



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112881577 B

(45) 授权公告日 2022.03.08

(21) 申请号 201911198914.2  
 (22) 申请日 2019.11.29  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 112881577 A  
 (43) 申请公布日 2021.06.01  
 (73) 专利权人 中国科学院大连化学物理研究所  
 地址 116023 辽宁省大连市沙河口区中山  
 路457-41号  
 专利权人 中国石油天然气股份有限公司石  
 油化工研究院  
 (72) 发明人 许国旺 夏悦怡 马晨菲 史得军  
 路鑫 王春燕 赵春霞 陈菲  
 李在芳 曹青 孙晓珊 肖占敏  
 (74) 专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限  
 公司 21002  
 代理人 马驰

CN 106568924 A, 2017.04.19  
 CN 102053125 A, 2011.05.11  
 CN 106932521 A, 2017.07.07  
 CN 103261888 A, 2013.08.21  
 US 2010132450 A1, 2010.06.03  
 WO 2012083095 A3, 2012.09.07  
 EP 2819025 A1, 2014.12.31  
 US 2007037288 A1, 2007.02.15  
 Alexander Kassler 等. Ultrahigh-  
 performance liquid chromatography/  
 electrospray ionization linear ion trap  
 Orbitrap mass spectrometry of  
 antioxidants (amines and phenols) applied  
 in lubricant engineering.《Rapid Commun.  
 Mass Spectrom.》.2014,第28卷第63-76页。(续)

审查员 熊翠娥

(51) Int. Cl.  
 G01N 30/88 (2006.01)

(56) 对比文件  
 CN 105869984 A, 2016.08.17  
 CN 104063570 A, 2014.09.24

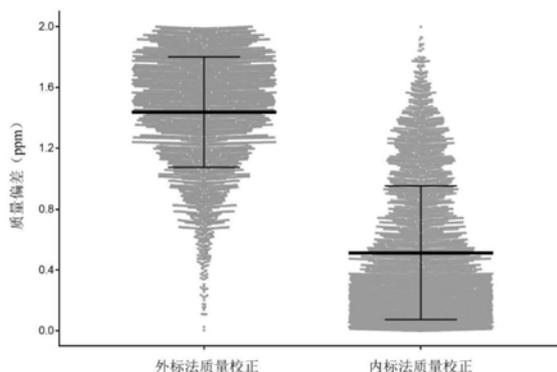
权利要求书2页 说明书11页 附图7页

(54) 发明名称  
 基于液质联用的石油馏分中含氮化合物分  
 子表征方法

留规律可进一步排除假阳性分子表征结果,得到  
化合物及其组成信息更为可靠。

(57) 摘要

本发明公开了一种基于液相色谱-高分辨质谱的石油馏分中含氮化合物的分子表征分析方法,包括以溶剂直接稀释样本,采用超高效液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱在正离子模式下,30min内实现石油馏分中的氮化合物快速分析与分子表征。与现有方法相比,本发明方法无需对油样进行复杂分级预处理,质谱电喷雾离子化无需采用质谱正、负离子模式两次分析,仅采用正离子模式分析结合液相色谱流出时间,将其质荷比m/z用于分析过程中质谱仪质量轴的校正,可得到更好质谱质量精度;结合反相色谱保



CN 112881577 B

[接上页]

(56) 对比文件

Leonard Nyadong 等.High-field orbitrap mass spectrometry and tandem mass spectrometry for molecular characterization of asphaltenes.《Energy Fuels》.2017,第32卷第294-305页.

Wanderson Romão 等.Petroleomics by direct analysis in real time-mass spectrometry.《J. Am. Soc. Mass Spectrom.》.2015,第27卷第182-185页.

Eduardo M. Schmidt 等.Petroleomics via Orbitrap mass spectrometry with resolving power above 1000000 at m/z 200.《RSC Advances》.2018,第8卷第6183-6191页.

Andrew E. Pomerantz 等.Orbitrap Mass

Spectrometry: A Proposal for Routine Analysis of Nonvolatile Components of Petroleum.《Energy Fuels》.2011,第25卷第3077-3082页.

史得军 等.蜡油含氮化合物的分子组成表征.《中国化学会第22届全国色谱学术报告会及仪器展览会论文集(第二卷)》.2019,P305页.

Eunyoung Kim 等.Characterization of Petroleum Heavy Oil Fractions Prepared by Preparatory Liquid Chromatography with Thin-Layer Chromatography, High-Resolution Mass Spectrometry, and Gas Chromatography with an Atomic Emission Detector.《Energy Fuels》.2016,第30卷第2932-2940页.

1. 一种基于液质联用的石油馏分中含氮化合物分子表征方法,其包含:

(1) 将石油馏分样本直接溶于色谱纯甲苯溶剂,涡旋充分溶解,再用溶剂稀释制备成待测样本;

(2) 使用超高液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱分析待测油品样本;

(3) 在待测样本中选取响应最好的一个系列氮化合物的同系物为内标,将其质荷比 $m/z$ 用于分析过程中质谱仪质量轴的校正;(4) 读取质谱采集的原始数据中每个扫描点下的质荷比 $m/z$ 及其强度;

(5) 根据原始数据每个质荷比连续流出的时间,从中提取出有效质荷比,记录其流出时间段和累加强度;

(6) 根据提取到的有效质荷比确定其元素组成;

(7) 根据石油馏分中的同系物和异构体在反相色谱的保留规律,排除错误识别的元素组成,得到数据表;

(8) 根据数据表中有效质荷比的元素组成,及其起始和结束扫描点和累加强度对石油馏分中的含氮化合物进行分子表征,包括获得氮化物的分子类型、每种分子类型的等价双键数、碳数分布、相对强度;

所采用高分辨质谱仪的质量分辨率不低于240,000;有效质荷比的提取方法为读取总离子流图中每个扫描点下的质荷比,如该质荷比连续出现,且连续出现的时间长于一个色谱峰宽,则保留该质荷比,并记录其起始和结束扫描点,对起始和结束扫描点内该质荷比的强度进行累加,作为该质荷比在该时间段的累加强度;记录总离子流图中满足条件的所有质荷比,及其起始和结束扫描点和累加强度。

2. 根据权利要求1所述的分子表征方法,其特征在于,所述石油馏分包括柴油、蜡油或重质油馏分。

3. 根据权利要求2所述的分子表征方法,其特征在于,以色谱纯甲苯为溶剂涡旋充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液作为稀释剂,配置的浓度为:柴油60 mg/mL,蜡油20 mg/mL以及重质油20 mg/mL。

4. 根据权利要求2或3所述的分子表征方法,其特征在于:

(1) 柴油馏分的液相色谱分析条件:反相色谱 $C_8$ 色谱柱2.1 mm ×100 mm, 1.7  $\mu$ m;柱温50  $^{\circ}$ C,进样体积5  $\mu$ L;流动相A相为体积百分比浓度0.1%的甲酸水溶液,B相为含有体积百分比浓度0.1%的甲酸乙腈溶液;采用线性梯度,0~27 min流动相由95%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2 min转变为95%的A相,维持95%的A相至30 min;

(2) 蜡油馏分的液相色谱分析条件:反相色谱苯基柱 2.1 mm ×100 mm, 1.8  $\mu$ m;柱温50  $^{\circ}$ C,进样体积5  $\mu$ L;流动相A相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的60%乙腈/水溶液,B相为含有体积百分比0.1%甲酸的90%异丙醇/乙腈;采用线性梯度,0~27 min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2 min转变为100%的A相,维持100% A相至30 min;

(3) 重质油馏分的液相色谱分析条件:反相色谱 $C_8$ 色谱柱2.1 mm ×100 mm, 1.7  $\mu$ m;柱温50  $^{\circ}$ C,进样体积5  $\mu$ L;流动相A相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的60%乙腈/水,B相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的90%异丙醇/乙腈;采用线性梯度,0~27 min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2 min转变为100%的A相,维持100% A相至

30 min。

5. 根据权利要求1所述的分子表征方法,其特征在于,电喷雾离子源采用正离子模式。

## 基于液质联用的石油馏分中含氮化合物分子表征方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于液相色谱-高分辨质谱的石油馏分中含氮化合物的分子表征方法,属于分析化学及石油组学分析技术领域。

### 背景技术

[0002] 随着环保法规的日益严格,油品清洁与原油供应重质化矛盾突出。原油中的杂原子化合物,含量低,数量众多,但对石油炼制影响很大,特别是含氮、硫和氧原子的化合物,会导致固相沉积、絮凝、催化剂失活、储存不稳定和炼油设备腐蚀等问题,因此从分子水平上认识石油的组成及转化规律,可实现高效精准石油加工,促进炼油技术的进步。目前超高分辨率质谱,可实现不同分子组成化合物的完全分离,同时可根据精确分子量确定化合物的元素组成。如超高分辨傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)可精确地确定由C、H、S、N、O及其主要同位素所组成的分子元素组成,结合电喷雾(ESI)等电离源,原油中杂原子化合物不经分离就可直接质谱分析,但是FT-ICR MS高昂的仪器价格以及维护费用限制了它在一般实验室的广泛应用,尚需发展替代分析方法。高场轨道阱质谱仪,由于其相对较高的质量分辨率和高性价比引起了石油组学分析领域研究人员的广泛关注,被认为其在石油分子组成分析方面具有较大的潜力。

[0003] 由于石油化合物组成十分复杂,直接进样质谱分析存在离子抑制效应,导致低含量或者离子化效率差的化合物难以检测,因此在高分辨质谱分析前,需要对石油馏分进一步分级处理,以降低样本的复杂程度。此外,直接进样质谱分析不能区分油品中不同母核结构的同分异构体,从而忽略了结构对油品质的影响。液相色谱是一种高效分离手段,传统正向色谱的流动相与ESI的兼容性较差,会导致ESI喷雾不稳定。反相色谱分析的流动相适用于ESI,但离线反相色谱法费时费力,急需发展在线反相色谱-高分辨质谱联用方法用于石油组学研究。目前关于在线反相色谱-高分辨质谱联用技术用于石油馏分表征的报道较少,已公开报道在线反相色谱方法分析石油馏分中的含氮化合物所采用的梯度洗脱时间长,且中性氮和碱性氮需在电喷雾电离源正、负两种离子模式下二次分别进样分析,过程繁琐;且其分子表征基于LC-MS全部扫描点的平均谱图,并未利用含氮化合物的色谱保留时间信息,未能充分发挥方法的优势。基于此,我们发展了一种基于液相色谱-高分辨质谱的石油馏分中含氮化合物的分子表征分析方法,采用超高效液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱在30min内实现石油馏分中的氮化合物快速分析与分子表征。与现有方法相比,该方法无需对油样进行复杂分级预处理,样本直接色谱纯甲苯稀释操作便捷;质谱电喷雾电离源无需采用正、负离子模式两次分析,仅采用正离子模式分析结合液相色谱流出时间,即可同时获取碱性氮和中性氮化合物信息;同时从样本中选取质谱响应最好的同系物为内标进行质量校正,可得到更好质谱质量精度,结合反相色谱保留规律可进一步排除假阳性分子表征结果,得到的分子式和分子组成更为可靠。本发明充分发挥了液相色谱和高分辨质谱的优势,可用于石油馏分中含氮化合物的高效分子表征。

## 发明内容

[0004] 本发明针对现有石油分子表征分析方法技术的不足,建立了一种基于液相色谱-高分辨质谱的石油馏分中含氮化合物的分子表征分析方法,包括以色谱纯甲苯为溶剂直接稀释油样,采用超高效液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱在正离子模式下,30min内实现石油馏分中的氮化合物快速分析与分子表征。本发明充分发挥了液相色谱和高分辨质谱的优势,可用于石油馏分中含氮化合物的高效分子表征。

[0005] 为实现上述发明目的,本发明采用的技术方案如下:

[0006] 1) 样本的制备:以色谱纯甲苯为溶剂涡旋充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液稀释,配置的浓度为:柴油60mg/mL,蜡油20mg/mL以及重质油20mg/mL。

[0007] 2) 采用超高效液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱分析待测油品样本,其中液相色谱条件为:

[0008] 柴油馏分的液相色谱条件:用ACQUITYUPLCBEH C<sub>8</sub> column,2.1mm×100mm,1.7μm (Waters,Milford,MA,U.S.A.)作为分析柱,柱温50℃,进样体积5μL。流动相A相为体积百分比浓度0.1%的甲酸水溶液,B相为含有体积百分比浓度0.1%的甲酸乙腈溶液;采用线性梯度,0~27min流动相由95%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为95%的A相,维持95%的A相至30min。

[0009] 蜡油馏分的液相色谱条件:采用ACQUITYUPLCBEH phenyl column,2.1mm×100mm,1.8μm (Waters,Milford,MA,U.S.A.)作为分析柱,柱温50℃,进样体积5μL。流动相A相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的60%乙腈/水溶液,B相为含有体积百分比0.1%甲酸的90%异丙醇/乙腈;采用线性梯度,0~27min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为100%的A相,维持100%A相至30min。

[0010] 重质油馏分的液相色谱条件:采用ACQUITYUPLCBEH C<sub>8</sub> column,2.1mm×100mm,1.7μm (Waters,Milford,MA,U.S.A.)作为分析柱,柱温50℃,进样体积5μL。流动相A相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的60%乙腈/水,B相为含有体积百分比浓度0.1%甲酸的90%异丙醇/乙腈;采用线性梯度,0~27min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为100%的A相,维持100%A相至30min。

[0011] 4) 质谱条件:采用质量分辨率不低于240,000的高分辨质谱仪,ES正离子模式,全扫模式;质量轴校正采用内标法,添加质量锁定列表,以该表中的m/z作为内标,用以校正质谱的质量轴。在待测样本中选取响应最好的一个系列氮化合物的同系物为内标,将其质荷比m/z作为质量锁定列表中的m/z,在样本分析过程中校正质量轴。

[0012] 以N1类化合物的不饱和度(等效双键数(DBE))分类,选择相对强度最大的DBE对应的N1类化合物作为响应最好含氮类化合物;

[0013] 5) 读取质谱采集的原始数据中每个扫描点下的质荷比m/z及其强度,根据每个质荷比连续流出的时间,从总离子图中提取出有效质荷比。有效质荷比的判别方法为如该质荷比连续出现,且连续出现的时间长于等于一个色谱峰宽(一个色谱峰宽对应的扫描点个数为10-50),则保留该质荷比,并记录其起始和结束扫描点,对起始到结束扫描点内所有扫描点对应的质荷比的强度进行累加,作为该质荷比在该时间段的累加强度;记录总离子流图中满足条件的所有质荷比,及其起始和结束扫描点和累加强度;根据精确质荷比m/z确定其元素组成。

[0014] 6) 根据同系物和异构体在反相色谱的保留规律,对错误识别的元素组成进行排除,得到数据表。

[0015] 7) 根据数据表中有效质荷比的元素组成,及其起始和结束扫描点和累加强度对石油馏分中的含氮化合物进行分子表征,包括获得氮化物的分子类型、每种分子类型的等价双键数、碳数分布、相对强度。

[0016] 石油馏分组成复杂,超高分辨质谱FT-ICR MS虽然可通过化合物的精确 $m/z$ ,得到石油中化合物的分子组成,但是FT-ICR MS费用昂贵、维护成本高,不利于普及。且石油样本十分复杂,在直接进样分析过程,低含量化合物以及离子化效率低的化合物,由于离子抑制效应,不容易被离子化,从而获得的化合物组成不完全。同时在直接进样-超高分辨质谱不能分离油样中的同分异构体。

[0017] 本发明发展了一种基于液相色谱-高分辨质谱的石油馏分中含氮化合物的分子表征分析方法。与现有方法相比,本发明方法无需对油样进行复杂分级预处理,样本直接溶剂稀释操作便捷;质谱电喷雾离子化无需采用质谱正、负离子模式两次分析,仅采用正离子模式分析结合液相色谱流出时间,即可同时获取碱性氮和中性氮化合物信息;从样本中选取响应最好的一个系列氮化合物的同系物为内标,将其质荷比 $m/z$ 用于分析过程中质谱仪质量轴的校正,可得到更好质谱质量精度;结合反相色谱保留规律可进一步排除假阳性分子表征结果,得到化合物及其组成信息更为可靠。本发明方法充分发挥了液相色谱和高分辨质谱的优势,可用于石油馏分中含氮化合物的高效分子表征。

## 附图说明

[0018] 图1.卡宾达柴油馏分采用内标法与外标法质量校正的质量偏差对比图

[0019] 图2.卡宾达柴油馏分液相色谱-高分辨质谱分析的所有扫描点平均质谱图

[0020] 图3.质荷比为202.15902的 $[C_{14}H_{19}N+H]^+$ 的提取离子流图

[0021] 图4.卡宾达柴油馏分N1类分子类型, DBE=4的一系列同系物的保留时间-碳数关系图

[0022] 图5.卡宾达柴油馏分的分子表征结果

[0023] 图6.卡宾达蜡油馏分采用内标法与外标法质量校正的质量偏差对比图

[0024] 图7.卡宾达蜡油馏分液相色谱-高分辨质谱分析的所有扫描点的平均质谱图

[0025] 图8.卡宾达蜡油馏分分子表征结果

[0026] 图9.卡宾达重质油馏分采用内标法与外标法质量校正的质量偏差对比图图10.卡宾达重质油馏分液相色谱-高分辨质谱分析的所有扫描点平均质谱图

[0027] 图11.卡宾达重质油馏分分子表征结果

[0028] 图12.液相色谱-电喷雾离子源-高分辨质谱方法与直接进样的15T傅里叶变换离子回旋共振质谱方法结果比较。a)重质油杂原子类型分布对比图,b)重质油DBE分布对比图。

## 具体实施方式

[0029] 下面通过实例,结合附图对本发明的实施作详细说明:本实施例在以本发明方案为前提下进行实施,给出了详细的实施方式和具体操作过程,但本发明的保护范围不限于

下述实施例。

[0030] 实施例1柴油馏分的分子表征

[0031] 称取卡宾达柴油馏分(沸程180~350℃)约60mg于进样小瓶中,先加入色谱纯甲苯,涡旋使其充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液稀释至浓度约为60mg/mL用于液相色谱-高分辨质谱分析。

[0032] 液相色谱条件:使用Waters AcquityUPLC超高效液相色谱仪(ACQUITY Ultra Performance LC,UPLC,Waters,Milford,MA,USA);流动相A相为体积百分比浓度0.1%的甲酸水溶液,B相为含有体积百分比浓度0.1%的甲酸乙腈溶液;采用线性梯度,0~27min流动相由95%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为95%的A相,维持95%的A相至30min;以ACQUITYUPLCBEH C8 Column(2.1mm×100mm,1.7μm,Waters,Milford,MA,U.S.A.)为分析柱,柱温50℃,进样体积5μL。

[0033] 质谱条件:质谱仪为Q Exactive HF质谱(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA),其在m/z 200的FWHM的分辨率为2400,000,最高扫描速率为40Hz。采用加热式电喷雾模式,正离子模式,喷雾电压分别为3.5kV,离子传输管的温度为320℃,鞘气和辅助气的流速分别为45和10(in arbitrary units),辅助气的加热器温度为350℃,S-lens设置为50.0。质谱全扫模式(full scan MS mode)下,分辨率设置为240,000,自动增益控制目标(AGC target)设置为 $3 \times 10^6$ 离子容量,最大注入时间(maximum IT)设置为100ms。在数据采集前对质谱仪进行外标校正,校正液为仪器常用校正液Pierce™LTQVelosESI Positive Ion Calibration Solution(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA)。在数据采集时,使用内标法校正质量轴:采用DBE=7,碳数为9~24的N1类化合物的m/z作为内标校正质量轴,所选的同系物如附表1所示。采用相同的仪器分析条件,同时采集不经内标校正的柴油分析数据。

[0034] 数据处理:采集的LC-HRMS数据用Xcalibur™ 2.2(Thermo Fisher Scientific,Rockford,U.S.A.)导出所有扫描点下的平均质谱图。利用Prteowizard3.0将原始数据转换为.mzXML格式,继而转换为.txt格式。读取质谱采集的原始数据中每个扫描点下的质荷比及其强度,根据每个质荷比连续流出的时间,从总离子图中提取出有效质荷比。有效质荷比的判别方法为如该质荷比连续出现,且连续出现的时间长于等于一个色谱峰宽(30个扫描点),则保留该质荷比,并记录其起始和结束扫描点,对起始和结束扫描点内扫描点对应质荷比的强度进行累加,作为该质荷比在该时间段的累加强度;记录总离子流图中满足条件的所有质荷比,及其起始和结束扫描点和累加强度。根据精确质荷比确定其元素组成(分子式)并根据化合物的保留规律排除假阳性,得到数据表。

[0035] 图1给出了质谱仪采用外标和内标质量校正两种方法对于柴油中化合物质量偏差的影响,如图所示,采用样本中质谱响应最高的DBE=7,碳数分布为9~24的N1类同系物为内标校正质量轴,得到的化合物m/z的平均质量偏差为0.51ppm,小于外标校的平均质量偏差1.44ppm,内标法可以得到更精确的m/z,从而可以获得更准确元素组成信息。

[0036] 将本发明方法用于柴油馏分中含氮化合物的分子表征。图2给出了柴油总离子流图下所有扫描点的m/z强度的平均质谱图,从图中可知柴油中含氮化合物的m/z主要分布在100~300AUM。

[0037] 图3(上)给出了N1类化合物(分子式中只含有一个氮的化合物),质荷比为

202.15902的化合物提取离子流图,由质荷比可确定该离子的元素组成为 $[C_{14}H_{19}N+H]^+$ ,从图中可知该质荷比在保留时间4.85~9.38min和17.89~19.88min流出。由于碱性氮在反相色谱的保留小于相同分子式的中性氮馏分,进一步用己基吡啶的标样进行验证,其保留时间在17.89~19.88min时间段内(图3下图),也证明17.89~19.88流出的是中性氮化合物。因此,本发明无需采用质谱正、负离子模式两次分析,仅采用质谱正离子模式分析结合液相色谱流出时间,即可同时获取碱性氮和中性氮化合物信息。

[0038] 尽管本发明方法的平均质量精度小于0.51ppm,根据m/z仍可能推断出错误的元素组成结果;此外由于分析噪音或背景杂质干扰等,使得得到的分析结果中仍包含少量假阳性结果。由于石油馏分具有连续同系物分布,其每类化合物均存在范围很宽的烷基侧链碳数分布,且每类化合物在一定保留时间范围内存在大量结构异构体的特点。为了排除假阳性,进一步采用同系物和异构体的色谱保留规律对得到的分子组成信息进行排查。举例说明如下,图4给出了N1类型化合物,其DBE=4,将得到的同系物(含异构体)的碳数和保留时间关系图。从图中可知红圈内的化合物可能来自背景干扰,不符合石油馏分异构体在反相液相色谱上的保留规律,将其排除。采用类似的方法,去除数据中的假阳性元素组成。

[0039] 进一步应用去除假阳性后的数据表对含氮化合物进行分子表征,包括获得氮化物的分子类型、每种分子类型的等价双键数(DBE)、碳数分布、相对强度。如图5给出了卡宾达柴油馏分(180~350℃)的代表性分子表征结果,共鉴定出9种类型的化合物,其中含氮杂原子类型包括:N1类、N101类、N1S1类以及N102类,其中N1类化合物是主要的含氮化合物,相对强度最高,其DBE主要分布在4~26之间;在N1类化合物中,DBE=7的化合物相对强度最高,其碳数分布在9~42之间。

[0040] 实施例2蜡油馏分的分子表征

[0041] 称取蜡油卡宾达(沸程350~530℃)约20mg于进样小瓶中,先加入色谱纯甲苯,涡旋使其充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液稀释至浓度约为20mg/mL用于液相色谱-高分辨质谱分析。

[0042] 液相色谱条件:使用的仪器为UHPLC为Acquity超高效液相色谱(ACQUITY Ultra Performance LC,UPLC,Waters,Milford,MA,USA);以含有0.1%甲酸的60%乙腈/水作为流动相A,含有0.1%甲酸的异丙醇/乙腈作为流动相B。采用线性梯度,0~27min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为100%的A相,维持100%的A相至30min;以ACQUITYBEH phenyl Column(2.1mm×100mm,1.8μm,Waters,Milford,MA,U.S.A.)作为分析柱,柱温50℃,进样体积5μL。

[0043] 质谱条件:质谱仪为Q Exactive HF质谱(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA),其在m/z 200的FWHM的分辨率为240,000,最高扫描速率为40Hz。采用加热式电喷雾模式,正离子模式,喷雾电压分别为3.5kV,离子传输管的温度为320℃,鞘气和辅助气的流速分别为45和10(in arbitrary units),辅助气的加热器温度为350℃,S-lens设置为50.0。质谱全扫模式(full scan MS mode)下,分辨率设置为240,000,自动增益控制目标(AGC target)设置为 $3 \times 10^6$ 离子容量,最大注入时间(maximum IT)设置为100ms。在数据采集前对质谱仪进行外标校正,校正液为仪器常用校正液Pierce™LTQVelosESI Positive Ion Calibration Solution(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA)。在数据采集时,使用内标法校正质量轴:采用DBE等于10,碳数为14~52的N1类化合物作为内标,校正质

量轴,如附表2所示。采用相同的仪器分析条件,同时采集不经内标校正的蜡油分析数据

[0044] 数据处理:同实施例1。

[0045] 图6给出了质谱仪采用外标和内标质量校正两种方法对于蜡油中化合物质量偏差的影响,如图所示,采用蜡油样本中质谱响应强度最高的DBE=10,碳数为14~52的N1类化合物作为内标,校正质量轴,其平均质量偏差为0.37ppm,小于外标校正法的平均质量偏差0.88ppm。

[0046] 将本发明方法用于腊油馏分中含氮化合物的分子表征。图7给出了腊油总离子流图下所有扫描点的m/z强度的平均质谱图,腊油中主要含氮化合物的m/z分布在200~800AUM。

[0047] 图8给出了卡宾达腊油馏分的分子表征结果,共鉴定出9种分子类型化合物,其中含氮类杂原子类型包括:N1类、N101类、N1S1类以及N102类,其中N1类化合物的相对强度最高,其DBE主要分布在5~20之间,碳数分布在9~42之间。

[0048] 实施例3重质油馏分的分子表征

[0049] 称取卡宾达重质油馏分(沸程>530℃)约20mg于进样小瓶中,先加入色谱纯甲苯,涡旋使其充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液稀释至浓度约为20mg/mL用于液相色谱-高分辨质谱分析。

[0050] 液相色谱条件:使用的仪器为UHPLC为Acquity超高效液相色谱(ACQUITY Ultra Performance LC,UPLC,Waters,Milford,MA,USA);以含有0.1%甲酸的60%乙腈/水作为流动相A,含有0.1%甲酸的异丙醇/乙腈作为流动相B。采用线性梯度,0~27min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为100%的A相,维持100%的A相至30min;以ACQUITYBEH C8 Column(2.1mm×100mm,1.7μm,Waters,Milford,MA,U.S.A.),柱温50℃,进样体积5μL。

[0051] 质谱条件:质谱仪为Q Exactive HF质谱(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA),其在m/z 200的FWHM的分辨率为2400,000,最高扫描速率为40Hz。采用加热式电喷雾模式,正离子模式,喷雾电压分别为3.5kV,离子传输管的温度为320℃,鞘气和辅助气的流速分别为45和10(in arbitrary units),辅助气的加热器温度为350℃,S-lens设置为50.0。质谱全扫模式(full scan MS mode)下,分辨率设置为240,000,自动增益控制目标(AGC target)设置为 $3 \times 10^6$ 离子容量,最大注入时间(maximum IT)设置为100ms。在数据采集前对质谱仪进行外标校正,校正液为仪器常用校正液Pierce™LTQVelosESI Positive Ion Calibration Solution(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA)。在数据采集时,使用内标法校正质量轴:采用DBE等于15,碳数为22~71的N1类化合物作为内标,校正质量轴,如附表3所示。同时采用相同的仪器分析条件,不进行内标校正,以采集外标校正的蜡油数据。

[0052] 数据处理:同实施例1和2。

[0053] 图9给出了质谱仪采用外标和内标质量校正两种方法对于重质油中化合物质量偏差的影响。如图所示,采用重质油中质谱响应强度最高的DBE=15,碳数为22~71的N1类化合物作为内标,校正质量轴,其得到的化合物的平均偏差为0.45ppm,小于外标校正法的平均质量偏差0.54ppm。

[0054] 将本发明方法用于重质油馏分中含氮化合物的分子表征。图10给出了整合重质油

馏分总离子流图下所有扫描点的m/z强度的平均质谱图,重质油的m/z主要分布在300~1200AUM。

[0055] 图11给出了重质油馏分分子表征结果示意图,共鉴定出9种杂原子类型的化合物,其中含氮类杂原子类型包括:N1类、N1O1类、N1S1类以及N1O2类,其中N1类化合物的相对强度最高,其DBE主要分布在5~25之间,碳数分布在13~90之间。

[0056] 实施例4与直接进样超高效质谱分析方法的比较

[0057] 称取卡宾达重质油馏分(>530℃)约20mg于进样小瓶中,先加入色谱纯甲苯,涡旋使其充分溶解,再用体积百分比为6:4的甲苯/甲醇溶液稀释至浓度约20mg/mL用于液相色谱-高分辨质谱分析。采用体积百分比浓度为1:1的甲醇/甲苯作为溶剂,配置浓度约0.05mg/mL卡宾达重质油馏分,用于FT-ICR MS质谱直接分析。

[0058] 液相色谱条件:使用的仪器为UHPLC为Acquity超高效液相色谱(ACQUITY Ultra Performance LC,UPLC,Waters,Milford,MA,USA);以含有0.1%甲酸的60%乙腈/水作为流动相A,含有0.1%甲酸的异丙醇/乙腈作为流动相B。采用线性梯度,0~27min流动相由100%的A相线性变化为100%的B相,然后在27~27.2min转变为100%的A相,维持100%的A相至30min;以ACQUITYBEH C8 Column(2.1mm×100mm,1.7μm,Waters,Milford,MA,U.S.A.),柱温50℃,进样体积5μL。

[0059] 质谱条件:质谱仪为Q Exactive HF质谱(Thermo Fisher Scientific,Rockford,IL,USA),其在m/z 200的FWHM的分辨率为2400,000,最高扫描速率为40Hz。采用加热式电喷雾模式,正离子模式,喷雾电压分别为3.5kV,离子传输管的温度为320℃,鞘气和辅助气的流速分别为45和10(in arbitrary units),辅助气的加热器温度为350℃,S-lens设置为50.0。质谱全扫模式(full scan MS mode)下,分辨率设置为240,000,自动增益控制目标(AGC target)设置为 $3 \times 10^6$ 离子容量,最大注入时间(maximum IT)设置为100ms。

[0060] 超高分辨质谱FT-ICRMS条件:使用的超高分辨质谱仪为Bruker Solarix XR-15T Fourier transform ion cyclotron resonance(FTICR)MS;进样流速为5μL/min,毛细管入口电压-4500V,毛细管出口电压190V,贮集时间0.2s,离子导入分析池飞行时间为0.9ms,采集范围150~1500u,采集点数为4M,累积500次用于提高信噪比。

[0061] 数据处理:液相色谱-高分辨质谱的数据处理方法同实施例1-3。FT-ICR MS的数据处理方法为数据用Data Analysis 5.0software(Bruker Daltonics,Bremen,Germany),软件计算分子式并导出。

[0062] 将本发明将所建立的LC-HRMS方法与经典的FT-ICR MS方法的分子表征结果进行比较。结果如图12a所示,FT-ICR MS方法获得的杂原子类型,所发明方法均可以检测。同时如图12b所示,本发明方法获得的DBE分布与FT-ICRMS方法类似,说明LC-HRMS方法具备与超高分辨质谱相当的重质油馏分中杂原子化合物分子表征能力。

[0063] 上述实施例结果表明,本发明与现有方法相比,无需对油样进行复杂分级预处理,样本直接溶剂稀释,操作便捷;无需采用质谱正、负离子模式两次分析,仅采用质谱正离子模式分析结合液相色谱流出时间,即可同时获取碱性氮和中性氮化合物信息;同时从样本中选取内标校正质量轴,得到更高的质谱质量精度,结合反相色谱保留规律可进一步排除假阳性分子表征结果,得到的分子式和分子组成更为可靠。本发明充分发挥了液相色谱和高分辨质谱的优势,可用于石油馏分中含氮化合物的高效分子表征。

[0064] 附表1. 柴油LC-ESI (+) -HRMS分析的内标法质量校正表

	分子离子	碳数	m/z
	$[C_9H_9N+H]^+$	9	130.0651
	$[C_{10}H_{11}N+H]^+$	10	144.0808
	$[C_{11}H_{13}N+H]^+$	11	158.0964
	$[C_{12}H_{15}N+H]^+$	12	172.1121
	$[C_{13}H_{17}N+H]^+$	13	186.1277
	$[C_{14}H_{19}N+H]^+$	14	200.1434
	$[C_{15}H_{21}N+H]^+$	15	214.1590
[0065]	$[C_{16}H_{23}N+H]^+$	16	228.1747
	$[C_{17}H_{25}N+H]^+$	17	242.1903
	$[C_{18}H_{27}N+H]^+$	18	256.2060
	$[C_{19}H_{29}N+H]^+$	19	270.2216
	$[C_{20}H_{31}N+H]^+$	20	284.2373
	$[C_{21}H_{33}N+H]^+$	21	298.2529
	$[C_{22}H_{35}N+H]^+$	22	312.2686
	$[C_{23}H_{37}N+H]^+$	23	326.2842
	$[C_{24}H_{39}N+H]^+$	24	340.2999

[0066] 附表2. 蜡油LC-ESI (+) -HRMS分析的内标法质量校正表

分子离子	碳数	m/z
[C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N+H] <sup>+</sup>	14	194.09640
[C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N+H] <sup>+</sup>	15	208.11210
[C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N+H] <sup>+</sup>	16	222.12770
[C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N+H] <sup>+</sup>	17	236.14340
[C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N+H] <sup>+</sup>	18	250.15900
[C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N+H] <sup>+</sup>	19	264.17470
[C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N+H] <sup>+</sup>	20	278.19030
[C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N+H] <sup>+</sup>	21	292.20600
[C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N+H] <sup>+</sup>	22	306.22160
[C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> N+H] <sup>+</sup>	23	320.23730
[C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> N+H] <sup>+</sup>	24	334.25290
[C <sub>25</sub> H <sub>33</sub> N+H] <sup>+</sup>	25	348.26860
[C <sub>26</sub> H <sub>35</sub> N+H] <sup>+</sup>	26	362.28420
[C <sub>27</sub> H <sub>37</sub> N+H] <sup>+</sup>	27	376.29990
[C <sub>28</sub> H <sub>39</sub> N+H] <sup>+</sup>	28	390.31550
[C <sub>29</sub> H <sub>41</sub> N+H] <sup>+</sup>	29	404.33120
[C <sub>30</sub> H <sub>43</sub> N+H] <sup>+</sup>	30	418.34680
[C <sub>31</sub> H <sub>45</sub> N+H] <sup>+</sup>	31	432.36250
[C <sub>32</sub> H <sub>47</sub> N+H] <sup>+</sup>	32	446.37810
[C <sub>33</sub> H <sub>49</sub> N+H] <sup>+</sup>	33	460.39380
[C <sub>34</sub> H <sub>51</sub> N+H] <sup>+</sup>	34	474.40940
[C <sub>35</sub> H <sub>53</sub> N+H] <sup>+</sup>	35	488.42510
[C <sub>36</sub> H <sub>55</sub> N+H] <sup>+</sup>	36	502.44070
[C <sub>37</sub> H <sub>57</sub> N+H] <sup>+</sup>	37	516.45640
[C <sub>38</sub> H <sub>59</sub> N+H] <sup>+</sup>	38	530.47200
[C <sub>39</sub> H <sub>61</sub> N+H] <sup>+</sup>	39	544.48770
[C <sub>40</sub> H <sub>63</sub> N+H] <sup>+</sup>	40	558.50330
[C <sub>41</sub> H <sub>65</sub> N+H] <sup>+</sup>	41	572.51900
[C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> N+H] <sup>+</sup>	42	586.53460
[C <sub>43</sub> H <sub>69</sub> N+H] <sup>+</sup>	43	600.55030
[C <sub>44</sub> H <sub>71</sub> N+H] <sup>+</sup>	44	614.56590
[C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> N+H] <sup>+</sup>	45	628.58160
[C <sub>46</sub> H <sub>75</sub> N+H] <sup>+</sup>	46	642.59720
[C <sub>47</sub> H <sub>77</sub> N+H] <sup>+</sup>	47	656.61290
[C <sub>48</sub> H <sub>79</sub> N+H] <sup>+</sup>	48	670.62850
[C <sub>49</sub> H <sub>81</sub> N+H] <sup>+</sup>	49	684.64420
[C <sub>50</sub> H <sub>83</sub> N+H] <sup>+</sup>	50	698.65980
[C <sub>51</sub> H <sub>85</sub> N+H] <sup>+</sup>	51	712.67550
[C <sub>52</sub> H <sub>87</sub> N+H] <sup>+</sup>	52	726.69110

[0067] 附表3. 重质油LC-ESI (+) -HRMS分析的内标法质量校正表

[0068]

附表3. 重质油LC-ESI (+) -HRMS分析的内标法质量校正表

分子离子	碳数	<i>m/z</i>
[C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N+H] <sup>+</sup>	22	296.14338
[C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> N+H] <sup>+</sup>	23	310.15903
[C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> N+H] <sup>+</sup>	24	324.17468
[C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> N+H] <sup>+</sup>	25	338.19033
[C <sub>26</sub> H <sub>25</sub> N+H] <sup>+</sup>	26	352.20598
[C <sub>27</sub> H <sub>27</sub> N+H] <sup>+</sup>	27	366.22163
[C <sub>28</sub> H <sub>29</sub> N+H] <sup>+</sup>	28	380.23728
[C <sub>29</sub> H <sub>31</sub> N+H] <sup>+</sup>	29	394.25293
[C <sub>30</sub> H <sub>33</sub> N+H] <sup>+</sup>	30	408.26858
[C <sub>31</sub> H <sub>35</sub> N+H] <sup>+</sup>	31	422.28423
[C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> N+H] <sup>+</sup>	32	436.29998
[C <sub>33</sub> H <sub>39</sub> N+H] <sup>+</sup>	33	450.31553
[C <sub>34</sub> H <sub>41</sub> N+H] <sup>+</sup>	34	464.33118
[C <sub>35</sub> H <sub>43</sub> N+H] <sup>+</sup>	35	478.34683
[C <sub>36</sub> H <sub>45</sub> N+H] <sup>+</sup>	36	492.36248
[C <sub>37</sub> H <sub>47</sub> N+H] <sup>+</sup>	37	506.37813
[C <sub>38</sub> H <sub>49</sub> N+H] <sup>+</sup>	38	520.39378
[C <sub>39</sub> H <sub>51</sub> N+H] <sup>+</sup>	39	534.40943
[C <sub>40</sub> H <sub>53</sub> N+H] <sup>+</sup>	40	548.42508
[C <sub>41</sub> H <sub>55</sub> N+H] <sup>+</sup>	41	562.44073
[C <sub>42</sub> H <sub>57</sub> N+H] <sup>+</sup>	42	576.45638
[C <sub>43</sub> H <sub>59</sub> N+H] <sup>+</sup>	43	590.47203
[C <sub>44</sub> H <sub>61</sub> N+H] <sup>+</sup>	44	604.48768
[C <sub>45</sub> H <sub>63</sub> N+H] <sup>+</sup>	45	618.50333
[C <sub>46</sub> H <sub>65</sub> N+H] <sup>+</sup>	46	632.51898
[C <sub>47</sub> H <sub>67</sub> N+H] <sup>+</sup>	47	646.53463
[C <sub>48</sub> H <sub>69</sub> N+H] <sup>+</sup>	48	660.55028
[C <sub>49</sub> H <sub>71</sub> N+H] <sup>+</sup>	49	674.56593
[C <sub>50</sub> H <sub>73</sub> N+H] <sup>+</sup>	50	688.58158
[C <sub>51</sub> H <sub>75</sub> N+H] <sup>+</sup>	51	702.59723
[C <sub>52</sub> H <sub>77</sub> N+H] <sup>+</sup>	52	716.61288
[C <sub>53</sub> H <sub>79</sub> N+H] <sup>+</sup>	53	730.62853
[C <sub>54</sub> H <sub>81</sub> N+H] <sup>+</sup>	54	744.64418
[C <sub>55</sub> H <sub>83</sub> N+H] <sup>+</sup>	55	758.65983
[C <sub>56</sub> H <sub>85</sub> N+H] <sup>+</sup>	56	772.67548
[C <sub>57</sub> H <sub>87</sub> N+H] <sup>+</sup>	57	786.69113
[C <sub>58</sub> H <sub>89</sub> N+H] <sup>+</sup>	58	800.70678
[C <sub>59</sub> H <sub>91</sub> N+H] <sup>+</sup>	59	814.72243
[C <sub>60</sub> H <sub>93</sub> N+H] <sup>+</sup>	60	828.73808
[C <sub>61</sub> H <sub>95</sub> N+H] <sup>+</sup>	61	842.75373
[C <sub>62</sub> H <sub>97</sub> N+H] <sup>+</sup>	62	856.76938
[C <sub>63</sub> H <sub>99</sub> N+H] <sup>+</sup>	63	870.78503
[C <sub>64</sub> H <sub>101</sub> N+H] <sup>+</sup>	64	884.80068
[C <sub>65</sub> H <sub>103</sub> N+H] <sup>+</sup>	65	898.81633
[C <sub>66</sub> H <sub>105</sub> N+H] <sup>+</sup>	66	912.83198

[0069]

	分子离子	碳数	<i>m/z</i>
[0070]	$[\text{C}_{67}\text{H}_{107}\text{N}+\text{H}]^+$	67	926.84763
	$[\text{C}_{68}\text{H}_{109}\text{N}+\text{H}]^+$	68	940.86328
	$[\text{C}_{69}\text{H}_{111}\text{N}+\text{H}]^+$	69	954.87893
	$[\text{C}_{70}\text{H}_{113}\text{N}+\text{H}]^+$	70	968.89458
	$[\text{C}_{71}\text{H}_{115}\text{N}+\text{H}]^+$	71	982.91023

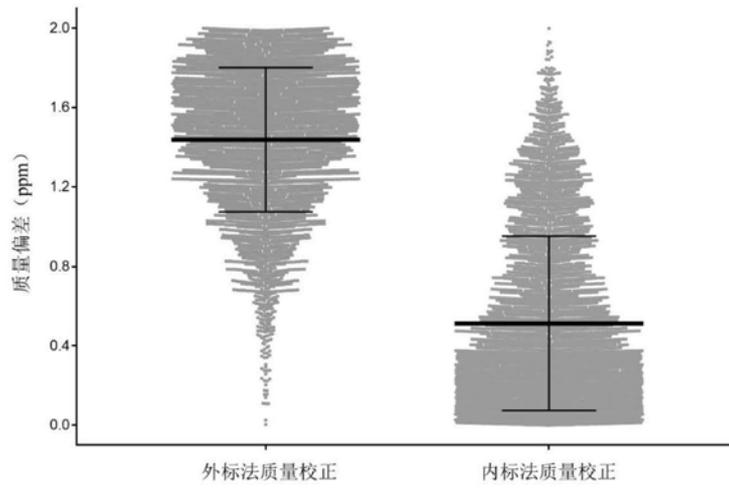


图1

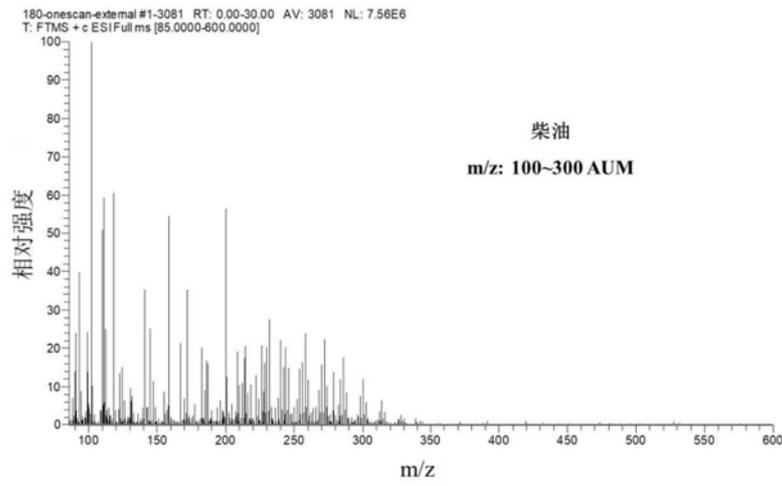


图2

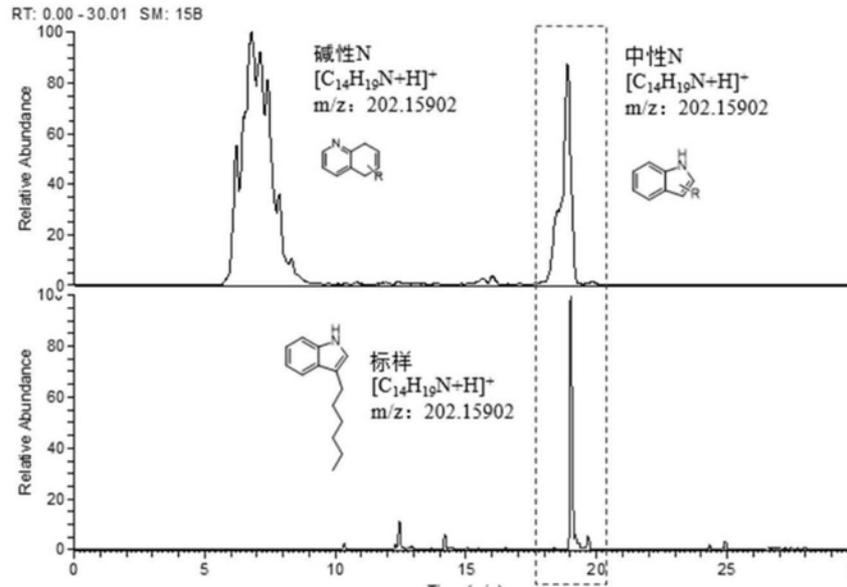


图3

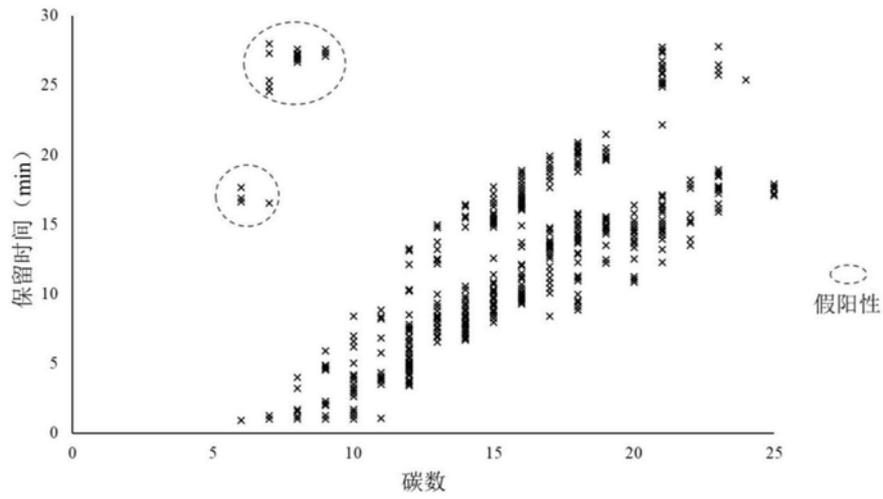


图4

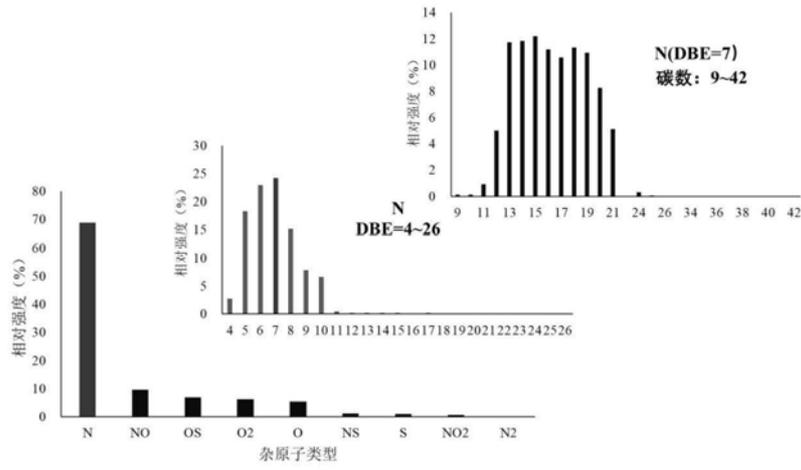


图5

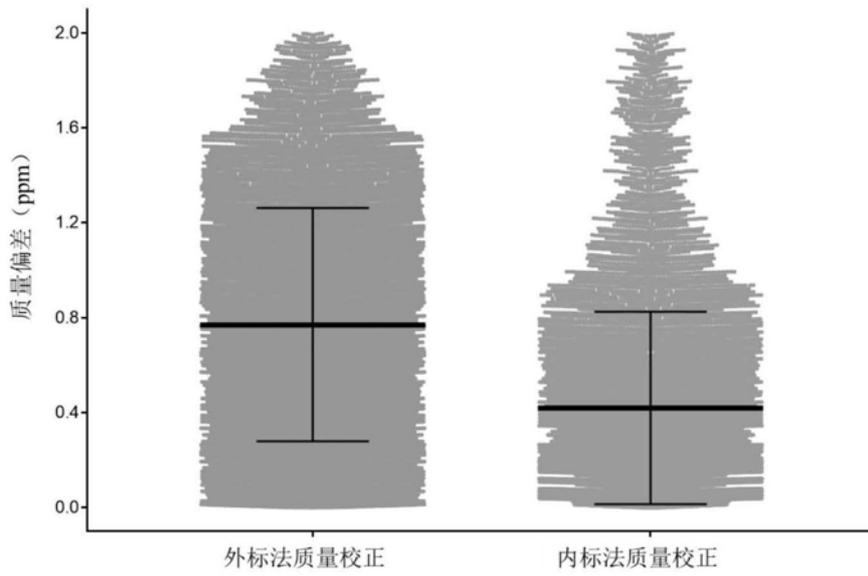


图6

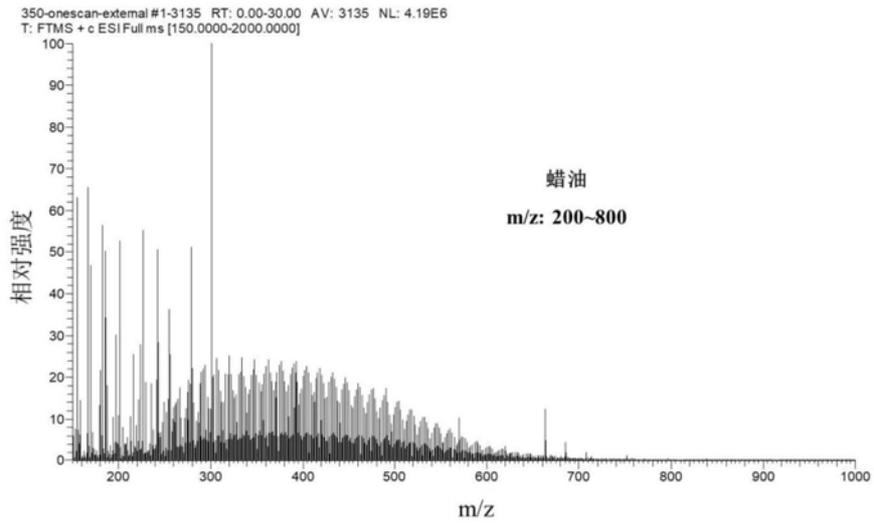


图7

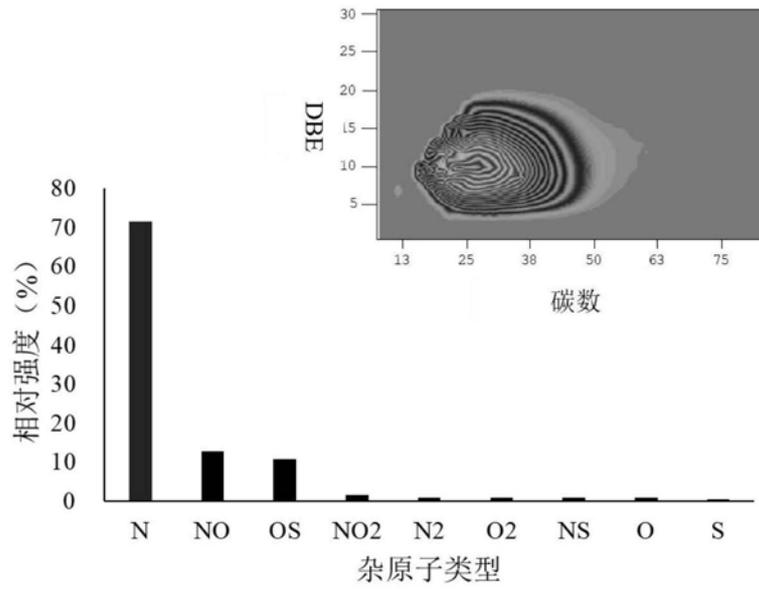


图8

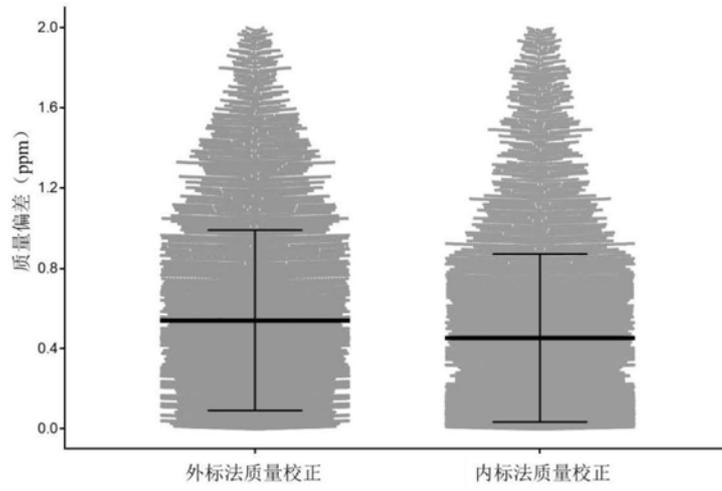


图9

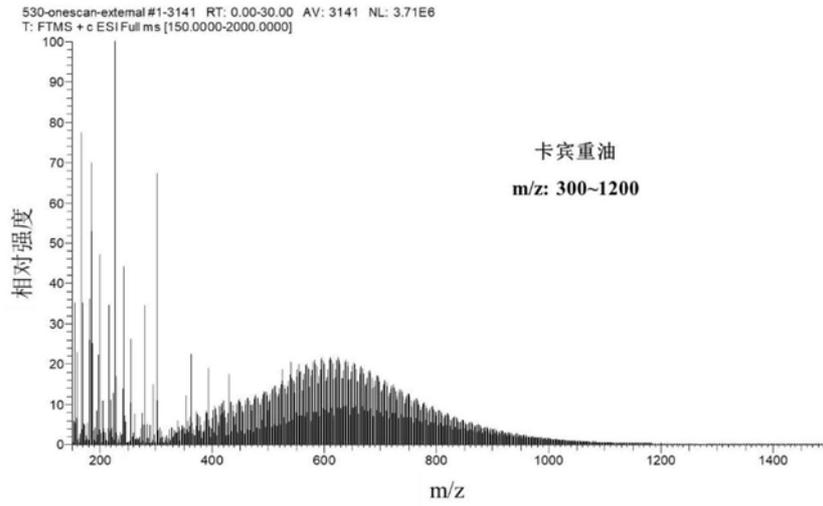


图10

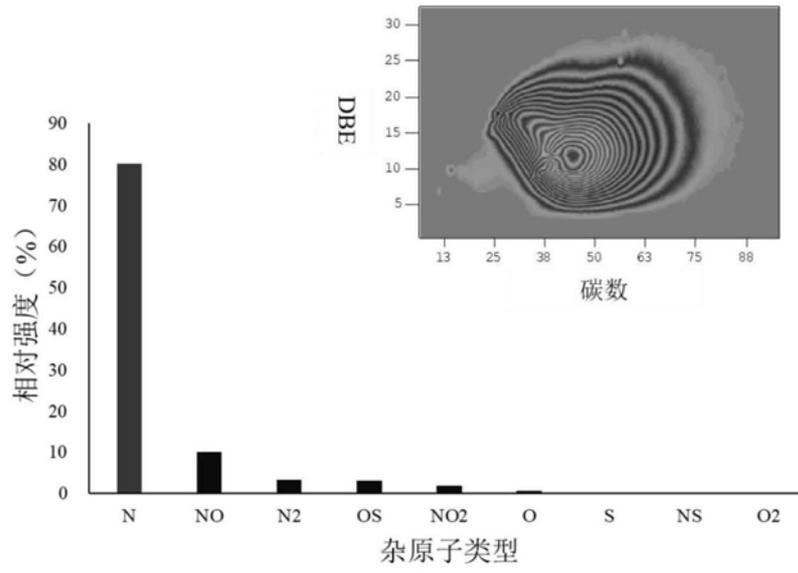


图11

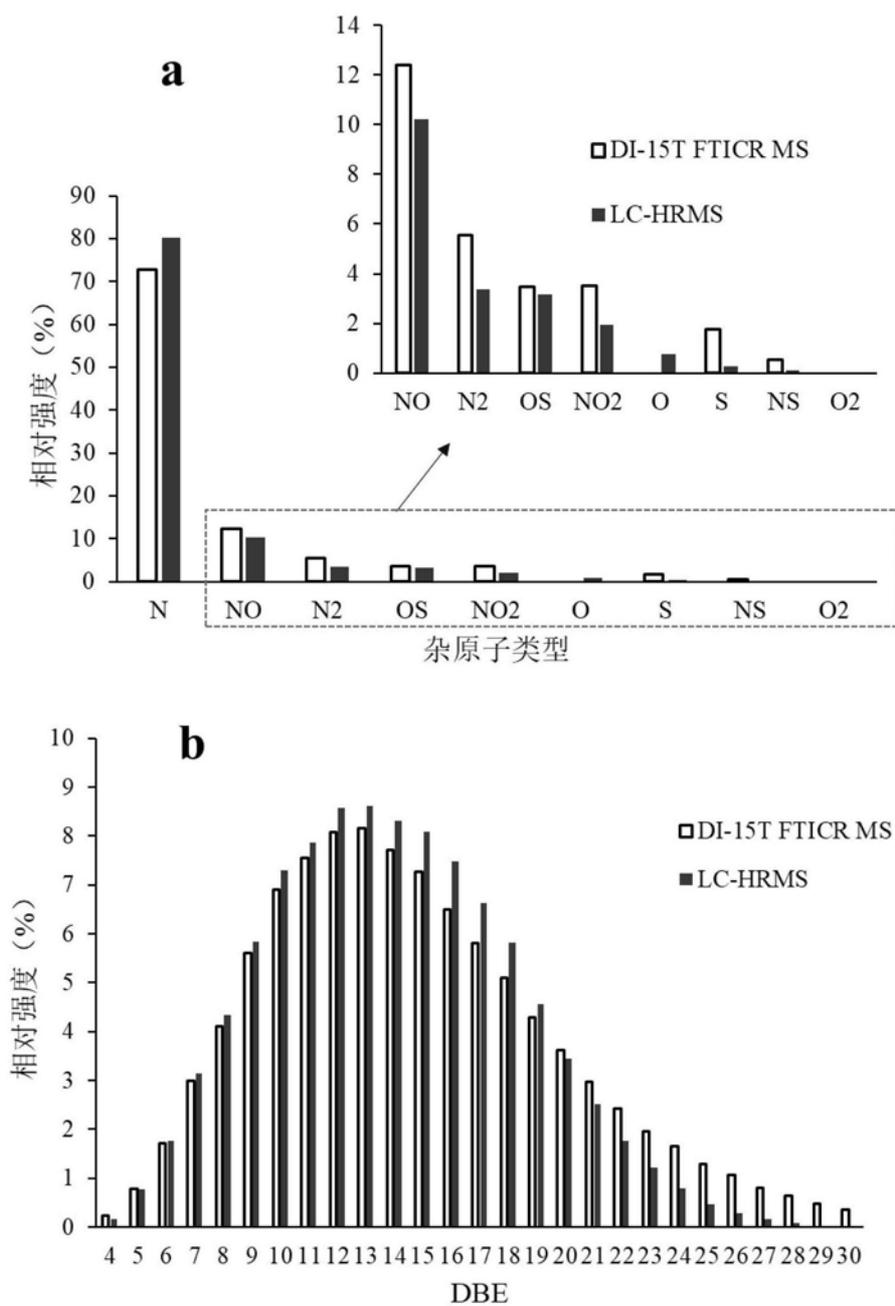


图12