

用于分析挑战性基质中 PAH 的优化的 GC/MS/MS 方法

使用配备 JetClean 和柱中反吹的 Agilent 8890/7000D 三重四极杆气质联用系统

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 7000D 三重四极杆气质联用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。相比于 MS，MS/MS 所具有的更高的选择性还可简化数据审查。

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 MRM 模式下操作的 GC/MS/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 MRM 和数据分析时间窗口。

实验部分

所用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：

- **MS/MS：**与 GC/MS 相比，GC/MS/MS 中的 MRM 模式具有更高的选择性，减少或消除了由基质产生的干扰响应，从而简化了高基质样品分析过程中的数据审查。干扰响应通常需要对定量离子或定性离子进行手动积分
- **JetClean：**7000D 三重四极杆气质联用系统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性。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 离子源应保持在最低 320 °C。

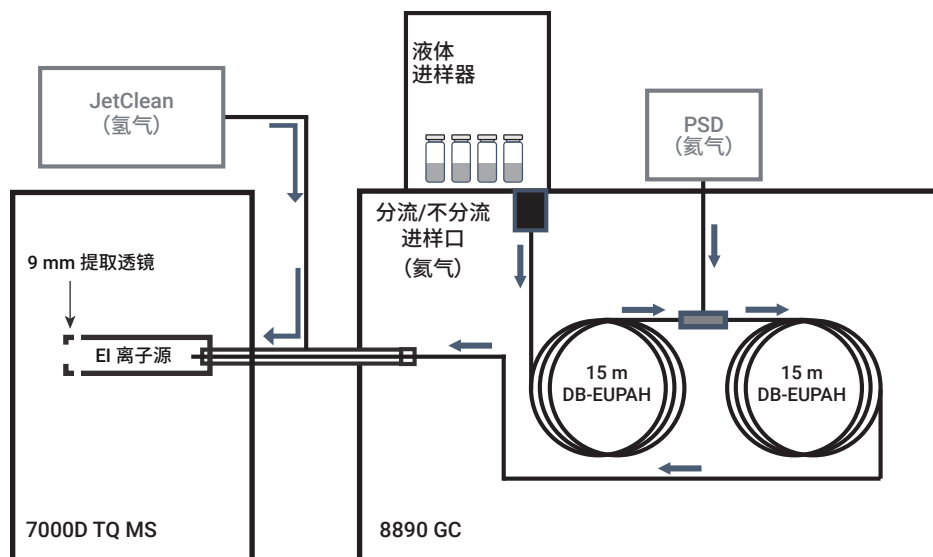


图 1. 系统配置

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 (保持 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, 0.9557 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, 1.1557 mL/min
进样口连接	PUU
出口连接	MSD
后运行流速 (反吹)	12.518 mL/min

7000D 三重四极杆气质联用系统	
离子源	惰性 Extractor
拉出透镜	9 mm
调谐文件	atunes.ei.tune.xml
模式	MRM
溶剂延迟	4 分钟
电子倍增器电压 增益模式	10
四极杆温度 (MS1 和 MS2)	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

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。

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 pg/µL。各种浓度的校准标样中还包含 500 pg/µL 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 MRM 离子对

名称	RT	定量离子	CE	定性离子	CE
萘-d8	5.041	136.0 → 136.0	19		
萘	5.067	128.0 → 102.0	22	128.0 → 127.0	20
1-甲基萘	5.693	142.0 → 115.0	30	142.0 → 141.0	30
2-甲基萘	5.864	142.0 → 115.0	30	142.0 → 141.0	30
联苯	6.249	154.0 → 152.0	25	154.0 → 153.0	25
2,6-二甲基萘	6.285	156.0 → 115.0	30	156.0 → 141.0	30
蒽烯	6.986	152.0 → 150.0	40	152.0 → 151.0	40
蒽-d10	7.095	162.0 → 160.0	19		
蒽	7.149	154.0 → 152.0	40	153.0 → 152.0	40
2,3,5-三甲基萘	7.361	170.0 → 155.0	25	170.0 → 153.0	25
芴	7.858	166.0 → 165.0	30	166.0 → 163.0	34
二苯并噻吩	9.618	184.0 → 139.0	40	184.0 → 152.0	40
菲-d10	9.819	188.0 → 188.0	19		
菲	9.879	178.0 → 176.0	34	178.0 → 152.0	30
蒽	9.940	178.0 → 176.0	34	178.0 → 152.0	30
1-甲基菲	11.217	192.0 → 191.0	25	192.0 → 165.0	30
荧蒽	12.882	202.0 → 200.0	50	202.0 → 201.0	50
芘	13.692	202.0 → 200.0	50	202.0 → 201.0	30
苯并(a)蒽	17.145	228.0 → 226.0	38	228.0 → 224.0	38
蒽-d12	17.309	240.0 → 236.0	25	118.0 → 116.0	25
蒽	17.400	228.0 → 226.0	38	228.0 → 224.0	38
苯并(b)荧蒽	20.379	252.0 → 250.0	42	250.0 → 248.0	40
苯并(k)荧蒽	20.445	252.0 → 250.0	42	250.0 → 248.0	40
苯并(j)荧蒽	20.543	252.0 → 250.0	42	250.0 → 248.0	40
苯并(e)芘	21.412	252.0 → 250.0	40	250.0 → 248.0	40
苯并(a)芘	21.549	252.0 → 250.0	40	250.0 → 248.0	40
芘-d12	21.806	264.0 → 260.0	40	264.0 → 236.0	25
芘	21.884	252.0 → 250.0	40	250.0 → 248.0	40
二苯并(a,c)蒽	24.347	278.0 → 276.0	38	276.0 → 274.0	38
二苯并(a,h)蒽	24.474	278.0 → 276.0	38	276.0 → 274.0	38
茚并(1,2,3-cd)芘	24.504	276.0 → 274.0	42	138.0 → 124.0	30
苯并(ghi)芘	25.644	276.0 → 274.0	42	274.0 → 272.0	42

结果与讨论

初始校准

图 2 展示了 100 pg 校准标样的 MRM 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) 略有下降，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。

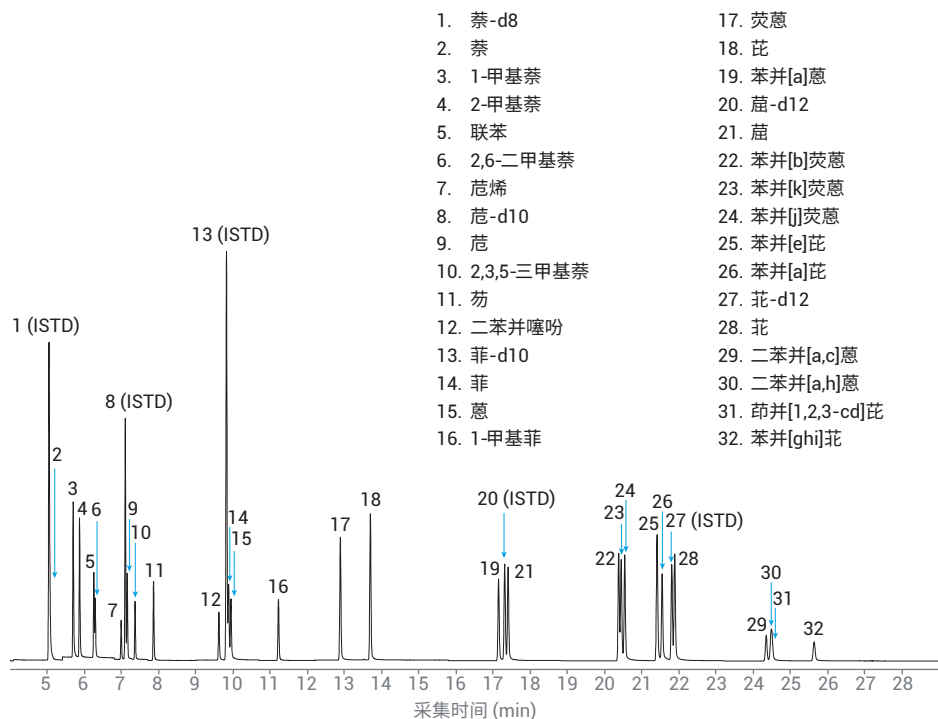
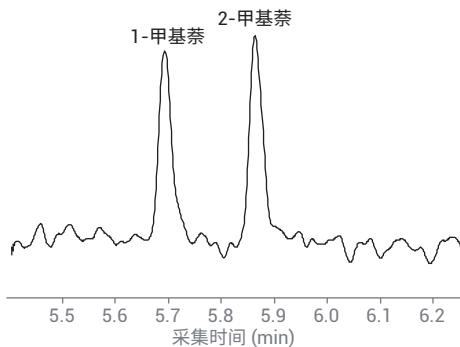
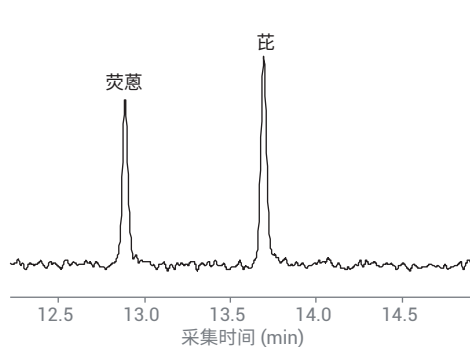


图 2. 100 pg 混标的 MRM TIC

+EI MRM CID @ 30.0 (142.0 → 115.0)



+EI MRM CID @ 50.0 (202.0 → 200.0)



+EI MRM CID @ 42.0 (276.0 → 274.0)

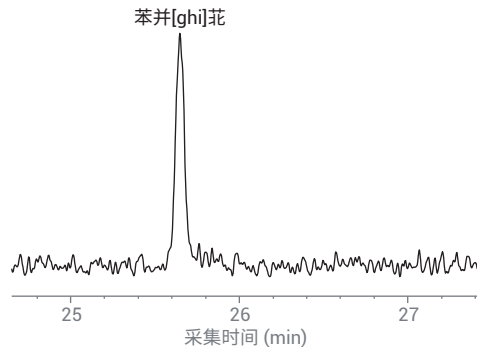


图 3. 最低浓度的校准标样 (1 pg) 中选定化合物的定量离子 MRM 的响应

表 3 列出了利用 1-1000 pg 内的七种含量对系统进行四次 ISTD 校准所得到的 R² 值。在整个范围内,所有分析物均表现出优异的线性。前两次校准为初始校准,后两次校准是对 100 ppb 标样分析 60 次后的校准。这些数据表明,采用本实验中配置的系统可获得良好的线性和响应一致性。

响应稳定性

图 4 展示了对 100 pg 标样进行 120 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。对于所有 27 种分析物,120 次进样得出的计算浓度的平均 RSD 为 1.5%。

120 次进样中,ISTD 原始峰面积的 RSD 为:

- 萘-d₈ (2.9%)
- 蒽-d₁₀ (3.2%)
- 菲-d₁₀ (2.9%)
- 蒾-d₁₂ (4.7%)
- 茈-d₁₂ (5.1%)

表 3. 七种浓度 ISTD 校准的 R² 值: 1-1000 pg MRM。校准 1 和校准 2 为初始校准; 校准 3 和校准 4 在对 100 pg 标样运行 60 次后执行

化合物	校准 1	校准 2	校准 3*	校准 4*
萘	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
1-甲基萘	0.9999	0.9999	0.9999	0.9998
2-甲基萘	0.9999	0.9999	0.9999	0.9998
联苯	0.9999	0.9998	0.9999	0.9998
2,6-二甲基萘	0.9998	0.9998	0.9998	0.9997
蒽烯	0.9999	0.9998	0.9999	0.9999
蒽	0.9999	0.9999	0.9999	1.0000
2,3,5-三甲基萘	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
芴	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
二苯并噻吩	0.9998	0.9998	0.9999	0.9999
菲	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
葱	0.9997	0.9999	0.9999	0.9999
1-甲基菲	0.9998	0.9999	0.9999	0.9998
荧葱	0.9997	0.9999	0.9999	0.9999
芘	0.9998	0.9999	0.9998	0.9998
苯并(a)葱	0.9998	0.9998	0.9999	0.9999
蒾	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
苯并(b)荧葱	0.9996	0.9996	0.9996	0.9997
苯并(k)荧葱	0.9997	0.9996	0.9998	0.9995
苯并(j)荧葱	0.9992	0.9999	1.0000	0.9985
苯并(e)芘	0.9996	0.9998	0.9998	0.9999
苯并(a)芘	0.9994	0.9996	0.9995	0.9997
茈	0.9995	0.9996	0.9995	0.9996
二苯并(a,c)葱	0.9996	1.0000	0.9996	0.9993
二苯并(a,h)葱	0.9994	0.9995	0.9997	0.9996
茚并(1,2,3-cd)芘	0.9994	0.9994	0.9996	0.9996
苯并(ghi)茈	0.9997	0.9998	0.9998	0.9998

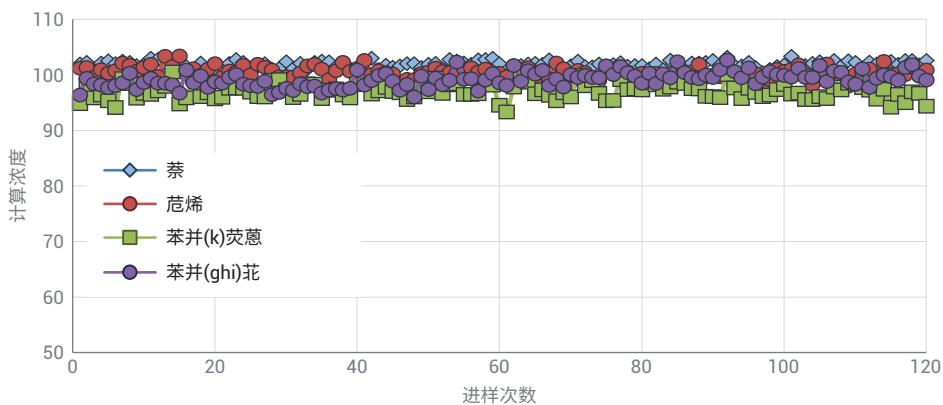


图 4. 100 pg 校准标样进行 120 次连续进样所得到的计算浓度的稳定性

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 5 比较了加标 100 pg PAH 标样和 500 pg ISTD 的提取物与 100 pg PAH 标样的扫描 TIC。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 6 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 4.1%。对于 27 种分析物中的 25 种，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。

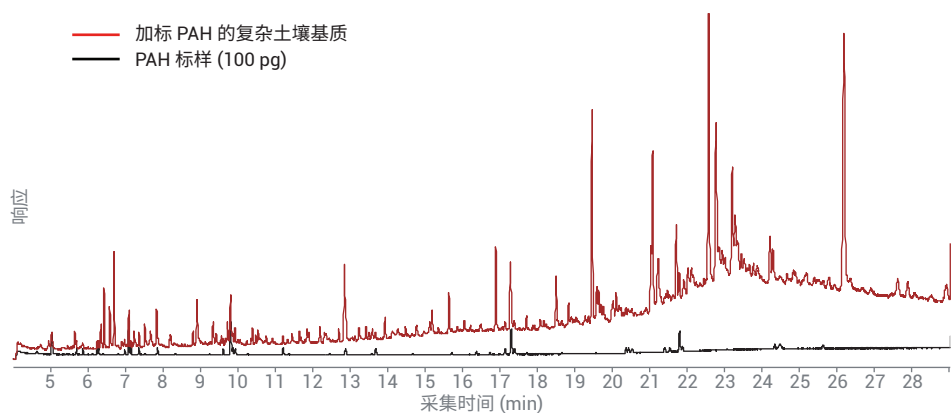


图 5. 含 500 pg ISTD 的土壤提取物和 100 pg PAH 标样的扫描 TIC，两者采用相同刻度绘制，结果表明提取物中存在大量物质

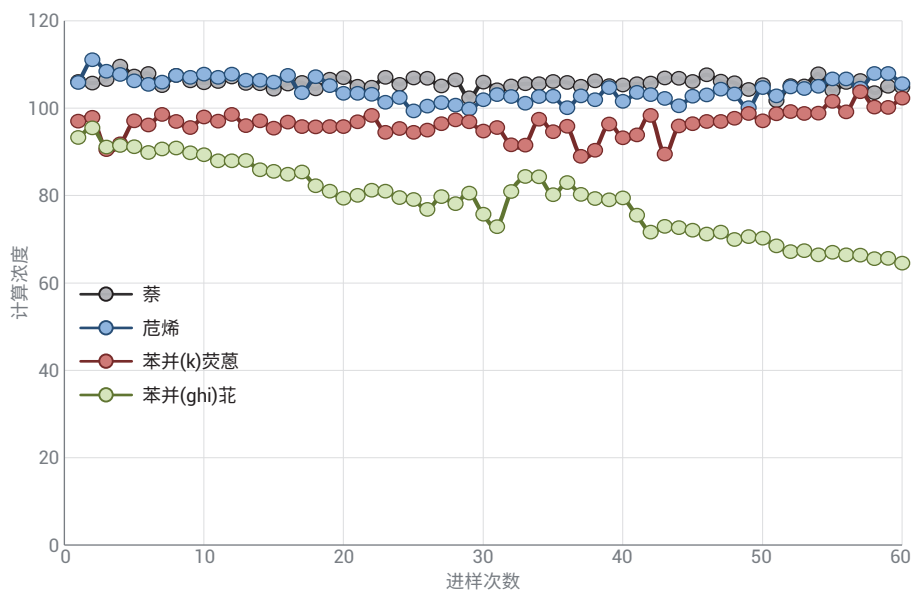


图 6. 加标 100 pg PAH 标样和 500 pg ISTD 的土壤基质进样 60 次所得到的计算浓度的稳定性

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 12% 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。

对于如此处所用的基质含量，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。

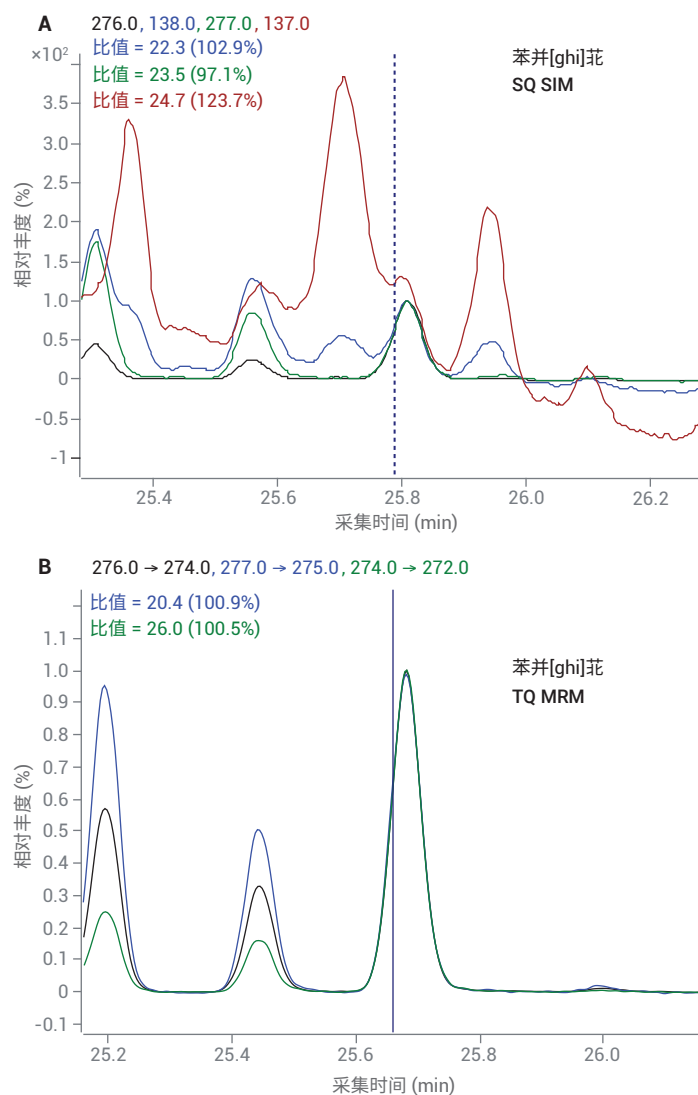


图 7. 加标至土壤提取物中的 100 ppb PAH 的定量离子和定性离子叠加色谱图。A) 在单极杆气质联用系统上采用 SIM 模式得到的苯并[ghi]花的结果。B) 在 GC/MS/MS 上采用 MRM 模式所得到的相同提取物的结果

MRM 的选择性

虽然通常可采用单四极杆气质联用系统成功分析 PAH⁴，但对于土壤等基质，因目标化合物会受到质谱干扰的影响，可能会加大数据审查难度。这些干扰物质通常导致需要手动积分，以考虑干扰物质的影响。利用 GC/MS/MS 则大大减少了这些干扰物质，结果如图 7 所示。上图展示了单四极杆 SIM 数据中与三种定性离子叠加的苯并[ghi]花的定量离子，下图展示了在三重四极杆 MS 上采用 MRM 所得到的相同分析物的结果。

在 GC/MS 色谱图中，其中一种定性离子 (277) 相对不受干扰。另外两种定性离子 (138 和 137) 则受到明显的基质干扰，需要进行手动积分。相比之下，GC/MS/MS MRM (B) 表现出更优异的选择性，有助于轻松完成数据审查。

结论

该系统解决了 GC/MS PAH 分析中面临的许多问题。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。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，反吹则大幅减少了切割色谱柱的需求，有助于提升实验室的分析效率。

表 4. 系统维护后的校准检查和七种浓度 ISTD 校准 (1–1000 pg MRM) 的 R² 值

化合物	重新校准之前, 100 pg 校准验证标样的计算浓度	维护后的校准
萘	99	1.0000
1-甲基萘	96	1.0000
2-甲基萘	98	1.0000
联苯	94	1.0000
2,6-二甲基萘	93	1.0000
蒽烯	99	1.0000
蒽	98	1.0000
2,3,5-三甲基萘	98	1.0000
芴	97	1.0000
二苯并噻吩	90	1.0000
菲	96	1.0000
葱	105	1.0000
1-甲基菲	96	1.0000
荧葱	97	1.0000
芘	97	1.0000
苯并[a]葱	95	0.9999
蒎	96	1.0000
苯并[b]荧葱	97	1.0000
苯并[k]荧葱	99	1.0000
苯并[j]荧葱	112	1.0000
苯并[e]芘	94	1.0000
苯并[a]芘	96	1.0000
花	94	1.0000
二苯并[a,c]葱	96	0.9999
二苯并[a,h]葱	94	1.0000
茚并[1,2,3-cd]芘	95	1.0000
苯并[ghi]花	94	1.0000

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. Modified ion source triple
quadrupole mass spectrometer
gas chromatograph for polycyclic
aromatic hydrocarbons”, Kim A.
Anderson, Michael J. Szelewski,
Glenn Wilson, Bruce D. Quimby,
Peter D. Hoffman, *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*, **2013**
4. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D.
Optimized GC/MS Analysis for PAHs
in Challenging Matrices (用于分析
挑战性基质中 PAH 的优化的 GC/MS
方法), 安捷伦科技公司应用简报,
出版号 5994-0499EN, **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
5994-0498ZHCN

 **Agilent**
Trusted Answers