

使用配备氢气载气和 Agilent Hydro 惰性离子源的 GC/MS 进行 PAHs 分析



作者

Bruce D. Quimby,
Samuel Haddad,
Anastasia A. Andrianova
安捷伦科技有限公司

摘要

Agilent 8890 GC 和 Agilent 5977C GC/MSD 配合使用氢气载气和针对氢气操作优化的新型离子源。Agilent Hydro 惰性离子源与本应用简报所述的方法配合使用时，在 0.25–1000 pg 的校准范围内为多环芳烃 (PAHs) 的分析提供了出色的峰形、灵敏度和线性。通过选择合适的仪器配置和操作条件，配备氢气载气的系统可以生成与配备氮气的系统相当甚至更出色的结果。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

PAHs 是一组由至少两个或多个稠合共轭苯环组成的化合物，其分子中的环之间共有一对碳原子。PAHs 具有多种来源，是一类广泛分布于世界各地的污染物。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。PAHs 可通过多种技术进行分析，包括 HPLC/UV、GC/FID、GC/MS 和 GC/MS/MS。

本应用简报重点介绍使用氢气作为 GC 载气并在选择离子监测 (SIM) 模式下运行的 GC/MS。虽然氦气通常被视为 GC/MS 分析的理想载气，但其频繁短缺增加了应用中使用氢气作为载气的需求。用氢气进行 GC/MS 分析时，需要考虑以下几点。

首先，氢气是一种反应性气体，可能会在进样口、色谱柱中引起化学反应，有时还会在质谱仪电子轰击电离 (EI) 源中引起化学反应，从而改变分析结果。确保分析物与氢气在 GC/MS 中的高温条件下不发生化学反应，这一点非常重要。

其次，必须使用可靠的清洁氢气来源。如需长期使用，建议使用规格为纯度高于 99.9999% 且水和氧气含量分别较低的发生器。建议为氢气发生器配上水分过滤器。对于短期使用，可以采用充装色谱级或研究级氢气的钢瓶。还建议所有需要使

用易燃易爆气体的人员都参加实验室的安全培训课程，以正确处理和使用气体。

此外，对于 GC/MS 应用，将载气换为氢气时，可能需要对气相色谱仪和质谱仪的硬件进行更换。《安捷伦 EI GC/MS 仪器载气由氦气转换为氢气的用户指南》^[1] 详细介绍了转换步骤。步骤包括选择进样口衬管、色谱柱、真空泵和 EI 离子源。色谱条件和进样溶剂也可能需要调整。

使用氢气载气的优势之一在于，可以降低 EI 离子源的清洁需求。当使用在分析过程中使氢气以低流速连续进入离子源的 Agilent JetClean 技术时，也观察到类似的改进^[2,3,4]。使用氢气载气的第二个优势是能在保持色谱分离度的同时缩短分析时间。

PAHs 是相对稳定的化合物，因此在使用优化方法并遵循本应用简报所述的建议时，可以使用氢气载气进行分析。本研究中解决的 PAH 分析的其他挑战包括峰拖尾（常见于晚洗脱分析物）以及整个校准范围内的 ISTD（内标）响应不一致。借助使用 Hydro 惰性离子源的优化方法，观察到所有 27 种分析物在各自的校准范围内均获得了出色的线性， $R^2 \geq 0.999$ 。在 27 种分析物中，18 种分析物的校准范围为 0.1–1000 pg，8 种分析物的校准范围为 0.25–1000 pg，1 种分析物的校准范围为 0.5–1000 pg。方法检测限 (MDL) 的范围为 0.03–0.20 pg，平均值为 0.09 pg。

实验部分

本实验所用的系统配置是为了尽可能减少 PAH 分析中氢气载气的潜在问题。采用重要参数包括：

- **氢气：**使用纯度规格为 99.9999% 且水和氧气单独含量较低的内部氢气作为载气
- **脉冲不分流进样：**用于将 PAHs（尤其是重组分）尽可能多地传输到色谱柱中
- **色谱柱规格：**利用 Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m × 0.18 mm 内径，0.14 μm（货号 121-9627），以保持理想的载气流速和进样口压力
- **进样口衬管：**已发现安捷伦通用超高惰性中部砂芯衬管（货号 5190-5105）使土壤提取物获得了良好的峰形，并具有出色的惰性和使用寿命
- **Hydro 惰性 EI 离子源：**PAHs 对 MS EI 离子源提出了独特的挑战，即使使用氢气作为载气也是如此^[2]。借助氢气载气，通常能够改善 PAHs 分析的性能，使用针对氢气进行了优化的 Hydro 惰性离子源尤其如此。9 mm 提取透镜是 Hydro 惰性离子源默认提供的透镜，也是 PAH 分析的理想选择，因为它提供了优异的校准线性、响应精度和峰形

图 1 显示本研究中使用的系统配置。

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 PAHs 沉积。进样口和 MSD 传输线保持在 320 °C。MS 离子源在 320 °C 下运行。

利用脉冲不分流进样将 PAHs（尤其是重组分）尽可能多地传输到色谱柱中。超高惰性中部砂芯衬管非常适合本应用。砂芯可传热给 PAHs，并堵住进入进样口基座的通道。如果 PAHs 沉积到进样口基座，将很难气化并吹扫到色谱柱中。

使用异辛烷稀释安捷伦 PAH 分析仪校准试剂盒（货号 G3440-85009），制得 PAH 校准标样。该试剂盒包含浓度为 10 µg/mL 的 27 种 PAHs 的储备液以及浓度为 50 µg/mL 的 5 种 ISTDs 的储备液。配制了 12 种校准浓度：0.1、0.25、0.5、1、2、10、20、100、200、400、750 和 1000 ng/mL。各种浓度的校准标样中还包含 500 ng/mL 的 ISTDs。有关化合物鉴定，请参见表 2 和图 2。所有定量测定均使用 Agilent MassHunter 定量分析软件 11.1 版。

将市售表土样品（Weaver Mulch, Coatesville, PA, USA）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 干燥的土壤在搅拌下萃取过夜。对提取物进行过滤，并通过蒸发使滤液体积减少为 2/15。利用所得的提取物开展稳定性实验。

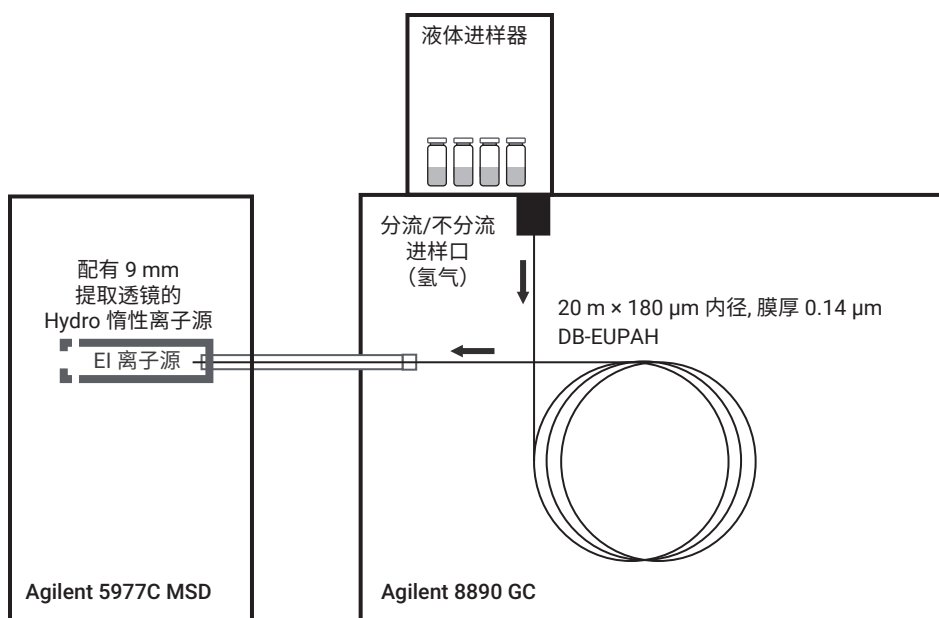


图 1. 系统配置

表 1. 用于 PAH 分析的 GC 和 MS 条件

方法参数	
进样口	EPC 分流/不分流
模式	脉冲不分流
进样脉冲压力	40 psi 持续 0.70 min
分流出口吹扫流速	50 mL/min, 0.75 min 时开始
进样量	1 µL
进样口温度	320 °C
进样口衬管	安捷伦通用超高惰性中部砂芯衬管（货号 5190-5105）
色谱柱	Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m x 0.18 mm, 0.14 µm（货号 121-9627）
柱温程序	60 °C（保持 1 min） 以 25 °C/min 升至 200 °C 以 10 °C/min 升至 335 °C（保持 6 min） 总分析时间：20 min
载气和流速	H ₂ , 0.9 mL/min, 恒流模式
MSD	Hydro 惰性离子源 9 mm
传输线温度	320 °C
离子源温度	320 °C
四极杆温度	150 °C
电子倍增器电压增益模式	3
模式	SIM
调谐	ETUNE.U

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。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。本研究使用的样品前处理仅用于测试目的。此外，不建议将萃取溶剂（1:1 v/v 二氯甲烷/丙酮）用于使用氢气载气的常规分析。卤代溶剂（例如二氯甲烷）可能会在热进样口与氢气反应，形成低含量 HCl，随着时间的推移会导致衬管和色谱柱柱头降解。

表 2. 用于定量离子和定性离子的 SIM 离子

名称	RT (min)	定量离子	定性离子 1	定性离子 2	定性离子 3
萘-d ₈	4.068	136	134	108	
萘	4.089	128	127	129	102
1-甲基萘	4.681	142	141	115	139
2-甲基萘	4.833	142	141	115	143
联苯	5.215	154	153	76	155
2,6-二甲基萘	5.236	156	141	155	115
蒽烯	5.761	152	151	153	76
蒽-d ₁₀	5.851	164	80		
蒽	5.889	153	154	151	155
2,3,5-三甲基萘	6.075	170	155	169	153
芴	6.380	166	165	163	167
二苯并噻吩	7.424	184	185	139	152
菲-d ₁₀	7.552	188	189		
菲	7.585	178	179	177	152
蒽	7.625	178	179	177	152
1-甲基菲	8.438	192	191	193	190
荧蒽	9.529	202	203	201	101
芘	10.060	202	203	201	101
苯并[a]蒽	12.611	228	226	229	114
屈-d ₁₂	12.731	240	236		
屈	12.794	228	226	229	114
苯并[b]荧蒽	15.058	252	126		
苯并[k]荧蒽	15.114	252	126		
苯并[j]荧蒽	15.181	252	126		
苯并[e]芘	15.821	252	253	126	250
苯并[a]芘	15.927	252	253	250	126
花-d ₁₂	16.133	264	260		
花	16.191	252	253	126	250
二苯并[a,c]蒽	18.020	278	279	139	138
二苯并[a,h]蒽	18.093	278	279	139	138
茚并[1,2,3-cd]芘	18.093	276	138	277	137
苯并[ghi]花	18.655	276	138	277	137

结果与讨论

初始校准

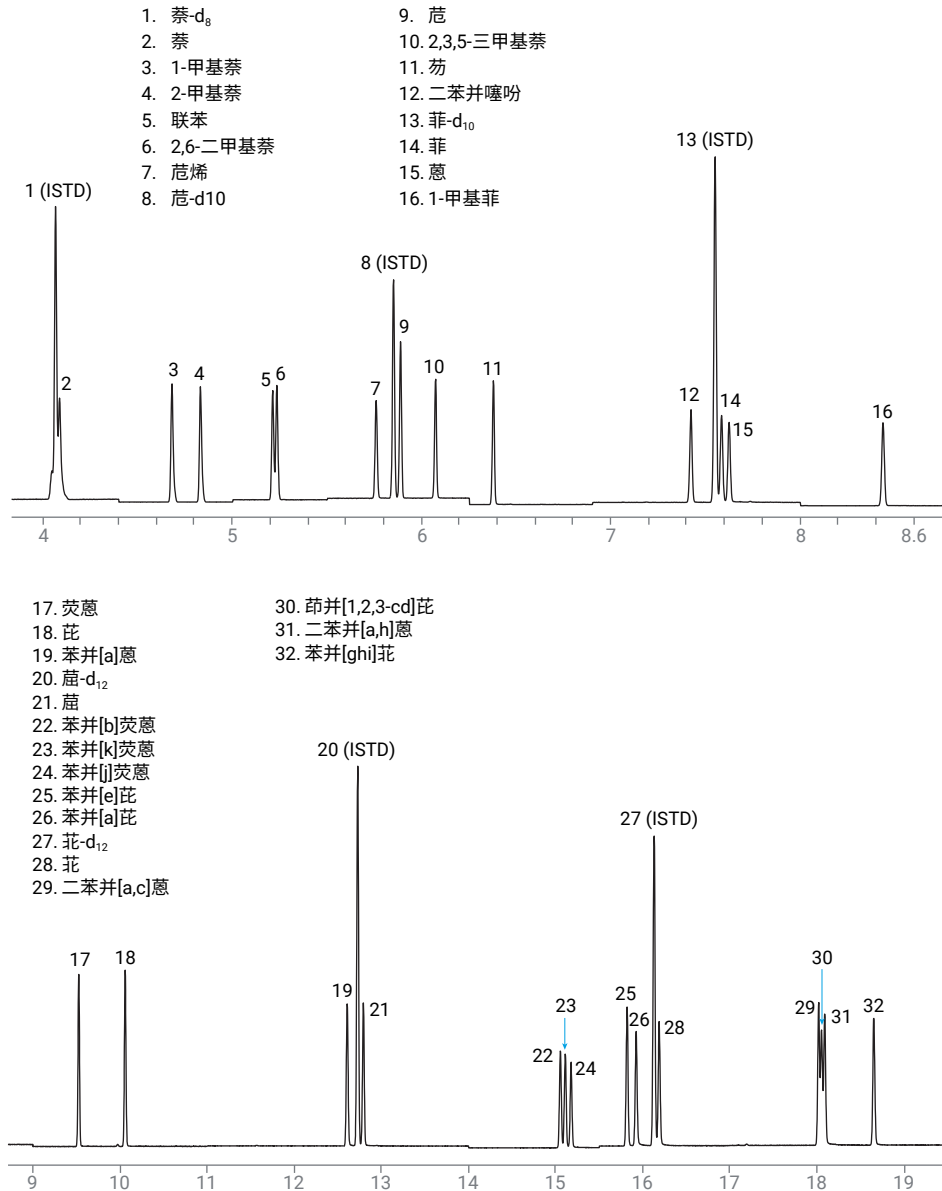


图 2. 包含 500 pg/μL ISTDs 的 100 pg/μL 校准标样的 SIM TIC

图 2 显示了包含 500 pg/μL ISTDs 的 100 pg/μL 校准标样的 SIM TIC。借助本研究中使用的参数，多环芳烃（尤其是晚洗脱化合物）获得了出色的峰形。唯一的例外是前两个峰，即萘-d₈ 和萘，它们在使用脉冲进样时会发生一定程度的变形。一般而言，当使用氢气载气时，Hydro 惰性离子源为 PAHs 提供了理想的峰形。使用当前设置获得的色谱分离度也优于使用氦气获得的结果^[2]。由于氢气载气与直径较小的色谱柱的组合，当前方法的运行时间为 20 分钟，相比之下，氦气方法的运行时间为 26 分钟。当前方法的运行时间可以进一步缩短，且仍然保持与氦气方法相同的分离度。然而，最终选择 20 分钟方法条件，因为这些条件使二苯并[a,c]蒽、茚并[1,2,3-cd]芘和二苯并[a,h]蒽获得了理想的分离度。

使用 Hydro 惰性离子源还得到了出色的信噪比，使校准范围能够扩展到亚皮克级，如图 3 所示。

27 种分析物中有 18 种获得了足够高的信号，能够在 0.1–1000 pg 之间进行校准。8 种分析物的校准范围为 0.25–1000 pg。只有 1 种化合物（2-甲基萘）需要在 0.5–1000 pg 之间进行校准。表 3 列出了利用 0.1–1000 pg 内的 12 种含量得到的系统校准结果。在整个范围内，所有分析物均表现出优异的线性。

如有必要，使用相对标准误差 (RSE) 值来指导去除最低校准点，使 RSE 值 < 20%。所有校准均获得了 0.999 或更高的 R² 值。

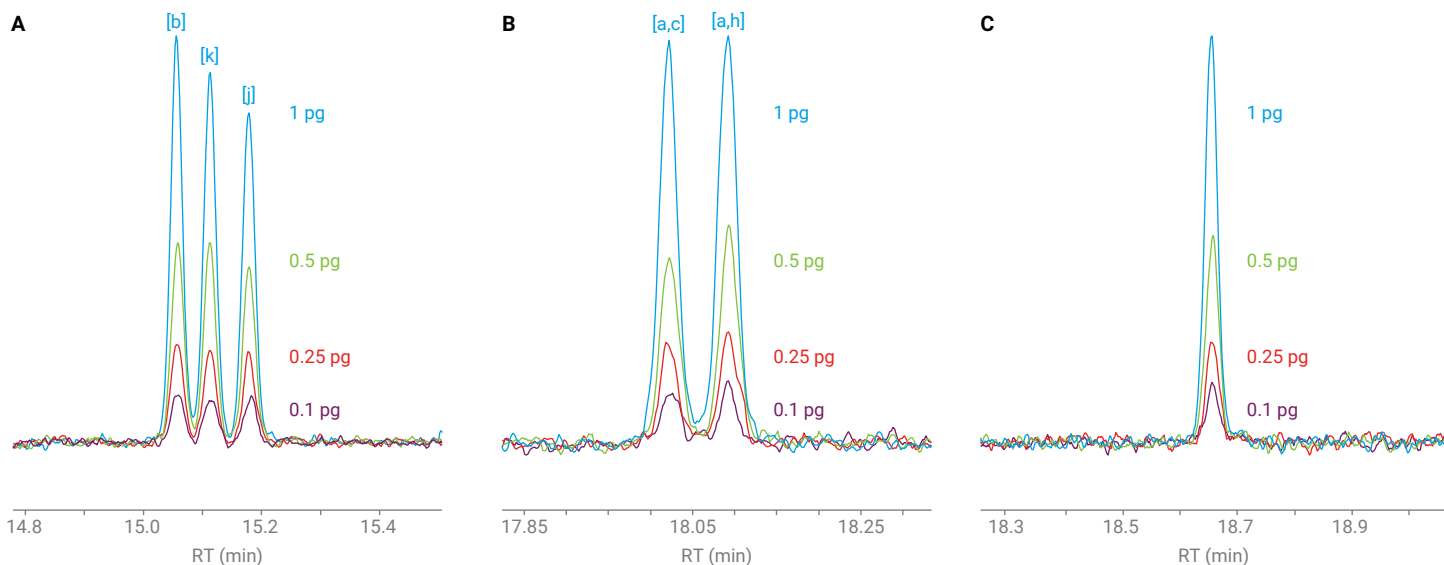


图 3. 最低校准浓度下选定化合物的定量离子的响应。(A) 苯并荧蒽的 [b]、[k] 和 [j] 异构体。(B) 二苯并蒽的 [a,c] 和 [a,h] 异构体。(C) 苯并[ghi]芘

方法检测限

完成初始校准后进行了 MDL 研究。使用 0.25 pg 校准标样进行了 8 次测试。通过公式 1 计算 MDLs。对于报告限值较高的化合物，在 0.5 pg 浓度下进行了 8 次测试。表 3 列出了 MDLs 计算值。27 种化合物的 MDLs 范围为 0.03–0.20 pg。

公式 1. MDL 计算公式

$$MDL = s \times t(n - 1, 1 - \alpha = 99) = s \times 2.998$$

其中：

$t(n - 1, 1 - \alpha)$ = 自由度为 $n - 1$ ，置信水平为 99% 的 t 值

n = 测试次数 (8)

s = 八次测试的标准偏差

ISTD 响应在校准范围内的稳定性

使用氦气载气和标准 3 mm 提取透镜分析 PAHs 时遇到的问题之一是 ISTDs 响应随分析物浓度的提高而增加。这种效应会导致芘- d_{12} 的响应在校准范围内增加多达 60%，并导致显著的定量误差。这个问题之前已通过使用 JetClean 和 9 mm 提取透镜得到解决^[3,4]。借助 JetClean，使用氦气作为载气，但氦气以通常在 0.2–0.35 mL/min 范围内的流速连续通入离子源中。这种方法大大减小了蔓延的 ISTD 效应，并获得了出色的定量结果。

图 4 显示了使用当前方法得到的 ISTD 响应在校准范围内的稳定性。如图 4 所示，将氦气载气与 Hydro 惰性离子源和 9 mm 提取透镜配合使用还消除了蔓延的 ISTD 响应问题。在整个校准范围内，原始峰面积响应的 %RSD 均为 3.3% 或更低。这是实现表 3 所列的出色校准线性的一个重要因素。

表 3. 在 0.1–1000 pg 范围内 12 种含量的 SIM 模式 ISTD 校准的结果。所有校准均采用 1/x 加权进行线性拟合

名称	RT (min)	CF 下限 (pg)	CF 上限 (pg)	CF R ²	相对标准误差	平均RF RSD	用于确定 MDL 的浓度 (pg)	MDL (pg)
萘-d₈ [ISTD]	4.068	内标						
萘	4.089	0.1	1000	0.9998	5.7	23.0	0.50	0.19
1-甲基萘	4.681	0.25	1000	0.9992	11.4	4.8	0.50	0.06
2-甲基萘	4.833	0.5	1000	0.9992	10.9	7.6	0.50	0.07
联苯	5.215	0.25	1000	0.9991	11.1	9.7	0.50	0.18
2,6-二甲基萘	5.236	0.25	1000	0.9989	12.8	5.4	0.50	0.07
萘烯	5.761	0.25	1000	0.9999	6.6	4.3	0.50	0.06
蒽-d₁₀ [ISTD]	5.851	内标						
蒽	5.889	0.25	1000	0.9995	8.7	7.4	0.25	0.14
2,3,5-三甲基萘	6.075	0.25	1000	0.9997	13.8	12.6	0.50	0.20
芴	6.380	0.25	1000	0.9996	10.0	5.0	0.25	0.05
二苯并噻吩	7.424	0.1	1000	0.9998	7.6	16.9	0.25	0.09
菲-d₁₀ [ISTD]	7.552	内标						
菲	7.585	0.25	1000	0.9998	6.2	5.3	0.25	0.10
蒽	7.625	0.1	1000	0.9998	15.1	17.3	0.25	0.16
1-甲基菲	8.438	0.1	1000	0.9996	8.5	4.9	0.25	0.10
荧蒽	9.529	0.1	1000	0.9994	11.6	10.7	0.25	0.03
芘	10.060	0.1	1000	0.9993	11.3	16.4	0.25	0.06
苯并[a]蒽	12.611	0.1	1000	0.9998	8.3	19.8	0.25	0.03
蒽-d₁₂ [ISTD]	12.731	内标						
蒽	12.794	0.1	1000	0.9999	6.2	19.3	0.25	0.06
苯并[b]荧蒽	15.058	0.1	1000	0.9990	11.4	16.2	0.25	0.05
苯并[k]荧蒽	15.114	0.1	1000	0.9993	13.1	18.5	0.25	0.06
苯并[j]荧蒽	15.181	0.1	1000	0.9994	10.6	18.4	0.25	0.06
苯并[e]芘	15.821	0.1	1000	0.9996	9.3	16.2	0.25	0.09
苯并[a]芘	15.927	0.1	1000	0.9998	8.2	4.7	0.25	0.05
芘-d₁₂ [ISTD]	16.133	内标						
芘	16.191	0.1	1000	0.9999	5.2	55.6	0.25	0.12
二苯并[a,c]蒽	18.020	0.1	1000	0.9997	6.3	14.3	0.25	0.06
二苯并[a,h]蒽	18.093	0.1	1000	0.9997	7.0	11.6	0.25	0.07
茚并[1,2,3-cd]芘	18.093	0.1	1000	0.9993	10.9	9.2	0.25	0.08
苯并[ghi]芘	18.655	0.1	1000	0.9997	9.4	11.0	0.25	0.14

土壤提取物的响应稳定性

图 5 显示了土壤提取物和溶剂空白的扫描 TIC 以便比较。从图中可以看出，土壤提取物具有非常高的基质含量，选择用于挑战该系统。对于具有这一有机物含量水平的土壤，建议在常规分析中进行进一步样品净化。本研究使用的样品前处理仅用于测试目的。此外，不建议将萃取溶剂（1:1 v/v 二氯甲烷/丙酮）用于使用氢气载气的常规分析。卤代溶剂（如二氯甲烷）可能会在热进样口与氢气反应，形成低含量 HCl，随着时间的推移会导致衬管和色谱柱柱头降解。

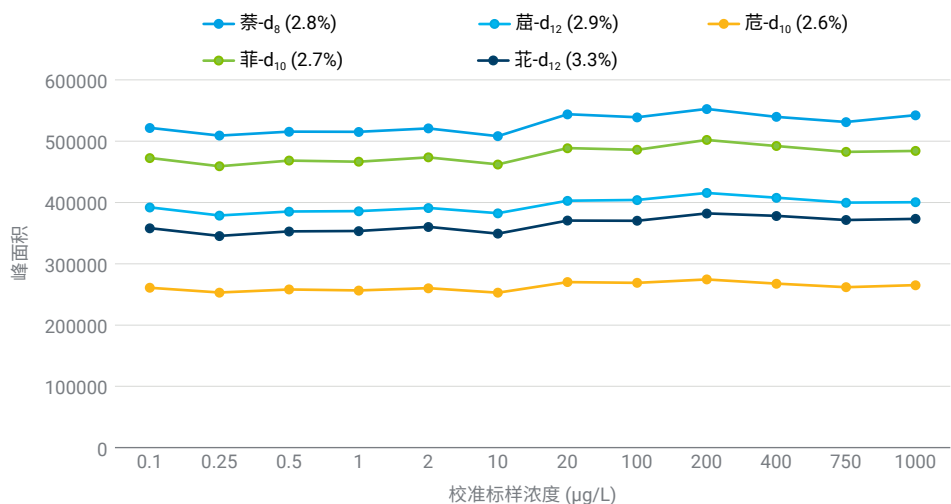


图 4. 校准范围内的 ISTD 响应稳定性

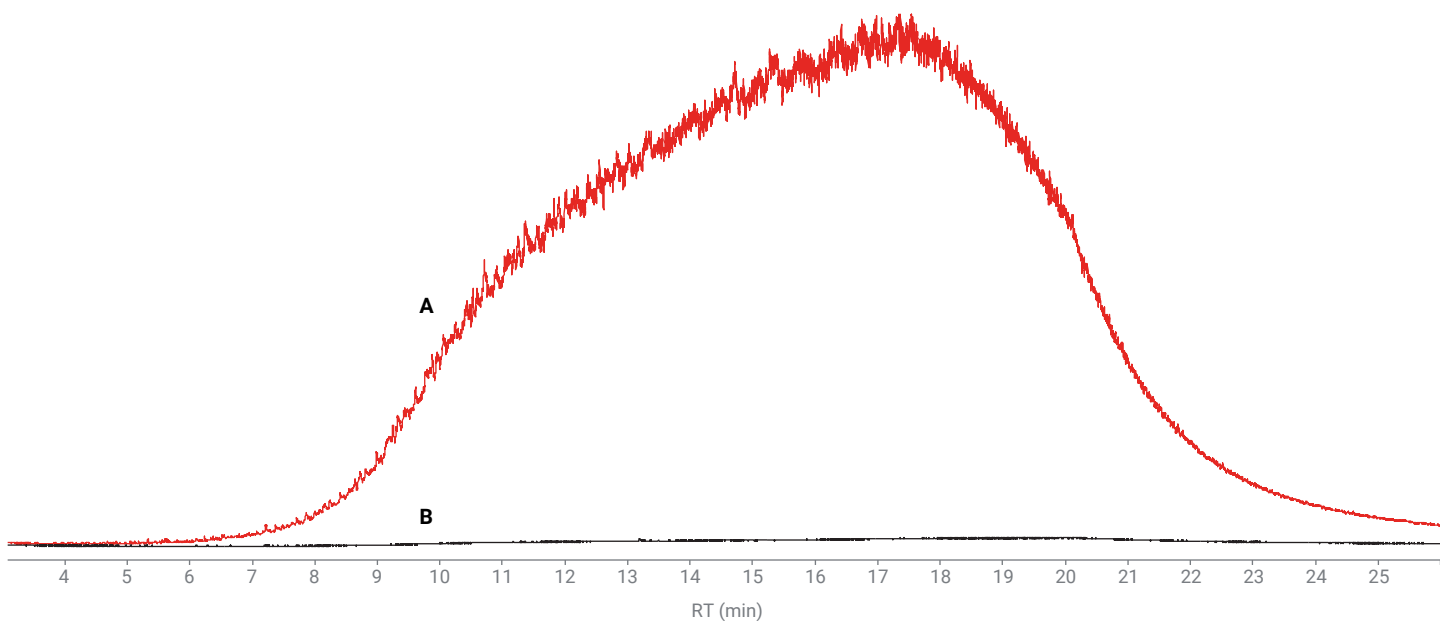


图 5. (A) 土壤提取物的扫描 TIC。(B) 用于比较的溶剂空白的扫描 TIC

图 6 显示了加标 100 ppb PAH 标准品和 500 ppb ISTDs 的土壤提取物的 SIM TIC。如 SIM TIC 所示，土壤基质在某些时间段内产生了重要的背景信号，最差的情形是最后一个时间段。还对提取的 SIM 276 离子（苯并[g,h,i]花的定量离子）作图，以表明其仍然适用于定量。

图 7 显示了加标土壤提取物中 PAHs 实测浓度的响应稳定性。在 100 次进样测试过程中，无需维护 GC 进样口或色谱柱。电子倍增器的增益曲线在序列期间使用关键字每 15 次运行自动更新一次。如图 7 所示，100 次进样的结果保持稳定。所有化合物的实测浓度均在 92-131 pg 的范围内。

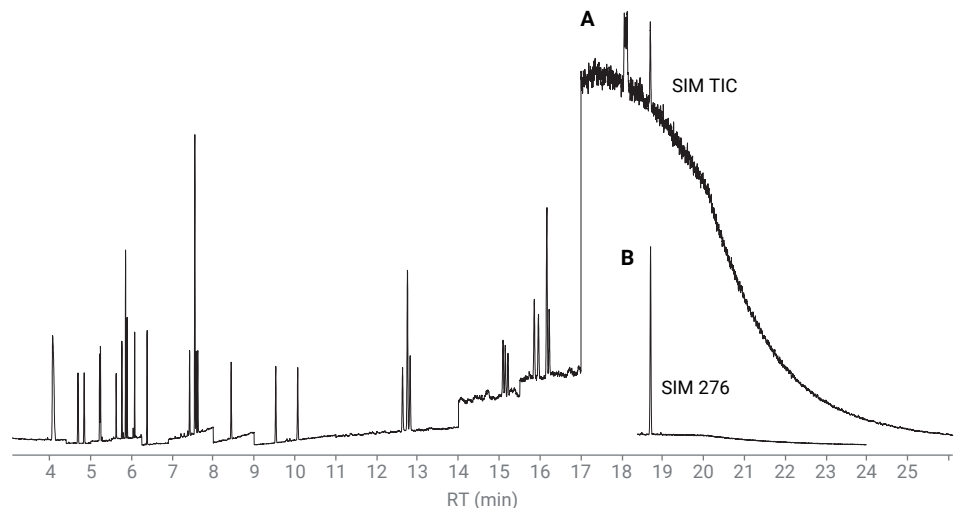


图 6. 加标 100 pg PAH 标样和 500 pg ISTDs 的土壤提取物。(A) SIM TIC。(B) 苯并[g,h,i]花的 SIM 276 定量离子

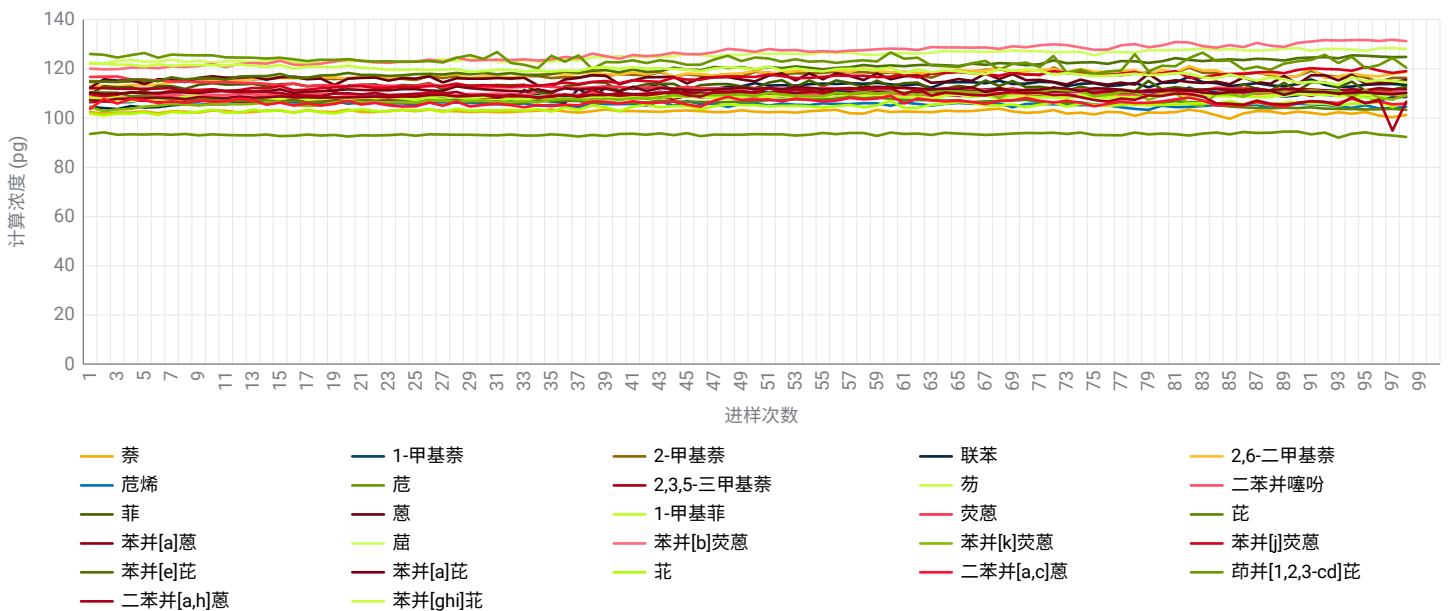


图 7. 加标 100 pg PAH 标样和 500 pg ISTDs 的土壤基质进样 100 次所得到的计算浓度的稳定性

结论

本文所述的使用氢气载气和 Agilent Hydro 惰性离子源的 GC/MS 方法与之前的氮气方法相比获得了以下几项改进：

- 出色的色谱峰形，几乎无拖尾
- MDL 和线性与使用氮气获得的结果相当或更出色
- 色谱分离度更高，且运行时间更短
- ISTD 响应在四个数量级的校准中保持稳定
- 在 < 1 至 1000 pg 的范围内具有出色的线性
- 平均 MDL 约为 0.1 pg
- 在具有挑战性的土壤提取物的 100 次进样中性能稳定

对于希望将其 PAH 分析转换为更具可持续性的氢气载气的实验室，配有 9 mm 提取透镜的 Hydro 惰性离子源能够以同等或更出色的性能实现转换。

参考文献

1. Agilent EI GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion (安捷伦 EI GC/MS 仪器载气由氮气转换为氢气)，*安捷伦科技公司用户指南*，出版号 5994-2312EN，**2022**
<https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/user-guide-coverting-ei-gcms-instruments-5994-2312en-agilent.pdf>
2. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D. 用于分析挑战性基质中 PAHs 的优化的 GC/MS 方法，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0499ZHCN，**2019**
3. Anderson, K. A. et al. Modified Ion Source Triple Quadrupole Mass Spectrometer Gas Chromatograph for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatogr. A* **2015**, 1419, Pages 89–98
4. Quimby, B. D.; Prest, H. F.; Szelewski, M. J.; Freed, M. K. In-Situ Conditioning in Mass Spectrometer Systems. US Patent 8,378,293, **2013**

www.agilent.com

DE82649723

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，2023
2023 年 2 月 14 日，中国出版
5994-5711ZHCN

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

