

文章编号: 0254-5357(2008)01-0005-04

国土资源地质大调查分析测试技术专刊

高压气相色谱法快速测定痕量长链烯酮

李 松, 孙 青

(国家地质实验测试中心, 北京 100037)

摘要:建立了高压气相色谱快速分析痕量长链烯酮的分析方法。选用快速分离色谱柱,对进样口压力、柱温箱程序升温速率进行优化,选择最佳的分析条件,使被测组分 $C_{37:2}$ 、 $C_{37:3}$ 和 $C_{37:4}$ 长链烯酮达到基线分离,仪器分析周期减少至 40 min。方法精密度(RSD, $n=13$)各长链烯酮均小于 4%,检出限为 10 ng/mL。

关键词: 高压气相色谱法; 长链烯酮

中图分类号: 0657.71; 0623.524

文献标识码: A

Rapid Determination of Long-chain Alkenones by High-pressure Gas Chromatography

LI Song, SUN Qing

(National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037, China)

Abstract: A method for the determination of C_{37} alkenones by high-pressure gas chromatography using chromatographic column with high separation speed is proposed in this paper. The influences of carrier gas pressure and temperature programming rate on the determination results were studied. Under the condition of the temperature programming from 80 °C to 280 °C at the rate of 20 °C/min and the head pressure of 550 kPa, the complete separation of C_{37} alkenones including $C_{37:2}$, $C_{37:3}$, $C_{37:4}$ can be obtained and the period of the instrumental analysis is reduced to 40 min. The detection limit of the method is 10 ng/mL for long-chain alkenones with precision of less than 4% RSD ($n=13$).

Key words: high-pressure gas chromatography; C_{37} alkenones

长链烯酮具有较好的稳定性和生物专属性。应用长链烯酮不饱和度研究古水表温度已经成为继微体化石氧同位素之后又一古气候变化的重要替代指标,在海洋和湖泊中得到广泛应用^[1-7]。长链烯酮不饱和度定义为 $U_{37}^K = [C_{37:2}]/[C_{37:2} + C_{37:3}]$, $U_{37}^K = [C_{37:2} - C_{37:4}]/[C_{37:2} + C_{37:3} + C_{37:4}]$ ($C_{37:2}$ 、 $C_{37:3}$ 和 $C_{37:4}$ 代表碳链长度为 37, 分别有 2

个、3 个和 4 个不饱和键的烯酮类化合物)^[8-9]。

长链烯酮的分析流程与有机地球化学中其他类脂生物标志化合物的分析方法类似;但其仪器分析周期长,不仅浪费载气、电能,且工作效率很低。长链烯酮的色谱分析中,常采用 DB-1 和 DB-5 毛细管色谱分离柱(长度 30 ~ 60 m、内径 0.32 ~ 0.25 mm、液膜厚度 0.25 μ m),分析时间长达 90 ~ 150

收稿日期: 2007-06-07; 修订日期: 2007-07-05

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(40572101, 40102016); 国土资源部百人计划项目资助; 国土资源部地质大调查项目资助(1212010660901)

作者简介: 李松(1978-),男,北京市人,工程师,分析化学专业。E-mail: ccagvip@163.com。

min 不等。快速气相色谱法是近年来迅速发展的一种新技术,其应用非常广泛^[10-11]。例如,应用快速气相色谱法分析石油饱和烃,仪器分析流程可从 80~90 min 缩短至 15 min 左右,实现了快速检测分析的目的^[12-16]。特别是高压快速气相色谱法在长链烯酮的分析中逐渐显示出它的优势,在不降低分离度的前提下可使分析速度加快 5~10 倍,分辨率提高 3~5 倍。

本文选用快速分离色谱柱,对进样口压力、柱温箱程序升温速率进行优化,选择最佳的分析条件,使 $C_{37,2}$ 、 $C_{37,3}$ 和 $C_{37,4}$ 不饱和长链烯酮组分达到基线分离。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

GC-2010 型气相色谱仪(日本岛津公司)。DB-1MS 石英毛细管色谱柱(20 m × 0.1 mm × 0.1 μm)。载气(He)压力 550 kPa;进样口温度 300 °C;分流比 20:1。柱温程序:初始温度 80 °C,以 20 °C/min 升至 280 °C,恒温 30 min。

氢火焰离子化检测器(FID),检测器温度 330 °C,色谱柱线流速 36.1 cm/s,检测器氢气流量 40 mL/min,空气流量 400 mL/min,尾吹气(He)流量 30 mL/min。

1.2 样品与主要试剂

中性硅胶(Kieselgel 40, 70~230 目,德国 Merck 公司);用二氯甲烷索氏抽提 48 h,溶剂蒸干后用二氯甲烷-正己烷(体积比 1:1)混合溶液浸泡。

用于分析的样品为金藻 *Chrysotila lamellosa* 的培养产物;内标: n - C_{36} 烷烃(美国 Aldrich 公司);衍生化试剂:双(三甲基硅烷基)氟乙酰胺(BSTFA,德国 Merck 公司)。

二氯甲烷、三氯甲烷、甲醇、正己烷、乙酸乙酯、甲苯均为色谱纯(美国 Tedia 公司);KOH 为优级纯(北京化学试剂公司);水为蒸馏水。

1.3 标准溶液的配制

准确称取 10.05 mg C_{36} 正构烷烃固体,并用甲苯定容至 250 mL,此溶液浓度为 40.2 μg/mL;再用甲苯稀释储备液配制成 1.0 μg/mL 的标准溶液。

1.4 分析方法

沉积物样品冷冻干燥,磨碎。称取一定量样品,加入 C_{36} 正构烷烃作内标,以二氯甲烷为提取剂,用

改良索氏提取器对含有长链烯酮的湖泊生物培养样品抽提 48 h,抽提物在氮气下吹干。加入 60 g/L KOH-甲醇溶液,过夜,用正己烷萃取 3 次。萃取液在硅胶柱(30 cm × 0.4 cm)上净化,用二氯甲烷-正己烷(体积比 1:1)洗脱,洗脱物在氮气下吹干,溶于甲苯中,加入甲基硅烷化试剂 BSTFA^[5]。

在长链烯酮各异构体的响应因子与 C_{36} 正构烷烃的响应因子相同的前提下,计算长链烯酮各异构体的浓度,计算公式为:

$$\rho(\text{长链烯酮各异构体}) = \rho(C_{36}\text{正构烷烃}) \times \frac{A_P(\text{长链烯酮各异构体})}{A_P(C_{36}\text{正构烷烃})}$$

式中, ρ 为质量浓度, A_P 为峰面积。

2 结果与讨论

2.1 柱前压的选择

由于快速气相色谱分析采用 100 μm 的细内径色谱柱,因而需要的柱前压力较高。对柱前压为 450、500、550、560、580、600、620、640 kPa 的分析结果进行了比较。由图 1 可见,柱前压越小,分离度(R_s)越大,保留时间(t_R)越长。综合考虑柱头压力对分离度、保留时间的影响,实验选择中间压力 550 kPa 进行分析。

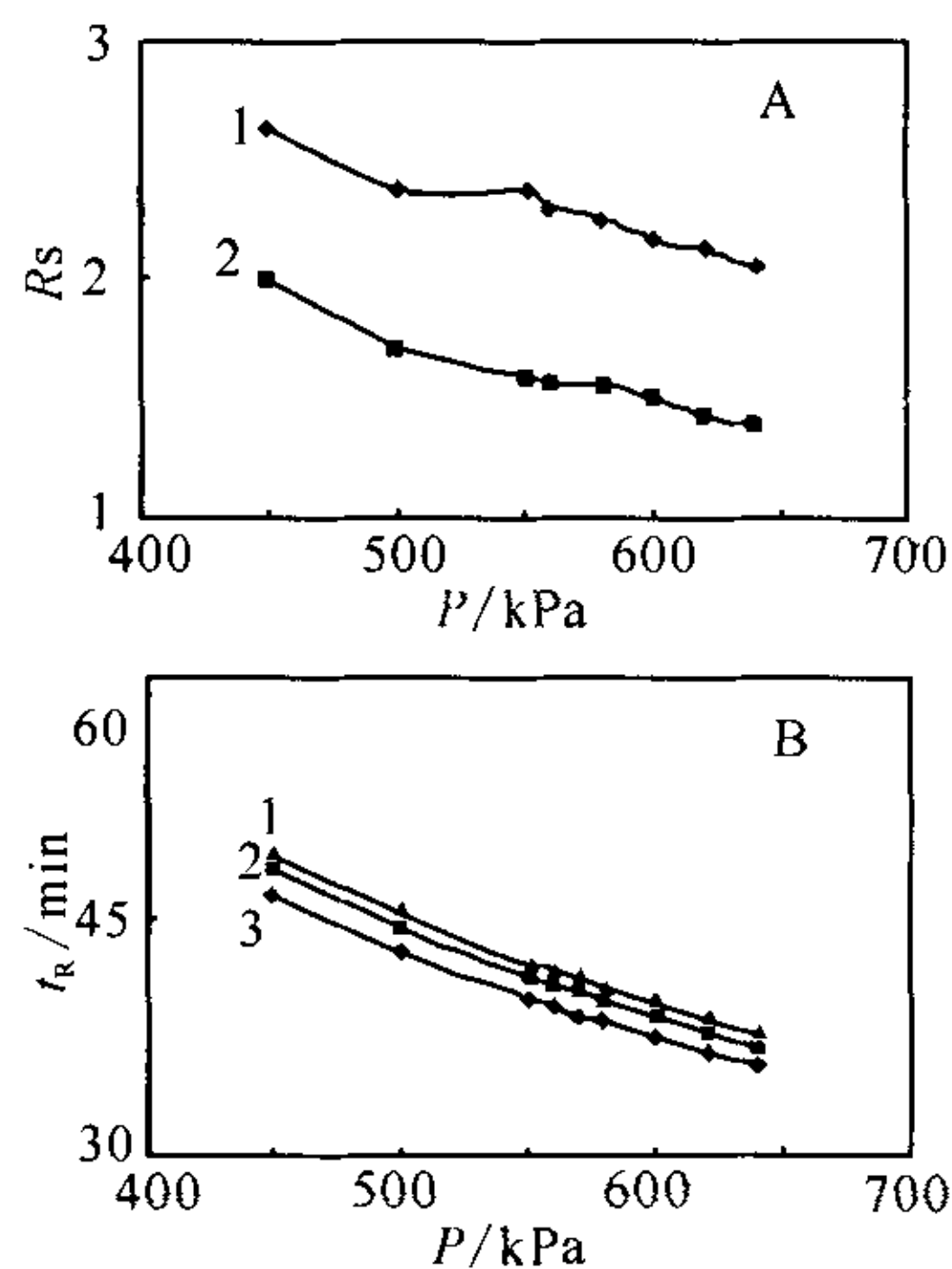


图1 柱前压对分离度及保留时间的影响

Fig. 1 Effect of column head pressure on resolution and retention time

A 图中: 1— $C_{37,4}$ 与 $C_{37,3}$; 2— $C_{37,3}$ 与 $C_{37,2}$ 。

B 图中: 1— $C_{37,4}$; 2— $C_{37,3}$; 3— $C_{37,2}$ 。

柱温初始温度 80 °C, 以 20 °C/min 升温至 280 °C。

2.2 升温程序的选择

长链烯酮的沸点高,快速升高柱温可以加快其

在色谱柱上的流出速度,从而缩短分析周期;但升温过快会降低长链烯酮异构体之间的分离度。对比研究 10、20、30、40 ℃/min 等四种程序升温速率的分析结果,发现在 10 ℃/min 的升温速率下,待测物出峰时间为 46.3 ~ 48.3 min;20 ~ 40 ℃/min 的升温速率对待测物出峰时间影响不大,为 32.9 ~ 39.3 min;当升温速率到 40 ℃/min 左右时,仪器的稳定性及重复性有所下降。

从图 2 可以看出,虽然试验的几种升温速率对 C₃₇ 长链烯酮同系物(C_{37:4}、C_{37:3}、C_{37:2})间的分离度有一定影响;但都基本满足了 C_{37:4}、C_{37:3}、C_{37:2} 长链烯酮基线分离的要求。

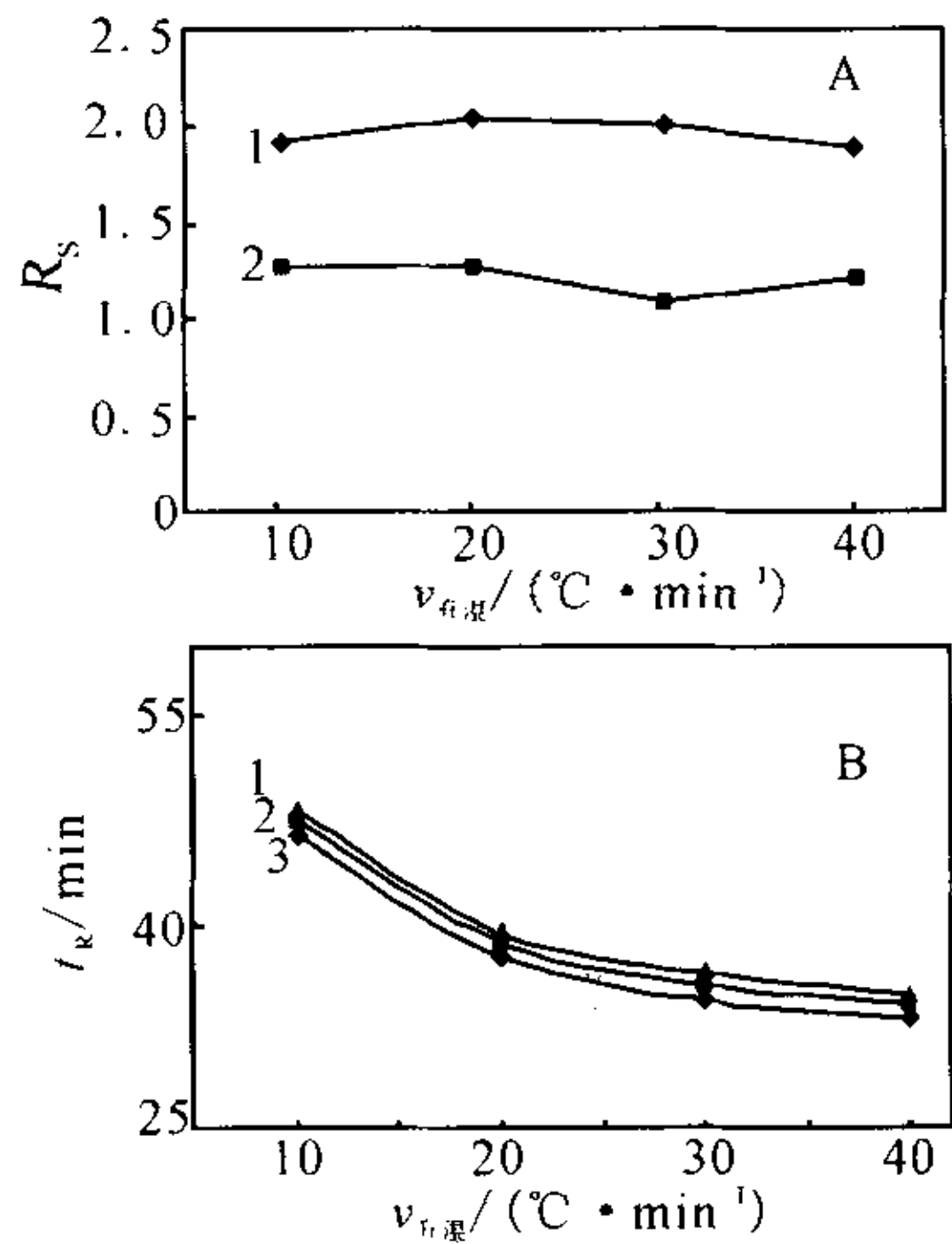


图 2 升温速率对分离度及保留时间的影响

Fig. 2 Effect of heating rate on resolution and retention time
A 图中:1—C_{37:4} 与 C_{37:3}; 2—C_{37:3} 与 C_{37:2}。
B 图中:1—C_{37:4}; 2—C_{37:3}; 3—C_{37:2}。
初始温度 80 ℃,以不同升温速度升温至 280 ℃;载气压力 550 kPa。

综合考虑柱温对保留时间、长链烯酮分离度的影响,为了降低高温下柱流失,保证色谱柱的长寿命,以及为了同时保证正构烷烃和异构烷烃更好地实现分离,本法采用了 20 ℃/min 的升温速率,升温到 280 ℃ 后恒温。利用快速气相色谱法,使被分析组分达到了基线分离,并使保留时间缩短至 40 min 左右(图 3B),比普通毛细管柱色谱分析法分析时间(图 3A)缩短了 3 ~ 4 倍。

2.3 精密度和检出限

按照实验方法,分别配制 13 个样品溶液。在选定的分析条件下进行测定,计算方法的精密度(RSD)为 C_{37:2} 3.17%、C_{37:3} 2.42% 和 C_{37:4} 2.21% (表 1)。以连续 20 次噪声的 3 倍标准偏差计算方法的检出限为 10 ng/mL。

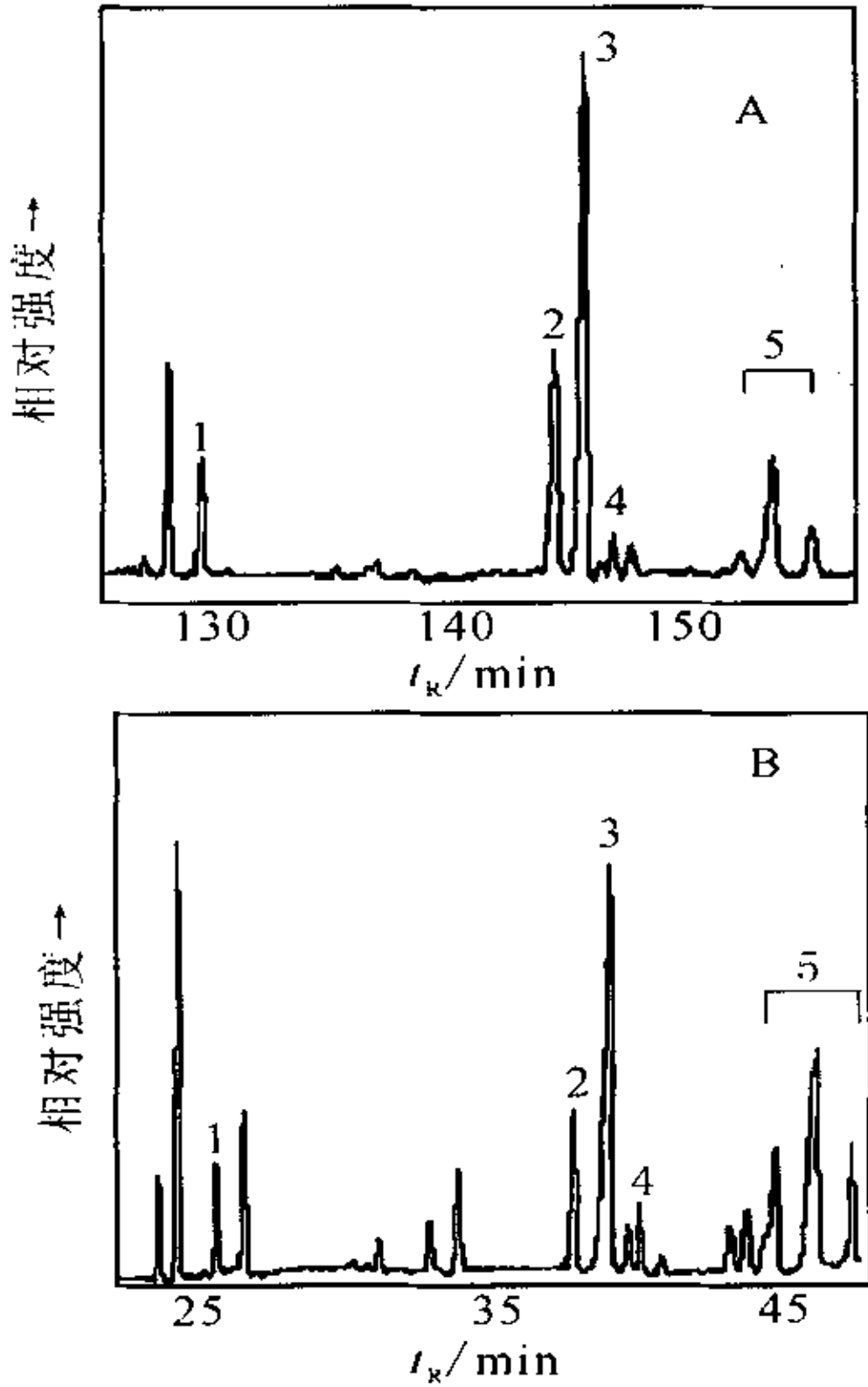


图 3 样品色谱分析谱图

Fig. 3 Gas chromatograms of samples
A 为普通毛细柱(DB-1MS;30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱分析谱图。分析条件:初始温度 40 ℃,以 4 ℃/min 升温至 180 ℃,保留 20 min,再以 2 ℃/min 升温至 300 ℃,载气压力 68.9 kPa。
B 为快速毛细柱(DB-1MS;20 m×0.10 mm×0.10 μm)色谱分析谱图。分析条件:初始温度 80 ℃,以 20 ℃/min 升温至 280 ℃,保留 20 min,载气压力 550 kPa。
1—C₃₆ 正构烷烃; 2—C_{37:4} 长链烯酮; 3—C_{37:3} 长链烯酮; 4—C_{37:2} 长链烯酮; 5—C₃₈ 长链烯酮。

表 1 方法的精密度

Table 1 Precision test of the method

长链烯酮	峰面积	A _p	RSD/%
C _{37:2}	12100.3	12098.9	3.17
	12588.0	12181.2	
	11651.8		
C _{37:3}	11576.9	12277.3	2.42
	11738.3	12641.5	
	11467.7		
C _{37:4}	12302.9	11704.6	2.21
	11838.0		
	118851.5	117861.0	

3 结语

本文应用柱内径小、液膜薄的微细毛细管柱对柱前压、升温过程进行选择,建立了高压快速气相色谱检测沉积物中痕量长链烯酮的分析方法,使被分析组分达到了基线分离,分析周期从 90 ~ 150 min 减少至 40 min。建立的分析方法精密度好、分离度高,适用于沉积物样品中长链烯酮的快速定量分析。

致谢:参加此工作的还有中国科学院地质与地球物理研究所储国强博士,在此特别感谢。

4 参考文献

- [1] Sikes E L, Farrington J W, Kegwin L D. Use of Alkenone Unsaturation Ratio (U_{32}^K) to Determine Past Sea Surface Temperatures: Core-top SST Calibrations and Methodology Considerations[J]. *Earth Planet Sci Lett*, 1991, 104: 36 - 47.
- [2] Chu G Q, Sun Q, Li S Q, et al. Long-chain Alkenone Distributions and Temperature Dependence in Lacustrine Surface Sediments from China [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2005, 69: 4985 - 5003.
- [3] Sun Q, Chu G, Liu G, et al. Calibration of Alkenone Unsaturation Index with Growth Temperature for a Lacustrine Species, *Chrysotila Lamellosa* (Haptophyceae) [J]. *Organic Geochemistry*, 2007, 38: 1226 - 1234.
- [4] Sun Q, Chu G Q, Li S Q, et al. Long-chain Alkenones in Sulfate Lakes and Its Paleoclimatic Implications [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49: 2082 - 2086.
- [5] 孙青, 储国强, 李圣强, 等. 硫酸盐型盐湖中的长链烯酮及古环境意义[J]. *科学通报*, 2004, 19(17): 1789 - 1792.
- [6] 孙青, 储国强. 长链烯酮不饱和度温标研究进展[J]. *地质地球化学*, 2002, 30(4): 63 - 67.
- [7] M ller P J, Kirst G, Ruhland G, et al. Calibration of the Alkenone Paleotemperature Index U_{32}^K Based on Core-tops from the Eastern South Atlantic and the Global Ocean (60 N 60 S) [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1998, 62: 1757 - 1772.
- [8] Prah F G, Wakeham S G. Calibration of Unsaturation Patterns in Long Chain Ketone Compositions for Paleotemperature Assessment [J]. *Nature*, 1987, 330: 367 - 369.
- [9] Brassell S C, Eglinton G, Marlowe I T, et al. Molecular Stratigraphy: A New Tool for Climatic Assessment [J]. *Nature*, 1986, 320(13): 129 - 133.
- [10] 庞楠楠, 迪丽努尔·马力克, 牛蓓, 等. 快速气相色谱法测定食品中的常见防腐剂[J]. *分析试验室*, 2005, 24(3): 48 - 52.
- [11] Katerina Mařtovsk, Steven J Lehotay. Practical Approaches to Fast Gas Chromatography-Mass Spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1000(1 - 2): 153 - 180.
- [12] 武杰, 曹磊, 李英明, 等. 快速气相色谱法分析石油饱和烃[J]. *色谱*, 2004, 22(5): 479 - 481.
- [13] 王兆基, 李伟安. 快速气相色谱法测定蔬菜中菊酯类农药残留量[J]. *分析化学*, 1998, 26(10): 1247 - 1250.
- [14] Yang S S, Smetena I. 快速气相色谱法在烟草分析中的应用评价[J]. *烟草科技*, 2000(5): 33 - 35.
- [15] 冯振声, 周伯清. 食品中乳酸的快速气相色谱分析[J]. *色谱*, 1992, 10(1): 44 - 46.
- [16] 史平, 侯定远. 水中硝基苯的快速气相色谱鉴定[J]. *环境工程*, 1998, 16(6): 56 - 57.

(参考文献上接第4页)

6 参考文献

- [1] 詹秀春, 罗立强, 李迎春, 等. 中国大陆科学钻探主孔4906米附近氦气体异常的解析[J]. *岩矿测试*, 2006, 25(1): 1 - 4.
- [2] 许志琴, 杨经绥, 张泽明, 等. 中国大陆科学钻探终孔及研究进展[J]. *中国地质*, 2005, 32(2): 177 - 183.
- [3] 孙青, 罗立强, 李圣强, 等. 中国大陆科学钻探主孔0~2000米的 N_2 、Ar 和 He 流体地球化学[J]. *岩石学报*, 2006, 20(1): 179 - 184.
- [4] 李圣强, 孙青, 罗立强, 等. 中国大陆科学钻探主孔0~2000米流体地球化学异常与地震的关系[J]. *岩石学报*, 2006, 22(7): 2095 - 2102.
- [5] 曾令森, 许志琴, 罗立强, 等. 苏鲁超高压变质岩区深部流体 He - Ar 的系统关系: 中国大陆科学钻探工程在线流体监测的解析[J]. *岩石学报*, 2005, 21(2): 513 - 520.
- [6] 孙青, 李圣强, 罗立强, 等. 中国大陆科学钻探主孔流体地球化学异常与远强震的关系[J]. *岩石学报*, 2005, 21(5): 1501 - 1507.
- [7] 李迎春, 张月琴, 张保科, 等. 钻井泥浆样品现场高效液相色谱分析——冷冻与失水两种前处理方法的讨论[J]. *岩矿测试*, 2005, 24(4): 241 - 244.
- [8] 饶竹, 杨柳, 罗立强, 等. 大陆深钻超高压变质岩中可溶有机质的提取研究[J]. *岩石矿物*, 2006, 25(3): 257 - 260.
- [9] 唐力君, 李迎春, 王健, 等. 中国大陆科学钻探工程现场实验室采样及样品处理方法探讨[J]. *中国地质*, 2006, 33(5): 1174 - 1179.
- [10] 詹秀春, 罗立强, 李迎春, 等. 关于 CCSD 主孔 4820 ~ 4930 m 井段气体异常的初步解释[J]. *中国地质*, 2005, 32(2): 320 - 329.
- [11] 罗立强, 王健, 李松, 等. 中国大陆科学钻探现场分析与地下流体异常识别[J]. *岩矿测试*, 2004, 23(2): 81 - 86.
- [12] 罗立强, 孙青, 詹秀春. 中国大陆科学钻探主孔0~2000米流体剖面及流体地球化学研究[J]. *岩石学报*, 2004, 20(1): 185 - 191.
- [13] 孙青, 李圣强, 罗立强. 中国大陆科学钻探工程主孔地下流体特征及与地震活动的关系初步研究[J]. *地震*, 2005, 25(1): 15 - 21.
- [14] 李圣强, 孙青, 罗立强, 等. 中国大陆科学钻探主孔流体异常与其附近2次 $M_L 3.9$ 级地震的关系[J]. *中国地质*, 2005, 32(2): 330 - 335.