



Phân tích PAH bằng GC/MS/MS với khí mang Hydro

Sử dụng nguồn HydroInert Agilent cho nền địa chất có thành phần phức tạp

Tóm tắt

Hệ thống GC 8890 và GC/MS ba tứ cực (GC/TQ) 7000E Agilent với nguồn ion hóa điện tử (EI) cải tiến—nguồn HydroInert Agilent, được tối ưu cho khí mang hydro—được sử dụng cho phân tích hydrocacbon (PAH). Phương pháp được tối ưu sử dụng nguồn HydroInert cho hình dạng pic, độ nhạy và tuyến tính ($R^2 \geq 0,999$) tuyệt vời khi khảo sát 27 chất trong khoảng đường chuẩn tương ứng của chúng (0,1 đến 1000 pg cho 26 chất và 0,25 đến 1000 pg cho 1 chất còn lại). Giới hạn phát hiện phương pháp (MDL) trong khoảng từ 0,03 đến 0,16 pg, trung bình 0,09 pg. Với việc bảo trì định kỳ và dùng cấu hình sắc ký ghép nối 2 cột (tính năng thổi ngược, Backflush), tất cả các chất đều có RSD <12%, cho thấy độ ổn định nồng độ tính toán được trên 500 mũi tiêm. Thêm vào đó, khả năng xử lý được nền mẫu phức tạp của buồng hóa hơi mẫu mid-frit siêu trơ phổ dụng của Agilent cũng được chứng minh. Lựa chọn được cấu hình thiết bị và điều kiện vận hành phù hợp, hệ thống dùng khí mang hydro có thể cho kết quả tương đương hoặc tốt hơn so với khi dùng khí mang heli.

TÁC GIẢ

Samuel P. Haddad,
Bruce D. Quimby,
và Anastasia
A.Andrianova.
Tập đoàn Agilent
Technologies

Bản dịch bởi:

REDSTAR-CMS

Giới thiệu

PAH là một nhóm các hợp chất hóa học bao gồm hai hoặc nhiều vòng benzen liên hợp gắn với nhau thông qua một cặp nguyên tử cacbon nằm giữa các vòng trong phân tử của chúng. Hơn nữa, PAH đến từ nhiều nguồn và được phân bố rộng rãi, là chất gây ô nhiễm trên toàn thế giới. Do tính chất phổ biến của loại hợp chất này, tạp ngưỡng vết được kiểm soát trong các sản phẩm thực phẩm (ví dụ dầu ăn, thịt hun khói và hải sản) và trong môi trường (ví dụ không khí, nước và đất). Cách phổ biến nhất để phát hiện PAH là sử dụng thiết bị GC/MS đơn tứ cực hoặc ba tứ cực. Heli là khí mang được ưu tiên cho phân tích GC/MS; tuy nhiên, tình trạng thiếu hụt tái diễn và chi phí gia tăng đã làm tăng nhu cầu đối với các ứng dụng sử dụng hydro làm khí mang.

Ghi chú ứng dụng này tập trung vào phân tích PAH bằng GC/MS ba tứ cực chế độ giám sát đa phản ứng (MRM) sử dụng hydro làm khí mang GC. Khi sử dụng hydro cho phân tích GC/MS, có một số yếu tố cần cân nhắc. Đầu tiên, hydro là khí dễ phản ứng, có khả năng gây ra phản ứng hóa học trong cổng tiêm mẫu, cột và đôi khi nguồn ion hóa MS EI. Để đối phó các vấn đề tiềm ẩn trong nguồn ion hóa MS, nguồn Hydrolnert Agilent được sử dụng. Thông tin bổ sung có thể được tìm thấy trong tổng quan kĩ thuật về nguồn Hydrolnert của Agilent.¹ Thứ hai, đối với các ứng dụng chạy GC/MS khi chuyển sang khí mang hydro có thể cần thay đổi phần cứng của sắc kí khí và khối phổ. Hướng dẫn chuyển đổi khí mang heli sang hydro của Agilent² mô tả chi tiết các bước chuyển đổi khí mang từ heli sang hydro.

Cuối cùng, bất kỳ ai làm việc với khí dễ cháy hoặc dễ nổ đều được khuyến nghị nên tham gia khóa học về an toàn phòng thí nghiệm bao gồm việc xử lý và sử dụng khí đúng cách. Thông tin bổ sung về cách dùng hydro an toàn có thể được tìm thấy trong Sổ tay an toàn hydro của Agilent³ và Hướng dẫn an toàn hydro cho hệ thống GC 8890 Agilent.⁴

Ngoài những thách thức của khí mang hydro, thường có vấn đề liên quan đến nền mẫu khi phân tích PAH. Ví dụ, khi phân tích mẫu thực phẩm và đất, các tạp chất trong nền mẫu có nhiệt sôi cao rửa giải sau các chất phân tích cần thời gian gia nhiệt kéo dài để tránh pic ma trong các lần chạy tiếp theo, vì vậy làm giảm tuổi thọ cột. Các tạp chất có nhiệt sôi cao nhất có thể lắng đọng tại đầu cột, đòi hỏi việc cắt cột thường xuyên hơn và hiệu chỉnh lại MRM, của số thời gian phân tích số liệu gây ra do việc trôi thời gian lưu. Vì vậy, ghi chú ứng dụng này sử dụng cấu hình thổi ngược giữa cột để giải quyết một số vấn đề liên quan đến nền mẫu. Thổi ngược là kĩ thuật mà dòng khí mang đảo chiều sau khi chất phân tích cuối đã rửa giải ra khỏi cột. Sau khi dữ liệu MS được thu thập, lò được giữ tại nhiệt độ cuối ở chế độ chạy sau, và dòng khí mang qua cột thứ nhất được đảo chiều. Bất kì tạp chất có nhiệt sôi cao nào ở cuối quá trình thu thập dữ liệu còn lưu giữ trong cột đều được dòng khí này đẩy ngược về đầu cột và đi ra đường bẫy xả chia dòng.

Ghi chú ứng dụng này cho thấy phương pháp MRM được tối ưu cho phân tích 27 PAH sử dụng khí mang hydro, nguồn Hydrolnert và cấu hình thổi ngược giữa

cột để loại bỏ nền mẫu khó. Mẫu đất chiết lỏng được dùng làm trường hợp xấu nhất để kiểm tra buồng hóa hơi mid-frit siêu trơ và phương pháp phân tích PAH này. Sự vững chắc của buồng hóa hơi, cột và hệ thống được minh chứng bởi 500 mũi tiêm lặp dịch chiết mẫu đất.

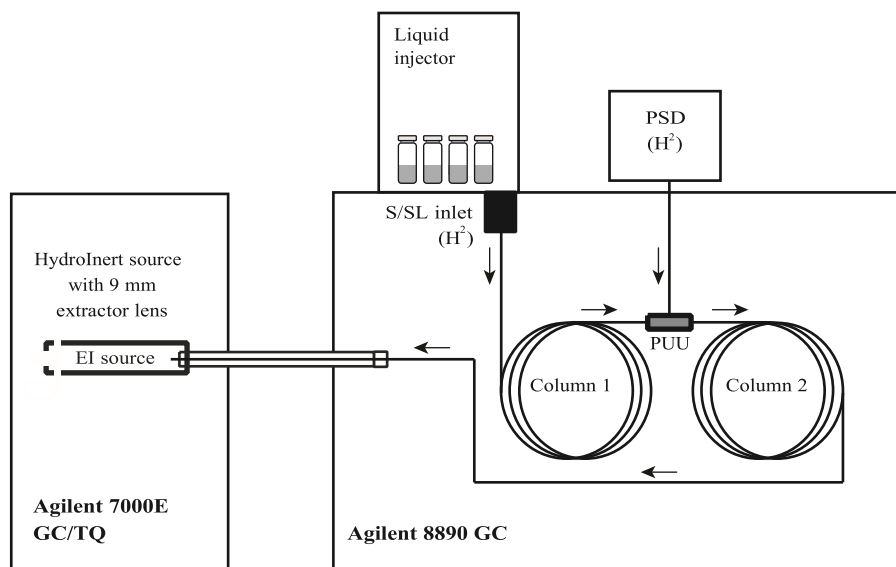
Thí nghiệm

Hóa chất và thuốc thử

Đường chuẩn PAH được pha loãng từ bộ kit hiệu chuẩn máy phân tích PAH của Agilent (mã hàng G3440-85009) với isooctan. Bộ kit gồm dung dịch chuẩn gốc 27 PAH nồng độ 10 µg/mL và dung dịch chuẩn gốc năm nội chuẩn (ISTD) nồng độ 50 µg/mL. Mười hai điểm đường chuẩn: 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2, 10, 20, 100, 200, 400, 750 và 1000 ng/mL được chuẩn bị. Mỗi điểm chứa ISTD nồng độ 500 ng/mL.

Thiết bị

Hệ thống sử dụng trong thí nghiệm này (Hình 1) được cấu hình để giảm thiểu tối đa các vấn đề tiềm ẩn của khí mang hydro và nền mẫu phức tạp trong phân tích PAH. Các thông số vận hành thiết bị được liệt kê trong Bảng 1 và MRMs trong Bảng 2. Bảng 3 gồm danh sách các mặt hàng tiêu hao dùng cho ứng dụng hiện tại. Các kĩ thuật quan trọng cần xem xét được nêu trong Bảng 4.



Hình 1. Cấu hình hệ thống

Bảng 1. Điều kiện GC và MS cho phân tích PAH

Lò, bộ tiêm mẫu tự động và khay GC 8890 Agilent	
Thể tích tiêm	1,0 µL
Cổng tiêm	EPC chia dòng/không chia dòng
Chế độ tiêm	Không chia dòng có xung
Áp suất xung tiêm	40 psi cho đến 0,7 phút
Đồng purge đến đường xả chia dòng	50 mL/phút tại 0,75 phút
Chế độ dòng Septum Purge	Tiêu chuẩn, 3 mL/phút
Nhiệt độ cổng tiêm	320 °C
Lò	Ban đầu: 60 °C (giữ 1 phút)
	Gia nhiệt 1: 25 °C/phút đến 200 °C
	Gia nhiệt 2: 10 °C/phút đến 335 °C (giữ 4,4 phút)
Cột 1	Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m x 0,18 mm, 0,14 µm
Chế độ điều khiển	Đẳng dòng, 0,9 mL/phút
Kết nối cổng tiêm	Chia dòng/Không chia dòng
Kết nối đầu ra	PSD (PUU)
Dòng postrun khi kết thúc phân tích (Thổi ngược)	-5,274 mL/phút
Cột 2	Agilent J&W DB-EUPAH, 20 m x 0,18 mm, 0,14 µm
Chế độ điều khiển	Đẳng dòng, 1,1 mL/phút
Dòng purge PSD	3 mL/phút
Kết nối cổng tiêm	PSD (PUU)
Kết nối đầu ra	GC/TQ 7000E Agilent
Dòng postrun (Thổi ngược)	5,443 mL/phút

Thông số thổi ngược GC 8890 Agilent	
Áp suất cổng tiêm (Thổi ngược)	2 psi
Áp suất thổi ngược	80 psi
Thể tích trống	7,2
Thời gian thổi ngược	1,5 phút
GC/TQ 7000E Agilent	
Nguồn ion hóa	Nguồn HydroInert Agilent
Drawout Lens	9 mm
Nhiệt độ ống chuyển	320 °C
Nhiệt độ nguồn	325 °C
Nhiệt độ tứ cực	150 °C
Chế độ	Dynamic MRM
Hệ số khuếch đại điện áp EM	10
Thời gian trễ dung môi	5,5 phút
Khí va chạm	Ni tự (duy nhất), 1,5 mL/phút
Tự động trừ nền	Có
Thiết lập ngưỡng SIM/MRM nâng cao	Có
Tập tin hiệu chuẩn	atunes.eiex.jtune.xml

Bảng 2. Các MRM transition dùng cho định lượng và định tính với năng lượng và chạm được tối ưu khi dùng khí mang hydro.

Chất phân tích	Thời gian lưu (phút)	Định lượng	Năng lượng và chạm	Định tính	Năng lượng và chạm
Naphthalene-d ₈ (ISTD)	5,902	136,0 → 136,0	5	136,0 → 108,0	15
Naphthalene	5,922	128,0 → 102,0	20	128,0 → 127,0	20
1-Methylnaphthalene	6,514	142,0 → 115,0	35	142,0 → 141,0	20
2-Methylnaphthalene	6,675	142,0 → 115,0	30	142,0 → 141,0	20
Biphenyl	7,049	154,0 → 152,0	30	154,0 → 153,0	20
2,6-Dimethylnaphthalene	7,081	156,0 → 115,0	35	156,0 → 141,0	20
Acenaphthylene	7,738	152,0 → 151,0	20	152,0 → 150,0	35
Acenaphthene-d ₁₀ (ISTD)	7,841	162,0 → 160,0	15	164,0 → 162,0	15
Acenaphthene	7,889	154,0 → 152,0	35	153,0 → 152,0	40
2,3,5-Trimethylnaphthalene	8,085	170,0 → 155,0	20	170,0 → 153,0	30
Fluorene	8,539	166,0 → 165,0	25	166,0 → 163,0	25
Dibenzothiophene	10,1	184,0 → 139,0	40	184,0 → 152,0	25
Phenanthrene-d ₁₀ (ISTD)	10,265	188,0 → 188,0	5	188,0 → 184,0	25
Phenanthrene	10,313	178,0 → 176,0	35	178,0 → 152,0	30
Anthracene	10,367	178,0 → 152,0	25	178,0 → 156,0	35
1-Methylphenanthrene	11,452	192,0 → 191,0	20	192,0 → 165,0	40
Fluoranthene	12,842	202,0 → 200,0	40	202,0 → 201,0	25
Pyrene	13,51	202,0 → 200,0	40	202,0 → 201,0	30
Benz[a]anthracene	16,327	228,0 → 226,0	35	228,0 → 224,0	55
Chrysene-d ₁₂ (ISTD)	16,46	240,0 → 236,0	35	240,0 → 240,0	5
Chrysene	16,531	228,0 → 226,0	35	228,0 → 224,0	55
Benzo[b]fluoranthene	18,953	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	40
Benzo[k]fluoranthene	19,003	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	40
Benzo[j]fluoranthene	19,087	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	45
Benzo[e]pyrene	19,793	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	45
Benzo[a]pyrene	19,903	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	40
Perylene-d ₁₂ (ISTD)	20,115	264,0 → 260,0	35	264,0 → 236,0	35
Perylene	20,177	252,0 → 250,0	40	250,0 → 248,0	45
Dibenz[a,c]anthracene	22,386	278,0 → 276,0	42	276,0 → 274,0	40
Dibenz[a,h]anthracene	22,488	278,0 → 276,0	40	276,0 → 274,0	40
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	22,526	276,0 → 274,0	42	138,0 → 124,0	42
Benzo[ghi]perylene	23,562	276,0 → 274,0	42	274,0 → 272,0	45

Bảng 3. Vật tư tiêu hao Agilent và mã hàng dùng trong phương pháp phân tích PAH

Vật tư	Mô tả	Mã hàng
Xi lanh tiêm	Xi lanh tiêm mẫu tự động Blue Line 10 µL, kim cố định	G4513-80220
Septum cổng tiêm	Septum Advanced Green, không dính, 11 mm	5183-4759
Buồng hóa hơi	Buồng hóa hơi mid-frit siêu trợ phổ dụng	5190-5105
Đệm kín mạ vàng	Đệm kín cổng tiêm GC, mạ vàng với gioăng, siêu trợ	5190-6144
Cột	DB-EUPAH, 20 m × 0,18 mm, 0,14 µm (số lượng: 2)	121-9627
Mối nối thổi ngược	Bộ mối nối Purged Ultimate	G3186-80580
Ferrule thổi ngược	Ferrule kim loại mềm CFT Ferrule Flex Gold, mạ vàng, đường kính trong 0,4 mm, dùng cho ống silica nung chảy đường kính trong 0,1 đến 0,25 mm	G2855-28501
Ống thép	Bộ dụng cụ lắp đặt cho GC, thép không gỉ	19199S
Nguồn GC/MS	Bộ nguồn trọn bộ HydroInert cho GC/TQ 7000	G7006-67930

Bảng 4. Kỹ thuật quan trọng cần lưu ý trong nghiên cứu này

Điểm cần lưu ý	Mô tả
Khí hydro	Khí hydro có độ tinh khiết 99,9999% và chỉ số nước, oxy thấp được dùng làm khí mang. Việc sử dụng nguồn khí hydro sạch đáng tin cậy là thiết yếu. Nếu sử dụng lâu dài, khuyến nghị dùng máy sinh khí cho độ tinh khiết >99,9999% và chỉ số nước, oxy đều thấp. Bộ lọc ẩm được khuyến dùng cho máy sinh khí hydro. Nếu sử dụng trong thời gian ngắn, chấp nhận dùng bình khí hydro loại dùng cho sắc kí hoặc nghiên cứu.
Tiêm không chia có xung	Dùng để tối đa hóa việc chuyển các PAH (có khoảng nhiệt độ sôi rộng) từ cổng tiêm GC vào cột, đặc biệt là hợp chất nặng
Buồng hóa hơi	Buồng hóa hơi mid-frit siêu trợ phổ dụng Agilent cho hình dạng pic, độ trợ và tuổi thọ tốt khi dùng dịch chiết đất được mô tả phía sau. Frit truyền nhiệt đến các PAH và chặn đường tới đáy cổng tiêm. Nếu PAH ngưng tụ tại đáy cổng tiêm, chúng sẽ khó bay hơi và cuốn ngược trở lại cột.
Kích thước cột	Ở cấu hình thổi ngược, hai cột J&W DB-EUPAH (20 m × 0,18 mm id, 0,14 µm) Agilent được dùng để duy trì dòng khí và áp suất cổng tiêm tối ưu.
Mô đun PSD 8890 và thổi ngược giữa cột	Thiết bị điều khiển khí nén (PSD) là mô đun kiểm soát lưu lượng khí trên GC 8890 Agilent được tối ưu cho các ứng dụng thổi ngược (Backflush) và dùng cho tiêm có xung liên mạch. Khả năng đảo chiều dòng được cung cấp bởi kết nối vật lý purged Ultimate (PUU) Agilent. PUU hình chữ T trong trường hợp này được đặt giữa hai cột 20m giống nhau. Trong giai đoạn phân tích, một dòng khí mang bổ sung bé tại mô đun PSD 8890 được dùng để quét qua vùng kết nối. Trong giai đoạn thổi ngược, tăng dòng khí bổ sung tại PSD để lôi cuốn các tạp chất có nhiệt sôi cao ngược ra khỏi cột thứ nhất và thổi cùng chiều sang cột thứ hai.
Nguồn EI HydroInert	Nguồn HydroInert Agilent thay thế cho nguồn extractor khí dùng khí mang hydro. Nó được tạo thành từ các vật liệu giúp giảm đáng kể các phản ứng không mong muốn bên trong nguồn để duy trì tính toàn vẹn phổ khí dùng khí hydro. Như đã biết, PAH đưa ra nhiều thách thức đối với nguồn MS EI, thậm chí khi dùng khí mang heli. Khí dùng khí mang hydro, hiệu năng PAH được cải thiện, đặc biệt khi kết hợp với nguồn HydroInert. Mặc định dùng extractor lens 9mm khi dùng nguồn HydroInert và đây cũng là lựa chọn tốt nhất cho phân tích PAH do nó cho đường chuẩn tuyến tính, tín hiệu lặp lại và hình dạng pic tốt nhất.
Khí va chạm	Khí dùng khí mang hydro, chỉ nên dùng khí ni tơ làm khí va chạm. Kết nối khí heli với cổng vào buồng va chạm cần phải bị tắt lại. Tốc độ dòng khí ni tơ tối ưu là 1,5 mL/phút, phù hợp với khuyến nghị hướng dẫn sử dụng. Nghiên cứu trước đây về phân tích PAH với khí mang hydro ⁸ đã cho thấy tốc độ dòng này là tối ưu.
MS/MS	Chế độ MRM của GC/TQ có độ chọn lọc tăng cường giúp đơn giản hóa việc xem xét dữ liệu mẫu có nền cao so với GC/MS, bằng cách giảm hoặc loại bỏ tín hiệu nền nhiễu từ nền mẫu. Tín hiệu nền nhiễu thường yêu cầu việc lấy tích phân thủ công của ion định lượng hoặc định tính.

Chuẩn bị mẫu

Một mẫu đất mặt thương mại (Weaver Mulch, Coatesville, PA, Mỹ) được chọn để tiến hành kiểm tra độ ổn định và vững chắc của tín hiệu. Việc chiết mẫu được mô tả vắn tắt. Đất mặt được sấy khô qua đêm ở 120 °C. 5g mẫu đất khô được chiết với 30mL hỗn hợp dichloromethane/acetone (1:1 v/v), tiến hành khuấy qua đêm. Dịch chiết được lọc và cô đặc dịch lọc 7,5 lần thể tích bằng cô quay. Thêm 100ppb 27 PAH và 500ppb 5 ISTD vào dịch chiết cuối.

Đánh giá độ ổn định hệ thống

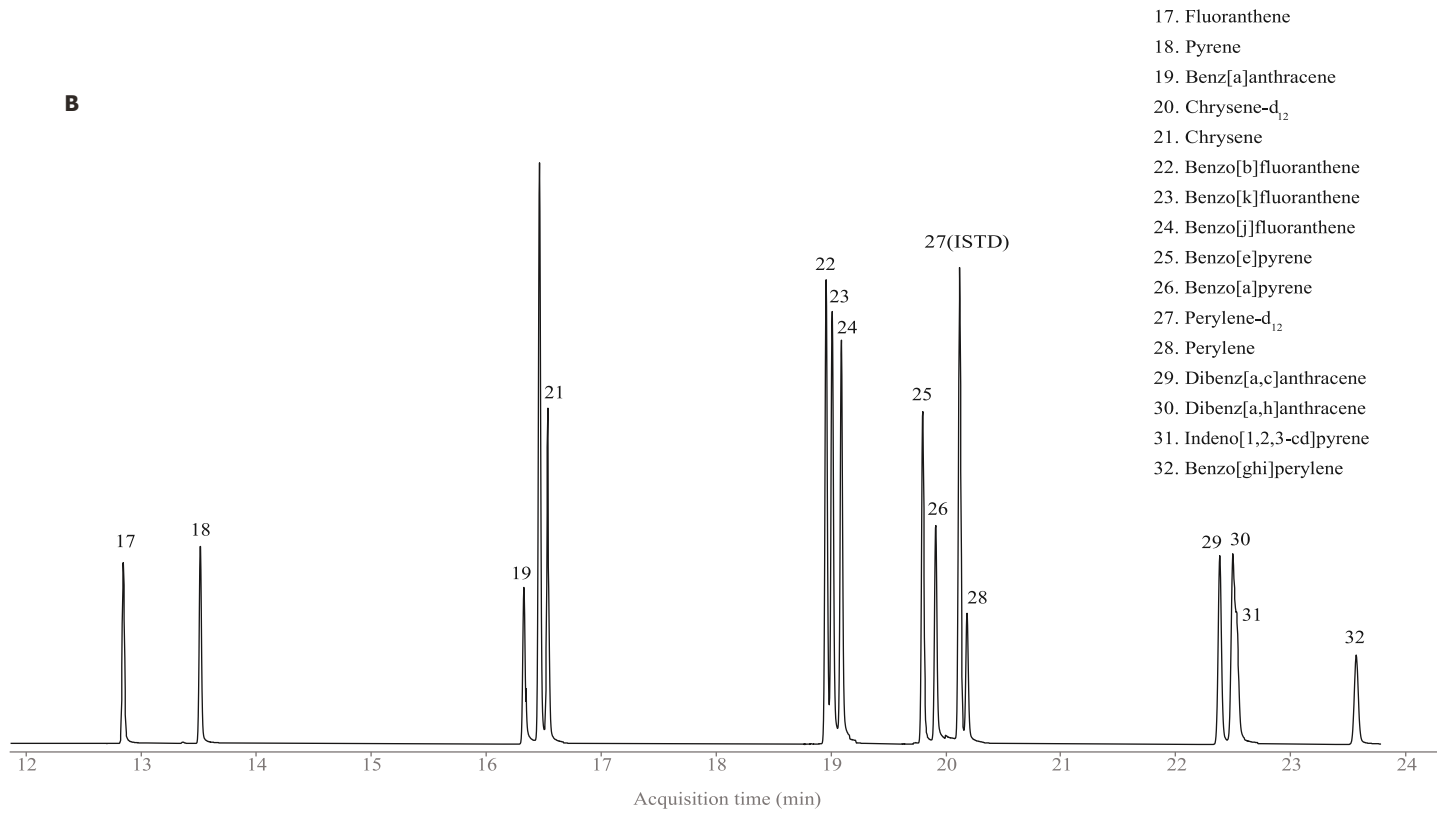
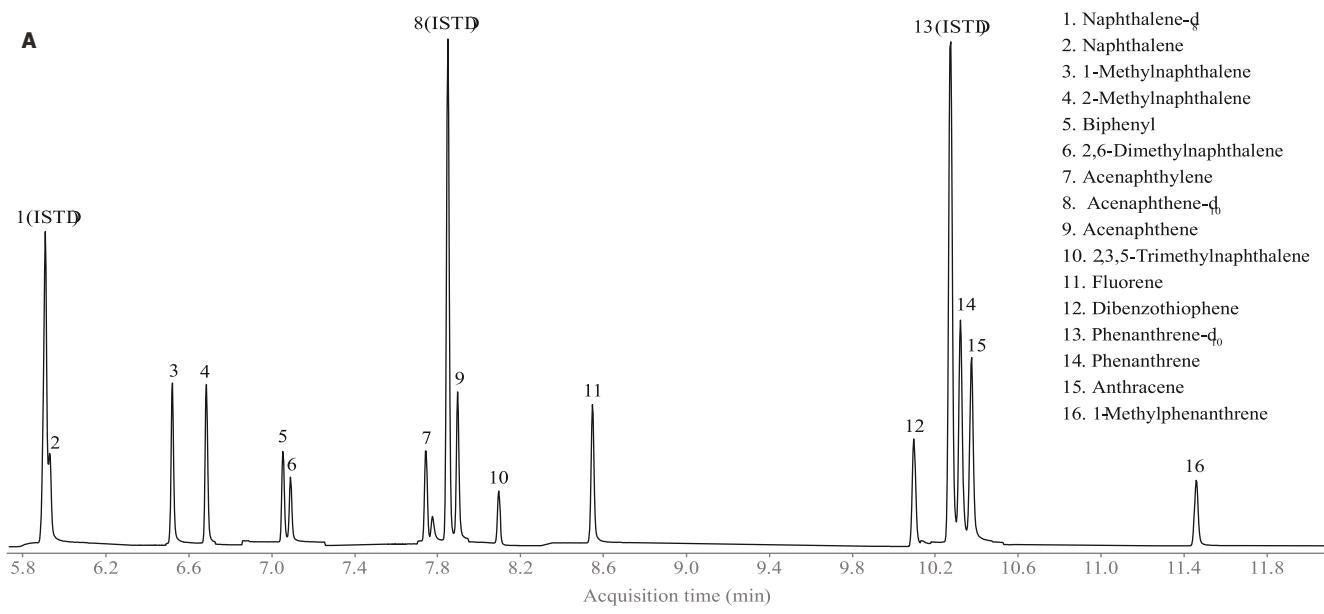
Độ ổn định nồng độ tính toán được kiểm tra trên 500 mũi tiêm lặp dịch chiết đất được thêm chuẩn PAH nồng độ 100ppb. Với kiểm tra này MS chỉ được hiệu chỉnh khi bắt đầu kiểm tra này và không cần hiệu chỉnh lại trong suốt thí nghiệm kiểm tra độ ổn định này.

Sau mỗi 100 mũi tiêm, thay thế buồng hóa hơi, septa và cập nhật hệ số khuếch đại EM. Sau mỗi 300 mũi tiêm, thay đệm kín mạ vàng cổng tiêm chia dòng/không chia dòng. Không thay hoặc cắt cột trong suốt toàn bộ 500 mũi tiêm. Kiểm tra này được thiết kế để chứng minh độ vững chắc của hệ thống trong suốt các mũi tiêm liên tục nền mẫu khó.

Kết quả và thảo luận

Phương pháp GC/MS

Hình 2 là sắc kí đồ tổng ion MRM (TIC) của chuẩn nồng độ 100 pg/μL với ISTD nồng độ 500 pg/μL. Sử dụng các thông số này cho hình dạng pic các PAH xuất sắc—đặc biệt là các chất rửa giải cuối—và tương đồng với nghiên cứu hydro trước đây.⁸ Nhìn chung, nguồn HydroInert cho hình dạng pic PAH tốt nhất khi dùng khí mang hydro. Độ phân giải sắc kí thu được từ cài đặt hiện tại cũng tốt hơn so với kết quả thu được từ khí mang heli.⁵ Nhờ sự kết hợp của khí mang hydro và cột đường kính bé hơn, thời gian chạy của phương pháp hiện tại chỉ còn 24 phút so với 26 phút khi dùng phương pháp heli. Thời gian chạy của phương pháp hiện tại có thể giảm hơn nữa mà vẫn duy trì được độ phân giải tương tự. Tuy nhiên vẫn lựa chọn phương pháp hiện tại để thu được độ phân giải của dibenz[a,c]anthracene, indeno[1,2,3-cd]pyrene, và dibenz[a,h]anthracene tốt nhất, do tăng nhiệt nhanh hơn ở nửa sau phương pháp này có thể làm giảm độ phân giải của cụm chất khó phân tách này.

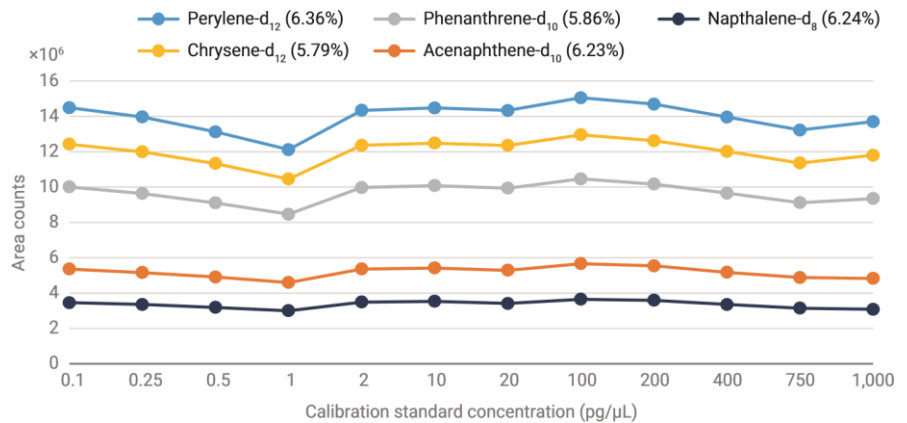


Hình 2. MRM TIC của 27 PAH tại 100 pg/μL và 5 ISTDs tại 500 pg/μL

Bảng 5 cho thấy kết quả đường chuẩn của 12 điểm chuẩn từ 0,1 đến 1000 pg. Tất cả các chất đều tuyến tính tuyệt vời trong toàn dải nồng độ. Sử dụng nguồn Hydrolnert cũng cho kết quả tỉ lệ tín hiệu trên nhiễu rất tốt, cho phép khoảng đường chuẩn có thể hạ xuống mức dưới picogam. Trong số 27 chất phân tích, có 26 chất đạt được đường chuẩn từ 0,1 đến 1000 pg. Một chất đạt được đường chuẩn từ 0,25 đến 1000 pg. Quan sát khoảng tuyến tính và tỉ lệ tín hiệu trên nhiễu cho thấy độ nhạy cao ở điểm thấp nhất đường chuẩn tương đồng với nghiên cứu PAH được thực hiện với khí hydro trước đó.⁸

Một trong những vấn đề gặp phải khi dùng khí mang heli và extractor lens nguồn EI 3mm tiêu chuẩn cho phân tích PAH đó là tín hiệu của ISTD tăng khi tăng nồng độ chất phân tích. Hiệu ứng này có thể gây ra tín hiệu của perylene-d₁₂ tăng đến 60% trong khoảng đường chuẩn và gây ra sai số đáng kể khi định lượng. Vấn đề này trước đây đã được giải quyết bằng cách dùng nguồn ion hóa tự làm sạch JetClean Agilent và extractor lens 9 mm.^{3,4} Với JetClean, dùng khí mang heli, nhưng hydro liên tục được thêm vào nguồn ở tốc độ thường trong khoảng từ 0,16 đến 0,33 mL/phút. Phương pháp này làm giảm hiệu ứng nội chuẩn leo thang và kết quả là độ tuyến tính đường chuẩn và định lượng tốt.

Hình 3 thể hiện độ ổn định tín hiệu ISTD trong khoảng tuyến tính khi dùng phương pháp hiện tại. Như minh chứng trong Hình 3, việc dùng khí mang hydro, nguồn Hydrolnert và extractor lens 9 mm loại bỏ được vấn đề tín hiệu nội chuẩn tăng. %RSD tín hiệu diện tích thô tất cả các chất trong toàn khoảng đường chuẩn đều không quá 6,4%. Điều này quan trọng để đạt được độ tuyến tính đường chuẩn tuyệt vời như ở Bảng 5.



Hình 3. Tín hiệu ISTD trong khoảng đường chuẩn

Bảng 5. Kết quả đường chuẩn nội chuẩn 12 điểm từ 0,1 đến 1000 pg. Tất cả đường chuẩn đều tuyến tính, bỏ qua gốc tọa độ, và hệ số weigh 1/x. MDL được tính theo công thức $MDL = t(n - 1, 0,99) \times SD$, khi $t(n - 1, 0,99)$ là phân phối t Student với giới hạn tin cậy 99%, $n - 1$ là bậc tự do, (2,998 đối với $n = 8$) và SD là độ lệch chuẩn của các mẫu tiêm lặp dung môi thêm chuẩn ở nồng độ 0,25 pg.

Hợp chất	Khoảng tuyến tính (pg)	Hệ số tương quan tuyến tính (R ²)	MDL (pg)
Naphthalene	0,1 to 1000	0,9999	0,07
1-Methylnaphthalene	0,1 to 1000	0,9995	0,09
2-Methylnaphthalene	0,1 to 1000	0,9995	0,06
Biphenyl	0,1 to 1000	0,9994	0,16
2,6-Dimethylnaphthalene	0,1 to 1000	0,9994	0,10
Acenaphthylene	0,25 to 1000	0,9996	0,15
Acenaphthene	0,1 to 1000	0,9996	0,13
2,3,5-Trimethylnaphthalene	0,1 to 1000	0,9994	0,10
Fluorene	0,1 to 1000	0,9996	0,05
Dibenzothiophene	0,1 to 1000	0,9995	0,10
Phenanthrene	0,1 to 1000	0,9997	0,09
Anthracene	0,1 to 1000	0,9996	0,15
1-Methylphenanthrene	0,1 to 1000	0,9996	0,08
Fluoranthene	0,1 to 1000	0,9995	0,03
Pyrene	0,1 to 1000	0,9998	0,08
Benz[a]anthracene	0,1 to 1000	0,9995	0,13
Chrysene	0,1 to 1000	0,9996	0,11
Benzo[b]fluoranthene	0,1 to 1000	0,9995	0,06
Benzo[k]fluoranthene	0,1 to 1000	0,9999	0,09
Benzo[j]fluoranthene	0,1 to 1000	0,9999	0,12
Benzo[e]pyrene	0,1 to 1000	0,9997	0,07
Benzo[a]pyrene	0,1 to 1000	0,9998	0,11
Perylene	0,1 to 1000	0,9996	0,11
Dibenz[a,c]anthracene	0,1 to 1000	0,9997	0,05
Dibenz[a,h]anthracene	0,1 to 1000	0,9994	0,09
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0,1 to 1000	0,9996	0,08
Benzo[ghi]perylene	0,1 to 1000	0,9997	0,06

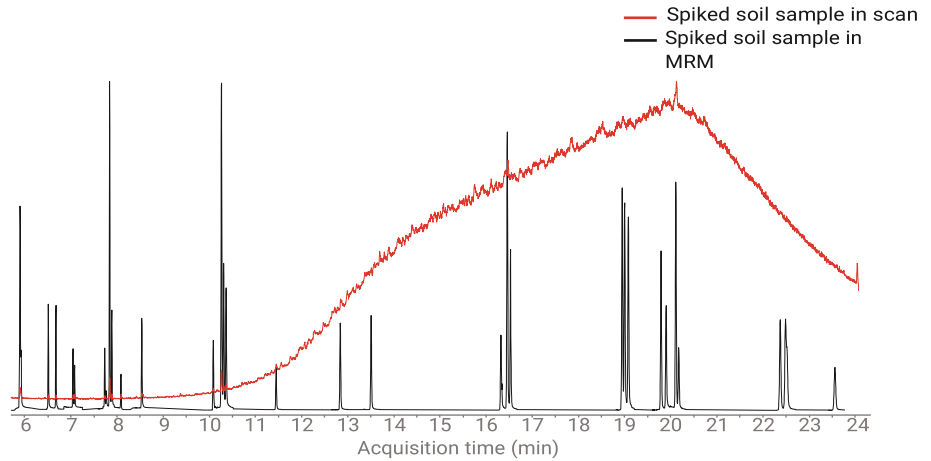
Độ ổn định với nền mẫu phức tạp

Lựa chọn có chủ ý dịch chiết đất cho kiểm tra tính vững chắc hệ thống do có nền mẫu cao gây nhiều thử thách cho hệ thống. Hình 4 cho thấy tương quan giữa sắc kí đồ scan TIC và MRM TIC của mẫu dịch chiết thêm chuẩn. Như đã thấy, dịch chiết đất có mức nền cao. Khi dùng chế độ MRM trên GC/TQ 7000E, đường nền giảm đáng kể, cho phép định lượng PAH ở mức nồng độ thấp sử dụng phương pháp hiện tại.

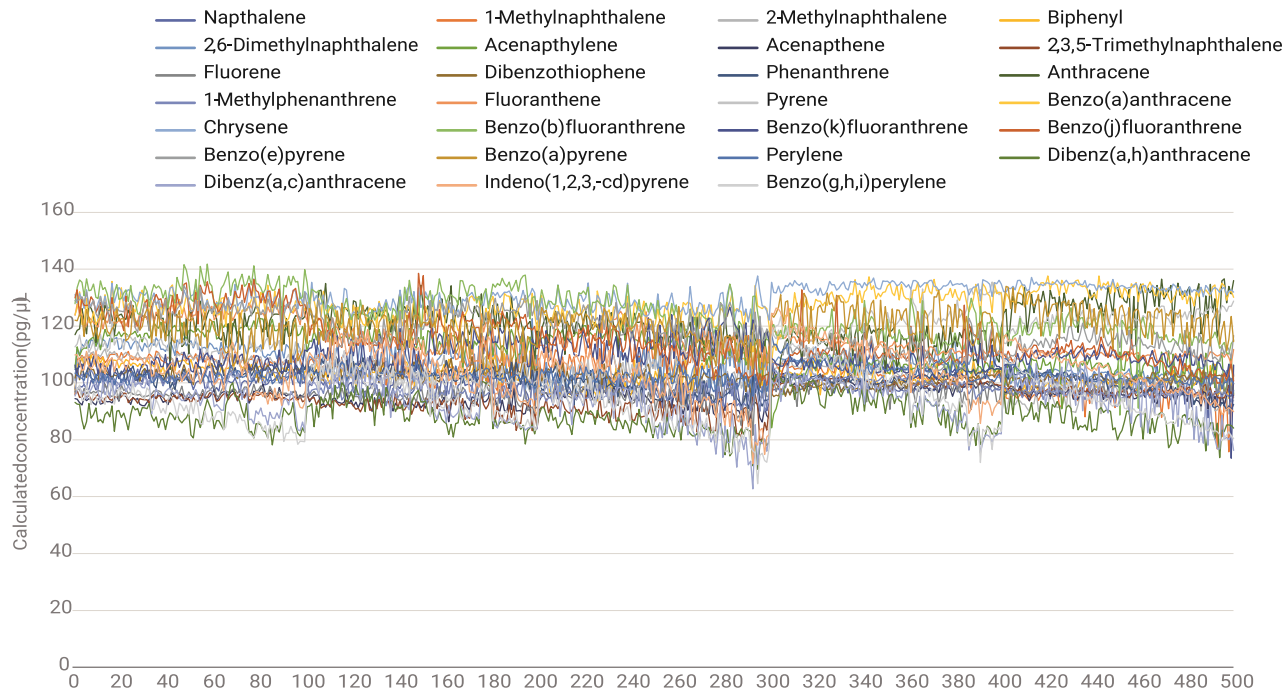
Ngoài ra, đối với mẫu đất có hàm lượng hữu cơ mức này, nên cân nhắc thêm phần làm sạch mẫu cho phân tích thường quy. Phần chuẩn bị mẫu dùng ở đây chỉ cho mục đích thử nghiệm để cố tình thử thách hệ thống. Bên cạnh đó, dung môi chiết (dichloromethane/acetone tỉ lệ 1:1 v/v) cũng không khuyến khích dùng cho phân tích thường quy khi dùng khí mang hydro. Các dung môi halogen hóa như dichloromethane có thể phản ứng với hydro trong cổng tiêm nóng và tạo thành lượng bé HCl, theo thời gian có thể gây phân hủy buồng hóa hơi và đầu cột.

Mức độ ổn định nồng độ tính toán của trên 500 mũi tiêm được thể hiện ở Hình 5. Có thể thấy ở Bảng 6, có 23 trên 27 chất có tín hiệu ổn định, RSD của mỗi nhóm 100 mũi tiêm đều dưới 5%. Tuy nhiên, nồng độ tính toán của dibenz[a,c]anthracene, dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]pyrene và benzo[ghi]perylene bắt đầu giảm từ khoảng mũi tiêm thứ 70 (trong chuỗi

100 mũi) và RSD của mỗi nhóm 100 mũi tiêm cao hơn 5% một chút. Khi sử dụng bảo trì định kỳ và tính năng thổi ngược, sau hơn 500 mũi tiêm, RSD tất cả các chất đều <12%. Điều này cho thấy độ ổn định định lượng tuyệt vời dù liên tục thử thách hệ thống với nền mẫu đất phức tạp.



Hình 4. So sánh sắc kí đồ scan TIC và MRM TIC mẫu đất thêm chuẩn. Đường MRM được phóng to kích thước để hiển thị rõ hơn.



Hình 5. Độ ổn định nồng độ tính toán của hơn 500 mũi tiêm mẫu đất được thêm 100 pg chuẩn PAH và 500 pg ISTD.

Bảng 6. RSD% nồng độ tính toán của mỗi 100 mũi tiêm và tổng 500 mũi tiêm mẫu đất được thêm 100 pg chuẩn PAH và 500 pg ISTD.

Chất phân tích	RSD (%) mũi tiêm					
	1 đến 100	101 đến 200	201 đến 300	301 đến 400	401 đến 500	Tất cả (1 đến 500)
Naphthalene	2,17	2,86	3,54	1,32	3,18	2,92
1-Methylnaphthalene	1,83	3,53	4,15	2,36	4,00	5,77
2-Methylnaphthalene	1,91	3,18	3,62	2,39	3,85	5,23
Biphenyl	1,94	2,74	4,86	2,30	2,56	3,55
2,6-Dimethylnaphthalene	1,97	4,08	4,56	2,28	1,87	4,50
Acenaphthylene	2,43	2,97	3,55	4,07	4,85	5,82
Acenaphthene	1,65	2,37	3,28	1,70	1,74	3,25
2,3,5-Trimethylnaphthalene	1,09	3,03	4,17	1,09	1,36	4,59
Fluorene	1,25	2,61	3,76	2,98	2,17	3,07
Dibenzothiophene	1,78	2,39	2,19	1,95	1,12	2,58
Phenanthrene	2,04	2,55	3,56	1,68	4,01	3,74
Anthracene	3,68	3,54	3,58	4,29	4,05	5,58
1-Methylphenanthrene	1,80	2,15	3,11	2,03	1,16	3,29
Fluoranthene	2,02	4,19	3,96	2,09	0,97	5,08
Pyrene	2,71	2,63	4,84	4,71	2,25	7,93
Benz[a]anthracene	2,82	2,92	2,93	3,81	1,91	3,71
Chrysene	1,96	2,41	2,59	1,14	1,00	2,86
Benzo[b]fluoranthene	2,97	3,74	4,22	3,48	4,40	6,07
Benzo[k]fluoranthene	2,29	4,24	4,67	2,90	3,78	4,68
Benzo[j]fluoranthene	3,29	4,16	4,89	4,89	3,75	7,44
Benzo[e]pyrene	2,52	4,32	3,33	3,67	2,79	5,75
Benzo[a]pyrene	4,53	4,62	4,60	4,44	4,46	4,92
Perylene	1,55	1,81	2,49	3,03	1,94	2,65
Dibenz[a,c]anthracene	4,61	5,89	4,86	6,91	5,08	6,36
Dibenz[a,h]anthracene	5,03	7,49	9,34	7,86	8,80	8,27
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	5,26	7,23	9,31	8,99	6,86	8,38
Benzo[ghi]perylene	6,40	7,74	9,01	11,13	8,08	9,89

Sau mỗi 100 mũi tiêm, thay buồng hóa hơi và septa, kết quả nồng độ của dibenz[a,c]anthracene, dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]pyrene và benzo[ghi]perylene trở về nồng độ ban đầu. Buồng hóa hơi mid-frit siêu trơ bày lại tốt nền mẫu phức tạp, tương tự với các nghiên cứu trước đó.^{9,10} Việc quan sát thấy nồng độ bốn chất rửa giải muện từ khoảng mũi

tiêm thứ 70 cho thấy buồng hóa hơi bắt đầu bão hòa bởi nền mẫu. Khi buồng hóa hơi bão hòa, việc di chuyển của các chất rửa giải muện trở nên hạn chế. Bảng 7 cho thấy RSD của 70 mũi tiêm đầu trong mỗi nhóm 100 mũi tiêm, và RSD của tổng toàn bộ các nhóm mũi tiêm (chỉ bao gồm 70 mũi đầu cho mỗi nhóm). RSD của dibenz[a,c]anthracene,

dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]pyrene và benzo[ghi]perylene của mỗi nhóm tiêm và tổng các mũi tiêm được cải thiện nếu chỉ tính tới 70 mũi tiêm đầu mỗi nhóm. Bên cạnh đó, sau 300 mũi tiêm, thay đệm khí mạ vàng giúp RSD của 17 trong tổng số 27 PAH giảm (Bảng 6).

Bảng 7. RSD% nồng độ tính toán của 70 mũi tiêm đầu trong mỗi nhóm 100 mũi tiêm và tổng các mũi tiêm (chỉ bao gồm 70 mũi tiêm đầu cho mỗi nhóm) mẫu đất được thêm 100 pg chuẩn PAH và 500 pg ISTD.

Chất phân tích	RSD (%) mũi tiêm					
	1 đến 70	101 đến 170	201 đến 270	301 đến 370	401 đến 470	Tất cả (1 đến 500)
Naphthalene	2,19	2,56	3,00	1,18	2,91	2,70
1-Methylnaphthalene	1,87	2,80	4,19	2,17	2,38	5,22
2-Methylnaphthalene	1,82	2,90	3,38	2,14	3,89	5,31
Biphenyl	1,73	2,35	3,99	2,34	1,78	3,53
2,6-Dimethylnaphthalene	1,89	3,09	3,98	2,15	1,55	4,43
Acenaphthylene	2,48	2,63	2,22	4,72	4,92	5,73
Acenaphthene	1,50	2,05	2,30	1,83	1,29	2,97
2,3,5-Trimethylnaphthalene	1,11	2,03	3,21	1,17	1,16	4,11
Fluorene	1,23	1,95	2,75	2,52	1,76	2,55
Dibenzothiophene	1,77	2,37	2,26	1,45	1,11	2,70
Phenanthrene	2,13	2,42	3,40	1,40	2,58	3,08
Anthracene	3,88	3,24	3,26	4,55	3,77	5,42
1-Methylphenanthrene	1,82	2,00	2,57	1,47	1,12	3,13
Fluoranthene	1,94	3,25	3,74	1,73	0,93	4,59
Pyrene	2,49	2,56	3,43	3,59	2,25	7,48
Benz[a]anthracene	2,89	2,80	2,70	4,25	1,91	3,88
Chrysene	1,95	2,43	2,28	1,10	0,87	2,93
Benzo[b]fluoranthene	2,99	3,53	3,41	3,00	4,76	5,53
Benzo[k]fluoranthene	2,36	4,31	4,13	2,34	1,69	3,85
Benzo[j]fluoranthene	3,27	4,44	3,64	4,85	2,07	6,52
Benzo[e]pyrene	2,55	4,45	2,94	3,01	2,37	5,45
Benzo[a]pyrene	3,96	4,09	2,72	4,19	4,16	4,25
Perylene	1,45	1,65	2,14	2,85	1,99	2,63
Dibenz[a,c]anthracene	4,10	5,00	3,43	4,52	4,48	5,64
Dibenz[a,h]anthracene	3,10	5,79	6,06	3,98	5,98	5,61
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	3,24	4,26	5,51	5,34	4,49	5,82
Benzo[ghi]perylene	4,38	5,82	5,37	7,23	6,06	7,83

Kết luận

Phương pháp GC/MS ba tứ cực dùng cho phân tích PAH sử dụng khí mang Hydro, nguồn Hydrolnert Agilent và cấu hình thổi ngược mô tả ở đây đã cho thấy một số cải thiện so với các phương pháp dùng Hydro⁸ và heli⁵ trước đây:

- Hình dạng pic sắc kí tuyệt vời, rất ít hoặc không có pic kéo đuôi
- MDL và độ tuyến tính tương tự hoặc tốt hơn so với kết quả thu được khi dùng heli
- Phân giải sắc kí tốt hơn với thời gian chạy ngắn hơn
- Tín hiệu nội chuẩn ổn định trên khoảng đường chuẩn rộng (điểm cuối gấp 10^4 so với điểm đầu)
- Độ tuyến tính tuyệt vời của 26 trong tổng 27 chất từ 0,1 đến 1000 pg
- MDL trung bình của 27 chất phân tích là 0,09 pg
- Định lượng tin cậy và chính xác trên 500 mẫu tiêm dịch chiết đất phức tạp với bảo trì định kỳ
- Hiệu năng xuất sắc của buồng hóa hơi mid-frit siêu trơ phổ dụng Agilent khi phân tích nền đất phức tạp

Đối với các phòng thử nghiệm đang trông mong việc thay đổi phân tích PAH sang khí mang có chi phí thấp, nguồn cung dễ dàng, chủ động hơn như Hydro, nguồn Hydrolnert với extractor lens 9mm có thể giúp chuyển đổi phương pháp với hiệu năng tương đương, thậm chí tốt hơn.

Tham khảo

1. Agilent Inert Plus GC/MS System with Hydrolnert Source, *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5994-4889EN, **2022**.
2. Agilent GC/MS Hydrogen Safety, *Agilent Technologies user guide*, manual part number G3870-90101, **2013**.
3. Hydrogen Safety for the Agilent 8890 GC System, *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5994-5413EN, **2022**.
4. Agilent EI GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion, *Agilent Technologies user guide*, publication number 5994-2312EN, **2022**.
5. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D. Optimized GC/MS/MS Analysis for PAHs in Challenging Matrices, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0498EN, **2019**.
6. Anderson, K. A. *et al.* Modified Ion Source Triple Quadrupole Mass Spectrometer Gas Chromatograph for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Chromatog. A* **2015**, *1419*, 89–98. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.054
7. Quimby, B. D. *et al.* In-Situ Conditioning in Mass Spectrometer Systems. *US* **8,378,293**, **2013**.
8. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D. Optimized PAH Analysis Using Triple Quadrupole GC/MS with Hydrogen Carrier, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-2192EN, **2020**.
9. Joseph, S. *et al.* Impact of GC Liners on Lab Productivity While Analyzing Complex Matrices, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-5546EN, **2022**.

Henry, A. S. Comparison of Fritted and Wool Liners for Analysis of Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-2179EN, **2022**

www.agilent.com

DE38029448

This information is subject to change without notice.

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in the USA, March 2, 2023

5994-5776EN

