

采用安捷伦的多模式进样口 (MMI) 容易实现更低的检测限

应用文摘

所有行业

作者

Bill Wilson and Chin-Kai Meng
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
美国

摘要

本文讨论三种进样技术：多模式进样口上可以实现的热不分流、冷不分流和溶剂放空模式。冷不分流和溶剂放空模式进样允许分析人员通过大体积进样 (LVI) 实现更低的检测限。40 ppb 的农药标准品采用 2 μL 热不分流进样、10 μL 冷不分流进样和 25 μL 溶剂放空进样的总离子流色谱的重叠图说明使用 LVI 改善了信噪比。



Agilent Technologies

前言

越来越多的分析人员正在研究大体积进样(LVI)技术来改善现有的分析。采用毛细管气相色谱传统的液体进样技术,大部分进样口和色谱柱能够一次进样 1 – 2 μL 。试图增大进样体积会导致谱带展宽、峰形变差、溶剂峰严重拖尾、检测器饱和或者损坏。

增大进样体积的目的一般是改善痕量分析的检测限。通过在系统中引入更多的样品,到达检测器的被分析物的量会成比例地增加,得到更大的峰面积和峰高。如果基线噪声不变,更大的峰高意味着更高的信噪比和更低的系统检测限。LVI 的另一个优点是能够减少预处理的样品量。通过注射 10 – 100 倍的样品体积并在进样口进行浓缩,样品制备可以从 10 – 100 倍于较小样品体积开始,而且仍然能达到色谱柱上相同质量的被分析物。采用 LVI (溶剂放空)的另一个优点是减少了实际进入检测器的溶剂量。一般来说,只有 10 – 30%的进样溶剂实际进入色谱柱并进入检测器。

LVI 可以采用的进样体积从几微升到 1 mL,甚至更大。在大部分 LVI 方法中,样品溶剂在被分析物转移进入分离柱之前就挥发并被从系统中除去。这样,LVI 就与氮吹挥发溶剂或旋转蒸发溶剂类似,只是增加了一个优点,即在 GC 进样口,而不是在通风橱中进行。在氮吹挥发过程中可能损失的被分析物可以保留在进样口,并通过 LVI 进行分析。更重要的是,LVI 过程可以自动化,而且是可重现的。如在其他蒸发技术中一样,LVI 方法是依据溶剂类型、进样口温度、蒸发气的放空流速和被分析物的沸点而实现。此外,挥发过程中的进样口压力和进样口衬管都能影响溶剂的除去速率和被分析物的回收率。本文将讨论这些参数的影响。

实验部分

MMI 操作模式

安捷伦的多模式进样口(MMI)使用与标准分流/不分流进样口相同的衬管和耗材,使之与已有的热分流和不分流方法相兼容。其操作模式包括:热分流/不分流(也可用在脉冲模式)、冷分流/不分流(也可用在脉冲模式)、溶剂放空和直接模式。

热不分流(用于 1 – 3 μL 的进样量)

对于大部分考虑 LVI 的分析人员,他们现在用的方法是热不分流进样。这一成功而可靠的样品引入技术已经很好地工作了将近 40 年;然而,对于样品的一致性,以及对于方法开发者,它仍然有一些挑战。首先,进样口必须足够热,以快速蒸发溶剂和被分析物,从而将样品蒸汽转移进入色谱柱。进样口衬管的体积必须足够大,以容纳这些样品蒸汽。如果衬管体积太小,蒸发的样品就会溢出衬管而接触到反应性表面,导致被分析物损失。此外,蒸发样品产生的压力波动可能将进入进样口的载气反推进入灵敏的压力和流速控制系统。使用安捷伦的压力/流速计算软件[1],在 240 $^{\circ}\text{C}$ 和 14.5 psig 条件下进入进样口的 1- μL 丙酮就会膨胀为 288 μL 的气体。大部分标准分流/不分流进样口的衬管具有 1 mL 的标称体积。在此条件下只要增大进样体积到 3.5 μL 就会产生 1 mL 的蒸汽,这很容易造成进样口衬管的溢出。

热不分流进样还会对热不稳定的或者活性分析物造成不利的环境。诸如有机氯农药 DDT 和艾氏剂 等化合物就会重排而形成分解化合物。通常用于分析它们的进样口温度会加速这一分解过程。衬管的有效化学脱活可以最大程度地减少被分析物的分解。然而,高的进样口温度能够缩短脱活衬管的寿命。

热不分流进样另一个挑战是造成针头分馏或分析物歧视。因为针头与隔垫接触,故当样品从进样针转移到进样口时,针头的温度是增加的。针头温度的升高可以引起溶剂“沸腾”而快速跑掉,而高沸点被分析物沉积在针头内。为了避免这一分馏问题,某些分析人员首先在进样针内抽入一段溶剂,然后再抽入需要的样品体积(7693A 自动液体进样器有此功能)。此想法是先抽入的一段溶剂将会把任何沉积的被分析物冲洗出针头而进入进样口。解决这一问题的有效方法是采用高速进样。这可以最大程度地缩短针头与隔垫接触的时间,以及样品接触针头的时间。即使有这样的问題,热不分流进样仍然是广泛采用的技术。用一种替代的技术,如冷不分流进样也可以解决这些问題,并改善分析结果。

冷不分流(用于 1 – 10 μ L 的进样量)

MMI 的多用途温度程序使之能够实现冷分流和冷不分流分析。在冷不分流模式中，MMI 被冷却到样品溶剂的标准沸点以下，以至于进样时不发生挥发。这样的进样仅仅是将液体从进样针转移到进样口。一旦进样针从进样口移走，进样口就加热挥发样品，并将样品转移到色谱柱。溶剂首先挥发转移到色谱柱，被分析物则可以像在常规热不分流进样中那样发生聚集。接着，被分析物蒸发进入色谱柱。主要的优点是被分析物在尽可能低的进样口温度下气化，而不是在恒定的高温下气化。这就最大程度地减少了热降解，同时仍然可以使各种被分析物气化。冷不分流进样操作也不像热不分流那样对衬管施加加热应力，故延长了衬管的使用寿命。冷不分流进样在某些情况下还可以加大进样量。如果采用缓慢的进样口升温程序，溶剂的气化也慢一些，不会造成衬管体积的溢出。只要被分析物在色谱柱再聚集，缓慢的进样口温度程序不会对色谱分离造成不利影响。

溶剂放空(用于 5 – 1000 μ L 的进样量)

溶剂放空模式是能够使 MMI 实现大于 5 μ L 的大体积进样的方法。在溶剂放空模式下，进样口在样品注射过程中保持在低的初始温度。从气路上看，进样口处于分流模式，进样口压力较低。通过进样口衬管和流出发空口的气流将挥发的溶剂带走。样品的注射速度要慢，这样使得进来的液体沉积在衬管壁上，溶剂以相似的速率气化。一旦完成所有样品的注射，进样口就切换到不分流模式以转移被分析物。然后加热进样口气化浓缩的样品，任何残留的溶剂及其蒸汽均转移进入色谱柱。在足够时间确保样品转移之后，进样口再切换到吹扫模式，从而使残留在进样口衬管中的样品放空。在样品注射和溶剂放空期间，GC 柱温箱一直保持在适当的温度，以允许溶剂在色谱柱上再聚焦被分析物。完成再聚焦之后，柱温箱进行程序升温以实现分离。

LVI 方法开发

在 MMI 上开发 LVI 方法的有效程序是首先运行已有的方法以确定小体积进样的峰面积。这一结果作为评价 LVI 方法性能的基本值。下一步是切换到溶剂放空模式，采用稍微大一些的进样体积(比如，大 2 到 5 倍)。通过比较所得峰面积并考虑增大进样体积，可以计算被分析物的回收率并进一步优化条件。

反吹

传统除去后流出组分的烘烤色谱柱措施对于复杂基质的样品是很费时的，甚至分析时间也很长。微板流控装置(在此情况下是一个吹扫的两通接头)提供反吹的功能[2, 3]。“反吹”这个术语是指通过使色谱柱内的气流方向反转而迫使色谱柱内的样品组分反向从色谱柱的进样口端流出。在最后一个感兴趣的化合物流出色谱柱之后立即反转色谱柱流向，可以消除长的烘烤强保留组分时间。所以，最大程度上减少了色谱柱的流失和鬼峰，延长色谱柱寿命，减少 MS 离子源的清洗频次。分流出口捕集管可能需要比平时更经常地更换。

仪器参数

GC	Agilent 7890A
MS	Agilent 5975C MSD
色谱柱	HP-5MS UI, 15 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m (19091S-431UI), 从进样口到吹扫接头
MMI	恒压(~18 psi), 甲基毒死稗的保留时间锁定到 8.297 min, 运行后在 2 psi 的压力下反吹
MMI 衬管	双锥型, 脱活, Helix (5188-5398)
隔垫吹扫	3 mL/min
吹扫接头	4 psi; 运行后在 70 psi 压力下反吹
限流器	0.7 m \times 0.15 mm 脱活熔融石英毛细管 (从吹扫接头到 MSD)
进样针	10 μ L, 用于不分流进样(5181-3354) 50 μ L, 用于溶剂放空模式(5183-0318)
自动进样器	Agilent 7693A
MS 参数	
溶剂延迟	2.5 min
增益因子	1
质量范围	44–550
阈值	0
样品	2
调谐文件	atune.u

柱温箱

初始温度	70 °C
初始保持时间	1 min
升温速率 1	50 °C/min
温度 1	150 °C
保持时间	0 min
升温速率 2	6 °C/min
温度 2	200 °C
保持时间	0 min
升温速率 3	16 °C/min
温度 3	280 °C
保持时间	5 min
总运行时间	20.933 min
后运行	5 min (反吹)
后运行柱温箱温度	280 °C

样品: 40 ppb 农药标样的丙酮溶液(化合物列表见图 5)。

多模式进样口 (MMI)

参数	热不分流	冷不分流	溶剂放空
初始温度	280 °C	30 °C	35 °C
初始时间	–	0.01 min	0.35 min
升温速率 1	–	700 C/min	700 °C/min
最终温度	–	320 °C	320 °C
放空流速	–	–	150 mL/min
放空口压力	–	–	5 psig
放空时间	–	–	0.33 min (由计算器得到, 图 3)
吹扫时间	0.75 min	1.25 min	1.5 min
吹扫气流	50 mL/min	50 mL/min	50 mL/min
进样量	2 µL	10 µL	25 µL
进样速度	快	快	75 µL/min (由计算器得到, 图 3)
冷却	–	开 (液态 CO ₂)	打开 (液态 CO ₂)
冷却失效检测	–	打开	打开
冷却使用温度	–	125 °C	125 °C
超时检测	–	打开 (15 min)	打开 (15 min)

25 µL 溶剂放空进样的参数是通过集成在化学工作站上的溶剂消除计算器确定的。这一计算器的设计是为了帮助确定 LVI 方法合理的起始条件。当把 MMI 进入到 PTV 溶剂放空模式时, 在进样口界面会出现一个附加按钮, 如图 1 所示。

在溶剂消除计算器(图 2)的第一个界面上, 要选择和输入样品溶剂和希望的进样体积。计算器“识别”当前安装的进样针, 且只允许一次注射 50%的体积。可以给计算器输入更大的进样体积, 但这样的数值将不被下载。计算器还需要最早流出的被分析物的沸点数据, 因为, 这样才可选择初始进样口温度。如果沸点为未知, 温度可设置为 150 °C, 因为这一温度适合于大范围被分析物。

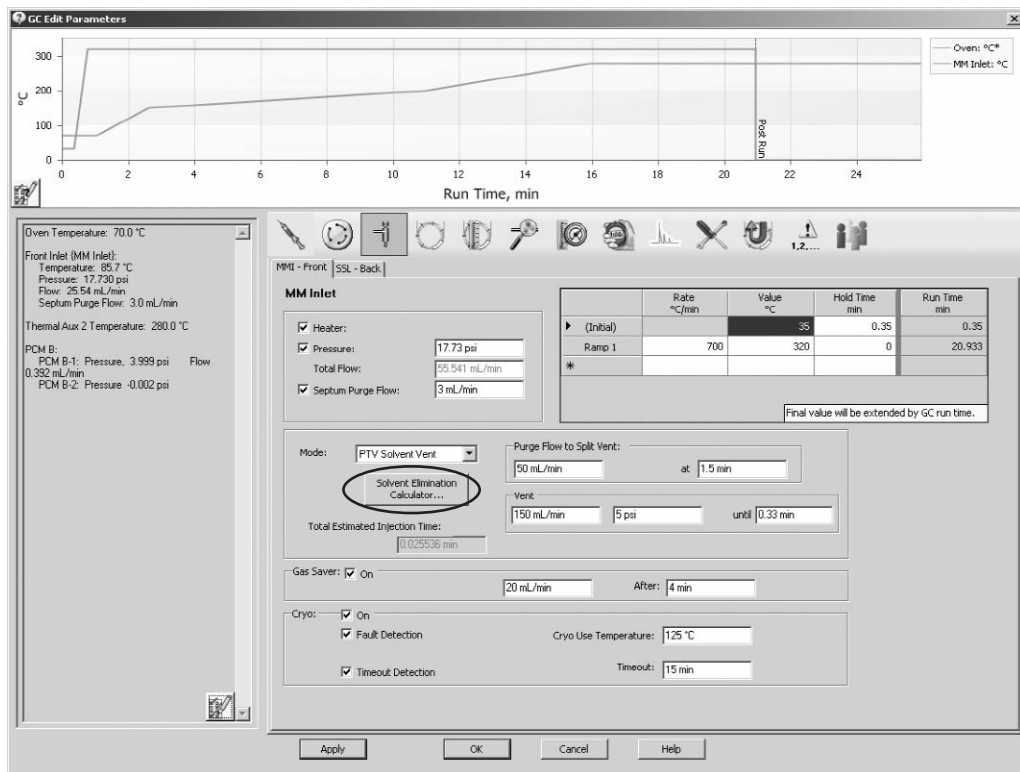


图 1. 多模式进样口“溶剂消除计算器”嵌在化学工作站中，方便方法开发

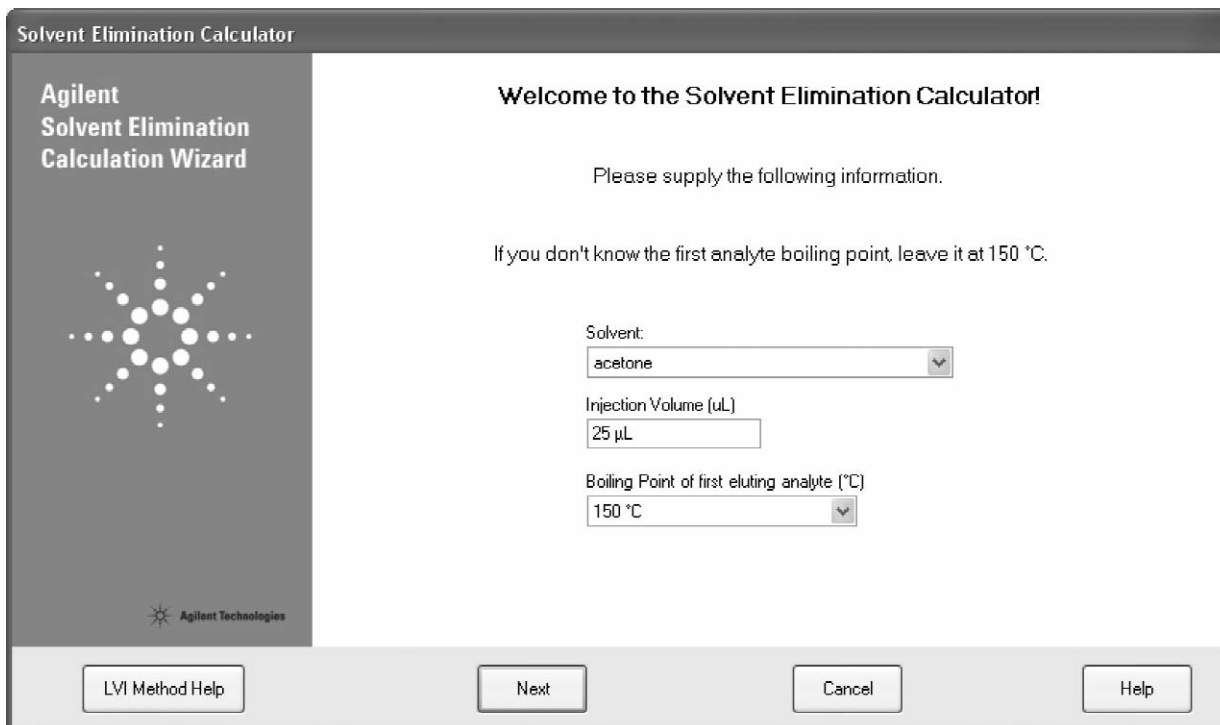


图 2. 选择溶剂选项，输入进样体积就开始计算

图 3 所示为计算界面。该计算器使用一组进样口条件初始设置，根据基本理论[4]来确定溶剂消除速率。这一“消除比率”并不考虑 LVI 的其他特殊因素(比如溶剂蒸发引起的局部冷却)，通常比实际实验确定速率的要快一些。“建议的进样速度”也不考虑这些因素，其设计是要在放空结束时在衬管中留下少量的溶剂。留下的溶剂作为易挥发被分析物的液体“捕集阱”，以提高它们的回收率。“建议的放空时间”是通过进样体积除以“建议的进样速度”得到的。

确定消除速率的几个变量可以由用户在窗口下方进行设置。进样口温度小的变化对消除速率有明显的影响。放空流速具有线性的作用，即放空速率降低两倍，消除速率也降低两倍。随着放空压力的降低，消除速率会增加。记住，放空压力还影响放空期间进入色谱柱的溶剂量。随着放空压力的增加，在分析物被转移之前，会有更多的溶剂进入色谱柱。最后，溶剂的类型，特别是其标称沸点点对消除速率有重要的影响。

Solvent Elimination Calculator

Agilent
Solvent Elimination
Calculation Wizard

Calculated values will change each time an input parameter is modified.

Elimination Rate (µL/min) 149.80 Suggested Injection Rate (µL/min) 74.90 Suggested Vent Time (min) 0.33

Inlet Temperature (°C) 35
Vent Flow (mL/min) 150
Injected Volume (µL) 25.0

Vent Pressure (gauge) 5.000
Outlet Pressure (gauge) 0.000

Solvent acetone

kPa
psi
bar

LVI Method Help Previous Next Cancel Help

图 3. 计算器根据所选进样口温度和放空流速计算进样速度和放空时间

图 4 中的下载界面显示所有下载到编辑参数界面的方法参数变化。复选框允许用户接受(通过检查)或拒绝这些参数的任何一个。柱温箱初始温度和保持时间在方法需要这些参数保持不变的情况下(比如, 保留时间锁定的方法)不会自动检查。

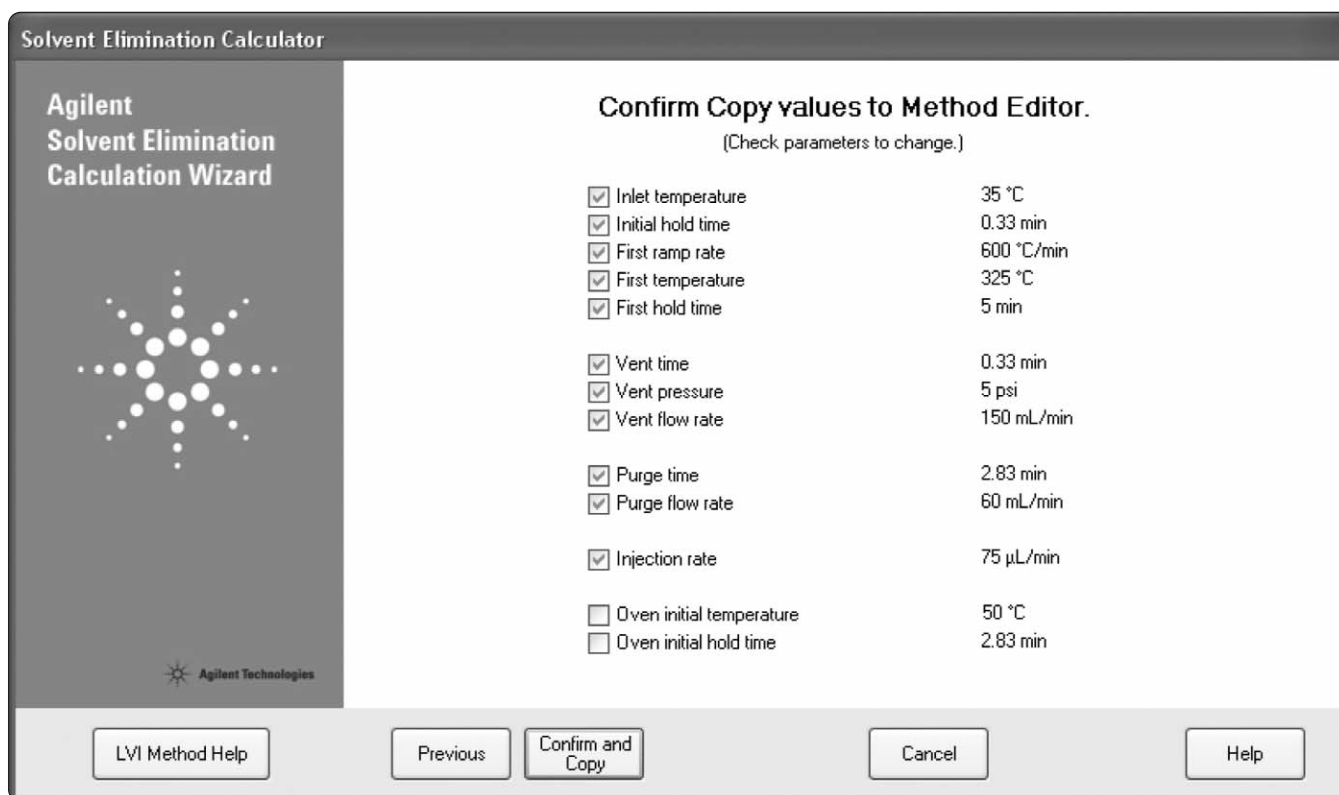


图 4. 计算器建议的验证值下载到化学工作站

结果与讨论

图 5 比较了采用三种进样模式 40 ppb 标准溶液的反应。

下面的总离子流色谱图(TIC)是典型的 2 μL 热不分流进样结果。40 ppb 农药的峰刚刚可见(每种分析物在柱上的量是 80 pg)。中间的 TIC 是来自 10 μL 的冷不分流进样。MMI 初始温度为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。在

此 TIC 中, 每种被分析物在柱上的量是 400 pg。最后, 上面的 TIC 是来自 25 μL 的溶剂放空进样, MMI 的初始温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ 。如在前言部分所指出的, 在此 TIC 中, 信噪比明显优于热不分流进样的 TIC (下面的 TIC)。峰形和分离度保持了不变, 即使采用 25 μL 的进样体积。这说明大部分溶剂在进样过程中被消除了。

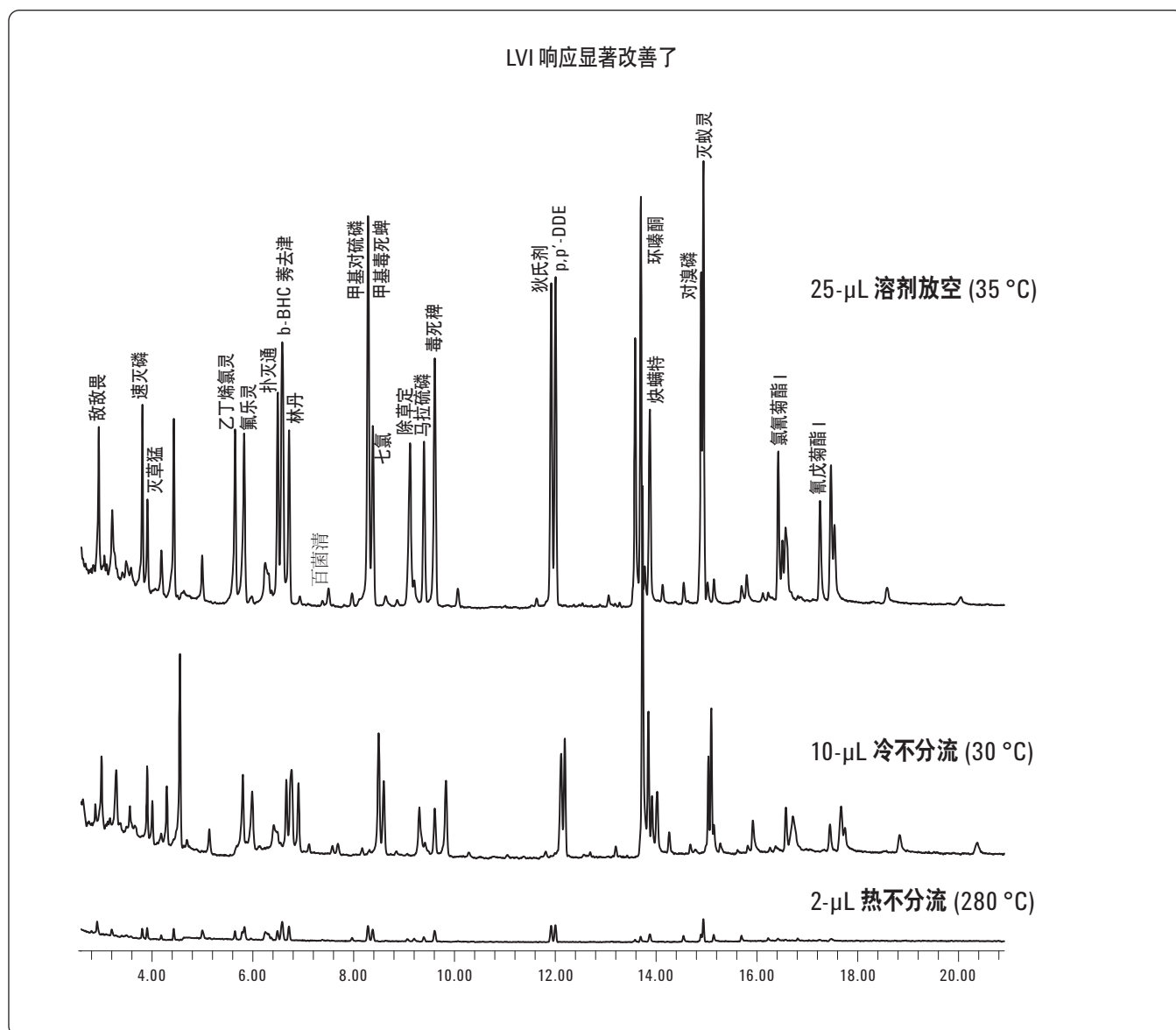


图 5. 三种进样模式的总离子流色谱图 (TIC) 的重叠, 坐标刻度一致

结论

新的安捷伦多模式进样口(MMI)具有与现有分流/不分流进样口相同的形成因素和使用相同的消耗品(比如,衬管、O-形环和隔垫),可以重复现有热不分流方法。此外,程序升温可以实现冷不分流和大体积进样(LVI)方法,从而改善检测限。集成的溶剂消除计算器软件提供一组初始条件的完整设置,已便于LVI方法开发。应用结果说明,25 μL 溶剂放空进样与2 μL 热不分流进样相比,显著地改善了信噪比(更低的检测限)。

参考文献

1. 安捷伦的压力/流速计算器包含在仪器的应用 DVD 中,每台气相色谱仪和 MMI 附件组合都会提供。
2. 孟庆凯,“采用反吹改善工作效率并延长色谱柱寿命”,安捷伦科技出版物 5989-6018EN,2006 年 12 月。
3. Matthew Klee,“使用安捷伦 6890 GC 运行后命令简化反吹”,安捷伦出版物,5989-5111EN,2006 年 6 月。
4. J. Stanieski and J. Rijks, *Journal of Chromatography* 623 (1992) 105-113.

如需了解更多信息

有关我们产品和服务的更多信息,请访问我们的网站:
www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司对本资料中所包含的错误，以及由于使用本资料所引起的相关损失不承担责任。

本书中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司版权所有，2009

中国印刷

2009年6月18日

5990-4169CHCN



Agilent Technologies