0 mL/min			推出速度	6,000 µL/min
放空口压力	0.0 psi			进样前驻留时间	0 分钟
吹扫流量	50.0 mL/min			进样后驻留时间	0 分钟
吹扫时间	2.50 min			MSD	安捷伦科技公司 5975C, 痕量离子检测
总流量	53.9 mL/min			抽出透镜	6 mm 大孔径抽出式透镜, 部件号 G2589-20045
载气节省	关闭			溶剂延迟	4 min
载气类型	氦气			低质量数	45 amu
PTV 衬管	安捷伦多阻板衬管, 无填料, 部件号 5183-2037			高质量数	450 amu
柱温箱	240V			阈值	0
柱温梯度	°C/min	目标温度 °C	保持时间 min	采样	1
初始		40	2.50	四极杆温度	180 °C
梯度 1	50	110	0.00	离子源温度	300 °C
梯度 2	10	320	1.10	传输管线温度	280 °C
总运行时间	26 min			调谐类型	自动调谐
平衡时间	0.5 min			电子倍增器 (EM) 电压	调谐电压, 1,247 V
柱温箱最高温度	325 °C			MSD-SIM	
色谱柱	安捷伦科技公司 HP 5 MSi, 部件号 19091S-433i			用 AutoSIM 选择离子、SIM 组和切换次数	
长度	30.0 m			组数	25
直径	0.25 mm			化合物/组	在 1-22 之间变化
液膜厚度	0.25 µm			离子/组	在 2-45 之间变化
模式	恒流			驻留时间, 毫秒	5 或 10
压力	11.77 psi			循环/峰	最小 10
标称初始流速	1.5 mL/min			校准标样	
进样口	前置			Ultra Scientific, North Kingstown, RI. 部件号 DWK-5252. 四种混合物相互稀释产生四个浓度水平的 108 种化合物, 并且其中均加入了 3 种 50 ppb 的内标和 4 种 50 ppb 的替代标准品。	
出口	MSD			校准标样分别都用二氯甲烷和乙酸乙酯进行配制。	
出口压力	真空				
保留时间锁定	系统保留时间锁定菲-d10 在 12.700 分钟处				

新一代的 7890A GC 比旧式 6890N 在分析速度方面具有明显的优势。从 320 °C 降至 40 °C 所需的冷却时间由以前的 7 分钟缩短为 4.3 分钟。MSD 可以作为选件连接到 7890A GC 新设的一个后置接口上。PTV 也安装到后部进样口位置，这样就可以用柱温箱内冷铁或“枕垫”使冷却时间进一步降至 3.3 分钟。

PTV 在溶剂放空模式下操作。图 1 给出了配合柱温箱程序的 PTV 温度以及流量程序。在 0.6 min 的进样时间内 PTV 保持在 20 °C，低于溶剂二氯甲烷的沸点 39.8 °C。溶剂在放空管线中缓慢挥发，压力维持在 0 psi，氦气流量为 100 mL/min。进样完成时，放空管线关闭，进样口压力升至 11.77 psi，并且 PTV 迅速加热至 350 °C。放空管线在不分流时间结束时 (1.3 min) 再次打开，进样口以 50 mL/min 的流速下吹扫。运行当中 PTV 逐渐冷却。

当放空管线关闭时，PTV 的流量与经典的不分流模式一致。由于采用了程序升温，化合物能够在可能的最低温度下蒸发并迁移到色谱柱上。这显著降低了活性

分析物 (如农药和碱) 的损失，而这也正是半挥发物分析方法所要求的。

PTV 进样口衬管，部件号 5183-2037，配备了多层阻板并经过去活处理。它不含玻璃毛，因为玻璃毛会导致活性化合物降解。在合适的进样速度下，衬管有足够的容量满足 25 μL 的进样体积。

柱温箱程序与 PTV 参数的关系在图 1 中显示。柱温箱一开始为 40 °C，并且在进样/溶剂放空循环以及分析物不分流迁移到色谱柱的过程中保持这一温度。然后柱温箱快速升温至 110 °C，化合物分离速度也随之减慢。该实验使用的是 240V 柱温箱，但使用 120V 柱温箱同样能实现表 1 所示的升温速率。

HP-5MSi 色谱柱专为惰性而设计，非常适合于本方法。HP-5MS 是环境实验室中最普及的色谱柱的最新款。色谱柱在 1.5 mL/min 的恒流模式下运行以维持峰形和灵敏度。

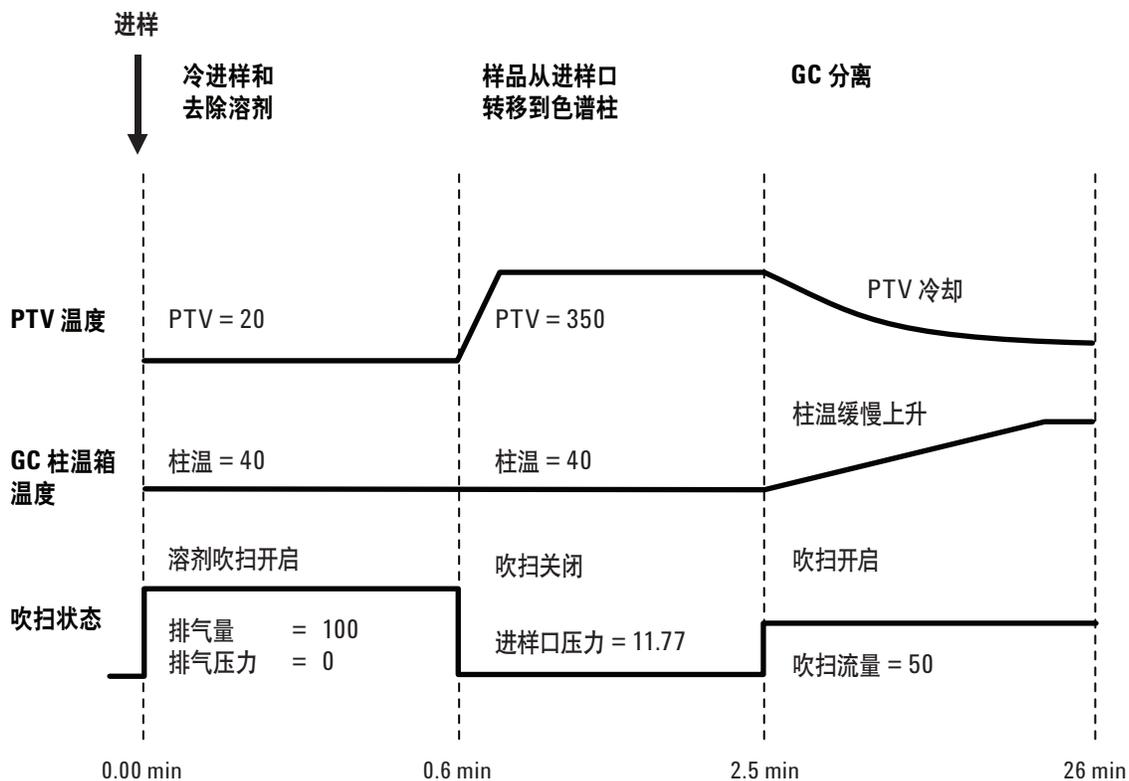


图 1. PTV 温度及流量程序。

该系统中保留时间锁定为 12.700 分钟处的菲-d10。GC/MSD 系统保留时间锁定的基本原则见参考文献 3。对该分析而言，保留时间锁定的最大好处在于维持恒定的 SIM 组切换次数。色谱柱被剪短后，只需要重新运行并分析被锁定的标准品就能够重新确定变化了的保留时间。定量数据库和积分事件的次数均不需改变。要查看详细描述保留时间锁定众多优势的其他应用摘要，请登录网站：www.aglient.com/chem。一个高产的实验室几乎不会使用一个涉及众多 SIM 组却没有保留时间锁定功能的分析方法。

已有报道指出，使用 6 mm 抽出式透镜代替标准的 3 mm 透镜能够提高宽校准范围内的线性度 [4]。尽管本应用使用一个较低浓度的校准范围，但 6 mm 透镜仍然能有效改善线性度。相对其带来的线性改善，使用 6 mm 透镜导致的信噪比损失即使在低浓度水平也是极小的。该 6 mm 透镜也包含在安捷伦部件号 G2860A 的工具包中。

尽管校准过程用的是 SIM 数据，但表中也列出了扫描参数。所有运行在同步 SIM/Scan 模式下进行，单次进样同时得到 SIM 和扫描的数据。用采样速率 1 结合 5975C 较低的噪音特性来优化信噪比。该这一采样速率下，在 45 到 450 的质量数范围内，一个出峰过程中能做近 10 次扫描。如果有足够多的全扫描数据，就可以用它们来鉴定在谱库搜索中查不到的未知物质。如果不需要全扫描数据，可以关闭 SIM/Scan 模式而只开 SIM 数据采集。这将使一个峰的数据点数目增加至原来的两倍。

AutoSIM 设置与定量数据库配合使用以选择离子、SIM 组和切换次数。关于 AutoSIM 的详细信息见参考文献 5。从 AutoSIM 得到的 SIM 采集表只需做两处修改就可以直接用。特丁噻草隆 (离子 156) 和三环唑 (离子 189) 是已知的峰形较差的化合物。它们的靶离子和辅助定量离子在洗脱峰出现的过程中手动添加到离子组中。所有内标 (ISTD) 和替代标准品 (SS) 都使用一个靶离子和一个定性离子。如果在谱图中有足够的丰度，对于其他所有的分析物都要使用一个靶离子和两个定性离子。平均每个峰用 10 个 SIM 数据点来做校准。

离子源温度采用 300 °C 而不是常用的 230-250 °C 范围。使用这一更高的温度可以减小峰拖尾，因而提高了对多环芳烃 (PAH) 的检测灵敏度 [6]，并改善了对于半挥发物的分析性能 [2]。

对于单一组分的分析物，用二氯甲烷配制校准标样。对于毒杀芬或多氯联苯，不配制标样。市售混合物中不含砷拌磷和乙拌磷砷。用乙酸乙酯配制了单独的校准标样系列。

结果与讨论

用二氯甲烷配制的标准品在四个浓度水平上对系统进行校准，即 0.1, 1.0, 10 和 100 ppb。公认峰形差的特丁噻草隆是唯一在最低浓度下响应不足的分析物。图 2 显示 1.0 ppb 的浓度在 SIM/Scan 模式下得到的 SIM 总离子色谱图 (TIC)。每一校准浓度下有 108 种化合物以及浓度均为 50 ppb 的三种内标和四种替代标准品。通过某些方法对确定中间校准浓度，但在这里并不需要用它来证明系统的性能。

采用表 1 中列出的 PTV 参数得到了最好的总体效果。成功的 PTV 进样意味进样速度、温度、放空流量以及放空时间得到平衡。

尝试了三个进样速度：150、100 和 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。更快的进样速率对大多数分析物而言，不论其保留时间 (RT) 是多少，都将导致它们的丰度降低。样品在溶剂挥发前通过衬管，并被吹出放空管线。

PTV 的初始温度设定为 10、20、30 和 40 °C。更高的温度会导致早期洗脱物的损失，因为这些化合物的挥发性与溶剂的挥发性相近。较低的温度能够保留早期洗脱物，但不利于溶剂放空。

放空流量设定为 50、100、200 和 300 mL/min 。流速增快或放空时间延长会降低早期洗脱物的回收率。而流速降低或放空时间缩短则会使溶剂过多存留在柱子上，从而导致色谱图变差。最小放空时间必须与进样时间相匹配。在本应用中，进样过程用了 0.5 min (25 μL ，以 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度)，所以放空时间选择的是 0.6 min。

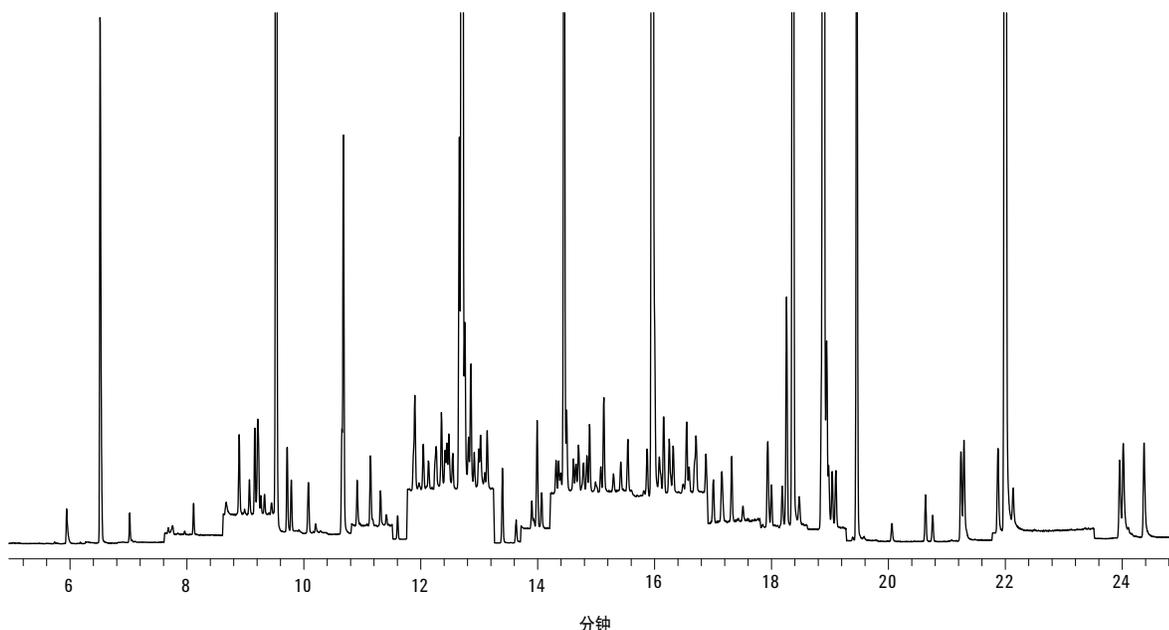


图 2. SIM 总离子流图: 1.0 ppb, SIM/Scan 模式

某些方法中用乙酸乙酯作为固相萃取的溶剂。使用由乙酸乙酯配制的标样进行校准的效果不如由二氯甲烷配制的标样。乙酸乙酯不能均匀润湿固定相，从而产生畸形峰，因为 PTV 不能 100% 地去除溶剂。乙酸乙酯的沸点高，但相应地调节 PTV 参数会导致早期洗脱物显著损失。一般地，对定量回收率有要求的最早洗脱物的洗脱温度至少要比溶剂沸点高 100 °C。乙酸乙酯也可以成功应用，但对某些分析物来说，其最低校准点可能会偏高。

可以用校准范围内每个化合物的相对响应系数 (RRF) 的百分比相对标准偏差 (%RSD) 来确定线性。由 GC/MSD 化学工作站软件自动计算得出 %RSD 和 RRF 的值，并以 Excel 文件格式给出报告。由于 %RSD 依赖于所采用的方法，因此它不存在适当与否的问题。比如，U.S. EPA 方法 525 所定的标准是 < 30% RSD，但这只是针对一部分化合物而言。表 2 列出了所选化合物 RRF 的 %RSD。

表 2. 选取的分析物的信噪比及线性度

化合物	保留时间	靶离子	信噪比 100 ppt	%RSD
敌敌畏	7.01	109	6.5	4
速灭磷	8.90	127	7.1	17
西玛津	12.24	201	4.8	6
阿特拉津	12.35	200	20	6
五氯酚	12.48	266	22	24
毒死蜱	14.78	197	2.7	12
2,2',3',4,6'-五氯联苯	15.55	326	12	9
苯线磷	16.30	303	3.2	25
p,p'-DDT	18.00	235	13	9

乍看之下, 某些 %RSD 值较高, 比如五氯酚 (PCP) 和有机磷农药 (OPP)。PCP 是有名的难降解化合物, 通常是在较高的浓度水平下对其进行分析, 如方法 525。OPP 非常活泼, 因此系统的惰性对成功分析而言至关重要。考虑到这些以及比较宽的校准范围, 表中给出的数据已经是非常好了。作为对系统线性的一项附加的总体评价, 本研究中 SIM 数据所有 %RSD 的平均值是 12%。邻苯二甲酸盐在低浓度水平很容易被检测, 它不在这一总体数字之列是因为常见的实验室污染并不包含它。SS 的 %RSD 处在 2%-4% 的范围内, 表明重复性良好。

作为进一步评价系统惰性的指标, p,p'-DDT 的 %RSD 是 9%。在一个活泼的系统中, 其降解产物是 p,p'-

DDD 和 p,p'-DDE。它们的 %RSD 分别是 6% 和 4%, 说明降解很少。还使用经典的 U.S. EPA 标准对含有 p,p'-DDT 和异狄氏剂的单个混合物的降解情况进行了分析。p,p'-DDT 的降解率是 1.2%, 异狄氏剂的降解率是 1.9%, 均远低于规定的 15%。

表 2 中还列出了信噪比。计算时用的是峰-峰噪音, 因为这是辨识分析物所必需的。阿特拉津和 PCP 有着足够高的信噪比值, 因此可以对它们在更低的浓度下进行校准和测定。毒死蜱和苯线磷的 S/N 值低于 5, 接近再现积分限和定量限。图 3 给出了 PCP 和毒死蜱的提取离子。所有分析物的 S/N 都足以保证在 100 ppt 水平上成功地进行校准。

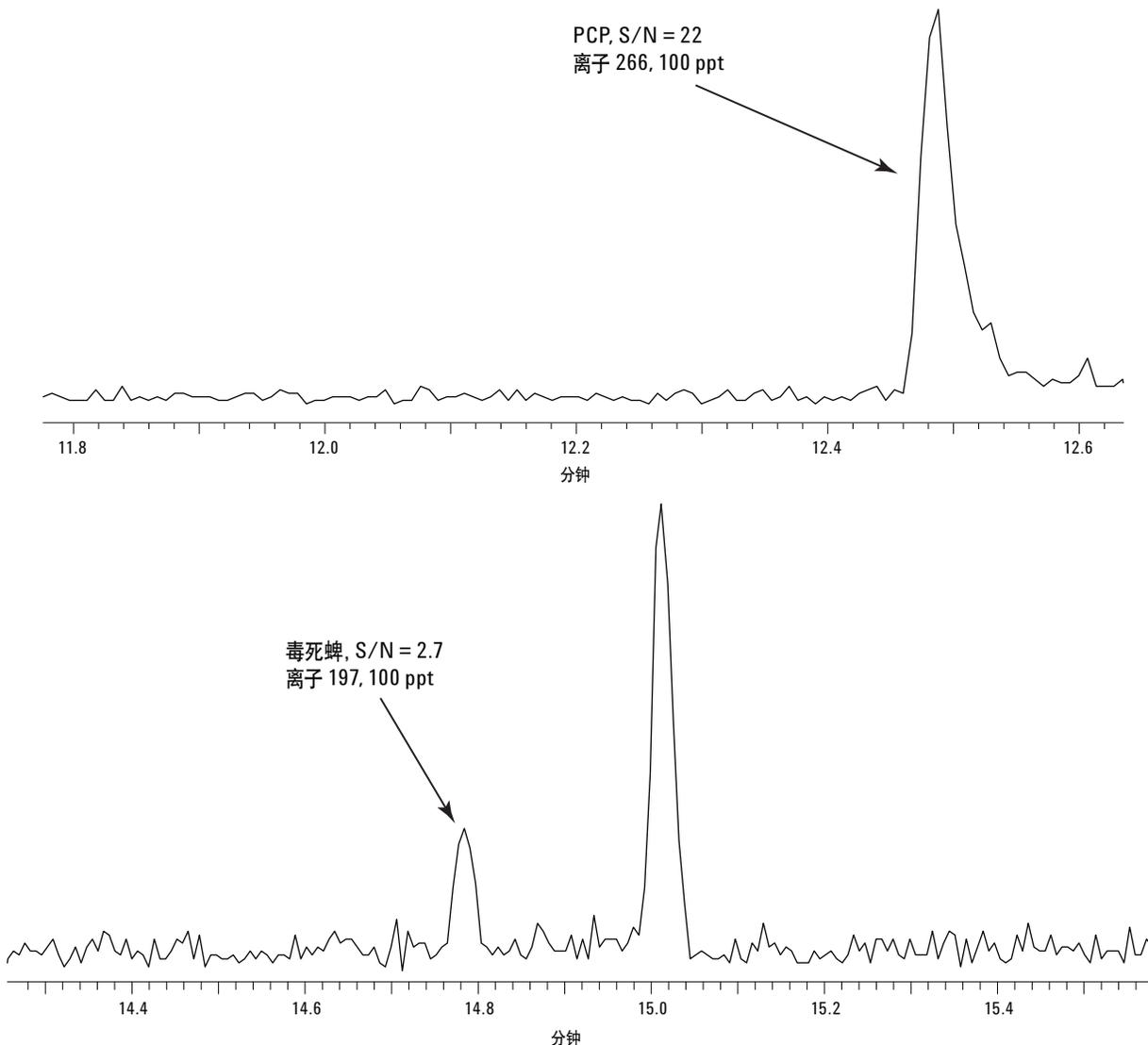


图 3. 五氯酚 (PCP) 和毒死蜱的提取离子。

为了得到更低的校准浓度和方法检测限，实验室可以减少样品的制备量，如表 3 所示。第一个“传统的”色谱柱采用 1 L 水来萃取，浓缩至 1 mL，进样量为 1 μ L。在扫描模式下，该方法的最低校准浓度可以达到 100 ppb (0.1 ppm)。如本应用所述，“7890A-5975C”色谱柱在样品制备方法相同的情况下将灵敏度提高了 1000 倍，达到 ppt 级。“快速制备”柱萃取仅用了 10 mL，但比起“传统”柱仍然将方法限降低了 10 倍。萃取 10 mL 样品显然比萃取 1 L 更容易、更快速。萃取物浓度更低时还能得到更好的回收率。快速筛选萃取直接用 2 mL 带一体式尖底的顶空样品瓶 (安捷伦部件号 5182-3454) 进行。用自动进样器针头从顶空样品瓶底部吸取二氯甲烷萃取物。调整这些例子中的变量可以得到最高的灵敏度并尽可能缩短样品制备时间。

结论

改变传统的半挥发物分析方法可以得到更好的检测限。大体积进样-程序升温气化进样口，结合选择性离子监测能使校准浓度达到 100 ppt 水平。在所用的宽校准范围内线性良好，对于活性分析物也是如此。使用保留时间锁定通过保留 SIM 组切换次数节省了分析时间。7890A 通过快速柱温箱冷却减少了循环次数。实验室可以通过减少样品制备量达到进一步降低方法校准限或者节省时间的目的。

参考文献

1. U.S. EPA 方法 525.2 可以从下面网站所列的不同来源获得：
www.epa.gov/OGWDW/methods/where.html
2. M. Szelewski, “使用 6890N/5975B Inert GC/MSD 分析饮用水中的半挥发物”，安捷伦科技出版物 5989-5421CHCN。
3. K. Weiner, N. Mata, P. Wylie, “Retention Time Locking with the G1701BA MSD Productivity ChemStation”，安捷伦科技出版物 5968-3433E。
4. M. Szelewski, B. Wilson, P. Perkins, “高性能 Agilent 6890/5973 气质联用系统用于美国 EPA 8270 分析方法”，安捷伦科技出版物 5988-3072CHCN。
5. H. Prest 和 D. Peterson, “New approaches to the development of GC/MS selected ion monitoring acquisition and quantitation methods”，安捷伦科技出版物 5988-4188EN。
6. M. Szelewski, “使用安捷伦科技公司的 6890/5975 惰性 GC/MSD 进行同步 SIM/Scan 低水平多环芳烃分析”，安捷伦科技出版物 5989-4184CHCN。

表 3. 样品制备和校准限

	传统	7890A-5975C	快速制备	快速筛选
样品浓度, ppb	0.1	0.0001	0.01	0.02
最低校准浓度, ppb	100	0.1	0.1	0.1
进样体积, μ L	1	25	25	25
萃取物体积, mL	1	1	1	0.25
样品量, mL	1000	1000	10	1.25

更多信息

有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem。

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本资料中涉及的信息、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，2007

中国印制
2007年4月13日
5989-6589CHCN