

使用同位素稀释-电感耦合等离子体串联质谱仪 (ID-ICP-MS/MS) 准确测定生物柴油中的硫

应用简报

石化行业

作者

Lieve Balcaen, Frank Vanhaecke¹,
Glenn Woods², Martín Resano³

¹根特大学分析化学系, 比利时根特

²安捷伦科技(英国)有限公司,
英国柴郡斯托克波特

³萨拉戈萨大学分析化学系,
西班牙萨拉戈萨



前言

开发精确、灵敏、快速的方法用于测定有机基质中低浓度的硫(S)对于一些应用领域来说非常重要。本文着重介绍了生物柴油中硫的测定,但是该方法同样适用于生物材料及含硫类药物等其他基质中的硫以及其他元素的测定。

生物柴油是一种来源于天然油的可再生能源,它可以用在柴油驱动汽车上,几乎不需要改性。生物柴油指的是来源于可再生或“生物”资源(如食用油、动物脂肪或植物油)的烷基酯类。纯的生物柴油又称脂肪酸甲酯(FAME)。政府机构(如ASTM和ISO)的排放法规就柴油中硫的最大含量做了相关规定,而且现代柴油发动机要求柴油中硫的含量不能高,因此我们需要关注生物柴油中硫的含量。



Agilent Technologies

分析生物柴油的传统分析技术包括电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES) 以及原子吸收光谱 (AAS/FAAS)。但是, 这些技术会受到碳基质背景连续升高的严重干扰, 所以这些技术要么只能分析有限的几个元素, 要么检测限达不到要求。即使使用碰撞/反应池 (CRC), 采用 ICP-质谱 (ICP-MS) 测定有机基质中的硫同样困难重重 [1,2], 因为硫的所有同位素产生的多个多原子离子会造成质谱重叠 (表 1)。也有人使用扇形场高分辨率 ICP-MS (HR-ICP-MS) 分析生物柴油, 但是这种仪器比四极杆类仪器昂贵, 所以使用并不广泛。HR-ICP-MS 的另一个缺点是, 将硫同位素从其各自的重叠相互分离开来所需的质量分辨率会使 HR-ICP-MS 的离子传输效率下降 10 倍, 导致灵敏度降低。

本文评价了新型 ICP-MS 仪器——电感耦合等离子体串联质谱仪 (ICP-MS/MS), 在 MS/MS 模式下采用同位素稀释 (ID)-MS 测定生物柴油中的硫的适用性。

表 1. 硫同位素和 SO^+ 产物离子的天然同位素丰度以及最有可能妨碍测定硫的准确度的干扰离子

同位素	丰度 (%)	引起质谱干扰的离子
$^{32}\text{S}^+$	95.04	$^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$, $^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{15}\text{N}^{16}\text{O}^{1}\text{H}^+$
$^{33}\text{S}^+$	0.75	$^{32}\text{S}^1\text{H}^+$, $^{16}\text{O}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{16}\text{O}^{17}\text{O}^+$, $^{15}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{14}\text{N}^{18}\text{O}^1\text{H}^+$
$^{34}\text{S}^+$	4.20	$^{33}\text{S}^1\text{H}^+$, $^{16}\text{O}^{18}\text{O}^+$
$^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$	95.04	$^{48}\text{Ti}^+$, $^{48}\text{Ca}^+$, $^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$
$^{33}\text{S}^{16}\text{O}^+$	0.75	$^{48}\text{Ti}^+$, $^{32}\text{S}^{17}\text{O}^+$, $^{31}\text{P}^{18}\text{O}^+$
$^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$	4.20	$^{50}\text{Ti}^+$, $^{50}\text{Cr}^+$, $^{50}\text{V}^+$, $^{38}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$, $^{32}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{33}\text{S}^{17}\text{O}^+$

实验部分

仪器

使用 Agilent 8800 ICP-MS/MS 进行所有的分析测定。

基于八极杆的 CRC 位于 8800 两个四极杆分析器之间 (图 1)。经过第一个四极杆 (Q1) 分析器的质量“窗口”可以在“单四极杆”模式下“全开”, 也可以在 MS/MS 模式降至单位质量的宽度。八极杆 CRC 可以在放空模式下使用, 也可以同碰撞气 (通过动能歧视 (KED) 消除多原子离子, 或引发碰撞诱导解离)、反应气 (与干扰离子或者目标离子选择性反应, 以实现无干扰测定) 或者两种气体的组合加压使用。

本文中, ICP-MS/MS 仪器在三种不同的模式下运行:

1. 单四极杆 (SQ) 模式, 用 Q1 作为离子导杆 (下文中称为“SQ 离子导杆”模式)
2. 单四极杆 (SQ) 模式, 用 Q1 作为带通滤质器, 带通的宽度足以让 S^+ 和 SO^+ 离子都通过系统 (下文中称为“SQ 带通”模式)
3. MS/MS 质量转移模式, Q1 设为目标母离子质量数 (本文指 S^+ 同位素), Q2 设为适宜的反应产物离子质量数 (本文指 SO^+)。 (下文中称为“MS/MS”模式)

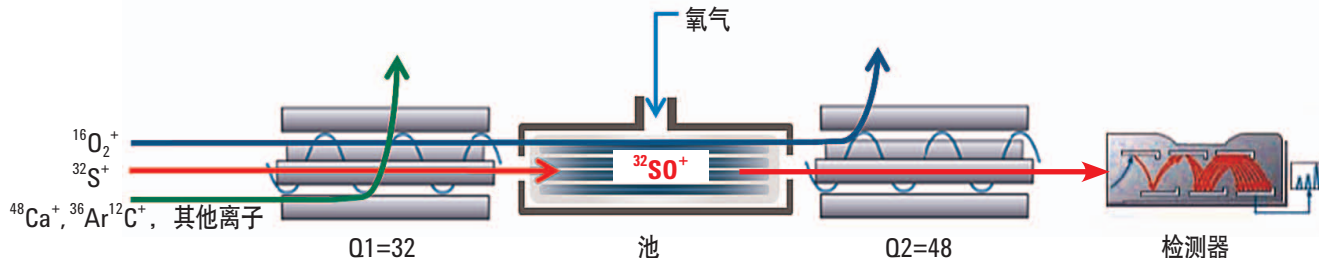


图 1. ICP-MS/MS 系统在 MS/MS 模式下的工作原理示意图。Q1 将非目标离子 (本文中, 非目标离子为 $^{48}\text{Ca}^+$ 、 $^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ 和其他离子) 阻挡在碰撞/反应池外, 这样可以在 $m/z=48$ 处测定 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 来无干扰测定 ^{32}S

该仪器可以在上述三种不同的模式下使用，非常适于多种不同的应用，清晰展现了 ICP-MS/MS 特有的 MS/MS 模式的强大性能。采用 MS/MS 模式在无干扰的条件下监测了复杂基质中用于同位素稀释测定的 ^{32}S 和 ^{34}S 信号。

针对有机溶剂分析对 ICP-MS/MS 进行了配置，即减少了进入等离子体的有机氯化物的数量。帕尔贴冷却雾化室的温度设为 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，用带有 1 mm 内径注射管的有机物炬管代替具有 2.5 mm 内径注射管的标准炬管。为了防止接口处积碳，向雾化室中加入了氧气（在氩气中混入 20% 氧气）。为了得到最高灵敏度，在分析有机物时对离子透镜进行优化以适应不同的等离子体条件。表 2 总结了仪器的操作条件。

表 2. ICP-MS/MS 的仪器设置

参数	值
射频功率	1450 W
载气流速	0.98 L/min
O_2 可选气体流速	75 mL/min
雾化室温度	$-5\text{ }^{\circ}\text{C}$
ORS ³ 反应气体流速 (O_2)	0.4 mL/min
Q1 偏置电压	-2 V
八极杆偏置电压	-9 V
Q2 偏置电压	-18 V

样品和试剂

使用生物柴油参考物 NIST SRM 2773（美国国家标准与技术研究院）验证方法的准确度。用于同位素稀释的 98.8% ^{34}S 加标物（硫酸钠）购自 Isoflex（美国），10 g/kg 的无机硫单元标准溶液（用于配制校准标准品以及用于反相 ID-MS）购自 SPEX CertiPrep（美国）。样品制备全部使用高纯试剂。用 Direct Q3 Mili-Q 系统（美国密理博）纯化水，用亚沸蒸馏系统纯化硝酸（分析用，ChemLab，比利时）。所有样品以及标准品的稀释均使用含 0.14 M 硝酸的无水乙醇（USP 分析级，赛默飞世尔科技公司，英国）。

样品制备

将 10 g/kg 硫单元标准溶液用乙醇稀释成 0 至 850 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围的硫标准溶液，用该标准溶液验证校准曲线的线性。

为了进行同位素稀释实验，将 0.1g 硫酸钠粉末溶于 10 mL 0.14 M 硝酸中，得到浓度约为 2.25 mg/g 硫（储备液 A）的 ^{34}S 加标物溶液。然后，将 250 mL 加标储备液 A 与 65 mL 天然同位素组分的硫标准溶液 (1g/kg) 混合，再用 0.14 M 的硝酸稀释至 25 mL。这样，加标物中 ^{34}S 的富集降到了 90% 左右，从而使得加标物的表征更精准。使用天然同位素组分的硫标准溶液，采用反向 ID-MS，测得该“稀释” ^{34}S 加标溶液（溶液 B）的浓度为 0.711 mmol/g ^{34}S 。

直接称取约 1g 的生物柴油样品 (NIST SRM 2773) 至 15 mL 的聚丙烯管中，然后加入准确称重的加标溶液 B (约 0.2 g)。再用乙醇将溶液稀释至 25 mL。制备的三种不同的样品和加标物的混合物，用于评价方法的重现性。除了不加生物柴油样品外，使用与上述完全相同的步骤制备空白。

结果和讨论

使用经纯乙醇稀释的一系列硫标准品（浓度范围介于 0 至 850 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）对三种不同操作模式的校准曲线的线性进行了评价。

在单四极杆 (SQ) 离子导杆模式下，直接在 Q2 m/z 32、33 和 34 处以元素离子测定硫强度。在 SQ 带通模式和 MS/MS 模式下，向八极杆池中通入氧气反应气，将 S^+ 离子转化为 SO^+ 离子，在 Q2 m/z 48、49 和 50 处测定这些离子，分别对应 $^{32}\text{S}^+$ 、 $^{33}\text{S}^+$ 和 $^{34}\text{S}^+$ 的 SO^+ 产物离子的质量数。在 MS/MS 模式下，测定每一种产物离子时，只允许一种母离子进入池内，Q1 对应的值分别为 32、33 和 34 (S^+ 母离子)。

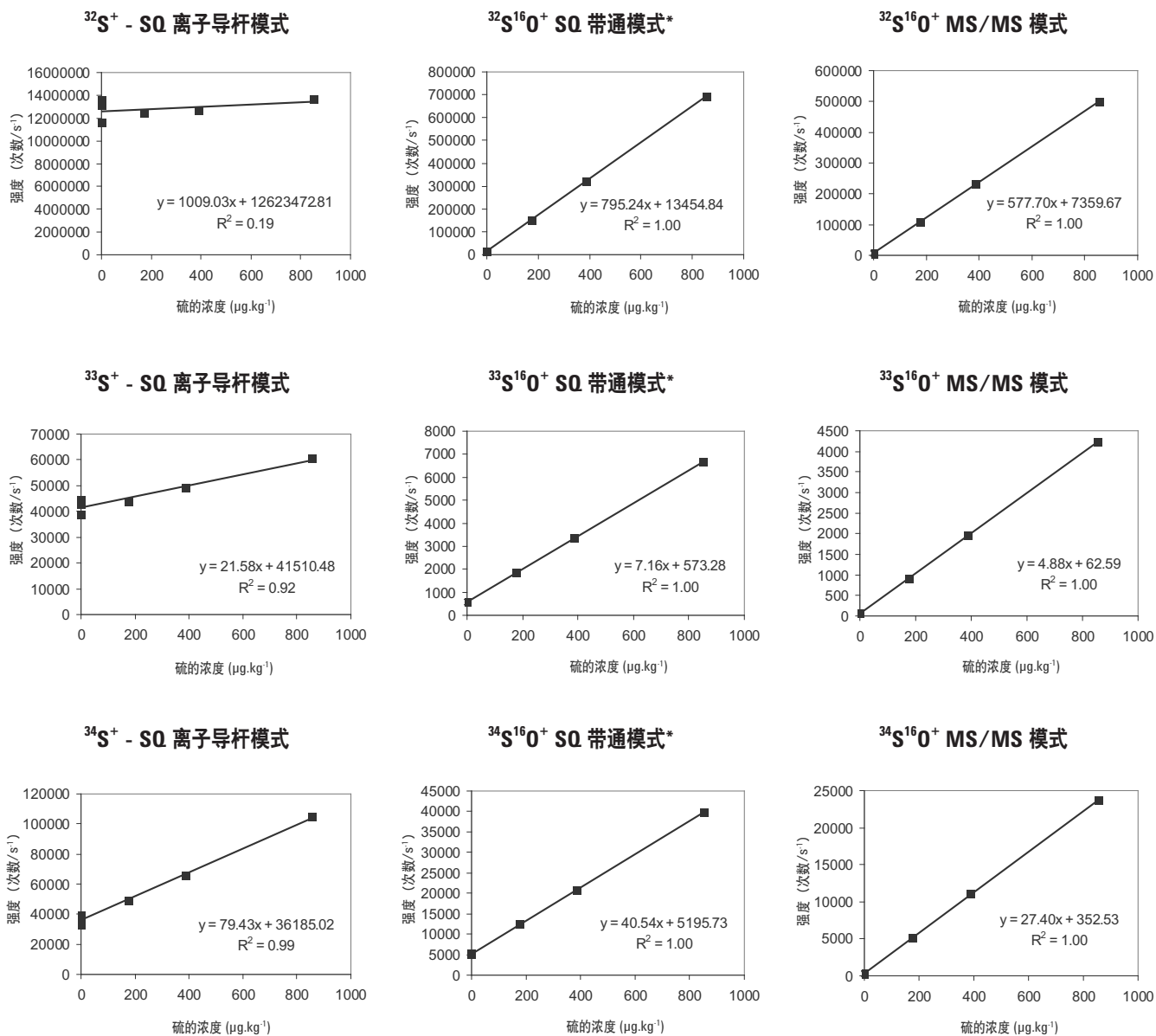


图 2. 通过一系列浓度范围在 0 至 850 µg/kg 的标准品获得的 ³²S⁺、³³S⁺ 和 ³⁴S⁺ (SQ 离子导杆模式) 以及 ³²S¹⁶O⁺、³³S¹⁶O⁺ 和 ³⁴S¹⁶O⁺ (SQ 带通模式和 MS/MS 模式) 的校准曲线。经英国皇家化学学会 (RSC) 授权引用

* 注意: SQ 带通测定的产物离子标记为 ^{xx}S¹⁶O⁺, 但是, 由于 SQ 带通模式 (与常规 ICP-QMS 上的带通滤质相同) 无法精确控制进入反应池的离子, 所以这些质量数处的信号实际上是不同产物离子的组合信号。例如, 在 m/z 50 处, 除了目标产物离子 ³⁴S¹⁶O⁺, 还存在第二个产物离子 ³²S¹⁸O⁺。

从图 2 中的校准曲线可以看出，在 SQ 离子导杆模式下几乎不可能准确测定硫，因为一直存在有基于氧的质谱重叠（见表 1）。当仪器在“反应模式”下运行并且向池中通入氧气，情况得到了明显改善。尽管 SQ 带通模式和 MS/MS 模式下校准曲线的线性都很良好，可以清楚地看到 SQ 带通模式下校准曲线的原点发生了偏移（ m/z 49 和 m/z 50 尤其如此）。这表明当仪器在 SQ 带通模式下运行时，在这些质荷比处仍存在相当明显的质谱重叠，这一结果与 De Wolf 等人的数据结果相一致 [3]。

但是，在 MS/MS 模式下，空白值得到了大幅降低，而且在 m/z 48、49 和 50 处的信号强度符合硫天然同位素的比例。这意味着，使用 MS/MS 模式，通过硫的至少两种主要同位素，（实际上）可以无干扰测定有机基质中的硫。ICP-MS/MS 上的 MS/MS 模式的另一个优势是该模式可以测定特定的转换离子对。对于 +16（Q2 设为 Q1 + 16）质量偏移，只测定了一个 ^{16}O 原子的叠加。MS/MS 模式下不会发生同位素内干扰，比如在 m/z 50 处 $^{32}\text{S}^{18}\text{O}^+$ 与 $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 重叠，而在“SQ 带通”氧气反应模式以及常规四极杆 ICP-MS 模式下都会发生同位素内干扰。

根据响应的标准偏差 (s) 和校准曲线的斜率 (m) 计算方法的检测限 (LOD)，公式为： $\text{LOD}=3(s m^{-1})$ 。根据回归线的 y 轴截距的标准偏差计算响应的标准偏差。

基于 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 、 $^{33}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 和 $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 的 LOD 值分别为 5、4 和 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 硫（或 4、3 和 6 $\mu\text{g}/\text{L}$ ）。尽管硫的三种同位素的天然同位素丰度差异很大，它们的 LOD 非常相似，说明 LOD 受使用的乙醇中硫杂质的浓度限制。如果只根据内标准偏差（即重复测定校准空白得到的标准偏差）的三倍计算 LOD，则使用 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 以及 $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 可以得到低得多的 LOD，分别为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以及 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 1.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，但是使用 $^{33}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 则不然，得到的 LOD 为 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。用这种方法计算出的 LOD 反应了硫同位素在天然同位素

丰度上的差别。尽管很少有文献报道过硫在有机基质中的 LOD 值，但是仍有一些文献给出了 LOD 值，可用作比较。Smith 等人 [4]、Sulyok 等人 [5] 以及 De Wolf 等人 [3] 报道的 LOD 值分别为 16 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ （通过 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ ）。但是，使用 $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$ 得到的 LOD 则高的多（300 $\mu\text{g}/\text{L}$ ）[3]。使用 HR-ICP-MS，基于 $^{32}\text{S}^+$ 和 $^{34}\text{S}^+$ 的 LOD 值可以分别降至 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

在测定含大量钙或钛的基质中的硫时，MS/MS 技术的优势更为明显（表 1）。仪器在 SQ 带通模式（等同于常规的配带通反应池的四极杆 ICP-MS）下运行时，必须对其进行设置，以使通过池的离子质量数范围包括母离子 S^+ 和产物离子 SO^+ 。在这种条件下， m/z 48 处的钙离子和钛离子也会进到反应池中，然后被 Q2（为了测 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ ，Q2 设为 m/z 48）传输，这样一来这两种离子会在与 $^{32}\text{SO}^+$ 离子相同的名义质荷比处被检测到。但是，MS/MS 模式下，在单位质量分辨率下 Q1 只允许特定质量数的硫母离子通过（本文中为 m/z 32），钙离子和钛离子被剔除出了离子束，所以这两种离子不会进到反应池和 Q2 中（图 1）。图 3 表明了这一点。图 3 中，在 47.55-50.55 amu 的质量数范围内，(i) 为乙醇空白的谱峰，(ii) 为含 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 钙和钛的乙醇空白的谱峰。对于每种溶液，SQ 带通模式 (A) 和 MS/MS 模式 (B) 的谱峰均有显示。可以看出，在 SQ 带通模式下，加入了钙和钛的样品在 m/z 48、49 和 50 处的信号强度明显增加，而在 MS/MS 模式下，两个谱图之间没有显著差异。

而且，比较乙醇空白在 SQ 带通模式以及 MS/MS 模式下的信号强度 (C) 可以发现，MS/MS 模式下的峰更低，与 SQ 带通模式下的谱图不同的是，MS/MS 模式下的谱图与硫天然同位素的谱图相匹配。这再次证明了 SQ 带通模式下的空白值有一部分来自于空白中存在的硫，还有一部分来自于干扰物。

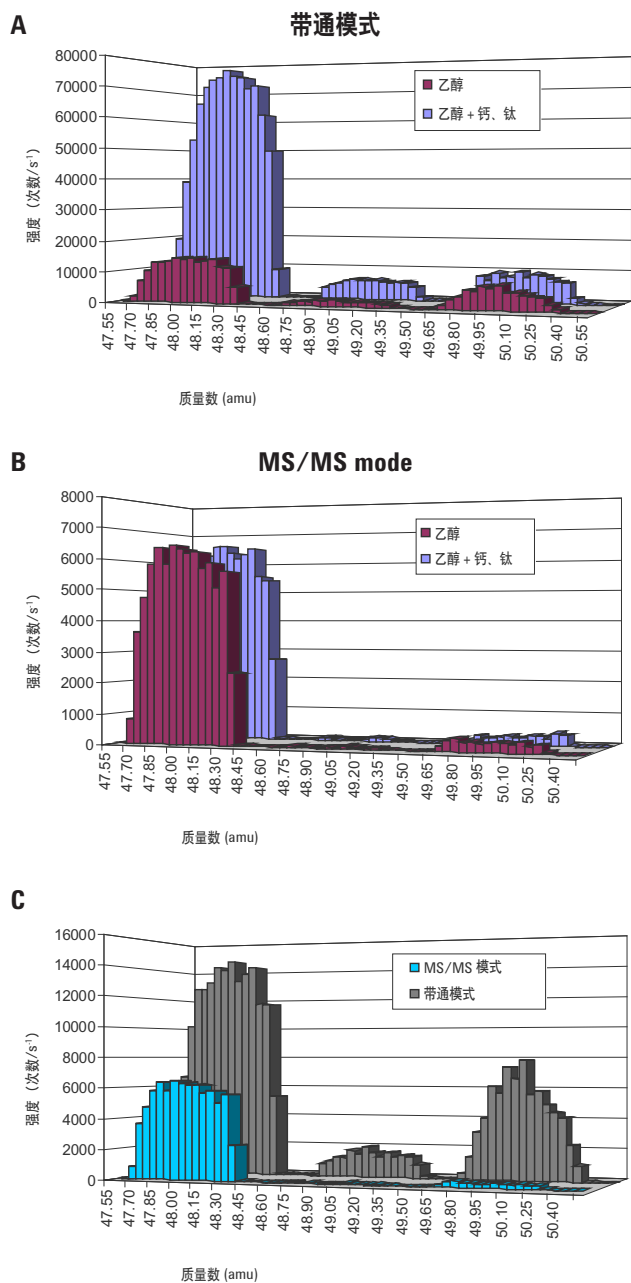


图 3. 质量数范围 47.55 - 50.55 amu 时使用 8800 测定的 (i) 乙醇空白和 (ii) 含钙和钛的乙醇空白的谱图, 其中 (A) 为 SQ 带通模式下的谱图, (B) 为 MS/MS 模式下的谱图. (C) 给出了乙醇空白溶液在 SQ 带通模式和 MS/MS 模式下的对比图. 经英国皇家化学学会 (RSC) 授权引用

使用同位素稀释 ICP-MS/MS 测定 NIST SRM 2773 (生物柴油) 中的硫

开发了一种测定生物柴油参比物 NIST SRM 2773 中硫的 ICP-MS/MS 方法。该参比物是一种基于动物油脂原料生产出的商用 100% 生物柴油, 其检定的硫的质量分数为 $7.39 \pm 0.39 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。使用 ICP-MS 分析生物柴油样品时, 前处理仅需用乙醇稀释样品。

由于加标物富集在 ^{34}S , ID 方法使用 $^{32}\text{S}/^{34}\text{S}$ 的比值 (分别在 m/z 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$) 和 m/z 50 ($^{34}\text{S}^{16}\text{O}^+$) 处测定 ^{32}S 和 ^{34}S) 进行测定。所有原始信号均用乙醇空白的原始信号进行空白校正。因为经实验确定了所有的同位素比值, 同时可以认为质量歧视始终保持不变, 所以没有进行质量偏差校正。使用 ID-ICP-MS/MS 分析了三种不同 SRM 样品 + 加标物的混合物以及两种乙醇空白 + 加标物的混合物。经计算, 空白的平均值为 $0.011 \mu\text{g}/\text{g}$, 所得的结果中均减去了该值。使用 ID-ICP-MS/MS 测定硫的结果总结于表 3 中。在实验不确定度范围内, 三个 SRM 样品的结果与检定值吻合得很好。而且, 对 95% 置信区间的评价表明, 获得的结果不仅准确, 而且具有可重现性。

表 3. 使用同位素稀释 (ID) ICP-MS/MS 测定 NIST SRM 2773 (生物柴油) 中的硫的结果

样品	浓度 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	检定值 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
SRM 2773 - 1	7.234	7.39 ± 0.39
SRM 2773 - 2	7.227	7.39 ± 0.39
SRM 2773 - 3	7.231	7.39 ± 0.39
平均值	7.231	7.39 ± 0.39
标准偏差	0.003	
95% 置信区间	7.231 ± 0.015	

结论

开发了一种使用 Agilent 8800 ICP-MS/MS 在 MS/MS 模式下测定有机基质中硫的新方法。通过将分析物离子与氧气反应，在 $M + 16$ amu 处测定特定同位素 SO^+ 产物离子，消除了对硫的干扰。一些研究者报道了用氧气作为反应气将 S^+ 离子转化为 SO^+ 离子之后，使用常规四极杆 ICP-MS 测定硫的方法。但是，对于有机基质和/或含钙、钛或铬（与 SO^+ 重叠）的基质，这些方法无法满足同位素稀释或同位素比值分析对准确度的要求。

通过采用 MS/MS 模式，8800 ICP-MS/MS 可以极大地降低对 ^{32}S 和 ^{34}S （用于同位素稀释）的干扰。第一个四极杆作为单位质量过滤器，可以选择进入 CRC 的离子的质量数，将所有非目标质量数（例如钙、钛或 ArC）阻挡在池外。控制进入反应池的离子意味着无论样品中存在什么样的基质和分析元素，反应都是一致、可预见的。通过与氧气反应质量偏移 $S^+ + 16$ amu，测定产物离子 SO^+ 从而间接测定硫，可以消除或避免包括 O_2 、 NO 、 NOH 和 NOH_2 在内的对 S^+ 的潜在干扰。

成功地将 MS/MS 新方法应用于生物柴油参比物中硫的测定。尽管该初步的研究只分析了生物柴油，我们认为可以用该方法测定各种样品中硫的含量。我们计划进一步开发这个方法，使用反相 HPLC-ICP-MS 采用在线非特异性同位素稀释对含硫物质进行定量。

更多信息

欲了解本应用的完整信息，请参阅出版物：Accurate determination of S in organic matrices using isotope dilution ICP-MS/MS, Lieve Balcaen, Glenn Woods, Martín Resano and Frank Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2013, 28, 33-39

参考文献

1. G. Woods, F. Fryer, Direct Elemental Analysis of Biodiesel by 7500ce ICP-MS with ORS（使用配置 ORS 的 7500ce ICP-MS 直接进行生物柴油元素分析），安捷伦出版物，5989-7649EN (2008)
2. G. Woods, F. Fryer, Direct elemental analysis of biodiesel by inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389:753-761
3. K. De Wolf, L. Balcaen, E. Van De Walle, F. Cuyckens and F. Vanhaecke, A comparison between HPLC-dynamic reaction cell-ICP-MS and HPLC-sector field-ICP-MS for the detection of glutathione-trapped reactive drug metabolites using clozapine as a model compound, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2010, 25, 419–425.
4. C. J. Smith, I. D. Wilson, L. Weidolf, F. Abou-Shakra and M. Thomsen, Enhanced detection of sulphur and phosphorous containing compounds in HPLC-ICP-MS using chemical resolution via hexapole-based reaction with oxygen, *Chromatographia*, 2004, 59, S165–S170.
5. M. Sulyok, S. Hann, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, G. Stinger and G. Koellensperger, Two dimensional separation schemes for investigation of the interaction of an anticancer ruthenium(III) compound with plasma proteins, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2005, 20, 856–863.

致谢

Lieve Balcaen 开展的工作得到了 Fund for Scientific Research Flanders (FWO-Vlaanderen) 的资助。Martín Resano 在此感谢西班牙科技创新部的支持（项目编号 CTQ2009-08606）。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、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，2013

2013年5月2日，中国印刷

出版号：5991-2337CHCN



Agilent Technologies