

Analyse halbflüchtiger organischer Substanzen durch Gaschromatographie/Triple Quadrupol-Massenspektrometrie (GC/MS/MS) mit Wasserstoff als Trägergas und einer HydroInert-Ionenquelle

Autorin

Angela Smith Henry, PhD
Agilent Technologies, Inc.

Zusammenfassung

Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ist ein fester Bestandteil der Analytik halbflüchtiger organischer Substanzen in Umweltmatrizes. In einigen Methoden wurde die Wahl der Geräte auf Systeme zur Gaschromatographie/Triple Quadrupol-Massenspektrometrie (GC/MS/MS) zugunsten niedrigerer Nachweisgrenzen erweitert. Veranlasst durch die zunehmende Verknappung von Helium (He) befassten sich Unternehmen näher mit der Verwendung von Wasserstoff (H_2) als Trägergas. Allerdings wurden bei den meisten GC/MS- und GC/MS/MS-Analysen eine verringerte Empfindlichkeit und eine Hydrogenierung oder Dechlorierung in den vorhandenen Massenspektrometrieprodukten festgestellt. Durch neue Weiterentwicklungen im Design von Massenspektrometern konnten Hydrogenierungs- und Dechlorierungsreaktionen in der Ionenquelle reduziert werden. Die Agilent HydroInert-Ionenquelle ermöglicht es, bei Verwendung von H_2 als Trägergas Analysen in einem großen Kalibrierungsbereich, bei einigen Verbindungen von 0,02 bis 100 $\mu\text{g/ml}$, durchzuführen und die Kalibrierungskriterien der Methode 8270 der U.S. Environmental Protection Agency (EPA) einzuhalten.

Einleitung

GC/MS/MS gilt als geeignet für die Analyse von Feststoffabfall-, Boden-, Luft- und Wasserextrakten nach der Methode 8270 (Version 8270E) der US-amerikanischen EPA.^{1,2} In früheren Application Notes wurde bereits auf die Verwendung von He-Trärgas bei der GC/MS/MS zur Erweiterung des Kalibrierungsbereichs der EPA-Methode 8270 bis auf 0,02 µg/ml und zur Beibehaltung des oberen Grenzwerts der Methode von 160 µg/ml eingegangen.³

Aufgrund der zunehmenden Verknappung von Helium nahm das Interesse an einer Umstellung auf alternative Trärgase in den letzten Jahren erheblich zu. Bei den bestehenden MS-Systemen gibt es allerdings Probleme aufgrund einer Hydrogenierung funktioneller Gruppen wie etwa von Nitroverbindungen oder der Dechlorierung hoch chlorierter Verbindungen. Diese Probleme würden das Massenspektrum eines Peaks verändern und zu einer möglichen Fehlidentifizierung von Verbindungen oder dem Ausbleiben einer Identifizierung von Verbindungen führen, wenn die Vorstufe oder die Produkt-Ionen in der Ionenquelle mit H₂ reagieren. Ein Beispiel ist Nitrobenzol (123 m/z), das unter Einwirkung von H₂-Trärgas und hohen Temperaturen bei Vorhandensein von Metall, beispielsweise in der Ionenquelle eines Massenspektrometers, zu Anilin (93 m/z) hydrogeniert wird, erkennbar am Vorhandensein von Anilin bei der Retentionszeit von Nitrobenzol und an einer Zunahme der Intensität des 93 m/z-Fragments im Vergleich zu 123 m/z. Mit einer neu entwickelten Extraktor-Ionenquelle, der so genannten Hydrolnert-Ionenquelle, für Agilent 7000C/D/E Inert Plus Triple Quadrupol-GC/MS-Systeme lassen sich diese H₂-bedingten Probleme zugunsten eines verbesserten Ergebnisses mit H₂-Trärgas bei GC/MS- und GC/MS/MS-Anwendungen (auch von halbflüchtigen organischen Substanzen) vermeiden. Die Hydrolnert-Ionenquelle mit H₂-Trärgas wahrt die Charakteristik des Massenspektrums und ermöglicht die Weiterverwendung vorhandener Bibliotheken mit heliumbasierten Massenspektren, quantitativer Methoden und Multiple Reaction Monitoring(MRM)-Übergänge.

Diese Application Note zeigt, dass bei Verwendung der Hydrolnert-Ionenquelle und von H₂ als Trärgas kritische funktionelle Gruppen wie Nitrogruppen und Halogene erhalten bleiben. Die Beibehaltung der Charakteristik des Massenspektrums ist ein Durchbruch für die Verwendung von H₂ als Trärgas mit GC/MS-Systemen, insbesondere für die Umweltanalytik zum Beispiel mit der EPA-Methode 8270. Darüber hinaus wurde eine Methode für EPA 8270 entwickelt, die eine ähnliche Empfindlichkeit wie die Analyse mit He-Trärgas aufweist. Dadurch können die meisten Verbindungen zwischen 0,02 und 100 µg/ml kalibriert werden, und weniger als 20 % der Verbindungen erfordern eine lineare oder quadratische Kurvenanpassung.

Experimentelles

Ein Satz von Standard-Stammlösungen, der 120 Zielsubstanzen und Ersatzsubstanzen enthielt, wurde als repräsentative Mischung aus Säuren, Basen und neutralen Verbindungen sowie Vertretern verschiedener organischer Verbindungsklassen von Nitrophenolen bis hin zu PAK ausgewählt. Die neun Standard-Stammlösungen der Zielanalyten hatten Konzentrationen von 2000 µg/ml (Bestellnummern: SVM-160, SVM-121, SVM-122, SVM-123, SVM-124, SVM-125, SVM-126-1, SVM-127 und US-211). Pyridin wurde ausgehend von einem reinen Standard auf eine Arbeitsstandardlösung von 1000 µg/ml verdünnt. Der Ersatzstandard (Bestellnummer ISM-332) enthielt sechs Verbindungen mit 2000 µg/ml (Tabelle 1). Zur Untersuchung der Wiederfindung sowie zur Kalibrierung wurde eine Mischung interner Standards aus sechs deuterierten PAK eingesetzt. Die Standard-Stammlösungen wurden kombiniert und in Dichlormethan verdünnt, um eine Arbeitsstandardlösung mit einer Konzentration von 200 µg/ml herzustellen. Anschließend wurde die Arbeitsstandardlösung verdünnt, um die folgenden nominellen Konzentrationen der Ziel- und Ersatzsubstanzen als Kalibrierungsstandards zu erhalten: 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,8, 1, 2, 5, 10, 20, 35, 50, 75 und 100 µg/ml. Jedem Kalibrierungsstandard wurden interne Standards bis zu einem Konzentrationsniveau von 40 µg/ml zugegeben. In Tabelle 1 sind die Verbindungen aufgelistet, die in der Untersuchung verwendet wurden. Die Verbindungsnummern in Tabelle 1 wurden entsprechend der Retentionsreihenfolge der Ziel- und Ersatzsubstanzen vergeben, wobei die internen Standards am Ende der Tabelle außerhalb der Retentionsreihenfolge aufgeführt sind.

Der Tuning-Standard (Bestellnummer GCM-150), eine Mischung aus Benzidin, Pentachlorphenol, 4,4'-Dichlordiphenyltrichlorethan (4,4'-DDT) und Decafluortriphenylphosphin (DFTPP), wurde auf eine Konzentration von 25 µg/ml verdünnt und verwendet, um die Inertheit des GC-Flusswegs zu verifizieren.

Für die Analyse nach der EPA-Methode 8270 wurde eine zusammengesetzte Mischung aus mit Dichlormethan extrahierten Bodenproben hergestellt. Bei der Mischung handelt es sich um einen repräsentativen Matrixrückstand, wie er typischerweise im Labor analysiert wird (von Pace Analytical (Mt. Juliet, TN)).

Tabelle 1. Zielsubstanzen, Ersatzsubstanzen und interne Standards.

Nr.	Verbindung	Nr.	Verbindung	Nr.	Verbindung
1	N-Nitrosodimethylamin (NDMA)	43	4-Chlor-3-methylphenol	85	Pentachlornitrobenzol
2	Pyridin	44	2-Methylnaphthalin	86	4-Aminobiphenyl
3	2-Picolin	45	1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	87	Propylamid
4	N-Nitroso-N-methylethylamin	46	Hexachlorcyclopentadien	88	Phenanthren
5	Methylmethansulfonat	47	2,4,6-Trichlorphenol	89	Dinoseb
6	2-Fluorphenol (Ersatz)	48	2,4,5-Trichlorphenol	90	Disulfoton
7	N-Nitrosodiethylamin	49	2-Fluorbiphenyl (Ersatz)	91	Anthracen
8	Ethylmethansulfonat	50	1-Chlornaphthalin	92	Parathion-methyl
9	Phenol-d ₆ (Ersatz)	51	2-Chlornaphthalin	93	Di-n-butylphthalat
10	Phenol	52	2-Nitroanilin	94	4-Nitrochinolin-1-oxid
11	Anilin	53	Dimethylphthalat	95	Parathion
12	Bis(2-chlorethyl)ether	54	Acenaphthylen	96	Fluoranthren
13	2-Chlorphenol	55	2,6-Dinitrotoluol	97	Benzidin
14	1,3-Dichlorbenzol	56	3-Nitroanilin	98	Pyren
15	1,4-Dichlorbenzol	57	Acenaphthen	99	p-Terphenyl-d ₁₄ (Ersatz)
16	Benzylalkohol	58	2,4-Dinitrophenol	100	Aramite I
17	1,2-Dichlorbenzol	59	Pentachlorbenzol	101	Aramite II
18	2-Methylphenol (o-Cresol)	60	4-Nitrophenol	102	4-Dimethylaminoazobenzol
19	Bis(2-chlor-1-methylethyl)ether	61	Dibenzofuran	103	Chlorbenzilat
20	4-Methylphenol (p-Cresol)	62	2,4-Dinitrotoluol	104	3,3'-Dimethylbenzidin
21	N-Nitrosopyrrolidin	63	1-Naphthylamin	105	Famphur
22	Acetophenon	64	2,3,4,6-Tetrachlorphenol	106	Butylbenzylphthalat
23	4-Nitrosomorpholin	65	2-Naphthylamin	107	Benzo[a]anthracen
24	N-Nitrosodi-n-propylamin	66	Diethylphthalat	108	3,3'-Dichlorbenzidin
25	o-Toluidin	67	Fluoren	109	Chrysen
26	Hexachlorethan	68	Thionazin	110	Bis(2-Ethylhexyl)phthalat
27	Nitrobenzol-d ₅ (Ersatz)	69	5-Nitro-o-toluidin	111	Di-n-octylphthalat
28	Nitrobenzol	70	4-Chlorphenylphenylether	112	Benzo[b]fluoranthren
29	N-Nitrosopiperidin	71	4-Nitroanilin	113	7,12-Dimethylbenz[a]anthracen
30	Isophoron	72	2-Methyl-4,6-dinitrophenol (DNOC)	114	Benzo[k]fluoranthren
31	2-Nitrophenol	73	N-Nitrosodiphenylamin	115	Benzo[a]pyren
32	2,4-Dimethylphenol (2,4-Xylenol)	74	Diphenylamin	116	3-Methylcholanthren
33	Benzoesäure	75	Azobenzol	117	Dibenzo[a,j]acridin
34	Bis(2-Chlorethoxy)methan	76	2,4,6-Tribromphenol (Ersatz)	118	Indeno[1,2,3-cd]pyren
35	2,4-Dichlorphenol	77	Sulfotep	119	Dibenz[a,h]anthracen
36	1,2,4-Trichlorbenzol	78	Dimethoat	120	Benzo[g,h,i]perylene
37	Naphthalin	79	Diallat I	121	1,4-Dichlorbenzol-d ₄ (interner Standard)
38	4-Chloranilin	80	Phorat	122	Naphthalin-d ₈ (interner Standard)
39	2,6-Dichlorphenol	81	Phenacetin	123	Acenaphthalin-d ₁₀ (interner Standard)
40	Hexachlorbutadien	82	4-Bromphenylphenylether	124	Phenanthren-d ₁₀ (interner Standard)
41	p-Phenylendiamin	83	Hexachlorbenzol	125	Chrysen-d ₁₂ (interner Standard)
42	N-Nitrosodi-n-butylamin	84	Pentachlorphenol	126	Perylen-d ₁₂ (interner Standard)

Gerätemethoden

Das Agilent 8890B GC-System war mit einem Multimode-Einlass (MMI) und einer Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert-GC-Säule (Bestellnummer 121-5522UI) konfiguriert, die mit einem Agilent 7000E Inert Plus Triple Quadrupol-GC/MS-System und einer Agilent Hydrolnert-Ionenquelle verbunden war. In Tabelle 2 sind die in dieser Studie verwendeten GC/MS-Geräte und Verbrauchsmaterialien zusammengestellt. Die GC- und MS/MS-Methodenparameter (Tabelle 3) wurden zu einer 12-minütigen Methode optimiert, wobei die erforderliche Auflösung für Isomerenpaare erhalten blieb und die Empfehlungen in der EPA-Methode 8270 für Methodenparameter befolgt wurden. Das Massenspektrometer wurde im Elektronenionisationsmodus betrieben, und es wurde ein Autotune mit dem etune-Algorithmus durchgeführt. Es wurden regelmäßig Kontroll-Tunes durchgeführt, um zu verifizieren, dass die Ionenverhältnisse und Massenpositionen der Tuning-Kalibriersubstanz Perfluortributylamin (PFTBA) innerhalb der Toleranzen lagen. Bei der analytischen Methode wurde ein Agilent Ultra Inert Einlass-Liner mit geringem Druckabfall für die 20:1 Splitinjektion und eine Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert GC-Säule, 20 m × 0,18 mm, 0,18 µm verwendet. Diese Säule wird bei Verwendung von H₂ als Trägergas bevorzugt, um einen angemessenen Einlassdruck aufrechtzuerhalten. Die Splitinjektion ist erforderlich, um eine Überladung der Säule zu vermeiden. Darüber hinaus ist die Splitinjektion für GC/MS/MS, die üblicherweise für Spurenanalysen mit Zielanalytkonzentrationen unter 1 µg/ml eingesetzt wird, besser geeignet. Durch den 20:1-Split wird der am höchsten konzentrierte Standard mit 100 µg/ml auf 5 µg/ml auf der Säule reduziert. In Anbetracht der Temperatursteigerung des Einlasses, des H₂-Trägergases und des Dichlormethan-Lösemittels muss sichergestellt werden, dass die extrahierten Proben kein Wasser enthalten. Extraktionsschritte müssen daher einen Schritt zum Entfernen von Restwasser beinhalten, um das Risiko der Bildung von Salzsäure im Einlass und die dadurch bedingte Beschädigung des Geräts und der Verbrauchsmaterialien zu reduzieren. Bei der Erfassungsmethode wurde die Retentionszeit mit Retention Time Locking an den internen Standard Acenaphthen-d₁₀ gekoppelt, um einheitliche Retentionszeiten unabhängig von einem Säulenwechsel und auf verschiedenen Geräten aufrechtzuerhalten, was einen entscheidenden Faktor darstellt. Als finale Haltezeit der Ofentemperatur wurden 2 Minuten und 2,7 Minuten getestet. Benzo[g,h,i]perylen eluierte bei 10,13 Minuten, und die finale Haltezeit von 2 Minuten würde zu einer Laufzeit der Methode von 11,3 Minuten führen, was zu beachten wäre, wenn die Zykluszeit von Bedeutung ist. Mit H₂ als Trägergas wird kein Quenchgas verwendet. Daher wird die He-Leitung von der Rückseite des elektronischen Druckregelungsmoduls abgetrennt. Die Daten wurden mithilfe von dynamischem MRM (dMRM) erfasst, um die GC/MS/MS-Analysezeit effizienter zu nutzen.

Für diese Arbeit wurden MRM-Übergänge aus früheren Application Notes und Methoden verwendet, um die Entwicklung von MRM-Übergängen zu reduzieren, allerdings wurden die Kollisionsenergien mit Agilent MassHunter Optimizer neu optimiert. Allerdings waren einige Verbindungen in früheren Arbeiten nicht aufgeführt, sodass MassHunter Optimizer verwendet wurde, um die besten MRM-Übergänge und Kollisionsenergien für die folgenden Verbindungen zu identifizieren: 2,6-Dichlorphenol, N-Nitrosomethylethylamin und N-Nitrosomorpholin. Für die Läufe mit der GC/MS-Tuningmischung wurde eine Scanmodus-Erfassungsmethode verwendet, da DFTPP, DDT und die Abbauprodukte von DDT nicht in der MRM-Erfassungsmethode enthalten waren.

Geräte

Tabelle 2. GC- und MSD-Geräte und Verbrauchsmaterialien.

Parameter	Wert
GC	Agilent 8890 GC-System
MS	Agilent 7000E Inert Plus Triple Quadrupol-GC/MS mit der Agilent Hydrolnert-Ionenquelle
Extraktionslinse	9-mm-Hydrolnert
Spritze	Agilent Blue Line Spritze für automatische Probengeber, 10 µl, Spritzenkolben mit PTFE-Spitze (Best-Nr. G4513-80203)
Säule	Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert GC-Säule, 20 m × 0,18 mm, 0,18 µm (Best.-Nr. 121-5522UI)
Einlass-Liner	Agilent Ultra Inert Einlass-Liner, geringer Druckabfall, Glaswolle (Best.-Nr. 5190-2295)

Gerätebedingungen

Tabelle 3. GC- und MSD-Gerätebedingungen.

Parameter	Wert
Injektionsvolumen	1 µl
Multimode-Einlass	Split 20:1 250 °C (0,3 min halten), mit 200 °C/min erhöhen auf 350 °C (für die Dauer des Laufs beibehalten) Nachlaufzeit: 350 °C/min mit 100 ml/min Splitfluss
Säulentemperaturprogramm	40 °C (0 min halten), mit 30 °C/min auf 320 °C (2 bis 2,7 min halten*) Nachlaufzeit: 320 °C 2 min halten
Trägergas und Flussrate	H ₂ mit 1,2 ml/min**, konstanter Fluss
Transferleitungstemperatur	320 °C
Ionenquellentemperatur	300 °C
Quadrupoltemperatur	150 °C
Kollisionsgas und Flussrate	Stickstoff, 1,5 ml/min
Quenchgas	Mit H ₂ als Trägergas wird kein Quenchgas verwendet
EMV-Modus	Gain-Faktor
Gain-Faktor	1 (optimiert für jedes System)
Scantyp	dMRM

* Bei einer auf 2 Minuten eingestellten Ofen-Haltezeit würde die Analysendauer 11,3 Minuten betragen; Benzo[g,h,i]perylen eluierte bei 10,13 Minuten.

** Retention Time Locking kann je nach Gerät zu unterschiedlichen Flussraten führen.

Ergebnisse und Diskussion

GC/MS-Tuningmischung

Das Tuning des GC/MS/MS-Systems mit dem vom Hersteller empfohlenen Tune ist möglich (bei Agilent Triple Quadrupol-GC/MS-Systemen der Serie 7000 ist der etune Standard) und wurde auch durchgeführt. Für die Testung der HydroInert-Ionenquelle mit H₂-Trärgas wurden aber die Kriterien für die DFTPP-Ionenverhältnisse aus Tabelle 3 der EPA-Methode 8270E verwendet.^{1,2} Tabelle 4 fasst die relativen Abundanzen der DFTPP-Ionenverhältnisse bei 25 µg/ml und die Methodenkriterien zusammen und gibt an, ob die gemessenen relativen Abundanzen die Kriterien erfüllen; hier erfüllten alle gemessenen relativen Abundanzen die Ionenverhältniskriterien der Methode 8270E.

Damit die EPA-Methode 8270 unabhängig vom Trärgas funktioniert, ist die Sauberkeit von Einlass und Säule von großer Bedeutung. Zur Überprüfung auf Stattfinden eines Abbaus im Einlass und des Zustands der Säule werden DDT, Pentachlorphenol und Benzidin verwendet. Ein verstärkter DDT-Abbau weist auf die Notwendigkeit einer Wartung des Einlasses hin, während ein zunehmender Tailing-Faktor bei Benzidin und Pentachlorphenol ein Zeichen dafür ist, dass die Säule getrimmt oder gewechselt werden muss. Die Verwendung von H₂ als Trärgas könnte eventuell Bedenken hinsichtlich verstärkter Reaktionen von aktiven Substanzen wie DDT im Einlass aufkommen lassen. Die diesbezügliche Empfehlung lautet, die Einlasstemperatur auf 230 bis 250 °C zu senken und einen Einlass mit programmierbarer Temperatursteuering zu verwenden, wie beispielsweise den MMI, um die aktive Substanz zu schützen und die Temperatur dennoch auf 320 oder 350 °C erhöhen zu können, um die PAK zu eluieren. Für diese Application Note haben wir den MMI verwendet.

Bei der Überprüfung der Ergebnisse der GC/MS-Tuningmischung hinsichtlich des Abbaus von DDT und Tailing-Faktoren der Verbindungen aus einem Lauf im Scan-Modus betrug der DDT-Abbau 1,4 %, der Pentachlorphenol-Tailing-Faktor 1,0 und der Benzidin-Tailing-Faktor 1,4. Alle Werte erfüllen die in der EPA-Methode 8270 vorgegebenen Kriterien (DDT-Abbau < 20 % und Tailing-Faktoren < 2,0).

Initiale Kalibrierung

Abb. 1 zeigt ein Totalionen-Chromatogramm der Trennung von 120 Zielanalyten und sechs internen Standards. Es wurde eine Mehrpunktkalibrierung mit 15 Konzentrationsniveaus von 0,02 bis 100 µg/ml durchgeführt, und für jede Verbindung und jedes Kalibrierungsniveau wurde der relative Response-Faktor (RF) bestimmt. Zur Erstellung einer Kalibrierungskurve für jede Verbindung wurden der Mittelwert des RF sowie die relative Standardabweichung (% RSD) berechnet. Die prozentuale relative Standardabweichung des RF-Mittelwerts muss < 20 % betragen (bevorzugtes Kriterium der Erfüllung der Vorgaben der EPA-Methode 8270). Wenn dieser Wert mit sechs oder mehr Kalibrierungsniveaus nicht erreichbar ist, ist ein R²-Wert von 0,990 oder größer für eine lineare Kurvenanpassung oder eine quadratische Kurvenanpassung erforderlich. Die Genauigkeit des niedrigsten Datenpunkts muss innerhalb von 30 % der geschätzten Konzentration liegen.

Tabelle 4. DFTPP-Ionen, Abundanzkriterien aus der EPA-Methode 8270E², gemessene relative Abundanz und Ergebnis „Bestanden“/„Nicht bestanden“ der relativen Abundanz für die Agilent HydroInert-Quelle in einem GC/MS/MS-System mit H₂ als Trärgas.

Zielmasse (m/z)	Ionenabundanzkriterien	Gemessene relative Abundanz	Bestanden/ Nicht bestanden
68	< 2 % von 69 m/z	0 %	Bestanden
69	Vorhanden	36,4 %	Bestanden
70	< 2 % von 69 m/z	1,1 %	Bestanden
197	< 2 % von 198 m/z	0 %	Bestanden
198	Basispeak oder vorhanden	100 % (Basispeak)	Bestanden
199	5 bis 9 % von 198 m/z	7,0 %	Bestanden
365	> 1 % des Basispeaks	1,8 %	Bestanden
441	< 150 % von 443 m/z	51,8 %	Bestanden
442	Basispeak oder vorhanden	46,7 % (Basispeak)	Bestanden
443	15 bis 24 % von 442 m/z	21,9 %	Bestanden

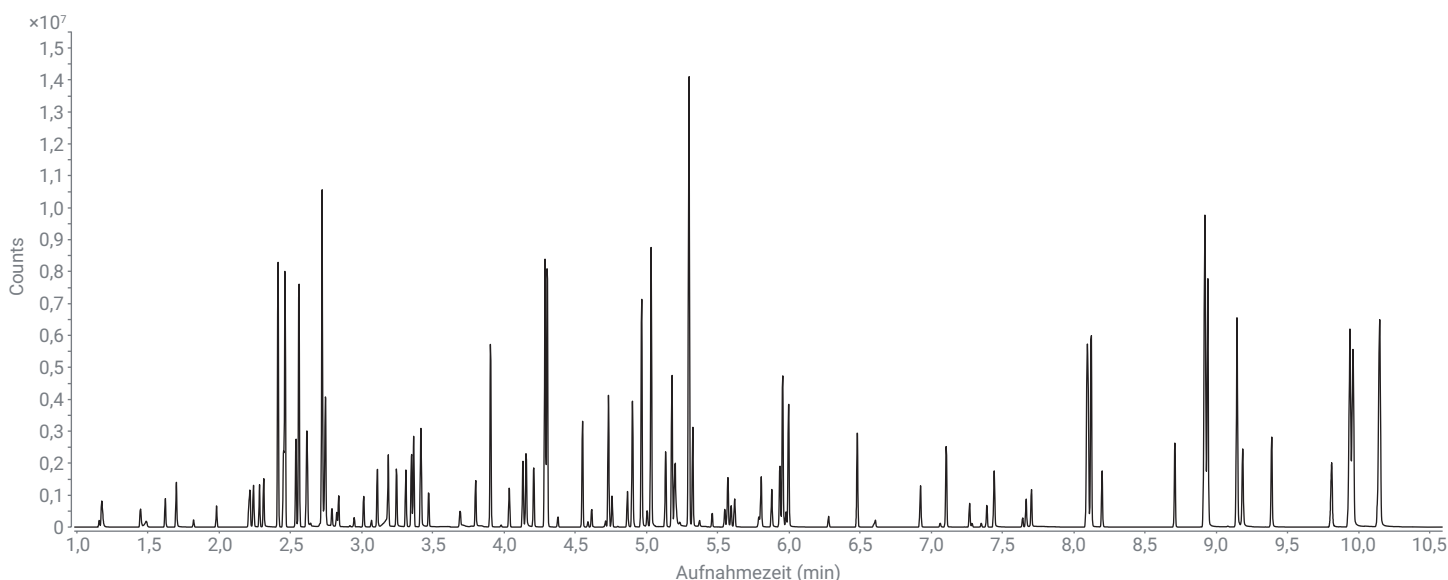


Abb. 1. Totalionen-Chromatogramm (TIC) des Kalibrierungsstandards mit 50 µg/ml mit einer Trennung in unter 10 Minuten.

Auflösung kritischer Paare

Die Auflösung kritischer Paare von über 50 % wurde mit der kürzeren Methode und einer anderen Säule mit Phenanthren und Anthracen (MRM-Übergang von 178,1 und 152,1 m/z), Benz[a]anthracen und Chrysen (228,1 und 226,1 m/z) und Benzo(b)fluoranthen und Benzo(k)fluoranthen (252,1 und 250,1 m/z) verifiziert. Alle drei Isomerenpaare sind in Abb. 2 bei einer Konzentration im mittleren Bereich von 5 µg/ml gezeigt: Phenanthren und Anthracen (Abb. 2A) weisen eine Basislinienauflösung auf, Benz[a]anthracen und Chrysen (Abb. 2B) weisen nahezu eine Basislinienauflösung auf und Benzo(b)fluoranthen und Benzo(k)fluoranthen (Abb. 2C) sind zu ~70 % aufgelöst, was bedeutet, dass die Kriterien der EPA-Methode 8270 erfüllt sind.

Beibehaltung der Charakteristik des Massenspektrums

Ein häufiges Problem bei der Verwendung von H_2 als Trägergas ist die Reaktivität von H_2 an aktiven Stellen, wie z. B. dem heißen Metall im Inneren einer Ionenquelle, die Hydrogenierungs- und Dechlorierungsreaktionen verursachen kann. Die Umsetzung von Verbindungen, wie zum Beispiel die Hydrogenierung funktioneller Nitrogruppen zu Amingruppen, könnten eine geringe oder keine Response bei MRM-Übergängen bewirken, die mit He-Trägergas identifiziert wurden, und zum Ausbleiben einer Identifizierung oder einer Fehlidentifizierung einer Verbindung in einer Probe führen. Zur Reduzierung des Aufwands zur Methodenentwicklung sollten die MRM-Übergänge bestehender Methoden möglichst beibehalten werden.

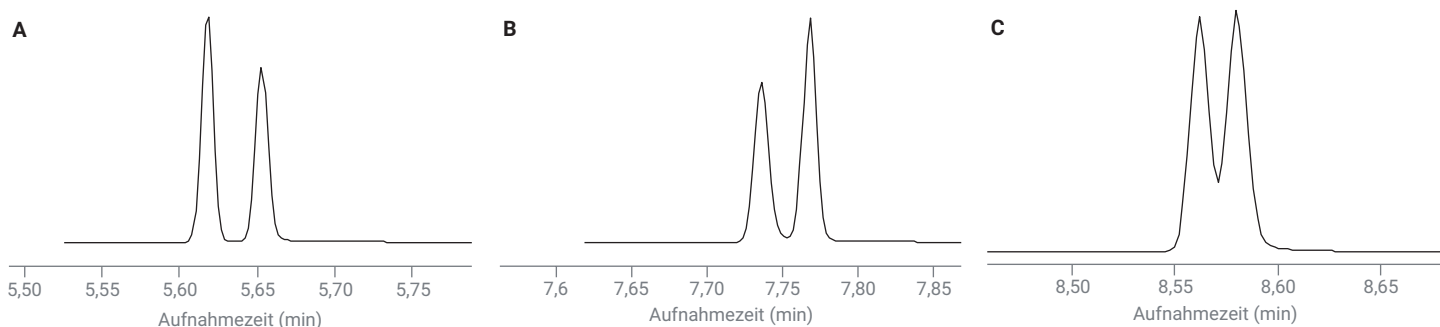


Abb. 2. Extrahierte Ionenchromatogramme (EIC) mit MRM-Übergang des Standards mittlerer Konzentration (5 µg/ml) für kritische Isomerenpaare: (A) Phenanthren und Anthracen (MRM-Übergang 178,1 & 152,1 m/z); (B) Benz[a]anthracen und Chrysen (228,1 & 226,1 m/z); (C) Benzo(b)fluoranthen und Benzo(k)fluoranthen (252,1 & 250,1 m/z).

Die Hydrolnert-Ionenquelle ermöglicht die Beibehaltung der mit He-Systemen entwickelten MRM-Übergänge auch bei Verwendung von H_2 als Trägergas. Retentionszeiten und Kollisionsenergien müssen nochmals überprüft werden, erstere insbesondere, wenn Säulenabmessungen und Anstiegsraten der Ofentemperatur geändert werden. Die vorstehende Liste von Verbindungen enthält mehrere Nitroverbindungen und hoch chlorierte Verbindungen, die für Reaktionen mit H_2 in der normalen Extraktor-Ionenquelle anfällig wären, zum Beispiel Nitrobenzol, Pentachlorphenol, Hexachlorbenzol und Pentachlornitrobenzol. Die Beibehaltung funktioneller Gruppen lässt sich durch Überprüfung des Vorhandenseins der EIC mit MRM-Übergang und der erwarteten Verhältnisse der MRM-Übergänge zwischen dem Quantifizierung und dem Qualifizierung verifizieren. Wenn die Verhältnisse für die Qualifizierung Übergänge (im Vergleich zum Quantifizierung Übergang) nahe 100 % liegen, treten keine Reaktionen mit H_2 auf. Fehlende, sehr niedrige oder sehr hohe MRM-Übergangsverhältnisse würden auf eine Reaktion mit H_2 hinweisen. Abb. 3 zeigt mehrere überlagerte Darstellungen der MRM-Übergänge für Parathion (Abb. 3A), eine Verbindung mit einer Nitrogruppe, und Hexachlorbenzol (Abb. 3B), eine hoch chlorierte Verbindung. Die prozentualen Übergangsverhältnisse sind links oben in Abb. 3A und 3B angegeben. Wenn die funktionelle Nitrogruppe von Parathion zu einer Aminogruppe hydrogeniert würde, hätte der 291 & 109-Übergang eine niedrigere Abundanz und ein niedrigeres Verhältnis im Vergleich zum Quantifizierung Übergang, da das MW 259 m/z anstatt 291 m/z wäre. Wie in Abb. 3A gezeigt, betrugen die Übergangsverhältnisse 100 %, was auf die Erhaltung der funktionellen Nitrogruppe hinweist. Bei Hexachlorbenzol würde eine Dechlorierung zu einer größeren Abundanz des 249 & 214-Übergangs und zu einer niedrigeren Abundanz des 284 & 214-Übergangs führen. Abb. 3B zeigt jedoch, dass das erwartete Verhältnis zwischen diesen beiden Übergängen nach wie bei 100 % liegt, das heißt, es trat keine signifikante Dechlorierung auf.

Kalibrierungsdaten

Von 120 Verbindungen erforderten sechs eine lineare Anpassung und 10 eine quadratische Anpassung. Tabelle 5 enthält eine Zusammenfassung der Kalibrierungsergebnisse für die 120 Ziel- und Ersatzsubstanzen mit Angabe der prozentualen relativen Standardabweichung des Mittelwerts des Relative Response Factor (RF) sowie gegebenenfalls der Kurvenanpassung und des R^2 -Werts und des niedrigsten und höchsten Konzentrationsniveaus, wenn die Werte von dem erweiterten Kalibrierungsbereich von 0,02 bis 100 $\mu g/ml$ abweichen. Über 86 % der 120 Verbindungen erfüllen das Kalibrierungskriterium einer prozentualen relativen Standardabweichung des RF-Mittelwerts von unter 20 %. Von den 120 Verbindungen hatten 13 (< 11 %) einen im Vergleich zur EPA-Methode 8270 kleineren Kalibrierungsbereich (normaler Kalibrierungsbereich 0,1 bis 100 $\mu g/ml$), aber alle erfüllten weiterhin das Kriterium

aus der EPA-Methode 8270E mit mindestens sieben Kalibrierungsniveaus. Betrachtet man frühere GC/MS/MS-Analysen mit He-Trägergas nach der EPA-Methode 8270E, waren bei acht Verbindungen Kurvenanpassungen erforderlich, um die Kalibrierungskriterien zu erfüllen.³ Da H_2 reaktiver ist als He, ist eine Zunahme der linearen und quadratischen Anpassungen zu erwarten. Außerdem wird der Einlass anfangs auf eine niedrigere Temperatur eingestellt, um die Bildung von Salzsäure bei höheren Temperaturen und Wasser im Einlass, sei es aus dem Trägergas oder dem Probenextraktionsverfahren, zu vermeiden. Sowohl bei Verwendung von He als Trägergas als auch bei

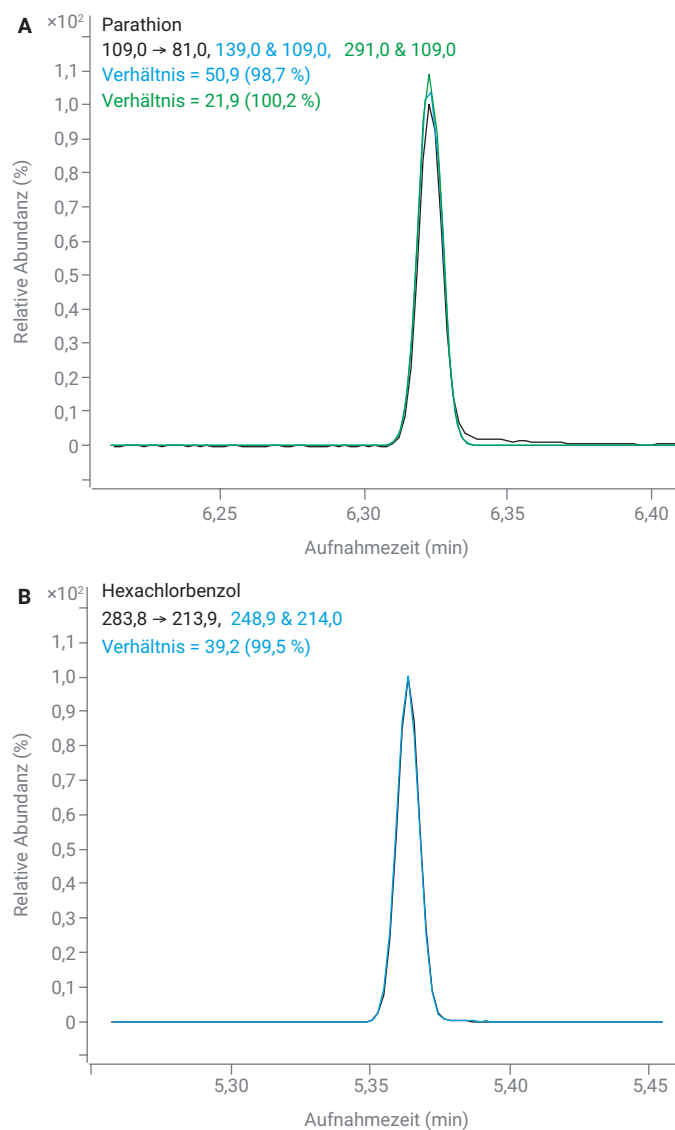


Abb. 3. Überlagerte Darstellungen von EIC mit MRM-Übergang für (A) Parathion und (B) Hexachlorbenzol bei Verwendung von H_2 als Trägergas und der Agilent Hydrolnert-Ionenquelle auf einem GC/MS/MS-System mit Erhaltung wichtiger funktioneller Gruppen in Gegenwart von H_2 .

Tabelle 5. Ergebnisse der initialen Kalibrierung für 120 Ziel- und Ersatzsubstanzen bei Verwendung von H₂ als Trägergas und der Agilent HydroInert-Ionenquelle bei der GC/MS/MS für die EPA-Methode 8270.

Bezeichnung	RT (min)	Mittelwert RF	Relative Standardabweichung des RF-Mittelwerts (%)	Kurvenanpassung R ²	Kurvenanpassung	Niedriger Standard (µg/ml)	Hoher Standard (µg/ml)
						Standardbereich: 0,02 bis 100 µg/ml	
NDMA	1,1613	0,074	17,28			0,02	100
Pyridin	1,1832	0,487	16,17			0,05	100
2-Picolin	1,4508	0,154	11,23			0,05	100
N-Nitroso-N-methylethylamin	1,4893	0,101	13,58			0,02	100
Methylmethansulfonat	1,6215	0,385	6,18			0,02	100
2-Fluorphenol (Ersatz)	1,6962	0,515	12,02			0,02	100
N-Nitrosodiethylamin	1,8184	0,069	15,15			0,02	100
Ethylmethansulfonat	1,9794	0,307	7,28			0,02	100
Phenol-d ₆ (Ersatz)	2,2064	0,287	9,81			0,02	100
Phenol	2,2135	0,278	12,45			0,05	100
Anilin	2,2394	0,638	11,65			0,02	100
Bis(2-chlorethyl)ether	2,2817	0,538	4,95			0,02	100
2-Chlorphenol	2,3106	0,536	11,28			0,02	100
1,3-Dichlorbenzol	2,413	0,922	2,68			0,02	100
1,4-Dichlorbenzidin-d ₄ (ISTD)	2,450		3,46			0,02	100
1,4-Dichlorbenzol	2,461	0,917	3,36			0,02	100
Benzylalkohol	2,5379	0,388	14,57			0,02	100
1,2-Dichlorbenzol	2,5582	0,879	2,65			0,02	100
2-Methylphenol (o-Cresol)	2,6123	0,524	7,24			0,02	100
Bis(2-chlor-1-methylethyl)ether	2,639	0,031	7,60			0,02	100
N-Nitrosopyrrolidin	2,7006	0,029	14,89			0,05	100
4-Methylphenol (p-Cresol)	2,7173	0,738	8,05			0,02	100
Acetophenon	2,7202	0,971	7,46			0,05	100
N-Nitrosodi-n-propylamin	2,722	0,027		0,9951	Linear	0,1	100
4-Nitrosomorpholin	2,7331	0,097	16,61			0,02	100
o-Toluidin	2,741	0,735	9,62			0,02	100
Hexachlorethan	2,7897	0,150	6,42			0,02	100
Nitrobenzol-d ₅ (Ersatz)	2,8228	0,074	11,46			0,02	100
Nitrobenzol	2,837	0,259	12,83			0,05	100
N-Nitrosopiperidin	2,9445	0,049	15,16			0,1	100
Isophoron	3,0114	0,251	9,29			0,02	100
2-Nitrophenol	3,0661	0,067	16,02			0,02	100
2,4-Dimethylphenol (2,4-Xylenol)	3,107	0,441	7,45			0,02	100
Benzoessäure	3,1093	0,202		0,9965	Linear	2	100
Bis(2-chlorethoxy)methan	3,186	0,741	6,02			0,02	100
2,4-Dichlorphenol	3,2418	0,420	17,51			0,02	100
1,2,4-Trichlorbenzol	3,3073	0,577	7,97			0,02	100
Naphthalin-d ₈ (ISTD)	3,348		3,25			0,02	100
Naphthalin	3,3634	0,902	3,21			0,02	100
4-Chloranilin	3,4127	0,558	5,69			0,02	100
2,6-Dichlorphenol	3,4162	0,353	15,57			0,02	100
Hexachlorbutadien	3,4689	0,410	4,92			0,02	100

Bezeichnung	RT (min)	Mittelwert RF	Relative Standardabweichung des RF-Mittelwerts (%)	Kurvenanpassung R ²	Kurvenanpassung	Niedriger Standard (µg/ml)	Hoher Standard (µg/ml)
						Standardbereich: 0,02 bis 100 µg/ml	
p-Phenylendiamin	3,6874	0,232	11,54			0,1	100
N-Nitrosodi-n-butylamin	3,6903	0,069	8,48			0,02	100
4-Chlor-3-methylphenol	3,7999	0,372	11,05			0,02	100
2-Methylnaphthalin	3,9022	1,689	4,44			0,02	100
Hexachlorcyclopentadien	4,0322	0,034	18,12			0,02	100
1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	4,0348	0,230	6,13			0,02	100
2,4,6-Trichlorphenol	4,1305	0,171	19,08			0,02	100
2,4,5-Trichlorphenol	4,1537	0,255	15,58			0,02	100
2-Fluorobiphenyl (Ersatz)	4,2061	0,364	3,16			0,02	100
1-Chlornaphthalin	4,2848	0,810	4,80			0,02	100
2-Chlornaphthalin	4,2998	0,784	4,74			0,02	100
2-Nitroanilin	4,3763	0,060	15,70			0,02	100
Dimethylphthalat	4,5458	0,799	10,18			0,02	100
2,6-Dinitrotoluol	4,5829	0,034	9,97			0,02	100
Acenaphthylen	4,6136	0,146	7,06			0,02	100
3-Nitroanilin	4,7069	0,034	16,75			0,1	100
Acenaphthen-d ₁₀ (ISTD)	4,731		3,03			0,02	100
Acenaphthen	4,7548	0,184	2,87			0,02	100
2,4-Dinitrophenol	4,801	0,006		0,9988	Linear	1	100
Pentachlorbenzol	4,8623	0,149	4,46			0,02	100
4-Nitrophenol	4,8639	0,055	15,34			0,1	100
Dibenzofuran	4,8969	1,389	4,27			0,02	100
2,4-Dinitrotoluol	4,9036	0,030	17,05			0,1	100
1-Naphthylamin	4,9616	0,746	10,88			0,02	100
2,3,4,6-Tetrachlorphenol	5,0024	0,066	18,19			0,1	75
2-Naphthylamin	5,0276	0,906	7,70			0,02	100
Diethylphthalat	5,1254	0,583	12,91			0,1	100
Fluoren	5,1741	1,433	4,42			0,02	100
Thionazin	5,1855	0,037		0,9992	Quadratisch	0,05	100
5-Nitro-o-toluidin	5,1925	0,052	17,22			0,2	100
4-Chlorphenylphenylether	5,1941	0,363	8,62			0,02	100
4-Nitroanilin	5,1986	0,111	15,16			0,1	100
2-Methyl-4,6-dinitrophenol (DNOC)	5,2271	0,009		0,9992	Linear	0,2	75
N-Nitrosodiphenylamin	5,2922	2,207	5,19			0,02	100
Diphenylamin	5,2923	2,697	5,23			0,02	100
Azobenzol	5,3216	0,966	19,48			0,1	100
2,4,6-Tribromphenol (Ersatz)	5,3661	0,048	18,64			0,05	100
Sulfotep	5,4547	0,046		1,0000	Quadratisch	0,1	100
Dimethoat	5,4556	0,004		0,9996	Quadratisch	0,1	100
Diallat I	5,5446	0,056		0,9995	Quadratisch	0,2	100
Phorat	5,5454	0,112	19,23			0,05	50
Phenacetin	5,5584	0,395		0,9926	Linear	0,2	100
4-Bromphenylphenylether	5,591	0,214	4,60			0,02	100

Bezeichnung	RT (min)	Mittelwert RF	Relative Standardabweichung des RF-Mittelwerts (%)	Kurvenanpassung R ²	Kurvenanpassung	Niedriger Standard (µg/ml)	Hoher Standard (µg/ml)
						Standardbereich: 0,02 bis 100 µg/ml	
Hexachlorbenzol	5,6139	0,411	3,63			0,02	100
Pentachlorphenol	5,785	0,106		0,9996	Quadratisch	0,5	100
Pentachlornitrobenzol	5,7933	0,053	17,34			0,02	100
4-Aminobiphenyl	5,8011	0,415	7,12			0,02	100
Propyzamid	5,8731	0,228	18,96			0,1	75
Phenanthren-d ₁₀ (ISTD)	5,936		2,96			0,02	100
Phenanthren	5,9516	1,117	6,24			0,02	100
Dinoseb	5,9596	0,046	16,84			0,2	100
Disulfoton	5,9761	0,189		0,9999	Quadratisch	0,05	100
Anthracen	5,9921	0,857	3,53			0,02	100
Parathion-methyl	6,2746	0,068	18,32			0,02	100
Di- <i>n</i> -butylphthalat	6,4745	0,567	19,97			0,05	100
4-Nitrochinolin-1-oxid	6,5908	0,011	19,12			0,2	75
Parathion	6,6037	0,032	16,40			0,05	100
Fluoranthren	6,9204	0,344	4,85			0,02	100
Benzidin	7,0591	0,029	17,04			0,1	100
Pyren	7,1006	0,361	4,52			0,02	100
<i>p</i> -Terphenyl-d ₁₄ (Ersatz)	7,2656	0,141	3,33			0,02	100
Aramite I	7,2822	0,014	12,68			0,02	100
Aramite II	7,3467	0,013	11,52			0,02	100
4-Dimethylaminoazobenzol	7,3855	0,053		0,9989	Quadratisch	0,05	100
Chlorbenzilat	7,4376	0,171	19,35			0,02	75
Famphur	7,6348	0,061	11,33			0,02	50
3,3'-Dimethylbenzidin	7,6608	0,097	11,45			0,05	100
Butylbenzylphthalat	7,6991	0,155		0,9986	Quadratisch	0,05	100
Benzo[a]anthracen	8,0875	1,018	9,47			0,05	100
3,3'-Dichlorbenzidin	8,0933	0,075	16,78			0,1	100
Chrysen-d ₁₂ (ISTD)	8,100		3,61			0,02	100
Chrysen	8,1151	0,437	6,10			0,02	100
Bis(2-ethylhexyl)phthalat	8,1936	0,250		0,9992	Quadratisch	0,05	100
Di- <i>n</i> -octylphthalat	8,7044	0,470		0,9991	Quadratisch	0,05	100
Benzo[b]fluoranthren	8,9096	1,258	3,89			0,02	100
7,12-Dimethylbenz[a]anthracen	8,9135	0,603	14,52			0,02	100
Benzo[k]fluoranthren	8,9307	1,258	4,48			0,02	100
Benzo[a]pyren	9,1396	0,922	11,99			0,02	100
Perylen-d ₁₂ (ISTD)	9,183		5,97			0,02	100
3-Methylcholanthren	9,3835	0,455	19,13			0,02	100
Dibenzo[a,j]acridin	9,7986	0,375		0,9923	Linear	0,2	100
Indeno[1,2,3-cd]pyren	9,9277	0,961	12,31			0,02	100
Dibenz[a,h]anthracen	9,9494	0,140	10,41			0,02	100
Benzo[g,h,i]perylene	10,133	1,265	4,92			0,02	100

Verwendung von H₂ als Trägergas waren bei Bis(2-ethylhexyl)phthalat und Di-*n*-octylphthalat quadratische Anpassungen erforderlich, damit die Kalibrierungskriterien erfüllt wurden. Allerdings gab es zwischen den beiden Datensätzen gewisse Unterschiede im Hinblick darauf, bei welchen Verbindungen Kurvenanpassungen erforderlich waren. Zum Beispiel erfüllte N-Nitrosodipropylamin mit einer prozentualen relativen Standardabweichung des RF-Mittelwerts von 12,3 % im He-Datensatz das Kriterium, erforderte aber bei Verwendung von H₂ als Trägergas mit der Hydrolnert-Ionenquelle eine lineare Anpassung. Den mit He generierten Daten zufolge erforderte N-Nitrosodimethylamin (NDMA) eine lineare Anpassung von 0,2 bis 100 µg/ml, erfüllte jedoch die Kalibrierungskriterien über den gesamten Standardbereich von 0,02 bis 100 µg/ml mit einer prozentualen relativen Standardabweichung des RF-Mittelwerts von 17,3 %, wenn H₂ als Trägergas mit der Hydrolnert-Ionenquelle verwendet wurde.³ Individuelle Unterschiede bei bestimmten Verbindungen sind zu erwarten, da die Methode von einem Inertgas auf ein reaktiveres Gas umgestellt wurde und Änderungen an den Einlass- und Ofenparametern vorgenommen wurden.

Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde die MMI-Starttemperatur variiert, um über die gesamte Analysendauer hinweg betrachtet optimale Ergebnisse zu erzielen. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn die Temperatur im MMI bei dieser Methode von 250 auf 350 °C erhöht wurde. Der Einlass wurde auch beginnend bei einer niedrigeren Einlasstemperatur von 230 °C getestet, was bei einigen der früher eluierenden empfindlichen Verbindungen wie Benzoesäure bessere Ergebnisse lieferte. Allerdings schnitten die später eluierenden PAK weniger gut ab, was die linearen Bereiche anbelangte, und es bestand ein gewisses Verschleppungsrisiko. Die spezifischen Einlassparameter sollten daher vom Anwender den individuellen Analyseanforderungen entsprechend optimiert werden.

Über Empfindlichkeitsverluste mit H₂-Trägergas und bestehenden Massenspektrometersystemen wurde bereits ausführlich berichtet. Aus diesem Grund lag besonderes Augenmerk auf dem Kalibrierungsbereich, und es wurde bestätigt, dass bei den meisten Verbindungen der gleiche Kalibrierungsbereich wie bei früheren Analysen mit He erreicht werden konnte. Was den Aspekt der Empfindlichkeit anbelangt, waren 77 Verbindungen in einer vorherigen Anwendung der EPA-Methode 8270 mit He-Trägergas auf einem GC/MS/MS-System analysiert worden.³ Werden die gleichen Verbindungen mit der Hydrolnert-Ionenquelle und H₂ als Trägergas (ebenfalls per GC/MS/MS) analysiert, erforderten im Vergleich zu den He-Daten lediglich 8 zusätzliche Verbindungen eine lineare oder quadratische Anpassung. Wie üblich erforderte Benzoesäure

eine lineare Anpassung mit einem Kalibrierungsbereich von 2 bis 100 µg/ml, wobei die Kurvenanpassung und der Kalibrierungsbereich unabhängig von der Verwendung von He oder H₂ gleich waren. Bei 2,4-Dinitrophenol waren in beiden Analysen lineare Anpassungen erforderlich, aber die mit H₂ erzielten Daten lagen in einem engeren Bereich (beginnend bei 1 µg/ml anstelle von 0,5 µg/ml wie bei He). Wenn die Einlasstemperatur ausgehend von 230 °C erhöht wurde, lag der untere Wert des Kalibrierungsbereichs für 2,4-Dinitrophenol bei 0,5 µg/ml. Wenn es vor allem auf den Nachweis von 2,4-Dinitrophenol ankommt, ist die Methode dieser empfindlichen Verbindung entsprechend zu entwickeln. Bei Pentachlorphenol ist unabhängig von der Verwendung von H₂ mit der Hydrolnert-Ionenquelle oder He dieselbe quadratische Kurvenanpassung erforderlich, bei einem Kalibrierungsbereich von 0,5 bis 100 µg/ml. Andererseits erfüllte 4-Nitrophenol die Kalibrierungskriterien mit einer prozentualen relativen Standardabweichung des RF-Mittelwerts von 15,34 % und einem Kalibrierungsbereich von 0,1 bis 100 µg/ml bei der Analyse mit H₂, während bei den mit He erhaltenen Ergebnissen von 5 bis 160 µg/ml eine lineare Anpassung erforderlich war. Außerdem war Benzidin in allen Analysen mit H₂ und der Hydrolnert-Ionenquelle im GC/MS/MS routinemäßig nachweisbar. Bei dieser spezifischen Methode betrug die prozentuale relative Standardabweichung des RF-Mittelwerts 17,5 % im gesamten erweiterten Kalibrierungsbereich von 0,02 bis 100 µg/ml, wohingegen die He-Ergebnisse keine Daten zu Benzidin enthielten. Zwei weitere Beispiele eines erweiterten Kalibrierungsbereichs bei Verwendung von H₂ und der Hydrolnert-Ionenquelle sind Bis(2-ethylhexyl)phthalat und Di-*n*-octylphthalat. Beide Phthalatverbindungen hatten einen größeren Kalibrierungsbereich von 0,05 bis 100 µg/ml mit einer quadratischen Anpassung der H₂-Daten im Vergleich zur quadratischen Anpassung der He-Daten von 0,5 bis 100 µg/ml. Bei den internen Standards liegen die prozentualen relativen Standardabweichungen der RF-Mittelwerte alle unter 6 %, was auf eine konsistente Leistung in der GC/MS/MS-Analyse mit Verwendung von H₂ als Trägergas und der Hydrolnert-Ionenquelle ohne Probleme mit der Hydrogenierung deuterierter Verbindungen hinweist. Die deuterierten Ersatzverbindungen Nitrobenzol-d₅, Phenol-d₆ und *p*-Terphenyl-d₁₄ belegen ebenfalls den Erhalt von Deuteriumbindungen mit prozentualen relativen Standardabweichungen der RF-Mittelwerte unter 12 % für die erweiterten Kalibrierungskurven. Von den 77 zwischen den H₂- und den He-Daten vergleichbaren Verbindungen wiesen 80 % (60 Verbindungen) bei Verwendung von H₂ und der Hydrolnert-Ionenquelle ähnliche oder größere Kalibrierungsbereiche auf. Im Vergleich zu den He-Daten ermöglicht H₂-Trägergas mit der Hydrolnert-Ionenquelle bei den meisten Verbindungen eine Beibehaltung der Empfindlichkeit.

Vergleich der Response-Faktoren (RF)

Sowohl bei Single Quadrupol- als auch bei Triple Quadrupol-Systemen gibt es bei der Umstellung einer Analyse von He auf H₂ als Trägergas grundsätzlich Bedenken hinsichtlich der Empfindlichkeit und Beibehaltung von Response-Faktoren (RF). In Tabelle 6 sind die RF der Richtkriterien der EPA-Methode 8270E (Tabelle 4), RF aus einer GC/MS-Analyse mit He als Trägergas sowie die RF aus einer GC/MS/MS-Analyse mit der Hydrolnert-Ionenquelle und H₂ als Trägergas aufgeführt. Alle diese Testsysteme verwendeten 9-mm-Extraktionslinsen entsprechend der Art der Ionenquelle (z. B. wies die Hydrolnert-Ionenquelle eine Hydrolnert 9-mm-Extraktionslinse auf). Die RF aus Tabelle 4 der EPA-Methode 8270E sind Richtwerte und keine Voraussetzung für das Bestehen der Methode, idealerweise

sollten die erhaltenen RF aber ähnlich ausfallen. Bei der He-GC/MS-Analyse haben zwei Verbindungen im Vergleich zu den Richtwerten niedrigere RF: Hexachlorethan und N-Nitroso-di-*n*-propylamin. Bei der GC/MS/MS-Analyse mit H₂ und der Hydrolnert-Ionenquelle gab es 14 Verbindungen mehr mit unter den Richtkriterien liegendem RF-Wert als bei der GC/MS-Analyse mit He, aber die GC/MS/MS bietet auch die Möglichkeit, niedrigere Konzentrationsniveaus im Bereich von lediglich 20 ng/μl zu analysieren, während der normale Kalibrierungsbereich 100 ng/μl bis 100 μg/μl beträgt. Sieben dieser Verbindungen mit niedrigem RF-Wert liegen innerhalb von 0,2 Zählern des empfohlenen RF-Werts. Es ist schwierig zu bestimmen, wie signifikant dieser Unterschied ist, da die RF-Referenzwerte auf Single Quadrupol-GC/MS-Systemen unter Verwendung von He als Trägergas erzeugt wurden.

Tabelle 6. RF für ausgewählte Verbindungen (in alphabetischer Reihenfolge auf Englisch) aus der EPA-Methode 8270E (Tabelle 4)⁴, Single Quadrupol-GC/MS-Analyse mit He als Trägergas und Triple Quadrupol-GC/MS/MS-Analyse mit der Agilent Hydrolnert-Ionenquelle und H₂ als Trägergas.

Verbindung	RF aus EPA 8270E ⁴	RF He, GC/MS	RF, H ₂ und Hydrolnert, GC/MS/MS
Acenaphthen	0,9	1,3	0,2
Acenaphthylen	0,9	1,9	0,1
Acetophenon	0,01	1,2	1,0
Anthracen	0,7	1,1	0,9
Benzo(a)anthracen	0,8	1,4	1,0
Benzo(a)pyren	0,7	1,2	1,0
Benzo(b)fluoranthren	0,7	1,4	1,2
Benzo(g,h,i)perylene	0,5	1,1	1,3
Benzo(k)fluoranthren	0,7	1,2	1,3
Bis(2-chlorethoxy)methan	0,3	0,4	0,7
Bis(2-chlorethyl)ether	0,7	0,8	0,5
Bis-(2-ethylhexyl)phthalat	0,01	0,8	0,2
4-Bromphenylphenylether	0,1	0,3	0,2
Butylbenzylphthalat	0,01	0,6	0,1
4-Chloranilin	0,01	0,4	0,6
4-Chlor-3-methylphenol	0,2	0,3	0,4
2-Chlornaphthalin	0,8	2,4	0,7
2-Chlorphenol	0,8	0,8	0,5
4-Chlorphenylphenylether	0,4	0,7	0,3
Chrysen	0,7	1,2	0,4
Dibenzo(a,h)anthracen	0,4	1,1	0,2
Dibenzofuran	0,8	1,7	1,4
Di- <i>n</i> -butylphthalat	0,01	1,3	0,5
3,3'-Dichlorbenzidin	0,01	0,5	0,1
2,4-Dichlorphenol	0,2	0,3	0,4
Diethylphthalat	0,01	1,4	0,6
Dimethylphthalat	0,01	1,4	0,8
2,4-Dimethylphenol	0,2	0,3	0,4
4,6-Dinitro-2-methylphenol	0,01	0,2	0,01
2,4-Dinitrophenol	0,01	0,2	0,01
2,4-Dinitrotoluol	0,2	0,4	0,02

Verbindung	RF aus EPA 8270E ⁴	RF He, GC/MS	RF, H ₂ und Hydrolnert, GC/MS/MS
2,6-Dinitrotoluol	0,2	0,3	0,03
Di- <i>n</i> -octylphthalat	0,01	1,3	0,4
Fluoranthren	0,6	1,2	0,4
Fluoren	0,9	1,3	1,4
Hexachlorbenzol	0,1	0,3	0,4
Hexachlorbutadien	0,01	0,2	0,4
Hexachlorcyclopentadien	0,05	0,3	0,03
Hexachlorethan	0,3	0,2	0,1
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,5	1,2	1,1
Isophoron	0,4	0,6	0,3
2-Methylnaphthalin	0,4	0,7	1,7
2-Methylphenol	0,7	0,7	0,6
4-Methylphenol	0,6	1,0	0,7
Naphthalin	0,7	1,1	0,9
2-Nitroanilin	0,01	0,4	0,05
3-Nitroanilin	0,01	0,3	0,02
4-Nitroanilin	0,01	0,3	0,1
Nitrobenzol	0,2	0,3	0,3
2-Nitrophenol	0,1	0,2	0,1
4-Nitrophenol	0,01	0,2	0,05
N-Nitroso-di- <i>n</i> -propylamin	0,5	0,4	0,03
N-Nitrosodiphenylamin	0,01	2,1	2,9
2,2'-Oxybis-(1-chlorpropan)	0,01	0,5	0,03
Pentachlorphenol	0,05	0,2	0,1
Phenanthren	0,7	1,2	1,1
Phenol	0,8	0,9	0,3
Pyren	0,6	1,3	0,3
1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	0,01	0,4	0,2
2,3,4,6-Tetrachlorphenol	0,01	0,4	0,07
2,4,5-Trichlorphenol	0,2	0,3	0,2
2,4,6-Trichlorphenol	0,2	0,3	0,2

Reproduzierbarkeit in einer Matrix

Die umfangreiche Mischung von Verbindungen aus der EPA-Methode 8270 wurde auch auf eine Konzentration von 0,4 µg/ml verdünnt und als Standard zur Verifizierung der Kalibrierung verwendet, da 0,4 µg/ml kein spezifischer Kalibrierungspunkt war. Zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit von GC/MS/MS-Analysen mit der HydroInert-Ionenquelle und H₂ als Trägergas wurde eine Sandwichinjektion des Standards mit 1 µl einer Matrixlösung von zusammengesetzten Bodenproben als Simulation einer angereicherten Matrixprobe durchgeführt. Diese Injektion wurde 10-mal wiederholt, um die Belastbarkeit der Methode festzustellen und auf Matrixanreicherung, Suppression oder mögliche Kontamination durch die Bodenprobenmatrix zu prüfen. Tabelle 7 enthält die folgenden Daten für jede Verbindung: berechnete Konzentration des 0,4 µg/ml-Standards zur Kalibrierungsverifizierung in Lösemittel, Konzentrationsmittelwert der 10 Replikate des 0,4 µg/ml-Standards zur Kalibrierungsverifizierung in Bodenprobenmatrix, prozentuale relative Standardabweichung (%RSD) für die 10 Wiederholungsinjektionen in Bodenprobenmatrix und die prozentuale Wiederfindung im Vergleich zwischen den Konzentrationen in Bodenprobenmatrix und in Lösemittel.

Verbindungen mit Kalibrierungsbereichen ohne 0,2 µg/ml oder niedriger wurden nicht in die Tabelle aufgenommen. Was den 0,4 µg/ml-Standard in Lösemittel anbelangte, lagen nur fünf Verbindungen außerhalb des Fensters von ± 20 % zur Kalibrierungsverifizierung: Sulfotep, Dimethoat, Diallat I, Aramit I und 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen. Die ersten drei Verbindungen wurden alle mit quadratischen Anpassungen kalibriert, und diese Verifizierungskonzentration ist niedrig, was der Grund für die hohen Werte sein könnte. Normalerweise liegt der Kalibrierungsverifizierungsstandard näher am Mittelpunkt der Kalibrierungskurve, aber bei dieser Studie ging es hauptsächlich um die unteren Grenzen mit einer Konzentration auf der Säule von 0,02 µg/ml. Aramite I

liegt mit 0,481 µg/ml knapp über der 20 %-Grenze, während 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen mit 0,22 µg/ml bei etwa der Hälfte der erwarteten Konzentration liegt. Alle anderen Verbindungen in der Nähe von 7,12-Benz[a]anthracen liegen innerhalb der 20 %-Grenze. Es ist unklar, warum dieses Ergebnis so niedrig ist. Was die Wiederholungsinjektionen in Bodenprobenmatrix anbelangt, haben alle bis auf zwei Verbindungen eine %RSD der Wiederholungsinjektionen unter 10 %, was darauf hinweist, dass die Methode belastbar ist, selbst wenn Proben in Matrix analysiert werden.

Bei den Konzentrationsmittelwerten in der Matrix liegen 17 Verbindungen außerhalb der Grenze von ± 20 %; 5 dieser Verbindungen liegen knapp über 0,48 µg/ml (unter 0,49 µg/ml), was auf geringfügige Signalverstärkungen durch die Matrix zurückzuführen sein könnte. Zehn dieser Verbindungen liegen innerhalb von 140 % der erwarteten Konzentration von 0,4 µg/ml. Wenn außerdem die prozentuale Wiederfindung berechnet wird, indem die Konzentration in der Bodenprobenmatrix mit der in Lösemittel verglichen wird, liegen nur sechs Verbindungen außerhalb eines Wiederfindungsbereichs von ± 20 %. Dies deutet erneut auf eine Signalverstärkung hin. Bis(2-ethylhexyl)phthalat hat einen berichteten Konzentrationsmittelwert von 0,89 µg/ml, was darauf hindeutet, dass Bis(2-ethylhexyl)phthalat in der Bodenprobenmatrix vorhanden war. Bei Famphur wiederum scheint eine matrixbedingte Suppression vorzuliegen, da der Konzentrationsmittelwert in der Matrix 0,272 µg/ml betrug, im Lösemittel dagegen 0,402 µg/ml. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich der 0,4 µg/ml-Standard für die Kalibrierungsverifizierung problemlos und durchgehend in der Bodenprobenmatrix nachweisen lässt und mehr als 85 % der Verbindungen innerhalb der geforderten ± 20 % des Kalibrierungsbereichs liegen. Typischerweise wird die Kalibrierungsverifizierung aber in Lösemittel durchgeführt, dabei liegen mehr als 95 % der Verbindungen innerhalb der geforderten ± 20 % des Kalibrierungsbereichs.

Tabelle 7. Vergleich der berechneten Konzentration des 0,4 µg/ml-Standards zur Kalibrierungsverifizierung in Lösemittel, des Konzentrationsmittelwerts (10 Wiederholungsinjektionen) des 0,4 µg/ml-Standards in Bodenprobenmatrix, der %RSD der 10 Wiederholungsinjektionen und der prozentualen Wiederfindung des 0,4 µg/ml-Standards in Matrix im Vergleich zu Lösemittel.

Nr.	Bezeichnung	Berechnete Konzentration (0,4 µg/ml in Lösemittel)	Konzentrationsmittelwert in der Matrix mit 0,4 µg/ml Zusatz	%RSD von 10 Wiederholungen	Wiederfindung in Matrix
1	NDMA	0,45	0,47	1,95 %	104 %
2	Pyridin	0,46	0,45	2,68 %	97 %
3	2-Picolin	0,45	0,45	2,54 %	100 %
4	N-Nitroso-N-methylethylamin	0,44	0,46	1,75 %	106 %
5	Methylmethansulfonat	0,47	0,46	0,31 %	99 %
6	2-Fluorphenol	0,46	0,45	0,94 %	99 %
7	N-Nitroso-N-diethylamin	0,46	0,46	1,37 %	100 %
8	Ethylmethansulfonat	0,45	0,45	0,68 %	99 %
9	Phenol-d ₆	0,46	0,45	0,67 %	99 %
10	Phenol	0,46	0,44	1,73 %	96 %
11	Anilin	0,46	0,46	1,51 %	100 %
12	Bis(2-chlorethyl)ether	0,46	0,45	0,87 %	99 %
13	2-Chlorphenol	0,44	0,45	1,28 %	101 %

Nr.	Bezeichnung	Berechnete Konzentration (0,4 µg/ml in Lösemittel)	Konzentrationsmittelwert in der Matrix mit 0,4 µg/ml Zusatz	%RSD von 10 Wiederholungen	Wiederfindung in Matrix
14	1,3-Dichlorbenzol	0,46	0,46	0,56 %	100 %
15	1,4-Dichlorbenzol	0,47	0,46	0,57 %	98 %
16	Benzylalkohol	0,42	0,45	2,08 %	108 %
17	1,2-Dichlorbenzol	0,47	0,46	0,87 %	99 %
18	2-Methylphenol (o-Cresol)	0,44	0,44	1,50 %	99 %
19	Bis(2-chlor-1-methylethyl)ether	0,47	0,46	4,86 %	97 %
20	N-Nitrosopyrrolidin	0,45	0,47	3,45 %	103 %
21	4-Methylphenol (p-Cresol)	0,40	0,42	1,65 %	104 %
22	Acetophenon	0,45	0,45	1,71 %	100 %
23	N-Nitrosodi-n-propylamin	0,42	0,43	5,84 %	103 %
24	4-Nitrosomorpholin	0,42	0,45	3,11 %	107 %
25	o-Toluidin	0,47	0,47	1,44 %	99 %
26	Hexachlorethan	0,44	0,48	2,32 %	109 %
27	Nitrobenzol-d ₅	0,43	0,49	2,66 %	112 %
28	Nitrobenzol	0,43	0,48	3,02 %	110 %
29	N-Nitrosopiperidin,	0,42	0,43	2,72 %	104 %
30	Isophoron	0,43	0,44	1,53 %	103 %
31	2-Nitrophenol	0,46	0,49	2,06 %	106 %
32	2,4-Dimethylphenol	0,43	0,43	1,30 %	100 %
33	Bis(2-chlorethoxy)methan	0,44	0,44	0,54 %	101 %
34	2,4-Dichlorphenol	0,40	0,43	0,92 %	106 %
35	1,2,4-Trichlorbenzol	0,46	0,46	0,56 %	100 %
37	Naphthalin	0,47	0,46	0,66 %	98 %
38	4-Chloranilin	0,45	0,46	1,13 %	102 %
39	2,6-Dichlorphenol	0,41	0,44	1,32 %	106 %
40	Hexachlorbutadien	0,46	0,46	0,52 %	100 %
41	p-Phenylendiamin	0,45	0,44	3,75 %	97 %
42	N-Nitrosodi-n-butylamin	0,42	0,44	1,67 %	104 %
43	4-Chlor-3-methylphenol	0,43	0,43	1,45 %	101 %
44	2-Methylnaphthalin	0,47	0,47	0,60 %	99 %
45	Hexachlorcyclopentadien	0,41	0,40	3,72 %	96 %
46	1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	0,47	0,47	1,39 %	99 %
47	2,4,6-Trichlorphenol	0,42	0,43	1,47 %	103 %
48	2,4,5-Trichlorphenol	0,41	0,39	4,58 %	97 %
49	2-Fluorbiphenyl	0,47	0,46	0,74 %	99 %
50	1-Chlornaphthalin	0,47	0,46	0,78 %	98 %
51	2-Chlornaphthalin	0,47	0,46	1,55 %	98 %
52	2-Nitroanilin	0,44	0,53	0,90 %	120 %
53	Dimethylphthalat	0,42	0,44	0,92 %	106 %
54	2,6-Dinitrotoluol	0,44	0,47	2,90 %	106 %
55	Acenaphthylen	0,44	0,43	2,28 %	99 %
56	m-Nitroanilin	0,39	0,43	4,35 %	112 %
57	Acenaphthen	0,48	0,46	1,14 %	95 %
59	Pentachlorbenzol	0,46	0,45	1,85 %	98 %
60	4-Nitrophenol	0,37	0,44	3,35 %	120 %

Nr.	Bezeichnung	Berechnete Konzentration (0,4 µg/ml in Lösemittel)	Konzentrationsmittelwert in der Matrix mit 0,4 µg/ml Zusatz	%RSD von 10 Wiederholungen	Wiederfindung in Matrix
61	Dibenzofuran	0,47	0,46	0,58 %	99 %
62	2,4-Dinitrotoluol	0,42	0,44	3,98 %	105 %
63	1-Naphthylamin	0,37	0,47	1,19 %	126 %
64	2,3,4,6-Tetrachlorphenol	0,40	0,42	1,79 %	106 %
65	2-Naphthylamin	0,40	0,44	1,66 %	110 %
66	Diethylphthalat	0,41	0,45	1,02 %	111 %
67	Fluoren	0,47	0,47	0,82 %	101 %
68	Thionazin	0,42	0,46	2,38 %	109 %
69	5-Nitro-o-toluidin	0,40	0,45	8,22 %	114 %
70	4-Chlorphenylphenylether	0,48	0,46	1,00 %	96 %
71	4-Nitroanilin	0,43	0,38	7,92 %	88 %
72	2-Methyl-4,6-dinitrophenol (DNOC)	0,46	0,52	5,22 %	112 %
73	N-Nitrosodiphenylamin	0,46	0,46	0,97 %	101 %
74	Diphenylamin	0,45	0,47	0,94 %	104 %
75	Azobenzol	0,47	0,50	2,62 %	107 %
76	2,4,6-Tribromphenol	0,42	0,43	3,11 %	104 %
77	Sulfotep	0,53	0,52	4,03 %	97 %
78	Dimethoat	0,64	0,52	12,70 %	81 %
79	Diallat I	2,70	0,53	2,91 %	102 %
80	Phorat	0,47	0,53	2,47 %	111 %
81	Phenacetin	0,42	0,44	1,40 %	105 %
82	4-Bromphenylphenylether	0,45	0,44	2,94 %	98 %
83	Hexachlorbenzol	0,46	0,46	1,43 %	100 %
85	Pentachloronitrobenzol	0,41	0,46	3,62 %	111 %
86	4-Aminobiphenyl	0,44	0,45	1,56 %	103 %
87	Propyzamid	0,40	0,43	1,92 %	107 %
88	Phenanthren	0,48	0,48	0,67 %	101 %
89	Dinoseb	0,42	0,43	3,59 %	103 %
90	Disulfoton	0,43	0,48	2,15 %	111 %
91	Anthracen	0,44	0,46	1,26 %	104 %
92	Parathion-methyl	0,42	0,40	1,25 %	94 %
93	Di-n-butylphthalat	0,38	0,41	1,25 %	106 %
94	4-Nitrochinolin-1-oxid	0,42	0,41	11,49 %	97 %
95	Parathion	0,41	0,45	2,50 %	112 %
96	Fluoranthren	0,47	0,47	0,79 %	100 %
97	Benzidin	0,42	0,45	7,96 %	105 %
98	Pyren	0,47	0,48	0,38 %	101 %
99	p-Terphenyl-d ₁₄	0,46	0,46	0,82 %	101 %
100	Aramite I	0,48	0,51	2,28 %	106 %
101	Aramite II	0,48	0,50	2,85 %	105 %
102	p-(Dimethylamino)azobenzol	0,47	0,51	2,10 %	108 %
103	Chlorbenzilat	0,41	0,45	1,07 %	108 %
104	Famphur	0,40	0,27	3,75 %	68 %
105	3,3'-Dimethylbenzidin	0,46	0,47	2,96 %	101 %
106	Butylbenzylphthalat	0,40	0,43	1,32 %	109 %

Nr.	Bezeichnung	Berechnete Konzentration (0,4 µg/ml in Lösemittel)	Konzentrationsmittelwert in der Matrix mit 0,4 µg/ml Zusatz	%RSD von 10 Wiederholungen	Wiederfindung in Matrix
107	Benzo[a]anthracen	0,44	0,45	0,31 %	101 %
108	3,3'-Dichlorbenzidin	0,41	0,43	2,23 %	105 %
109	Chrysen	0,47	0,47	0,62 %	99 %
110	Bis(2-ethylhexyl)phthalat	0,44	0,89	1,80 %	205 %
111	Di-n-octylphthalat	0,43	0,45	1,37 %	104 %
112	Benzo[b]fluoranthren	0,44	0,46	1,25 %	105 %
113	7,12-Dimethylbenz[a]anthracen	0,22	0,40	1,83 %	182 %
114	Benzo[k]fluoranthren	0,46	0,43	2,74 %	94 %
115	Benzo[a]pyren	0,41	0,42	2,09 %	103 %
116	3-Methylcholanthren	0,40	0,41	1,34 %	104 %
117	Dibenzo[a,j]acridin	0,44	0,46	1,56 %	104 %
118	Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,41	0,42	1,01 %	104 %
119	Dibenz[a,h]anthracen	0,43	0,44	3,11 %	103 %
120	Benzo[g,h,i]perylene	0,43	0,44	1,87 %	104 %

Fazit

Aufgrund der mit dem MRM-Modus erreichten hohen Empfindlichkeit und der Inertheit der Agilent HydroInert-Ionenquelle mit H₂-Trärgas wurden 92,5 % der 120 getesteten Verbindungen erkannt und im normalen Kalibrierungsbereich der EPA-Methode 8270E von 0,1 bis 100 µg/ml kalibriert. Bei 77 Verbindungen war der Kalibrierungsbereich auf 0,02 bis 100 µg/ml erweitert. Lediglich 16 Verbindungen erforderten eine Kurvenanpassung, um die Kalibrierungskriterien der EPA-Methode 8270E zu erfüllen. Die Kriterien der EPA-Methode 8270E wurden bei der initialen Kalibrierung über einen Arbeitsbereich von 0,02 bis 100 µg/ml in einem einzelnen 12-minütigen Lauf unter Verwendung von H₂ als Trärgas und der HydroInert-Ionenquelle erfüllt, während die Charakteristik des Massenspektrums und bestehende MRM-Übergänge für Verbindungen, die anfällig für H₂-Reaktivität sind, beibehalten wurden.

Literatur

1. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270D. *United States Environmental Protection Agency*, Revision 4, Februar **2007**.
2. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270E. *United States Environmental Protection Agency*, Revision 4, Juni **2018**.
3. Churley, M.; Quimby, B.; Andrianova, A. A Fast Method for EPA 8270 in MRM Mode Using the 7000 Series Triple Quadrupole GC/MS, *Agilent Technologies Application Note*, Publikationsnummer 5994-0691EN, **2019**.