

文章编号:1004-7271(2004)04-0348-05

·综述·

固相微萃取技术及其应用

王锡昌, 陈俊卿

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

摘要 固相微萃取(Solid Phase microextraction, SPME)技术是近年来发展起来的一种样品分析预处理的新方法,该技术集采样、萃取、浓缩和进样于一体,简便、快速、经济安全、无溶剂、选择性好、且灵敏度高。文章介绍了固相微萃取的装置、原理、操作及萃取方法,着重论述了其工作条件选择,包括不同涂层的萃取头、萃取时间、萃取温度、搅拌方法、萃取方式、离子强度等因素对固相微萃取的萃取效率的影响,此外文章还指出固相微萃取技术已经广泛的应用于医药、环境、食品等生活领域。

关键词 固相微萃取;条件优化;萃取分离;样品分析

中图分类号:TS201 文献标识码:A

Solid phase microextraction and its latest application

WANG Xi-chang, CHEN Jun-qing

(College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract Solid phase microextraction (SPME) is a novel sample preparation method. It is fast, more efficient, simple and easy to operate automatically compared with the conventional solvent extraction methods. This paper describes the structure, principle, sampling method of solid phase microextraction. Especially the optimum extraction parameters include fiber, extracting time, extracting temperature, salt extraction, etc. Solid phase microextraction has been used in environmental analysis, drug analysis and food flavor analysis etc.

Key words solid phase microextraction; optimum methods; extraction and separation; sample analysis

通常分析食品风味和芳香类物质时用来浓缩待测物的样品制备方法有顶空法(HeadSpace, HS)、吹扫捕集法(Purge and Trap)、液液萃取法(Liquid-Liquid Extraction)以及固相萃取法(Solid Phase Extraction, SPE)、同时蒸馏萃取(Simultaneous Distillation Extraction, SDE)和超临界流体萃取(Supercritical-Fluid Extraction, SFE)等方法,这些传统方法都不同程度地存在着某种缺陷,如操作繁琐、费时、需消耗大量毒性有机溶剂,不仅危害人体健康还污染环境。

固相微萃取技术(Solid Phase microextraction, SPME)是二十世纪九十年代初提出并发展起来的用于吸附并浓缩待测物中目标物质的样品制备方法^[1,2]。它几乎克服了以前一些传统样品处理方法的所有缺点,无需有机溶剂、简单方便、测试快、费用低,集采样、萃取、浓缩、进样于一体,能够与气相或液相色谱仪联用,有手动或自动两种操作方式,使得样品处理技术及分析操作简单省时。

收稿日期 2004-03-31

作者简介 王锡昌(1963-),男,江苏无锡人,博士,教授,主要从事水产品加工、畜产品加工、食品工程方面的研究。Tel:021-65710222, E-mail: xcwang@shfu.edu.cn

1 固相微萃取技术

固相微萃取技术是基于采用涂有固定相的熔融石英纤维来吸附、富集样品中的待测物质。其中吸附剂萃取技术始于 1983^[3]年,其最大特点是能在萃取的同时对分析物进行浓缩,目前最常用的固相萃取(SPE)技术就是将吸附剂填充在短管中,当样品溶液或气体通过时,分析物则被吸附萃取,然后再用不同溶剂将各种分析物选择性地洗脱下来。

1989年,Pawliszyn^[1]等在 SPE 的基础上发展了固相微萃取技术。均匀涂渍在硅纤维上的圆柱状吸附剂涂层在萃取时既继承了 SPE 的优点,又有效克服了在采用固相萃取技术时出现操作繁琐、空白值高、易堵塞吸附柱等缺陷,固相微萃取技术一经问世,立即受到广大食品研究工作者及其他分析从业人员的普遍关注并正在推广应用。表 1 中给出了固相微萃取技术与其它几种萃取技术的比较^[4]。

表 1 固相微萃取法与其它样品处理技术比较

Tab.1 Comparison of SPME to other extraction techniques

检测限	精确度 RSIX (%)	费用	耗时	溶剂使用	简单性
吹扫捕集法(10 ⁻⁹)	1-30	高	时间长	不需要	不简单
同时蒸馏萃取法(10 ⁻¹²)	3-20	高	时间长	不需要	不简单
顶空法(10 ⁻⁶)	/	低	时间短	不需要	简单
液液萃取法(10 ⁻¹²)	5-50	高	时间长	1000mL	简单
固相萃取法(10 ⁻¹²)	7-15	中等	时间中等	≤100mL	简单
固相微萃取法(10 ⁻¹²)	1-12	低	时间短	不需要	简单

2 固相微萃取装置及操作步骤

SPME 由手柄(Holder)和萃取头(Fiber)两部分构成,状似一支色谱注射器,萃取头是一根涂不同色谱固定相或吸附剂的熔融石英纤维,接不锈钢丝,外套细的不锈钢针管(保护石英纤维不被折断及进样)纤维头可在针管内伸缩,手柄用于安装萃取头,可永久使用。

在样品萃取过程中首先将 SPME 针管穿透样品瓶隔垫,插入瓶中,推手柄杆使纤维头伸出针管,纤维头可以浸入水溶液中(浸入方式)或置于样品上部空间(顶空方式),萃取时间大约 2~30min^[5]。然后缩回纤维头,再将针管退出样品瓶,迅速将 SPME 针管插入 GC 仪进样口或 HPLC 的接口解吸池。推手柄杆,伸出纤维头,热脱附样品进色谱柱或用溶液洗脱目标分析物,缩回纤维头,移去针管。

3 固相微萃取技术的工作原理

在固相微萃取操作过程中,样品中待测物的浓度或顶空中待测物浓度与涂布在熔融硅纤维上的聚合物中吸附的待测物浓度间建立了平衡,在进行萃取时,萃取平衡状态下和萃取前待分析物的量应保持不变,有下列关系:

$$C_0 V_s = C_s V_s + C_1 V_1 \quad (1)$$

其中 C_0 是样品中待测物质的初始浓度, C_s 和 C_1 分别是平衡时样品中待测物质浓度和涂层中待测物质浓度, V_s 和 V_1 分别是样品的体积和涂层的体积。设待测物质在涂层和样品基质中的分配系数为 Kf_s ,待测物质被涂层吸附的量为 n ,则

$$Kf_s = C_1 / V_s \quad (2)$$

$$N = C_1 V_1 \quad (3)$$

将式(2)和式(3)代入式(1),整理得:

$$n = Kf_s V_1 C_0 V_s / (Kf_s V_1 + V_s) \quad (4)$$

式(4)表明涂层吸附的待测物质的量与样品中该物质的初始浓度呈线性关系,即待测物质在样品中原始浓度越高,达到吸附平衡时涂层中被吸附的量越大。SPME中使用的涂层物质对于大多数有机化合物都具有较强的亲和力, K_s 值对目标分析物来说越大,意味着SPME具有的浓缩作用越高,对待测物质检测的灵敏度越高。在式(4)中,由于相对 V_1 而言 V_s 很大($V_s \gg K_f V_1$),那么可近似地认为,涂层萃取的待测物质的量与样品的体积无关,而与样品中待测物质的初始浓度成正比:

$$n = K_f V_1 C_0 \quad (5)$$

对于某一SPME装置, $K_f V_1$ 为一常数,设 $K_f V_1 = K$,则:

$$n = K C_0 \quad (6)$$

式(6)即为固相微萃取的定量关系式。

4 固相微萃取技术工作条件的选择及优化

4.1 萃取头的选择

由不同固定相所构成的萃取头对物质的萃取吸附能力是不同的,故萃取头是整个SPME装置的核心,这包括2个方面,固定相和其厚度的选择。萃取头的选择由欲萃取组分的分配系数、极性、沸点等参数共同确定。

一般而言,纤维头上一层厚膜比薄膜要萃取更多的分析物,厚膜可有效地从基质中吸附高沸点组分。但是解吸时间相应要延长,并且被吸附物可能被带入下一个样品萃取分析中,薄膜纤维头被用来确保分析物在热解吸时较高沸点化合物的快速扩散与释放。膜的厚度通常在 $10 \sim 100 \mu\text{m}$ ^[6,7]之间。

按照聚合物的极性固定相涂层可分为3大类,一类为极性涂层,另一类为非极性涂层,第三类为中等极性混合型涂层。表2中列出了几种常用萃取头的适用范围及性能。

表2 常用SPME-GC/MS萃取头
Tab.2 The fiber for SPME-GC/MS

萃取头类别	具体描述	用途	极性	分子量范围
PDMS	100 μm 非键合	小分子挥发性非极性物质	非极性	MW60-275
	30 μm 非键合	半挥发性非极性物质	非极性	MW80-500
	7 μm 键合	半挥发性非极性物质	非极性	MW125-600
PA	85 μm 部分交联	极性半挥发性物质,酚类	极性	MW80-300
PDMS/DVB	65 μm 部分交联	极性挥发性物质,胺类,硝基芳香类化合物,	中极性	MW50-300
CAR/PDMS	75 μm 部分交联	痕量VOC,气体硫化物	中极性	MW30-225
DVB/CAR/PDMS	50/30 μm 高度交联	挥发性物质	中极性	C3-C20
CW/DVB	85 μm 部分交联	极性物质,尤其醇类	中极性	MW40-275

PDMS-聚二甲基硅氧烷;CW-聚乙二醇;PA-聚丙烯;DVB-二乙烯苯;Carboxen-碳分子筛

4.2 萃取时间的确定

萃取时间主要指达到或接近平衡所需要的时间。影响萃取时间的因素主要有萃取头的选择、分配系数、样品的扩散系数、顶空体积、样品萃取的温度等。萃取开始时萃取头固定相中物质浓度增加得很快,接近平衡时速度极其缓慢,因此萃取过程中不必达到完全平衡,因为平衡之前萃取头涂层中吸附的物质质量与其最终浓度就已存在一个比例关系,所以在接近平衡时即可完成萃取过程,视样品的情况不同,萃取时间一般为 $2 \sim 60 \text{min}$ ^[6,8]。延长萃取时间也无坏处,但要保证样品的稳定性。

4.3 萃取温度的确定

萃取温度对吸附采样的影响具有双面性,一方面,温度升高会加快样品分子运动,导致液体蒸汽压的增大,有利于吸附,尤其对于顶空固相微萃取(HS-SPME);另一方面,温度升高也会降低萃取头吸附分析组分的能力,使得吸附量下降。实验过程中还要根据样品的性质而定,一般萃取温度为 $40 \sim$

90℃^[8,9]。

4.4 样品的搅拌程度

样品经搅拌后可以促进萃取并相应地减少萃取时间,特别对于高分子量和高扩散系数的组分。一般搅拌形式有磁力搅拌、高速匀浆、超声波来进行搅拌等方式。采取搅拌方式时一定要注意搅拌的均匀性,不均匀的搅拌比没有搅拌的测定精确度更差。

4.5 萃取方式、盐浓度和 pH 效应

SPME 的操作方式有两种,一种为顶空萃取方式,另一种为浸入萃取方式,实验中采取何种萃取方式主要取决于样品组分是否存在蒸汽压,对于没有蒸汽压的组分只能采用浸入方式来萃取。在萃取前于样品中添加无机盐可以降低极性有机化合物的溶解度,产生盐析,提高分配系数从而达到增加萃取头固定相对分析组分的吸附。一般添加无机盐用于顶空方式,对于浸入方式,盐分容易损坏萃取头。此外调节样品的 pH 值可以降低组分的亲脂性,从而大大提高萃取效率,注意 pH 值不宜过高或过低,否则会影晌固定相涂层。

4.6 其它优化措施

在萃取过程中还可以采用减压萃取及微波萃取,都可以提高萃取效率,在采用顶空萃取的过程中,顶空体积的大小、样品的大小对检测的灵敏度、方法的精密度和萃取效率都有重要影响。

5 固相微萃取技术的应用

SPME 方法最早应用于环境样品的检测,主要针对于样品中各种有机污染物,如水样和土壤中的有机汞^[10]、脂肪酸^[11]、杂酚油^[12]等以及对有机磷农药^[13]、有机氯农药^[1]、多环芳烃^[14]等这些作为水和废水检测的重要指标化合物。

SPME 在医学上的应用多见于分析人体血液中的氰化物^[15]、苯和甲苯^[16]、以及体液中的乙醇^[17]、有机磷酸酯^[12]等方面。

自从 SPME 问世不久,就有人把它应用于分析食品中的微量成分,近 10 年来,已经广泛应用于食品风味^[18]、食品中的农药残留^[13]和食品中有机物^[19]的分析。SPME 在食品风味中的分析多见于顶空固相萃取法(HS-SPME),分析对象主要针对于酒类^[20]、果汁类^[21]、奶类^[22]、油类^[23,24]、调味品类^[25]中的挥发性成分的分析。近几年来 SPME 在鱼肉中的应用也在增加,如 Owen E.^[26]利用微波和 SPME 联用分析造成鱼肉土腥味的成分,指出 Geosmin (trans-1,10-dimethyl-trans-9-decalol,顺-1,10-二甲基-顺-9-萘烷醇)和 MIB(2-methyl-isoborneol,2-甲基-异冰片)对鱼肉的土腥味贡献最大。

6 固相微萃取技术的研究发展方向

固相微萃取技术发展的关键在于萃取头上的涂层,涂层的性质决定了该方法的应用范围和分析中能检测到的浓度范围。随着一些无机吸附质的出现及该技术的完善,固相微萃取将可望用于检测无机物,特别是当 SPME 直接与原子吸附、感应耦合等离子体、电火花或者辉光放电等仪器联用时可大大拓展它在检测无机物时的应用范围,因此,一些具有特殊性质的、高效涂层的研制将成为固相微萃取今后发展的重要方向。

固相微萃取技术可以与高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、质谱(MS)等技术联用,但应用最广、方法最成熟的是与 GC 技术联用。与气相色谱的联用,主要针对于检测一些沸点相对较低的挥发性或半挥发性有机物。发展到目前,该技术与液相色谱以及毛细管电泳的联用技术也很成熟,使得一些极性、热稳定性的化合物也能用固相微萃取进行分析。相信随着耦合技术的发展及固相微萃取技术自身的发展,将来 SPME 将可能与更多的分析仪器配合使用,使固相微萃取技术应用于更多领域上的分析检测。

目前,在国内市场上已有美国的 Supelco 公司固相微萃取产品供应。由于它的诸多优点,相信它不仅食品风味检测乃至整个分析化学领域都将得到更为广泛的应用推广,并能使更多的分析从业人员从重复、繁琐的操作中解脱出来。

参考文献:

- [1] Pawliszyn J. New directions in sample preparation for analysis of organic compounds[J]. J Anal Chem , 1995 , 14(3): 113 - 122.
- [2] Andreas , Stephan. Novel analytical tools for food flavours[J]. Food Research International , 2000 , 33 : 199 - 209.
- [3] Coleman w. SPME-GC-Mass selective detection analysis of selected sources of mentho[J]. J Chromatogr Sci , 1998 , 36(8): 401 - 405.
- [4] Elmores , Erbahdir M. Comparison of dynamic headspace concentration on tenax with SPME for analysis of aroma volatiles[J]. J Agric Food Chem , 1997 , 45 : 2638 - 2641.
- [5] Lord H. Recent Advances in Solid-Phase Microextraction[J]. LC-GC May 1998 supplement , 41 - 46.
- [6] 陈 猛,袁东昌.固相微萃取技术研究进展[J].分析科学学报 , 2002 , 18(5): 429 - 435.
- [7] 康 凯,卢俊彪.固相微萃取的发展近况[J].化学研究与应用 , 2002 , 14(4): 371 - 376.
- [8] 赵大云,高明清.一种分析检测食品风味物质的新方法 - 固相微萃取法(SPME) [J].中国调味品 , 1997 , 7 : 24 - 28.
- [9] 冯 雪,贾金平.固相微萃取技术的研究与应用现状[J].化工环保 , 2002 , 3 : 146 - 150.
- [10] Dunemann L. Simultaneous determination of Hg(II) and alkylated Hg , Pb , and Sn species in human body fluids using SPME -GC/MS-MS[J]. J Anal Chem , 1999 , 36(5 - 6): 466 - 468.
- [11] Pan L. Determination of Fatty Acids Using Solid Phase Microextraction[J]. J Anal Chem , 1995 , 67 : 4396 - 4403.
- [12] Sng M. Solid-phase microextraction of organophosphorus pesticides from water[J]. J Chromatogr A , 1997 , 759 : 225 - 230.
- [13] Chen W Q. The Application of Solid Phase Microextraction in the Analysis of Organophosphorus Pesticides in a Food Plant Environ[J]. Sci Technol , 1998 , 3(23): 3816 - 3820.
- [14] Dugay J. Effect of the various parameters governing solid-phase microextraction for the trace-determination of pesticides in water[J]. J Chromatogr A , 1998 , 79(1): 27 - 42.
- [15] Takekawa K. Analysis of cyanide in blood by headspace solid-phase microextraction (SPME) and capillary gas chromatography [J]. Chromatographia , 1998 , 47(3/4): 209 - 214.
- [16] Schimming E. Biomonitoring of benzene and toluene in human blood by headspace-solid-phase microextraction [J]. J Anal Chem , 1999 , 36(1): 88 - 91.
- [17] Ishii A. Simple extraction of phencyclidine from human body fluids by headspace solid-phase microextraction(SPME) [J]. Chromatographia , 1996 , 4(5/6): 331 - 333.
- [18] Steffen A. Analysis of flavor volatiles using headspace SPME[J]. J Agric Food Chem , 1997 , 44 : 2187.
- [19] Górecki T , Pawliszyn J. Solid phase microextraction/isothermal GC for rapid analysis of complex organic samples[J]. J High Resol Chromatogr , 1995 , 18 : 161 - 166.
- [20] 汪立平.顶空固相微萃取法快速测定苹果酒中的香味物质[J].无锡轻工大学学报 , 2003 , 22(1): 1 - 6.
- [21] Jia M. Optimization of SPME analysis for headspace flavor compounds of orange juice[J]. J Agric Food Chem , 1998 , 46 : 2744 - 2747.
- [22] Jon G , Wilkes. Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in[J]. Journal of chromatography A , 88(2000) : 3 - 33.
- [23] Yo Shao-Pin. Analysis of volatile fatty acids in wastewater collected from a pig farm by a solid phase microextraction method Chemosphere [J]. Volume Date , 1999 , 3(4): 823 - 834.
- [24] Field J , Nickerson. Determination of essential oils in hops by headspace SPME[J]. J Agric Food Chem , 1996 , 44 : 1768 - 1772.
- [25] Clank J. Qualitative and Quantitative analysis of flavor additives on Tobacco products using SPME-GC-MS[J]. J Agric Food Chem , 1997 , 45 : 844 - 849.
- [26] Lloyd S W. Analysis of 2-Methylisoborneol and Geosmin in Catfish by Microwave Distillation-Solid-Phase Microextraction[J]. J Agric Food Chem , 1999 , 47(1): 164 - 169.