

使用安捷伦自清洁离子源和增强型 PAH 分析仪进行优化的 PAH 分析

应用简报

PAH, 环境保护, 气相色谱, 质谱, 半挥发性有机物

作者

Mike Szelewski 和
Bruce D. Quimby
安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808

摘要

安捷伦增强型 PAH 分析仪采用自清洁离子源的连续清洁模式进行多环芳烃 (PAH) 分析。本分析同时采用了 Agilent 5977A 系列 GC/MSD 系统和 Agilent 7000B 三重四极杆 GC/MS 系统。对仪器所有的参数包括进样口、色谱柱和质谱等进行了测试和优化。在 1–1000 pg 的校准范围内, 校准方程的线性和 ISTD 的重现性均得到大幅改善, 灵敏度也同样出色。



Agilent Technologies

前言

PAH 作为一种痕量污染物存在于贝类和海鲜等食品中以及空气、水和土壤等环境介质中。PAH 有三种来源：

- **成岩作用** — 来源于与化石燃料相关的石油应用
- **高热作用** — 来自燃烧源
- **生物源** — 由自然界中的生物学过程形成

它们对水生生物具有毒性，也疑似人类致癌物。

PAH 的分析方法通常有 HPLC/UV、GC/FID、GC/MS 或 GC/MS/MS。

本应用简报将重点介绍 GC/MS 的 SIM 模式和 GC/MS/MS 的 MRM 模式。通常使用的校准范围为 1–1000 pg，可接受的线性范围为 $R^2 > 0.99$ 。内标峰面积 (ISTD) 在标准溶液和样品中的重现性分别为 $\pm 20\%$ 和 $\pm 30\%$ – 50% 。

PAH 的物理化学特性为分析带来了许多困难。它们的分子量和沸点范围很宽。尽管这类化合物活性不高或不易降解，但它们的粘度大，易于粘连在物体表面。此外，PAH 易于凝结（沉积），难以气化。因此，需要在高温条件下进行分析，此外还要尽量减小接触面积。晚流出的组分经常出现峰形拖尾，往往需要进行手动积分。曾经发生过内标 (ISTD) 在整个校准范围内的响应不一致的情况，导致线性不能满足要求。

自清洁离子源 (SCIS) 包括了特殊设计的辅助模块，可以将少量氢气直接引入离子源。在数据采集过程中以 0.075–0.2 mL/min 的低流速持续导入氢气。离子源在运行期间始终保持洁净。在获得高灵敏度的同时，不仅线性得到了改善，而且 ISTD 的响应也趋于一致。

本应用简报所使用的增强型 PAH 分析仪即包括了此 SCIS 系统。

实验部分

表 1 列出了推荐的仪器操作参数。这些参数都是专门针对 PAH 分析优化而得。

使用不分流进样以达到灵敏度的要求。进样口温度为 310–330 °C，该温度对晚流出组分的气化非常必要。为将 PAH 快速注入色谱柱，进样口采用 50 psi 的脉冲压力。脉冲压力持续整个不分流进样过程，大约 0.5–1.0 min。对于重组分的 PAH，采用冷不分流或溶剂放空模式进样的性能会变差。一旦这些组分沉积在进样口，就很难气化。

必须使用孔径 4.0 mm、带玻璃棉的直型衬管。玻璃棉会传热给 PAH，防止碎屑和污染物沉积到进样口底部。如果 PAH 沉积到进样口底部，就很难再气化进入色谱柱。

通过设置柱温箱程序可以在合理的时间内分离异构体。

30 m × 0.25 mm、0.25 μm 膜厚的 DB EUPAH 色谱柱是在本研究过程中开发出的新规格色谱柱。与分析仪之前使用的 20 m × 0.18 mm、0.14 μm 膜厚的色谱柱相比，采用这种新色谱柱可以实现 1–2 μL 进样，并且仍能保持良好的峰形。第一根色谱柱连接进样口和带吹扫的 Ultimate 两通接头 (PUU)。色谱柱中载气为恒流模式。第二根色谱柱连接 PUU 和 MS。该色谱柱被设置为分段的色谱柱，同样以载气恒流模式运行，因此整个系统都是恒流的。PUU 用于在每次运行后对第一根色谱柱进行反吹。

系统的保留时间锁定至 1-甲基菲 12.5 min 处。在对色谱柱进行切割后，只需再次运行和分析锁定的标准物质即可重置所有发生漂移的保留时间。无需更改 MRM 或 SIM 离子组时间、定量数据库输入条目和积分事件等。

组装分析仪时，将 3 mm 拉出极透镜更换为 9 mm 透镜。此款范围更宽的透镜在 1–1000 pg 的校准范围内获得了更好的线性和更小的沉积表面积，同时保持较高的灵敏度。

表 1. 气相色谱仪和质谱仪条件

GC 条件

GC	Agilent 7890A CG 系统或 Agilent 7890B GC 系统		
进样口	多模式进样口		
模式	脉冲不分流		
加热模块	320 °C		
压力	16.857 psi		
总流量	54.106 mL/min		
隔垫吹扫流量	3 mL/min		
隔垫吹扫模式	可切换的		
进样脉冲压力	50 psi, 持续至 0.9 min		
分流出口吹扫流速	0.9 min 分钟时 50 mL/min		
载气节省模式	关闭		
进样口衬管	安捷伦 4 mm 单细径锥衬管, 带玻璃棉, 部件号 5190-2293		
柱温箱	120 V		
柱温箱升温程序	温阶	°C/min	终温 °C 保持 (min)
	初始温度		80 1.00
	温阶 1	25	200 0.00
	温阶 2	8	335 6.325
总运行时间	29 min		
平衡时间	0.5 min		
柱温箱最高温度	340 °C		
色谱柱			
色谱柱 1	Agilent J&W DB-EUPAH UI 122-9632		
尺寸	30 m × 250 µm, 0.25 µm		
入口	前多模式进样口, 氦气		
出口	辅助 EPC 4		
压力	16.857 psi		
流量	1.1063 mL/min		
模式	恒流		
色谱柱 2	Agilent J&W 160-7625-5 Silcotek 去活管线		
整体尺寸	1.36 m × 150 µm, 0 µm		
色谱柱主要部分	1.19 m, 通过柱温箱加热		
色谱柱部分 2	0.17 m, 通过 Thermal Aux 1 加热		
入口	辅助 EPC 4, 氦气		
出口	MSD		
初始温度	80 °C		
压力	4.1242 psi		
流量	1.5 mL/min		
模式	恒流		
RTL	系统的保留时间锁定为 12.5 min 处的 1-甲基菲		

前进样口	Agilent 7693A 自动液体进样器
进样量	2.0 µL
注射器体积	10 µL
推杆速度	快速
洗针体积	3 µL
样品冲洗次数	1
样品抽吸次数	2
进样前溶剂 A 冲洗次数	0
进样前溶剂 B 冲洗次数	1
进样后溶剂 A 冲洗次数	3
进样后溶剂 B 冲洗次数	2
粘度延迟	1 s
进样前滞留时间	0 min
进样后滞留时间	0 min
Thermal Aux 1 (MSD 传输线)	
加热模块	开启, 320 °C
辅助 EPC 1, 氦气	通过该装置将氦气引入 SCIS
压力程序	开启
压力程序	50 psi
运行时间	29 min
辅助 EPC 2, 氦气	Aux 1 关闭时, 通过该装置引入氦气
压力程序	关闭
压力程序	30 psi
运行时间	29 min
辅助 EPC 3, 氦气	此为 Aux 1 或 2 的放气口
压力程序	开启
压力程序	3 psi
运行时间	29 min
APC	
辅助 EPC 4, 氦气	供给色谱柱 2
压力程序	初始压力 4.124 psi
运行时间	29 min
辅助 EPC 5, 氦气	关闭
辅助 EPC 6, 氦气	关闭
采集模式	SIM (MSD) 或 MRM (MS/MS)
溶剂延迟	5.00 min
调谐文件	atune.u 或 etune.u, 用于 MSD 调谐 Atunes.eiex.tune.xml, 用于 MS/MS 调谐
EM 增益因子	1.0
SIM 离子组数量	11
MS 组件	
MS 离子源	320 °C, 最高温度 350 °C
MS 四极杆	180 °C, 最高温度 200 °C

离子源的运行温度范围为 320–350 °C。在较低温度下运行离子源会导致峰拖尾。四极杆温度应为 180–200 °C。

将来自 Accustandard 或 UltraScientific 的标准贮备液稀释而得到标准溶液。稀释溶剂使用甲苯（推荐）或者异辛烷。ISTD 的浓度恒定为 500 ppb。本研究使用的标准物质（28–34 种 PAH）比分析仪测试混标（27 种 PAH）更加广泛。

结果与讨论

每种原始系统与各自优化后的分析仪相比，性能差异比较类似。本文分别对以 GC/MS 或 GC/MS/MS 为基础的配置系统进行讨论。

MSD 的灵敏度对比见图 1。最晚流出的 PAH 在 SIM 模式下的目标离子在采用和不采用 SCIS 持续清洁模式 (CCM) 两种条件下的谱图对比。基线高度的差异由调谐造成。通入氢气的时候，噪声出现了小幅上扬，因此信噪比 (S/N) 稍差。每组都间隔 6 次未显示的运行。图中显示的浓度为 500 fg，比最低校准浓度低 2 倍。这说明在 1–1000 pg 的校准范围内，系统仍有较好的灵敏度。

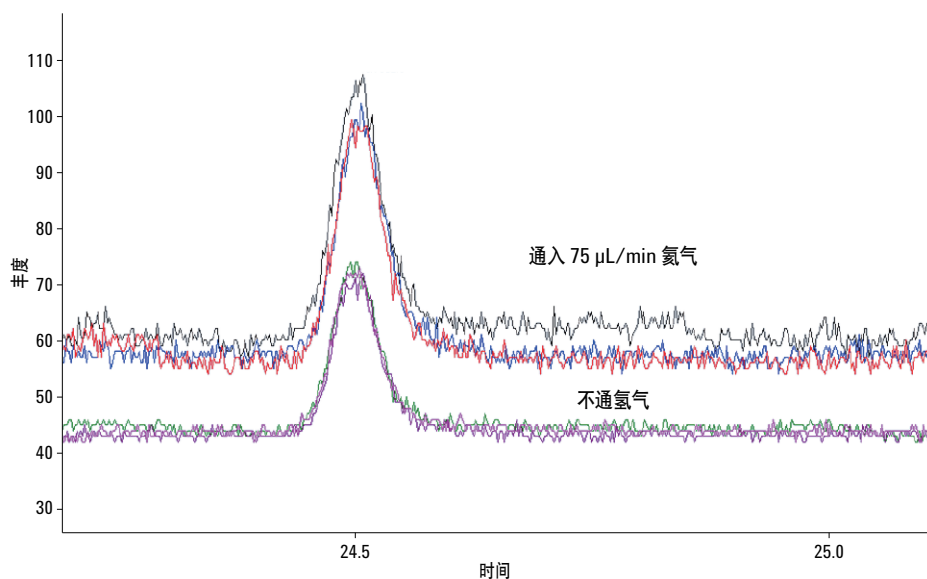


图 1. 500 fg 二苯并(a,i)芘在通入和不通入氢气下的信噪比较，分别运行 3 针

ISTD 响应的一致性如图 2 所示。用 5 种内标配置成 30 种 PAH 混标, 共 7 个浓度。对 ISTD 的响应根据校准系列最高浓度点的响应进行归一化作图。在离子源通入氢气的条件下, ISTD 的响应变化在 5% 以内。在原始系统中, ISTD 的响应随着标样浓度的下降而降低。此结果与标样的运行顺序无关。ISTD 响应的降低使定量难以准确进行, 而且还受样品中是否含有其他分析物的影响。图 2 中的数据均使用的是 9 mm 的拉出极透镜。

ISTD 在 GC/MS/MS 中的响应一致性如图 3 所示。校准浓度和混标同 MSD。这里使用的是标准的 3 mm 拉出极透镜, 不通入氢气。CCM 模式下使用 9 mm 拉出极透镜, 并通入 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ 氢气。3 天和 12 天后再次在 CCM 模式下运行。结果表明, ISTD 的响应一致性差异从约 35% 提高到了小于 8%。

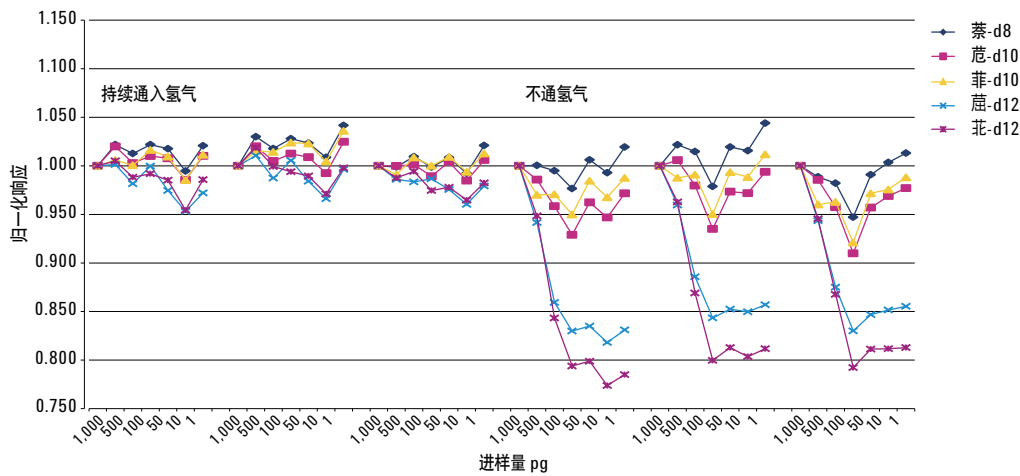


图 2. PAH 内标在不同校准浓度下的归一化响应。9 mm 拉出极透镜, 校准范围 0.5–500 pg, MSD, SIM 模式

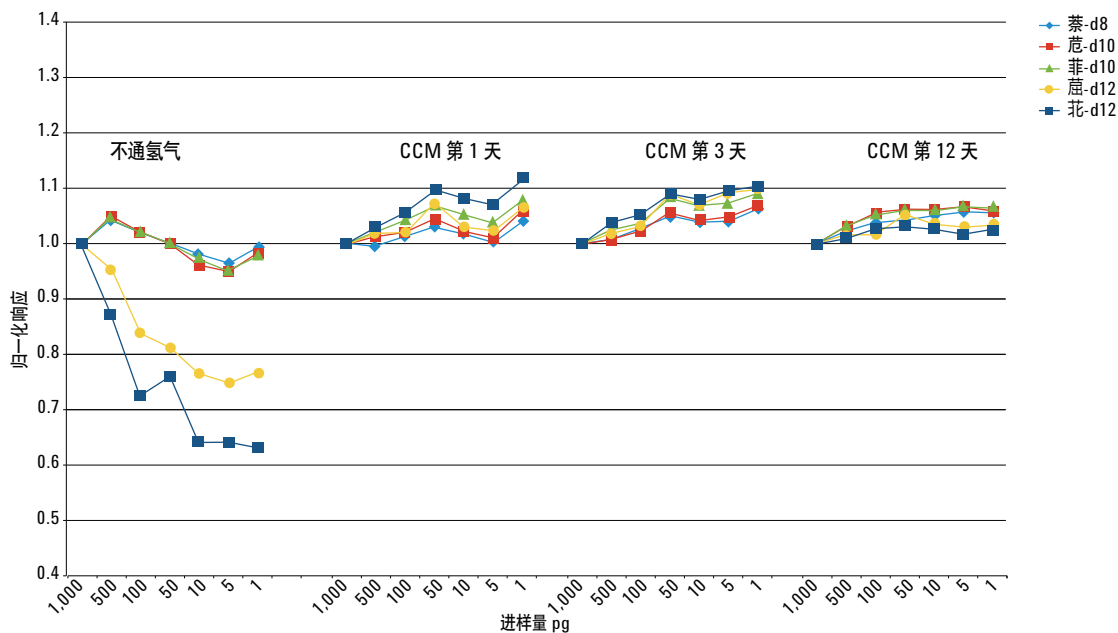


图 3. PAH 内标在标准系统与持续自清洁模式下的 Agilent 7000B 三重四极杆 GC/MS 系统中响应一致性的对比, 校准范围 1–1000 pg, MRM 模式

峰形对于积分、准确定量和重现性都至关重要。图 4 显示了 PAH 一部分的 MRM 总离子流色谱图，使用的混标和柱温箱程序略有不同。使用 CCM 模式下的 SCIS 得到的峰形较原始系统下的峰形有明显改善。图 5 为最晚流出的二苯并(a,l)芘的放大谱图。

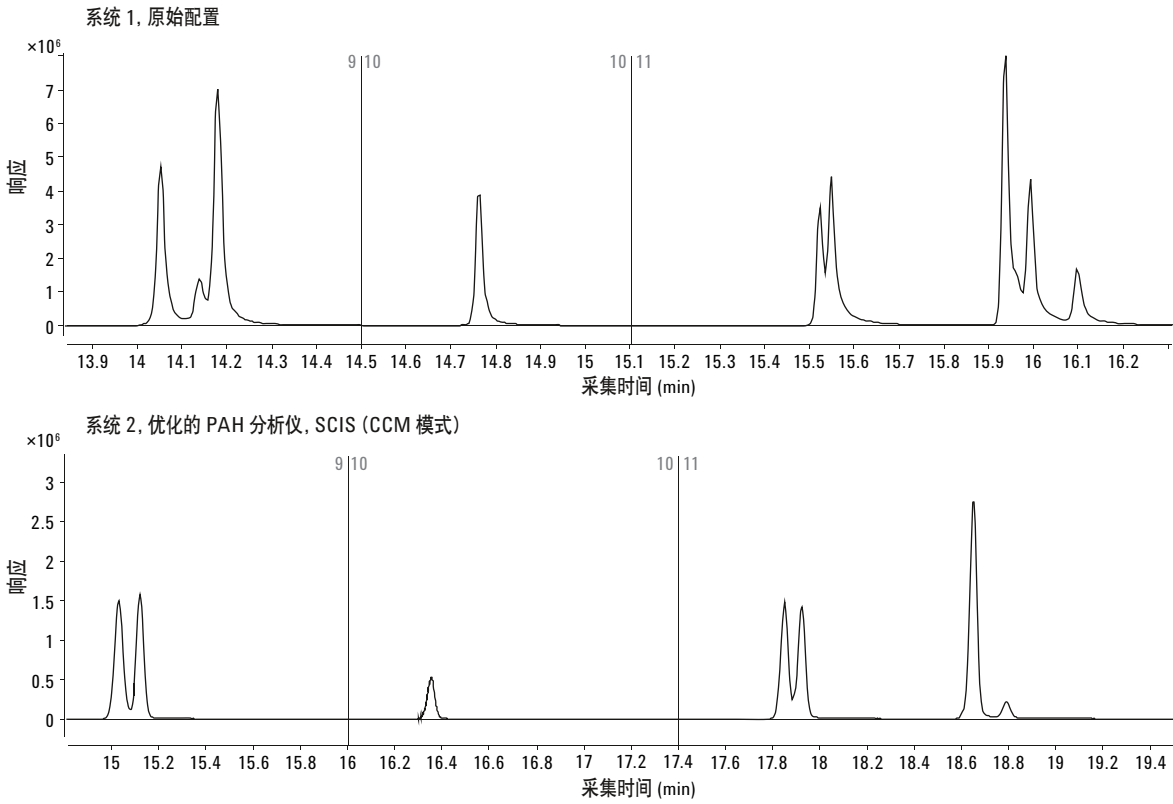


图 4. PAH 峰形得到改善

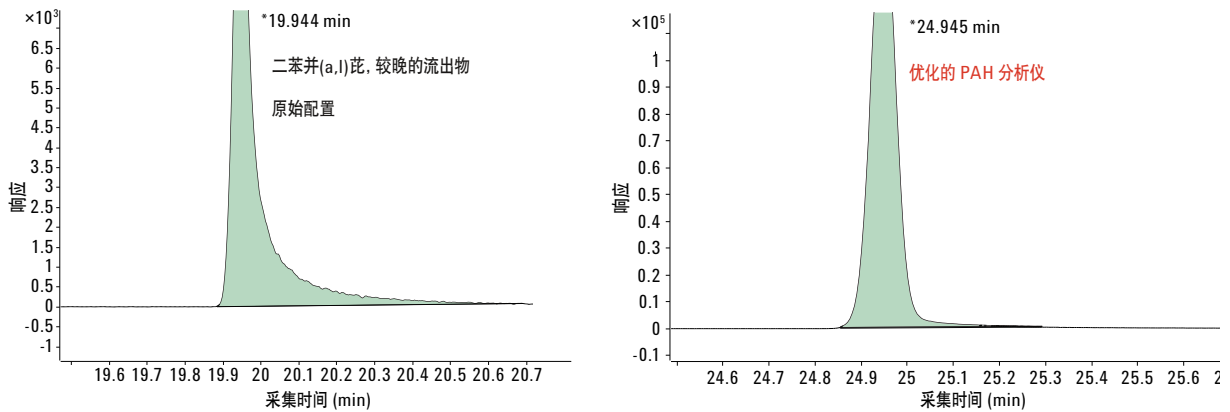


图 5. PAH 晚流出物的峰形得到改善, 使用 Agilent 7000B GC/MS/MS 系统, MRM 模式

图 6 表明完全优化的 GC/MS/MS 增强型 PAH 分析仪使得线性得到了改善 (上图)。下图为使用原始系统得到的一般性结果。

表 3 列出了使用标准的三重四极杆 GC/MS 和增强型分析仪分别得到的 R^2 值。结果表明, 本文得到的 0.9997–1.0000 范围的线性已远远超出了实验室要求的 0.99 指导值。

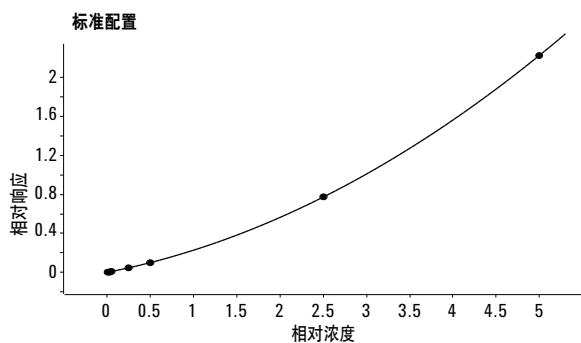
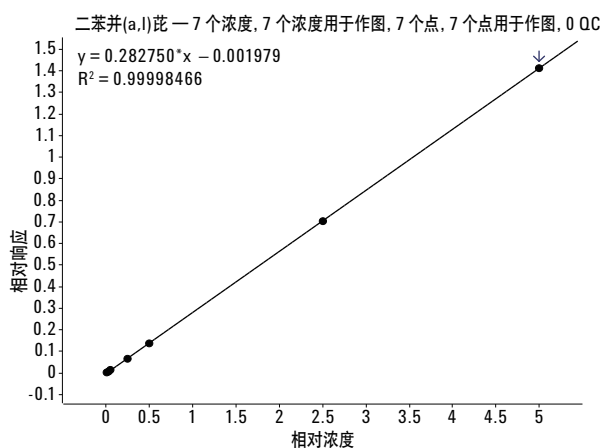


图 6. 二苯并(a,l)芘, 校准范围 1–1000 pg, $R^2 = 0.99998$, 使用 PAH MS/MS 分析仪持续清洁模式, MRM

表 3. PAH 在 Agilent 7000B 三重四极杆 GC/MS 系统下获得的 R^2 值, 校准范围 1–1000 pg, MRM, 持续清洁模式

	原始系统得到的 R^2	使用 CCM 得到的 R^2
萘	0.9982	0.9999
1-甲基萘	0.9981	1.0000
2-甲基萘	0.9977	1.0000
1,2-二甲基萘	0.9974	1.0000
1,6-二甲基萘	0.9976	1.0000
蒽	0.9975	0.9999
芘	0.9983	1.0000
苊	0.9976	1.0000
菲	0.9972	0.9999
葱	0.9959	0.9999
2-甲基菲	0.9846	0.9999
2-甲基葱	0.9846	0.9999
1-甲基菲	0.9969	1.0000
3,6-二甲基菲	0.9851	1.0000
2,3-二甲基葱	0.9648	0.9999
荧葱	0.9978	0.9999
9,10-二甲基葱	0.9726	1.0000
芘	0.9846	1.0000
1-甲基芘	0.9927	0.9997
苯并(a)葱	0.9976	0.9998
蒎	0.9976	0.9999
6-甲基蒎	0.9690	0.9998
苯并(k)荧葱	0.9954	1.0000
苯并(a)芘	0.9576	1.0000
二苯并(a,h)葱	0.9581	0.9999
茚并(1,2,3-c,d)芘	0.9642	0.9999
苯并(ghi)花	0.9965	1.0000
二苯并(a,l)芘	0.9788	1.0000

在 1–1000 pg 的校准范围内, 5977A 系列 GC/MSD SIM 持续清洁模式下获得的 R^2 值与 Agilent 7000B 三重四极杆 GC/MS 下的 R^2 值几乎相同。

结论

增强型 PAH 分析仪的性能远远超过了多数实验室对 PAH 分析的要求。与 GC/MS 或 GC/MS/MS 标准系统相比, 优化后的系统均能使 ISTD 响应更一致、峰形拖尾减少、灵敏度同样出色, 并且线性得到了改善。安捷伦的自清洁离子源对这些性能的改善具有重大作用, 此外, 无需放空和停机就能使系统始终维持高性能。

更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品与服务的详细信息, 请访问我们的 Web 站点: www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2013

中国印刷

2013 年 9 月 12 日

5991-3003CHCN



Agilent Technologies