

# 石油卟啉在反相—CN/C<sub>18</sub>组合柱 高效液相色谱中的分离与分析\*

陈培榕 刘密新 吴筑平 张 艳 廖志勤 黄第藩

(清华大学分析中心 北京 100084)

(北京石油勘探开发设计院地质所 北京 100083)

**摘要** 石油卟啉是原油和含油沉积物中的一种地质化学标记物,由于卟啉族是一种极其复杂的混合物,且含量甚微,因此,给分离和鉴定工作带来相当大的困难。采用—CN/C<sub>18</sub>组合柱、甲醇-水梯度淋洗的反相高效液相色谱和高灵敏度鉴定的质谱对卟啉族进行研究,结果表明,在所建立的色谱系统中,卟啉的类型和同系物都得到较好的分离,色谱图有较好的重现性,在分离的基础上对有地质信息的卟啉标记物进行了质谱分析。

**关键词** 反相高效液相色谱,质谱,石油卟啉,脱金属卟啉,地质化学标记物

## 1 前言

石油卟啉是原油和含油岩石中多种地质化学标记化合物的一种,卟啉的分布、含量、类型等与原油的成熟度、运移情况以及油、岩相关性等地质参数有着密切的关系。因此,石油卟啉的研究一直是地球化学中的一个重要课题。国内外文献已有不少有关卟啉分离分析方法的报道<sup>[1~3]</sup>,其中,卟啉族的分离常采用正相色谱进行。我们利用通用性很强、适合做梯度淋洗的反相高效液相色谱进行分离,以质谱进行鉴定,建立稳定、重现性良好的分离分析卟啉的方法,以便为地球化学提供分子水平的信息。

## 2 仪器与试剂

### 2.1 仪器

紫外-可见分光光度计,UV-3000,日本岛津制作所;高效液相色谱,VISTA 5000,美国瓦里安公司;色谱-质谱联用仪,FINNIGAN 4510,美国菲尼根公司。

### 2.2 试剂

所用溶剂皆为分析纯,北京化工厂,重蒸后使用;水,去离子水重蒸后使用;甲磺酸,FLUKA Chemie AG;硅胶,10~40 $\mu$ m,青岛海洋化工厂。

## 3 方法、结果与讨论

### 3.1 样品制备

将含油岩石粉碎,粒度约为200目,用混合溶剂二氯甲烷-甲醇(2:1, V/V)抽提96h(油样直接用溶剂萃取),得到的抽提液进行干柱色谱分析,柱填

料为硅胶,展开剂为石油醚-甲苯-二氯甲烷(2:2:1, V/V/V)。在柱中,烷烃、芳烃和金属卟啉得到了分离<sup>[4~5]</sup>。为了使高效液相色谱得到清晰的卟啉指纹图,需用甲磺酸回流的方法脱去卟啉环中的金属原子,得到脱金属卟啉样品待用<sup>[6]</sup>。

### 3.2 高效液相色谱条件的建立

在以往有关石油卟啉的高效液相色谱分离的报道中,多是以正相色谱体系进行研究,它是以硅胶为固定相,有时需三根25cm长的硅胶柱串连使用,以三氯甲烷、甲苯、石油醚、乙酸乙酯或以正己烷、甲苯、三氯甲烷、醋酸四元混合物为流动相。其缺点是溶剂体系较复杂,重现性、稳定性难以保证,而采用反相色谱体系就可以克服上述的不足。反相色谱体系具有操作简便、选择性强、溶剂体系范围宽、价格便宜与样品易兼容且平衡时间短等优点<sup>[7]</sup>。鉴于上述情况,我们对石油卟啉样品在反相高效液相色谱上进行分析的可能性做了系统的研究。

**3.2.1 色谱柱的选择** 以F-21-Ni-P样品为例,在相同的条件下对三种分离柱进行了实验,实验结果如图1所示。流动相为甲醇-水,梯度淋洗(见表3),流速范围1.2~1.7mL/min(见表1),检测波长为400nm,进样量为10 $\mu$ L,图1中A为—CN键合柱,4.6cm i. d.  $\times$  15cm, B为C<sub>18</sub>键合柱,4.6cm i. d.  $\times$  15cm, C为—CN/C<sub>18</sub>组合柱。

从图1可以看出,卟啉混合物在组合柱上得到较好的分离,色谱峰的数目较多,大多数相邻峰的分是在半峰宽以下,有些组分达到了基线分离,给出了清晰细致的卟啉指纹图。实际上,—CN键合柱与C<sub>18</sub>键合柱组合后起到了相互补充的作用,—CN键

\* 国家自然科学基金资助课题  
本文收稿日期,1994年1月14日,修回日期,1994年4月4日

合柱适用于分离具有不同取代基的卟啉,而 C<sub>18</sub> 键合柱适用于分离同类型中不同碳数的同系物卟啉。

3.2.2 流动相组成及淋洗形式的选择 在实验中采用了两种反相色谱常用的溶剂系统,其一为甲醇-水,其二为乙腈-水,实验表明,甲醇-水系统更适合于分离石油卟啉样品,二者的比较如图 2 所示。为使复杂的卟啉样品在组合柱中得到较快的分离,也为使所有组分出峰时间比较均匀,本方法对流动相甲醇-水的配比(95/5~100/0, V/V)以及流速都设置了梯度程序,如表 1 所示。

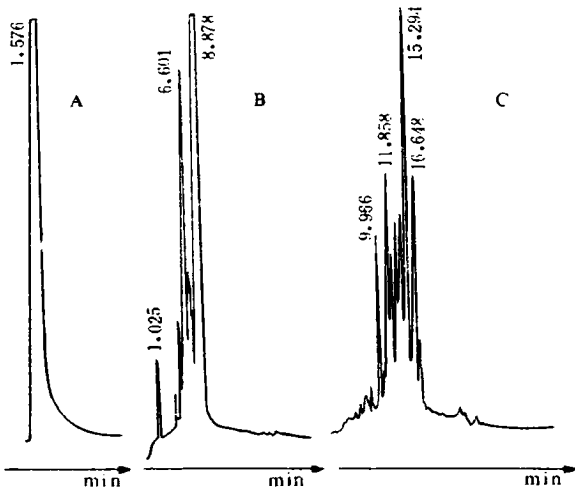


图 1 同一卟啉样品在不同色谱系统中的分离

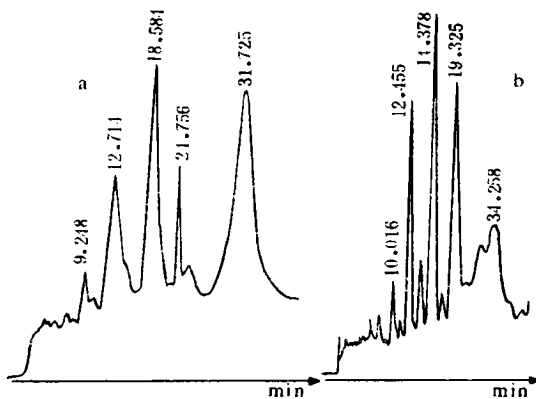


图 2 流动相组成比较

a. 乙腈-水 b. 甲醇-水。

3.2.3 检测波长选择 在脱金属卟啉的 UV-VIS 谱图上,出现五个波长的特征峰,即 400, 490, 522, 560, 612nm,实验表明,400nm 为最灵敏检测波长。

3.3 重现性考察

利用上述建立的反相高效液相色谱条件,即—CN/C<sub>18</sub>组合柱,甲醇-水为流动相,按表 1 所示的

梯度程序淋洗,检测波长为 400nm,对 PP0000003 号样品进行 6 次重复性实验,结果列于表 2。

表 1 流动相、流速梯度程序

时间(min)	项 目	数 值
0.0	FL	1.2
0.0	%A	95
17.0	FL	1.5
20.0	FL	1.7
30.0	%A	100
50.0	%A	95
60.0	FL	1.2

注:%A 为甲醇的百分组成,FL 为流速, mL/min。

表 2 样品 PP0000003 测试重复性考察

部分色谱峰保留时间(min)						
平均值 $\bar{X}$	12.53	14.45	16.32	18.74	22.39	25.52
标准偏差 $S$	0.134	0.087	0.211	0.236	0.184	0.273
$S/\bar{X}$ (%)	1.07	0.60	1.29	1.26	0.82	1.07

从表 2 的数据可以看出,本文所建立的色谱条件是稳定的,测试样品的重现性良好,实验所得卟啉分离指纹图有较好的可靠性。

3.4 质谱分析

为了对反相高效液相色谱分离的组分进行鉴定,在实验中分别收集各个色谱馏分,以直接进样的方式对各组分进行质谱分析,实验条件如下:电离方式为电子轰击式,能量为 70eV,进样升温程序为 80~270℃,40℃/min,以 PP0000003 号样平均保留时间为 25.52min 组分为例进行质谱分析,谱图如图 3 所示。这是一张典型的石油卟啉质谱图,卟啉分子具有稳定的环状结构,多数情况下只出现分子离子峰,且峰强度大,碎片峰较少,各种组成卟啉的质谱图都是一簇棒图,其中有一个含量最丰的卟啉化合物,如图 3 中质荷比  $m/e = 476$  为最强峰,它对应的是 DPEP 型含 32 个碳原子的卟啉化合物,除此之外,还有它的一些同系物近似地呈正态分布<sup>(8)</sup>。

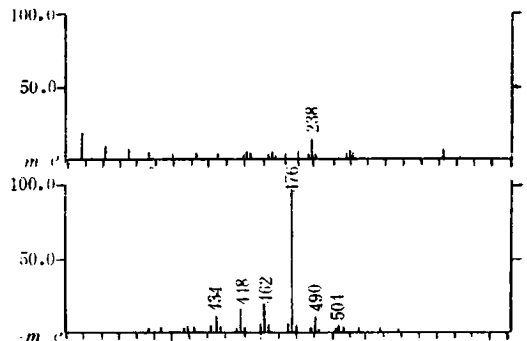


图 3 C32 D 卟啉的质谱图

## 参 考 文 献

- 1 Barwise A J G, Park P J D. *Advances in organic geochemistry*. New York: John Wiley & Sons, 1983:668
- 2 Gill J P, Evershed R P, Chicarellie M I *et al.* *J Chromatogr*, 1985, 350, 37
- 3 李发美. 色谱, 1989, 7(5): 277
- 4 张 艳. 生物标记物-石油卟啉的分离分析方法研究 (学士学位论文), 清华大学化学系, 1988, 8
- 5 Wang Xieqing, Lang Renchi, Qi Luliang. *Geochemistry*, 1983; 2(3): 251
- 6 王志杰. 石油、岩石中生物标记化合物-卟啉的分析与稳定性研究 (学士学位论文), 清华大学化学系, 1993: 29
- 7 Krstulovic A M, Bronw P R. *Reversed-phase high performance liquid chromatography*. New York: John Wiley & Sons, 1982: 85
- 8 Liao Zhiqin, Huan Difan, Shi Jiyang. *Science China (Series B)*, 1990; 33(5): 631

## Analysis of Petroporphyrins by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography on a —CN/C<sub>18</sub> Coupled Column

Chen Peirong, Liu Mixin, Wu Zhuping and Zhang Yan

(Center of Analysis, Tsinghua University, Beijing, 100084)

Liao Zhiqin and Huang Difan

(Geology Department, Research Institute of Petroleum Exploration and Development, Beijing, 100083)

Petroporphyrins are geochemical marker compounds, which exist in petroleum and sediment. It is difficult to separate and identify them, because the petroporphyrin content is very low and the type very complex. In this work we have developed a reversed-phase high performance liquid chromatographic system with a —CN/C<sub>18</sub> coupled column and methanol/water gradient elution by which satisfactory results can be easily obtained.

**Key words** reversed-phase high performance liquid chromatography, mass spectrometry, petroporphyrins, metal-free porphyrin, geochemical marker compounds

## 补订《色谱》的通知

欲订购 1995 年《色谱》杂志的用户请到当地邮局订阅 (本刊代号: 8—43), 每期定价 4.50 元, 全年六期 27 元。有的省市地区期刊订购目录可能会有遗漏, 请不要怀疑, 本刊仍由邮局发行, 订购时务必写明代号 8—43。

未在邮局订到《色谱》的用户可直接向《色谱》编辑部补订。单位补订享受八折优惠 (21.6 元), 个人补订享受半价优惠 (13.50 元)。

补订办法: 由邮局汇款务请写明订户单位、详细地址、收刊人姓名、邮政编码及补订份数, 汇至大连市中山路 161 号《色谱》编辑部 (邮编: 116012); 由银行汇款请汇至工商银行青办, 帐号: 030—14415771, 户名: 中国科学院大连化学物理研究所。务请在汇款用途栏写明: “订购色谱杂志款”, 以便会计识别及时通知我部。

《色谱》编辑部