

用于分析挑战性基质中 PAH 的优化的 GC/MS 方法

使用配备 JetClean 和柱中反吹的 Agilent 5977 系列 GC/MSD

作者

Anastasia A. Andrianova
和 Bruce D. Quimby
安捷伦科技有限公司

摘要

利用 Agilent 8890 气相色谱系统结合 Agilent 5977 系列 MSD 系统来分析多环芳烃 (PAH)。通过选择合适的仪器配置和操作条件，该系统提供了一种用于分析复杂基质中 PAH 的稳定方法。柱中反吹、连续氢气离子源清洁 (JetClean) 和可替换拉出透镜的使用，在 1-1000 pg 校准范围内获得了优异的线性。对来自高有机含量土壤的提取物进行重复进样，证明了系统精密度和稳定性。

前言

PAH 对水生生物具有毒性，并且可能是一类人类致癌物。PAH 具有多种来源，是一类广泛分布于世界各地的污染物。

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：**由天然生物过程形成

鉴于 PAH 的普遍存在性，人们将其作为痕量污染物并对许多不同种类的食品（从海鲜到食用油再到熏肉）进行监测。此外还对空气、水和土壤环境中的 PAH 进行监测。PAH 可通过多种技术进行分析，包括 HPLC/UV、GC/FID、GC/MS 或 GC/MS/MS。

本应用简报将重点介绍在 SIM 模式下操作的 GC/MS。常用的校准范围为 1–1000 pg，可接受的线性标准为 $R^2 > 0.99$ 。通常将校准标样和样品中的内标 (ISTD) 峰面积重现性分别规定为 $\pm 20\%$ 和 $\pm 30\%$ 。

PAH 的理化特性为分析带来了许多困难。它们的分子量和沸点范围较宽。尽管 PAH 活性不高且不易降解，但它们具有一定的粘性，容易粘附到表面。PAH 易于凝结（沉积），并且难以气化。因此，

在分析过程中采用高温并最大程度减小表面接触非常重要。晚洗脱组分经常出现峰拖尾，导致需要手动积分，并增加了数据审查工作。某些情况下，整个校准范围内的 ISTD 响应不一致，导致方法的线性存在问题。

除 PAH 相关的挑战外，分析过程中通常还存在基质相关的问题。例如，在食品和土壤分析中，分析物之后洗脱的高沸点基质污染物可能需要延长烘烤时间，以防止后续运行中出现鬼峰。沸点最高的污染物可能在柱头沉积，导致保留时间漂移，进而需要更频繁地切割色谱柱并调整 SIM 和数据分析时间窗口。

实验部分

该系统经过配置以最大程度减少高基质样品中 PAH 分析的潜在问题。所用的重要技术包括：

- **Agilent JetClean：**5977 系列 GC/MSD 中的这一选件可在分析过程中使氢气以低流速 (0.33 mL/min) 连续进入离子源。文献已证明^[1-3]，利用氢气连续清洁离子源能够显著改善 PAH 分析中随时间变化的校准线性和响应精密度。大幅减少了手动离子源清洁工作，尤其是对于高基质样品的分析

- **9 mm 提取透镜：**安捷伦的 Extractor 离子源具有更高的灵活性，可满足不同分析挑战的特定需求。在 PAH 分析中，9 mm 提取透镜是最大程度减小可沉积 PAH 的表面的一个不错选择，与 JetClean 相结合，有助于实现更好的线性、精密度和峰形

- **柱中反吹：**反吹是在最后一种分析物流出色谱柱后使载气流反向的一种技术。采集 MS 数据后，柱温箱在后运行模式下保持在最终温度下，流经第一根色谱柱的载气流反向。这一反向气流将数据采集结束时色谱柱中的所有高沸点化合物带出柱头并使其进入分流出口捕集阱中。气流反向功能由安捷伦吹扫 Ultimate 接头 (PUU) 提供。在本例中，PUU 为插在两根相同的 15 m 色谱柱之间的三通。在分析过程中，利用来自 8890 气路反吹模块 (PSD) 的尾吹气流速较小的载气吹扫连接管路。在反吹过程中，大幅提高来自 PSD 的尾吹气流速，将高沸点化合物向后吹扫出第一根色谱柱，向前吹扫出第二根色谱柱。在本配置中，反吹时间为 1.5 分钟

- **8890 PSD 模块：**PSD 是针对反吹应用优化的 8890 气动模块。在反吹过程中，相比于之前的配置，其显著减小了所用的氢气流量。PSD 可实现无缝脉冲进样并简化反吹设置

图 1 示出了所用的系统配置。

表 1 和表 2 列出了仪器操作参数。必须保持足够高的仪器温度以防止高沸点 PAH 沉积。进样口和 MSD 传输线保持在 320 °C。MS 离子源应为最低 320 °C。

利用脉冲不分流进样最大程度将 PAH (尤其是重组分) 传输到色谱柱中。必须使用孔径 4 mm、带玻璃毛的直型衬管。玻璃毛可传热给 PAH, 并堵住进入进样口基座的通道。如果 PAH 沉积到进样口基座, 将很难气化并吹扫到色谱柱中。

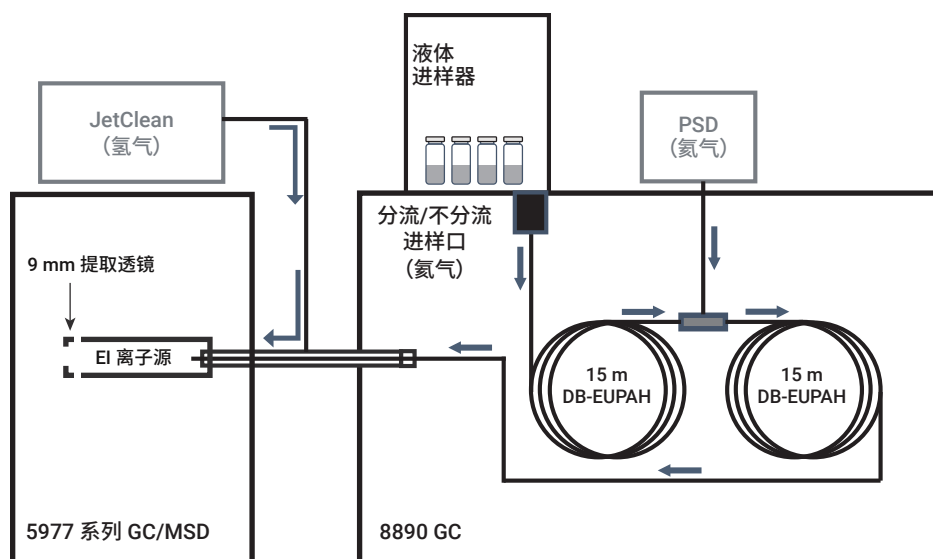


图 1. 系统配置

表 1. 用于 PAH 分析的 GC 和 MS 条件

8890 气相色谱系统, 配备快速升温柱温箱、自动进样器和样品盘	
进样口	EPC 分流/不分流
模式	脉冲不分流
进样脉冲压力	50 psi, 持续至 0.7 min
分流出口吹扫流速	50 mL/min (0.75 min 时)
隔垫吹扫模式	标准
进样量	1.0 µL
进样口温度	320 °C
载气	氦气
进样口衬管	安捷伦 4 mm 细径单锥衬管, 带玻璃毛 (部件号 5190-2293)
柱温箱	在 80 °C 保持 1 分钟, 以 25 °C/min 升至 200 °C, 以 8 °C/min 升至 335 °C, 保持 6.325 分钟 总运行时间: 29 分钟 后运行时间: 1.5 分钟 平衡时间: 0.5 分钟
色谱柱 1	DB-EUPAH, 0.25 mm × 15 m, 0.25 µm (定制订购)
控制模式	恒流, 0.9272 mL/min
进样口连接	分流/不分流
出口连接	PSD (PUU)
后运行流速 (反吹)	-12.027 mL/min
色谱柱 2	DB-EUPAH, 0.25 mm × 15 m, 0.25 µm (定制订购)
控制模式	恒流, 1.1272 mL/min
进样口连接	PUU
出口连接	MSD
后运行流速 (反吹)	12.518 mL/min

5977 系列 GC/MSD	
离子源	惰性 Extractor
拉出透镜	9 mm
真空泵	高性能涡轮泵
调谐文件	Atune.U
模式	SIM
溶剂延迟	4 分钟
电子倍增器电压增益模式	1.0
TID	开
四极杆温度	150 °C
离子源温度	320 °C
传输线温度	320 °C
JetClean 模式	采集和清洁
JetClean 氦气流速	0.33 mL/min

使用异辛烷稀释安捷伦 PAH 分析仪校准试剂盒（部件号 G3440-85009），制得 PAH 校准标样。该试剂盒包含浓度为 10 µg/mL 的 27 种 PAH 的储备液以及浓度为 50 µg/mL 的 5 种 ISTD 的储备液。配制了七种校准浓度：1、2、10、20、100、200 和 1000 ng/mL。各种浓度的校准标样中还包含 500 ng/mL 的 ISTD。有关化合物鉴定，请参见表 2 和图 2。

将泥炭样品 (Garden Magic, Michigan Peat Company, Houston, TX) 在 120 °C 下过夜干燥。使用 30 mL 二氯甲烷/丙酮 (1:1 v:v) 对 5 g 干燥的泥炭在搅拌下进行过夜萃取。对提取物进行过滤，并通过蒸发使滤液体积减少为原来的 1/7.5。利用所得的提取物开展稳定性实验。

表 2. 用于定量离子和定性离子的 SIM 离子

化合物	RT (min)	定量离子	定性离子 1	定性离子 2	定性离子 3
萘-d ₈	5.126	136	134	108	
萘	5.149	128	127	129	102
1-甲基萘	5.758	142	141	115	139
2-甲基萘	5.926	142	141	115	143
联苯	6.304	154	153	76	155
2,6-二甲基萘	6.346	156	141	155	115
蒽烯	7.042	152	151	153	76
蒽-d ₁₀	7.150	164	80		
蒽	7.204	153	154	151	155
2,3,5-三甲基萘	7.416	170	155	169	153
芴	7.912	166	165	163	167
二苯并噻吩	9.675	184	185	139	152
菲-d ₁₀	9.881	188	189		
菲	9.935	178	179	177	152
蒽	10.002	178	179	177	152
1-甲基菲	11.282	192	191	193	190
荧蒽	12.952	202	203	201	101
芘	13.764	202	203	201	101
苯并[a]蒽	17.215	228	226	229	114
蒽-d ₁₂	17.381	240	236		
蒽	17.474	228	226	229	114
苯并[b]荧蒽	20.461	252	126		
苯并[k]荧蒽	20.528	252	126		
苯并[j]荧蒽	20.624	252	126		
苯并[e]芘	21.494	252	253	126	250
苯并[a]芘	21.631	252	253	250	126
花-d ₁₂	21.889	264	260		
花	21.966	252	253	126	250
二苯并[a,c]蒽	24.460	278	279	139	138
二苯并[a,h]蒽	24.588	278	279	139	138
茚并[1,2,3-cd]芘	24.622	276	138	277	137
苯并[gh]花	25.778	276	138	277	137

结果与讨论

初始校准

图 2 展示了 100 pg/μL 校准标样的 SIM TIC。利用所选的参数，所有 PAH（尤其是最晚洗脱的化合物）的峰形非常出色。

使用 9 mm 透镜和连续氢气清洁通常会导导致信噪比 (S/N) 下降，因此检查所需的最低校准浓度非常重要。例如，图 3 展示了多种含量为 1 pg 的化合物的定量离子的响应。所有含量为 1 pg 的分析物均具有足够高的信号，可满足校准需要。

- | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. 萘-d ₈ | 12. 二苯并噻吩 | 23. 苯并[k]荧蒽 |
| 2. 萘 | 13. 菲-d ₁₀ | 24. 苯并[j]荧蒽 |
| 3. 1-甲基萘 | 14. 菲 | 25. 苯并[e]芘 |
| 4. 2-甲基萘 | 15. 蒽 | 26. 苯并[a]芘 |
| 5. 联苯 | 16. 1-甲基菲 | 27. 芘-d ₁₂ |
| 6. 2,6-二甲基萘 | 17. 荧蒽 | 28. 芘 |
| 7. 萘烯 | 18. 芘 | 29. 二苯并[a,c]蒽 |
| 8. 萘-d ₁₀ | 19. 苯并[a]蒽 | 30. 二苯并[a,h]蒽 |
| 9. 萘 | 20. 蒽-d ₁₂ | 31. 茚并[1,2,3-cd]芘 |
| 10. 2,3,5-三甲基萘 | 21. 蒽 | 32. 苯并[ghi]芘 |
| 11. 芴 | 22. 苯并[b]荧蒽 | |

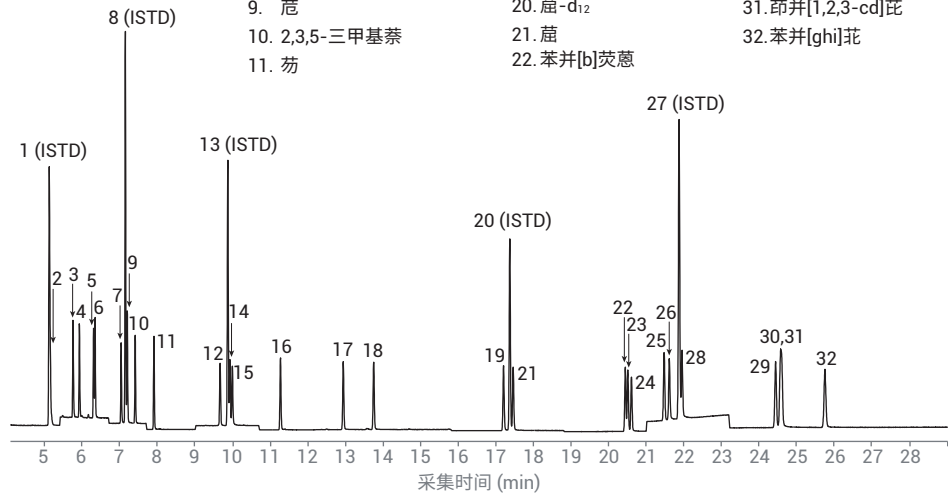


图 2. 100 pg/μL 校准标样的 SIM TIC

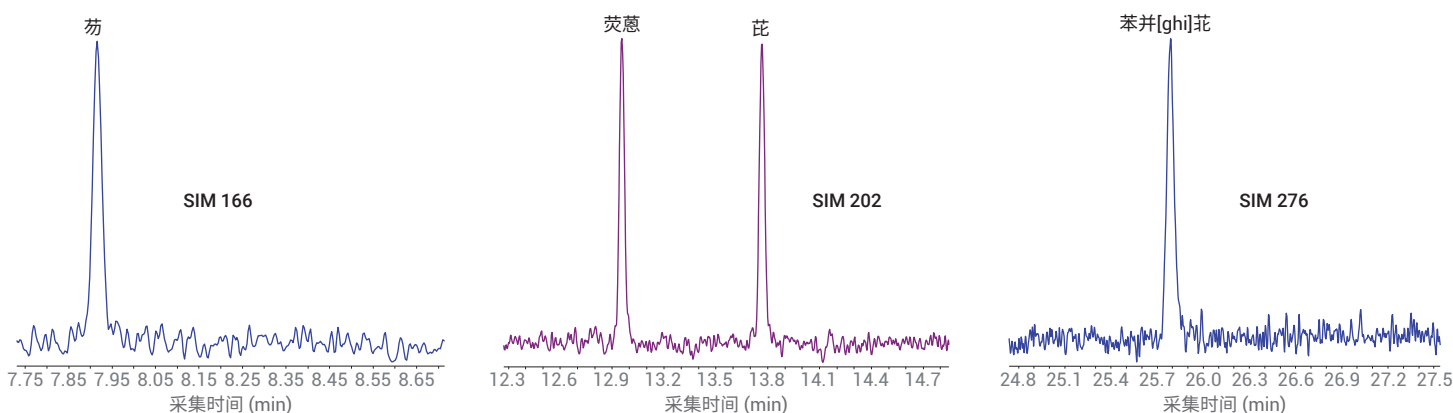


图 3. 最低浓度的校准标样 (1 pg) 中选定化合物的定量离子的响应

表 3 列出了利用 1-1000 pg 内的七种含量对系统进行三次 ISTD 校准所得到的 R^2 值。在整个范围内，所有分析物均表现出优异的线性。

响应稳定性

图 4 展示了对 100 pg 标样进行 60 次连续重复进样所得到的 ISTD 峰面积响应的精密度。ISTD 峰面积的 RSD 为：

- 萘- d_8 (3.3%)
- 蒽- d_{10} (3.2%)
- 菲- d_{10} (3.4%)
- 蒾- d_{12} (2.7%)
- 花- d_{12} (2.0%)

表 3. 七种浓度的 ISTD 校准三次所得到的 R^2 值，1-1000 pg SIM

化合物	RT (min)	校准 1	校准 2	校准 3
萘	5.149	1.0000	1.0000	1.0000
1-甲基萘	5.758	1.0000	1.0000	1.0000
2-甲基萘	5.926	1.0000	1.0000	1.0000
联苯	6.304	0.9998	0.9998	0.9998
2,6-二甲基萘	6.346	1.0000	1.0000	1.0000
蒽烯	7.042	1.0000	1.0000	1.0000
蒽	7.204	1.0000	1.0000	1.0000
2,3,5-三甲基萘	7.416	1.0000	1.0000	1.0000
芴	7.912	1.0000	1.0000	1.0000
二苯并噻吩	9.675	1.0000	1.0000	1.0000
菲	9.935	1.0000	1.0000	1.0000
蒽	10.002	1.0000	1.0000	1.0000
1-甲基菲	11.282	1.0000	1.0000	1.0000
荧蒽	12.952	1.0000	0.9999	1.0000
芘	13.764	1.0000	0.9999	1.0000
苯并[a]蒽	17.215	1.0000	1.0000	1.0000
蒾	17.474	1.0000	1.0000	1.0000
苯并[b]荧蒽	20.461	1.0000	1.0000	0.9999
苯并[k]荧蒽	20.528	1.0000	1.0000	1.0000
苯并[j]荧蒽	20.624	1.0000	0.9999	0.9999
苯并[e]芘	21.494	1.0000	1.0000	1.0000
苯并[a]芘	21.631	1.0000	1.0000	1.0000
花	21.966	1.0000	1.0000	1.0000
二苯并[a,c]蒽	24.460	1.0000	1.0000	0.9999
二苯并[a,h]蒽	24.588	0.9999	0.9999	0.9997
茚并[1,2,3-cd]芘	24.622	1.0000	1.0000	0.9998
苯并[ghi]花	25.778	1.0000	1.0000	1.0000

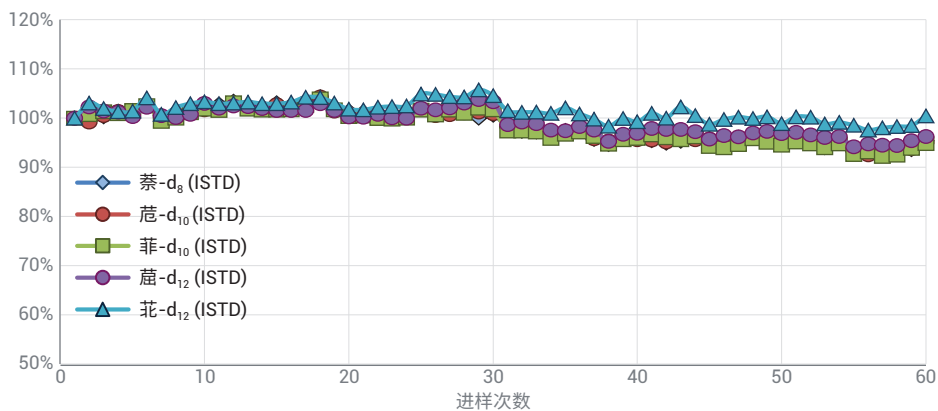


图 4. 100 pg 校准标样进样分析 60 次所得到的 ISTD 响应稳定性。峰面积基于首次进样的结果进行归一化

图 5 展示了对 100 pg 标样进行 60 次连续重复运行所得到的多种分析物的计算浓度。该系统表现出优异的响应稳定性。所有 27 种分析物的计算浓度的平均 RSD 为 1.1%。

土壤提取物的响应稳定性

特意选择具有高基质含量的土壤提取物进行稳定性测试，以挑战系统性能。图 6 对提取物与 100 pg PAH 标样的扫描 TIC 进行了比较。土壤提取物具有极高的基质含量。请注意，对于具有这一有机物含量水平的土壤，在常规分析中应考虑进行进一步样品净化。所用的样品前处理仅用于测试目的。

为测试系统的稳定性，在土壤提取物中加入 27 种分析物（各自含量为 100 pg）和 500 pg 的各种 ISTD。然后对加标提取物进样分析 60 次。在每次运行中，根据基于溶剂的校准曲线对 PAH 进行定量，并对所得的计算浓度作图。图 7 展示了多种分析物的计算浓度。萘和苯并[ghi]花的实测浓度均高于加标浓度 (100 pg)。发现这些化合物在土壤中的含量与图 7 中的偏移大致对应。土壤中的花（未示出）含量约为 200 pg。

所有 27 种分析物的计算浓度的平均 RSD 为 4.4%。对于 27 种分析物中的 22 种，在对土壤样品进样 60 次后得到的计算浓度处于土壤样品首次进样所得浓度的 20% 误差范围以内。与预期结果一样，最重的分析物（如苯并[ghi]花）响应下降速度最快。

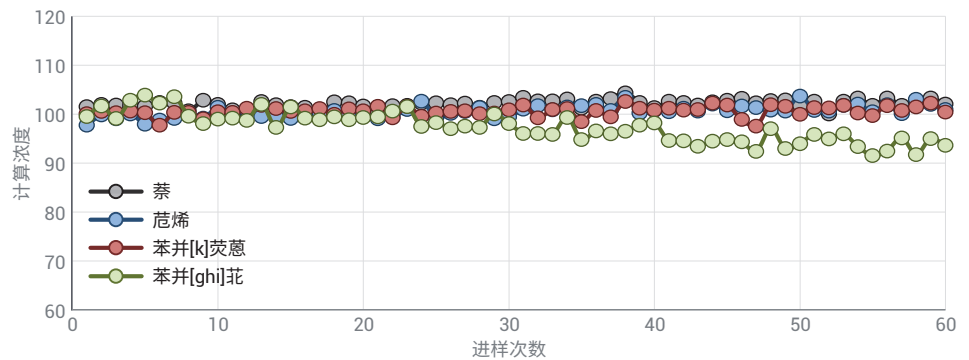


图 5. 100 pg 校准标样进行 60 次连续进样所得到的计算浓度的稳定性

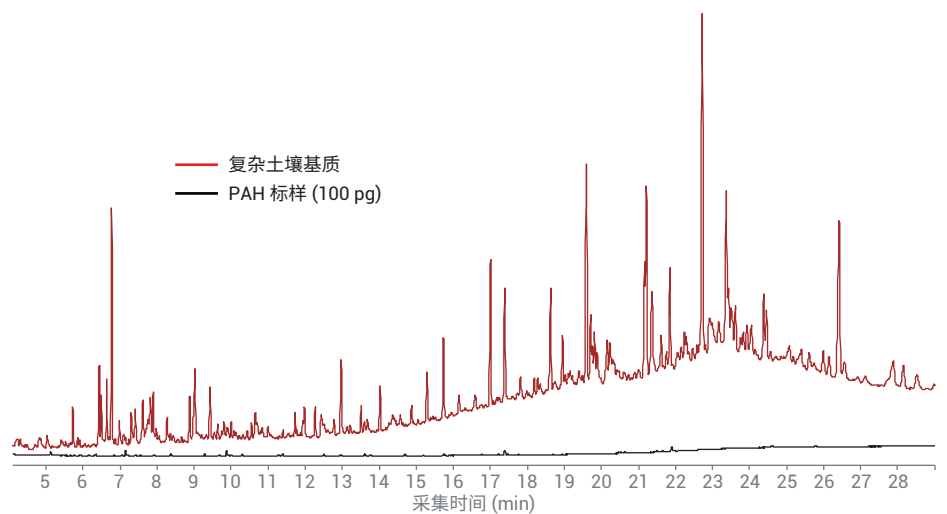


图 6. 含 500 pg ISTD 的土壤提取物和 100 pg PAH 标样的扫描 TIC，两者采用相同刻度绘制，结果表明提取物中存在大量物质

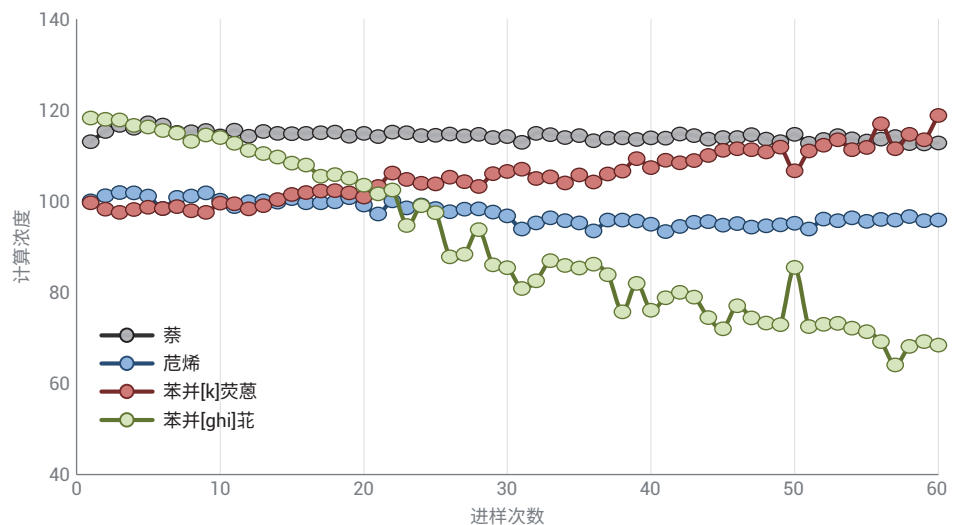


图 7. 加标 100 pg PAH 标样和 500 pg ISTD 的土壤基质进样 60 次所得到的计算浓度的稳定性

对土壤提取物进样分析 60 次后，执行进样口维护。维护工作包括更换隔垫、进样口衬管和分流平板，并从色谱柱 1 的柱头截去 30 cm。移除衬管和分流平板后，用甲醇饱和的棉签清洁进样口。经过维护后，运行 100 ppb 校准标样，并使用在重复测定之前生成的原始校准曲线进行定量分析。表 4 列出了实测浓度。所有分析物均处于预期浓度的 7% 误差范围以内。表 4 还列出了在进样口维护后执行全范围校准所得到的 R^2 值。表 4 中的数据表明，土壤导致的系统性能下降仅限于进样口和柱头，符合预期。

对于如本实验所用的基质含量，通常无需离子源清洁。使用 JetClean 和 9 mm 拉出透镜大大减少了通常会导致离子源性能下降的沉积物。

表 4. 系统维护后的校准检查以及 7 种浓度 ISTD 校准 (1–1000 pg SIM) 的 R^2 值

化合物	RT (min)	维护之后，100 pg 校准验证标样的计算浓度	维护之后执行校准所得到的 R^2
萘	5.141	100	1.0000
1-甲基萘	5.752	100	1.0000
2-甲基萘	5.920	102	1.0000
联苯	6.298	99	1.0000
2,6-二甲基萘	6.340	100	1.0000
蒽烯	7.031	96	1.0000
蒽	7.193	98	1.0000
2,3,5-三甲基萘	7.408	99	1.0000
芴	7.904	98	1.0000
二苯并噻吩	9.663	97	1.0000
菲	9.923	96	1.0000
葱	9.991	97	1.0000
1-甲基菲	11.268	97	1.0000
荧葱	12.943	94	1.0000
苊	13.752	95	1.0000
苯并[a]葱	17.210	95	1.0000
蒎	17.465	95	1.0000
苯并[b]荧葱	20.455	96	1.0000
苯并[k]荧葱	20.519	96	1.0000
苯并[j]荧葱	20.615	95	0.9999
苯并[e]苊	21.485	93	1.0000
苯并[a]苊	21.622	93	1.0000
花	21.957	94	1.0000
二苯并[a,c]葱	24.452	95	1.0000
二苯并[a,h]葱	24.574	95	1.0000
茚并[1,2,3-cd]苊	24.614	94	1.0000
苯并[ghi]花	25.766	93	1.0000

结论

该系统解决了 GC/MS PAH 分析中面临的许多问题。使用 JetClean、9 mm 拉出透镜、更高的区域温度以及合适的衬管，大大改善了线性、峰形和系统稳定性。JetClean 大幅减少了对手动清洁离子源的需求，有助于提升实验室的分析效率。

对于分析具有严重基质干扰的大体积样品的实验室而言，配备 JetClean 和柱中反吹的 Agilent 8890/7000D 三重四极杆气质联用系统不仅提供了本文中证明的所有优势，还具有更优异的 MS/MS 特异性^[4]。与 GC/MS 相比，GC/MS/MS 针对基质产生的质谱干扰物质具有更高的选择性，从而简化了数据审查。

参考文献

1. Szelewski, M.; Quimby, B. D. Optimized PAH Analysis Using the Agilent Self-Cleaning Ion Source and Enhanced PAH Analyzer (使用安捷伦智氢洁离子源和增强型 PAH 分析仪优化 PAH 分析)，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5191-3003EN，**2013**
2. Anderson, K. A.; et al. Modified ion source triple quadrupole mass spectrometer gas chromatograph for polycyclic aromatic hydrocarbons, *Journal of Chromatography A* **2015**, 1419(6), 89-9US
3. Quimby, B. D.; Prest, H. F.; Szelewski, M. J.; Freed, M. K. *In-situ* conditioning in mass spectrometer systems, *US Patent 8,378,293* Feb 19, **2013**
4. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D. Optimized GC/MS/MS Analysis for PAHs in Challenging Matrices (用于分析挑战性基质中 PAH 的优化的 GC/MS/MS 方法)，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-0498EN，**2019**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、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，2018
2018年12月12日，中国出版
5994-0499ZHCN

