



GUXIANG WEICUIQU

固相微萃取

吴采樱◎等编著



化学工业出版社

GUXIANG WEICUIQU

固相微萃取

吴采樱◎等编著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书共分十一章,较全面、系统地介绍了固相微萃取的基本理论、方法、装置及其在各领域中的应用。第一章介绍了固相微萃取方法的发展历史和现状。第二章在介绍商品萃取装置的基础上,重点介绍了近些年研发的新装置。第三章是理论基础;第四至第六章分别介绍了涂层及其制备方法,固相微萃取方法的优化和校正以及联用技术;其中涂层一章重点介绍了近十年来各实验室自行合成的有机、无机新涂层和新方法,如溶胶-凝胶法、电化学涂渍法、碳素基体吸附法、分子印迹法和管内涂渍聚合技术等。第七至第十一章分别介绍了固相微萃取方法在环境检测,食品分析,药物、法医学及生化分析,元素形态分析和天然产物分析中的应用。各章均列举了大量实例和典型谱图可供参考。

本书内容丰富、材料新颖,可供环境分析、生物、食品、药物、临床医学、农畜牧业和化学化工等领域的科研人员和分析人员参考,也可作为高等学校相关专业教师和研究生、大学生的教学参考书。

图书在版编目(CIP)数据

固相微萃取/吴采樱等编著. —北京:化学工业出版社, 2011.10

ISBN 978-7-122-11989-6

I. 固… II. 吴… III. 固相-萃取 IV. 0658.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 152635 号

责任编辑:刘兴春

文字编辑:孙凤英

责任校对:周梦华

装帧设计:周 遥

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装订:三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张16 字数392千字 2012年2月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 68.00 元

版权所有 违者必究

前言

科技的发展和社会的需求不断向分离分析技术提出挑战：尽管当今的毛细管气相色谱和毛细管电泳，单米柱效已分别达到几千和几十万甚至几千万理论塔板，快速分离样品中上百个成分和数十种大分子化合物并非难事；仪器的检出限也已达到 $10^{-12} \sim 10^{-15}$ g/L 量级，测定的重复误差可达 $\leq 5\%$ ，似乎一切都已很完善。然而，面对越来越复杂样品基质的干扰，以及发达国家对食品、药品和环境有害物质检测下限标准的不断降低，要对诸多生物和环境样品中的某些痕量和超痕量成分进行准确测量，仍困难重重。出路何在？对样品做预处理！但目前一些样品前处理方法净化富集效率不高、操作烦琐、耗时长、投资大，尤其是使用大量有机溶剂对环境 and 人员造成污染危害。为了克服上述弊端，必须开发更理想的样品前处理方法，这已成为当今分析工作者们的共识。所建的方法应具有更好的选择性，以减少复杂基质的干扰；具有更高的富集倍数，以求得到更低的检出限；还要有更高的准确度和精密性；并能方便地与现有各种分析仪器联用，成本低廉，环境友好。只有在这种科学、有效的样品前处理方法配合下，才能充分发挥后续先进分离分析仪器的潜在功效。

固相微萃取 (SPME) 是 20 世纪 90 年代提出来的一类新的样品前处理方法，它设备简单、操作方便。用装在注射器针头内的石英光导纤维作载体，表面涂上有机固定相或无机吸附剂，当它放置在被测样品中时，将针头内的石英纤维推出，对样品中的待测物进行富集萃取，完成后纤维拉回针头内，直接插入气相色谱进样口加热解吸，并入色谱柱分离后检测，使采样、萃取、富集和进样合而为一。无需有机溶剂，实现真实意义上的固相微萃取。可对气、液、固等多种基质的样品，进行快速、高效和高灵敏的萃取分析，萃取时间一般为 30min，检出限达 $\mu\text{g/L} \sim \text{ng/L}$ 级，相对标准偏差 $\leq 10\%$ 。能与气相色谱 (GC)、高压液相色谱 (HPLC)、高效毛细管电泳 (HPCE)、电感耦合等离子光谱 (ICP) 和离子色谱 (IC) 等分析仪器联用，在环境分析、法医学分析、生物医学、食品、药物和金属形态分析等领域得到了广泛的应用。

至今，在国外已出版了三本 SPME 的专著和一本手册，时间分别为 1997 年和 1999 年。而近十年来该项新技术在石英纤维萃取头的结构、形状、载体材料、表面涂层种类、新的涂层方法、不同萃取方式以及小型多功能和自动化高通量仪器等诸多方面得到快速发展，应用面迅速扩大。发表的文献数量由 1999 年统计的 400 多篇，至 2009 年已近 4000 篇，10 年增加了 10 倍；其中国内有 1000 多篇，约占 1/4。国内在新涂层的研制、联用技术、仪器开发和实际应用等方面都有长足进步，从事研究和应用的人员迅速增加。我们研究组于 1997 年在国内率先开展 SPME 技术和理论研究，先后得到国家自然科学基金、博士点专项基金和国际合作项目等多项课题资助。为了让广大分析工作者能较系统地了解固相微萃取方法的基本原理、方法特点、应用对象，特别是近十年来国内外研发的一些新方法、新设备，使之能得到更好应用，同时也为了更好地在国内交流经验和成果，决定编著本书。

本书共分十一章，以介绍方法特点、不同设备、基础理论、涂层制备、条件优化、联用技术和不同领域中的应用为主线安排内容。第一章绪论；第二章重点介绍近年来研发的新型

装置；第三章基础理论，着重从热力学和动力学两方面阐明影响平衡态下 SPME 萃取量和达到萃取平衡速度的各项因素，指出在优化实验条件中应采取的对策；第四章介绍 SPME 的核心——涂层，其中对溶胶-凝胶、电化学以及管内涂渍聚合技术等方法做了重点介绍，并以实例说明其应用效果。第五章条件优化，结合所学理论指出对萃取体系、萃取和解吸条件、定量校正等各个环节的选择原则，阐明相互协调制约的辩证关系。第六章联用技术，重点介绍与 GC、HPLC、HPCE 和 ICP 的联用。第七到第十一章分别介绍了在环境分析，食品分析，药物、法医学及生化分析，元素形态分析和天然产物分析中的应用。各章均列举了大量应用实例和典型谱图以供参考。

参加本书编著人员为：第一、三、五章，吴采樱（武汉大学教授，博士生导师）；第二、四章，邢钧博士（武汉大学副教授，博士生导师）；第六、九、十章，梅素容博士（华中科技大学同济医学院教授）；第七、八、十一章，朱书奎博士〔中国地质大学（武汉）教授〕。全书最后由吴采樱统一定稿。武汉大学的汪洋同志为本书绘制了部分插图。

本书内容虽力求做到全面、系统、新颖和实用，但受水平所限，不足和疏漏之处在所难免，恳请读者批评指正。

国家自然科学基金委员会对本书的出版给予了大力支持和资助，谨此表示衷心感谢。

编著者

2011 年 10 月于武汉

目 录

第一章 绪论	1
第一节 固相微萃取方法及其特点	1
一、样品前处理技术概述	1
二、常用几种样品前处理方法简介	1
三、固相微萃取方法及其特点	2
第二节 历史的简要回顾	2
第三节 近十年来固相微萃取方法的快速发展	5
一、萃取头的改进与发展	5
二、萃取方式的多样化	8
三、取样装置的自动化、功能化和小型化	10
第四节 展望	11
参考文献	12
第二章 固相微萃取装置及其发展	15
第一节 纤维固相微萃取装置	15
第二节 内部冷却固相微萃取	16
第三节 现场采样固相微萃取	18
一、主动型现场采样	18
二、主动/被动两用型现场采样	19
第四节 管内固相微萃取	20
一、内壁涂层型的管内固相微萃取	21
二、填充型/整体柱型的管内固相微萃取	21
第五节 薄膜微萃取	21
第六节 针头捕集装置	23
一、装置	23
二、应用	24
第七节 自动高通量固相微萃取	27
参考文献	29
第三章 固相微萃取的理论基础	31
第一节 概述	31
第二节 萃取过程热力学	31
一、涂层的类别和萃取机理	31
二、分配平衡	33
三、分配系数（平衡常数）	39

第三节 萃取过程动力学	43
一、平衡时间	43
二、非平衡萃取条件下的动力学模型	46
参考文献	52
第四章 固相微萃取涂层的制备	55
第一节 物理涂渍法	55
一、有机聚合物涂层	56
二、离子液体涂层	57
三、无机物涂层	58
第二节 黏合固定法	59
一、高温环氧树脂等黏合法	59
二、溶胶-凝胶黏合固定法	62
第三节 溶胶-凝胶法	64
一、溶胶-凝胶法制备涂层的优势	64
二、溶胶-凝胶法制备纤维涂层的一般步骤	66
三、常用改性方法	67
第四节 电化学沉积法	76
一、电聚合物涂层	76
二、无机化合物涂层	81
第五节 碳质基体萃取头的制备	83
一、铅笔芯萃取头	83
二、活性炭纤维萃取头	84
三、整体柱型碳质纤维萃取头	85
第六节 分子印迹技术	85
一、本体聚合法	85
二、原位整体聚合法	86
第七节 管内涂渍和聚合技术	90
一、薄膜型管内固相微萃取	90
二、整体柱型管内固相微萃取	92
参考文献	97
第五章 固相微萃取方法的优化和校正	103
第一节 固相微萃取体系	103
一、涂层	103
二、萃取模式	108
三、搅拌方法	114
四、有机溶剂与基质效应	115
第二节 萃取条件的优化	115
一、温度的选择	115
二、盐效应和 pH 值	115

三、样品体积	116
四、顶空体积	118
五、萃取时间	118
第三节 解吸条件的优化	118
第四节 定量校正方法	119
一、简单样品	119
二、复杂样品	120
三、回收率	121
第五节 影响固相微萃取方法准确度和精度的因素	122
参考文献	122

第六章 固相微萃取的联用技术..... 126

第一节 固相微萃取-气相色谱联用	126
一、纤维固相微萃取-气相色谱联用	126
二、管内固相微萃取-气相色谱联用	128
三、结合其他样品预处理技术-气相色谱联用	128
第二节 固相微萃取-高压液相色谱联用	130
一、纤维固相微萃取-高压液相色谱联用	130
二、管内固相微萃取-高压液相色谱联用	131
第三节 固相微萃取-毛细管电泳联用	134
一、离线联用	135
二、在线联用	135
第四节 固相微萃取-电感耦合等离子体质谱联用	139
第五节 固相微萃取-其他分析仪器联用	140
一、红外光谱联用	140
二、电化学分析联用	140
三、质谱联用	140
四、其他分析仪器联用	141
参考文献	142

第七章 固相微萃取在环境检测中的应用..... 144

第一节 大气中有机污染物的分析	144
一、气态基质样品分析的特点	144
二、直接固相微萃取法	145
三、衍生化固相微萃取法	147
第二节 水体基质中有机污染物的分析	148
一、农药残留	148
二、多环芳烃	154
三、多氯联苯及其类似物	156
四、酚类物质	157
五、其他污染物	159

第三节 固态基质中有机污染物的分析	160
一、固态基质样品的预处理	160
二、固相微萃取在固态基质中有机污染物分析中的应用	162
参考文献	165
第八章 固相微萃取在食品分析中的应用	169
第一节 固相微萃取在食品风味物质分析中的应用	169
一、饮料	169
二、乳制品	171
三、酒类	173
四、水果与蔬菜	176
五、动物肉类	180
第二节 固相微萃取用于食品中农药残留的分析	182
一、有机氯农药	182
二、有机磷农药	186
三、其他多种农药	190
第三节 固相微萃取用于食品中其他有害物质的分析	192
一、兽药残留	192
二、内分泌干扰素	193
三、食品添加剂	195
参考文献	196
第九章 固相微萃取在药物、法医学及生化分析中的应用	199
第一节 固相微萃取在药物分析中的应用	199
一、镇静催眠类药物	199
二、精神异常药物	201
三、心血管疾病药物	202
四、麻醉药	203
五、抗菌消炎镇痛类药物	203
六、类固醇类药物	204
七、其他药物	204
第二节 固相微萃取在刑侦毒化分析中的应用	205
一、毒品及滥用药物分析	205
二、刑侦毒化分析	209
第三节 固相微萃取在生化分析中的应用	210
一、临床生化分析	210
二、药物-蛋白结合常数测定	213
三、蛋白质分析	214
参考文献	214
第十章 固相微萃取在元素形态分析中的应用	219
第一节 元素形态分析的衍生化反应	219

一、烷基化反应	219
二、氢化反应	220
三、其他的衍生化反应	220
第二节 有机锡化合物的形态分析	221
一、水样	221
二、沉积物和底泥样品	222
三、酒类样品	223
四、水产品	224
第三节 汞的形态分析	224
第四节 铅的形态分析	226
第五节 砷及其他金属和准金属元素的形态分析	228
第六节 多种元素形态的同时分析	230
参考文献	231

第十一章 固相微萃取在天然产物分析中的应用	234
第一节 固相微萃取在天然香精香料分析中的应用	234
第二节 固相微萃取在中草药分析中的应用	240
参考文献	244

第一章 绪 论

第一节 固相微萃取方法及其特点

一、样品前处理技术概述

样品前处理的目的是为了分离基质和共存干扰物，富集待测组分，改善其稳定性、挥发性和提高检测灵敏度，它包括取样、制样、分离、富集、衍生化等步骤。样品前处理所需时间约占全部分析时间的 60% ~ 70%，前处理过程引入的误差约占整个误差的 70% ~ 80%，因此样品前处理方法的先进与否，直接关系到整个分析方法的成败和优劣。分离和富集是样品前处理技术的核心，传统的液-液萃取、索氏提取、色谱等方法，普遍存在溶剂耗量大、处理时间长、操作步骤多、待测物易损失或污染的特点，并对操作人员和环境造成危害。一种理想的样品前处理技术应该具有：少用或不用溶剂，成本低，操作简便，能够高效率、高选择性地富集目标物，适用于较宽范围样品的分离和分析，且便于自动化操作。

二、常用几种样品前处理方法简介

近几年来，无溶剂或较少使用溶剂的样品前处理方法迅速发展^[1,2]，除了较早使用的顶空法、吹扫捕集法、超临界流体萃取和膜萃取外，较新发展和用得较多的有加速溶剂萃取、微波辅助萃取、固相萃取和固相微萃取等。这些方法各有特点。

顶空法 (Head Space, HS) 是最简单的无溶剂样品制备技术，多用于不同基质样品中挥发有机物的分析，由于缺少浓缩手段，灵敏度较低。

吹扫捕集法 (Purge and Trap, PT) 易实现自动化，但仪器复杂，价格昂贵，在富集过程中容易产生泡沫和发生交叉污染，清洗流速也不易控制。

超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction, SFE) 为非溶剂型萃取法，常用的二氧化碳流体惰性无毒，可在相对安全、较低的温度和压力下萃取挥发性较小和热不稳定的化合物，特别适合于药物及食品分析；但需要昂贵的高压输送设备及大量高纯二氧化碳，而二氧化碳对许多分析物的溶解度较小，也限制了 SFE 的应用范围。

膜萃取 (Membrane Extraction, ME) 主要用于低挥发性的非极性物质，萃取干扰少，但它不适于分析极性成分，应用范围受膜质材料限制，膜对待测物浓度变化有滞后性，在野外现场实时分析也有一定困难。

加速溶剂萃取法 (Accelerated Solvent Extraction, ASE) 具有溶剂用量少、萃取时间短、提取液不需要过滤、自动化程度高等优点，但设备昂贵。

微波辅助萃取法 (Microwave Assisted Extraction, MAE) 具有试剂用量少、萃取时间短、污染低和回收率高等优点，有利于从固体样品中萃取分析物，但不易实现自动化，难以与分析仪器在线联用。

固相萃取法 (Solid Phase Extraction, SPE) 操作简单，溶剂量少，能进行自动控制和现场分析，但萃取过程需多步完成，易造成分析物流失，回收率偏低，重现性较差，萃取柱

易阻塞,仅限于挥发性不强的有机物分析。

三、固相微萃取方法及其特点

固相微萃取 (Solid Phase Microextraction, SPME) 是一种新型的样品前处理方法, 1989 年由加拿大 Waterloo 大学 Pawliszyn 教授的研究组首次提出, 1993 年形成商品化, 1994 年获美国匹兹堡分析仪器会议大奖。它无需溶剂, 实现了真正意义上的固相萃取, 适用于不同基质样品中挥发性和非挥发性物质的萃取分析。最初的商用装置有点像气相色谱的微量注射器 (见第二章图 2-2), 整个装置分为手柄和萃取头两部分, 手柄用于装卸萃取头, 可永久使用。石英纤维萃取头藏在不锈钢“注射针管”内, 可以通过手柄的推拉伸出或收回。萃取头伸出时它表面上的固定相涂层对样品中的有机物或无机离子进行萃取和富集, 涂层可以是均相聚合物, 也可以是多孔固相吸附剂。待萃取平衡后或未达平衡前, 将纤维萃取头收回针管内。若与气相色谱 GC 联用, 可将注射器针头直接插入进样室中, 推出萃取头升温热解吸后进行分析; 若与高压液相色谱 HPLC 联用, 则在进样前采用少量溶剂将萃取的待测物解吸后导入色谱柱分析。SPME 方法具有以下特点。

① 无溶剂萃取、成本低、装置简单、操作简便、快速、高效、灵敏。

② 取样、富集同步进行, 与气相色谱 GC 联用时可使取样、富集和进样一步到位, 减少样品流失。

③ 能与气相色谱 GC、高压液相色谱 HPLC、高效毛细管电泳 HPCE、质谱 MS、电感耦合等离子光谱 ICP 和离子色谱 IC 等多种现代分析仪器联用, 实现在线自动化操作。

④ 即使在平衡时, 萃取的量也很小, 不会对样品体系的原始平衡造成影响, 即可以忽略基质的消耗。这一特点, 使之可以有效地用于化学和生物反应过程中目标物的实时在位分析, 为研究药物的疗效和毒副作用、环境中污染物的变迁以及生物可利用性等问题, 提供了有效手段^[3,4]。

⑤ 很适合于现场或野外采样分析。根据 SPME 萃取平衡理论, 当样品体积足够大时, 萃取量只与待测物的分配系数、涂层体积和待测物在样品中的原始浓度有关, 而与样品体积无关。因此, 非常适用于江河、湖泊、城市或荒郊大气中微、痕量物质的萃取分析。萃取后的纤维头可收回针管内, 便于在分析前的密封保存与转移。

⑥ SPME 方法属于动态平衡萃取, 而非完全萃取。因此, 它与液-液萃取和固相萃取等完全萃取方法相比, 应用面更宽。但对复杂基质样品的纯化去干扰能力不如后两种方法, 因后者可经过多步处理, 最终达到纯化。

⑦ 分析物在纤维头涂层与样品基体中的分配系数大, 而样品体积很小, 则该分析物几乎可以完全从样品中被萃取, 即使是非挥发性物质^[5]。这一特点, 特别适用于因样品量太小、不能直接进行一般分析的试样。

第二节 历史的简要回顾

1989 年加拿大 Waterloo 大学 Pawliszyn 教授的研究组首次提出的 SPME 方法, 其发明灵感来源于激光解吸/气相色谱的进样技术。即将光纤末端反复多次插入待分析的高沸点物质溶液中, 萃取分析物至光纤表面, 挥发掉溶剂, 得到涂有分析物的光纤, 这一过程属于样品制备; 再将该光纤插入 GC 进样口, 导入脉冲激光, 使高沸点分析物在瞬间汽化, 进入气相色谱进行分析。

上述方法很好地解决了高沸点样品的快速进样问题,但由于裸纤的萃取效率很低,使分析物萃取至纤维表面的过程非常费时。后采用涂有聚合物保护层的商用光纤代替裸纤,萃取所需时间大为缩短。受这一技术的启发,加上种类繁多的毛细柱固定相,可为涂层的选择提供广阔空间,因此,一种利用少量固定相涂层纤维,作为萃取介质的新型样品前处理技术——固相微萃取 SPME 就诞生了。它的最初工作是将一段涂有聚合物的光纤维,浸入含有待测物的水样中,萃取后直接插入开口的 GC 进样器内,热解吸后进行分析。尽管因进样器开口会导致柱头压损失,但得出的结果却证明这种简单的方法是有效的,因为它能快速和重复从水样中萃取极性和非极性化合物^[6]。这就是产生 SPME 方法试与 GC 联用的一个重要开端。

1990 年,Arthur 和 Pawliszyn^[7]很快用 Hamilton 7000 注射器改装成第一个 SPME 萃取进样装置(见第二章图 2-1),解决了上述 GC 的开口进样问题。用涂有聚酰亚胺的光纤维,对地下水中的氯代烃、多氯联苯、氯代苯和苯系列化合物进行了 SPME-GC 萃取分析。萃取 1min,电子捕获检测器(ECD)检测,线性范围为 0.1~1.2 $\mu\text{g/L}$,检出限对每种化合物估算为 30pg。在浓度 1 $\mu\text{g/L}$ 溶液中,聚酰亚胺涂层纤维可用 5~6 周。这一工作向人们展示了 SPME 方法简便、快速、灵敏和有效的基本特性,引起了人们对它的极大关注。

1992 年,Potter 等^[8]首次采用毛细柱固定相:聚二甲基硅氧烷(PDMS)的涂层纤维,以 SPME-GC-ITMS(离子阱质谱)联用方法,萃取分析了水中苯系列(BTEX)污染物,测得苯的检出限(LOD)和定量限(LOQ)分别为 15pg/mL 和 50pg/mL,超过了美国环保局 EPA 524' 2 方法的要求 30~80pg/mL。线性范围为 5 个数量级,相对标准偏差 RSD 为 2.7%~7.5%。所建方法能有效测定室内空气、饮料、废水源中 BTEX 的污染水平,为毛细柱固定相用作纤维萃取头的涂层开创了先例。同年,Killam 等则采用改进的 SPME 萃取针与 Varian 8100 自动进样器结合,实现了 SPME-GC 的自动化操作^[5],使 SPME 方法可连续进行萃取、浓缩、解吸和进样,大大提高了工作效率,缩短了整体分析时间。同时,Louch 和 Pawliszyn 等又提出了平衡态下直接 SPME 的萃取理论,指出在一定实验条件下,萃取量与待测物的原始浓度成正比,奠定了方法的定量基础,并从动力学模型中说明了影响萃取量的各项因素^[9]。

1993 年,Buchholz 用极性聚丙烯酸酯涂层 PA 纤维头,萃取酚类极性化合物,检出限达到 ng/L,包括硝基酚在内的相对标准偏差 RSD 为 5%,比美国环保局用于测地下水的 604 和 625 方法更灵敏和准确^[10]。这是 SPME 方法首次对 2,4-二硝基酚和五氯酚等一般难于萃取富集的强极性化合物所显示出的独特优势。同年,又提出了顶空 SPME(HS-SPME)方法,用 PDMS 涂层纤维,测定了水中的 BTEX 和多环芳烃,对 BTEX 的取样只需 1min,而直接 SPME 方法(Di-SPME)需 5min。该方法可用于不同基质如空气、水、土壤、淤泥等样品中挥发性和半挥发性化合物的萃取分析,进一步扩大了 SPME 方法的使用范围,且可避免样品基质中一些诸如蛋白质、脂质等对纤维头带来的损害。认为辛醇/水的分配系数 $K_{OW} < 4$ 、亨利常数 $K_H > 90$ ($\text{atm}^\bullet \cdot \text{cm}^3/\text{mol}$) 的物质,均可有效应用 HS-SPME 方法萃取,并提出了 HS-SPME 的平衡萃取理论,为该方法的优化和定量提供了依据^[11]。同时,美国 Supelco 公司推出了可方便装卸纤维针,并可重复使用的手柄式装置,克服了注射器改装只能一次性使用的缺点,为 SPME 方法的推广应用创造了有利条件。

● 1atm=101325Pa,下同。

继后, 为了实现快速分离, 1995 年, Gorecki 等通过改进 GC 进样器, 使用涂有 SE-30 涂层的不锈钢丝可直接插入柱子前端, 当金属丝推出针头时, 通过电容放电迅速加热, 使其表面萃取物很快解吸, 显著改进了进样谱带的展宽。与细孔径短毛细管柱的高速 GC 色谱结合, 使 BTEX 分离只需 8.4s, 在 150s 内分析 28 种卤代烃, 整体时间不超过 5min^[12]。Zhang 等在使用 HS-SPME 萃取时, 将 Hamilton 1710RN 针的推杆和针头卸下, 用一支外径 673 μm 的石英毛细柱代替拉杆, 在其封死的顶端套上一段长 1cm、厚 340 μm 的 PDMS 管用作萃取头, 并通过插入其内的另一支毛细柱导入液态 CO_2 以降低涂层温度, 同时, 对样品基质加热, 在涂层和顶空区形成一个温差带, 提高了目标物的分配系数, 增大了涂层的萃取容量, 即使对黏土这样较难检测的样品, 检出限也能达到 Sub-ng/L 的水平^[13]。他们还将 HS-SPME 与 HS 法结合, 在 HS-SPME 萃取同时抽取定量顶空气体, 然后进行 GC 分析, 结果表明比起单一的 HS-SPME 和 HS 法, 具有更高的灵敏度和更宽的分析范围。

1995 年, Chen 等^[14]提出了一种 SPME-细径 HPLC 联用的微体积解吸接口, 用 7 μm PDMS 纤维头萃取水中 13 种半挥发和非挥发性多环芳烃, 结合紫外检测的 HPLC 方法进行了评价, 得到的保留时间与定体积直接进样完全一致, 在优化解吸条件下, 只需 0.5 μL 流动相 (90/10 $\text{CH}_3\text{Cl}/\text{H}_2\text{O}$) 即可完成解吸, 无携带或滞留, 峰的重现性 RSD 为 5.8%~6.9%。这为 SPME 方法用于半挥发和不挥发物质的萃取分析, 揭开了新的一页。

随后, Pawliszyn 小组又推出管内 SPME 萃取法, 把纤维头放在管内或针头内, 或把萃取相涂在毛细管内。前者一般均用于静态扩散取样, 可方便用于现场的定点和累积采样分析, 如室内外空气、临床化验、食品卫生监控和野外环境监测等, 为以后 SPME 在现场取样后的保存转递、临床非侵入性分析、工业卫生学方面的扩大应用奠定了基础^[15,16]。后者则以管内涂层用作萃取介质, 产生了毛细管微萃取技术 (Capillary Microextraction), 一般用于动态取样。Eisert 等^[17]首次用 60cm $\times$ 0.25mm 内涂 Omegawax250 (聚乙二醇类固定相) 的毛细柱与高效液相色谱在线联用, 建立了萃取水中维他命和手性化合物的全自动分析方法, 同样也可与微升级-液相色谱和毛细管电泳方法联用; 提出了管内固相微萃取 (Intube SPME) 的动力学模型, 列出了预测不同萃取平衡时间的方程式。基于上述管内微萃取建立的联用方法, 为日后 SPME 扩大在生物、药物范畴内的应用创造了条件。

在发展纤维涂层方面, Supelco 分别于 1996 年和 1997 年提出了吸附型多孔固相涂层: 聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯 (PDMS/DVB) 和聚二甲基硅氧烷/碳分子筛 (PDMS/CAR)。这一类混合型涂层的机械强度不如均相液体涂层 PDMS 和 PA 高, 且存在不同化合物之间的竞争吸附, 平衡时间一般也较长, 但萃取量大, 灵敏度高。通过调节孔结构和孔隙率可方便改变选择性和萃取效率, 更适用在非平衡态下场地的快速取样分析。其中 PDMS/CAR 特别适用于气样和液样中小分子化合物的富集萃取。这不但扩大了涂层种类, 也为混合型涂层的制取方法提供了新的思路。1997 年印度旁遮普大学的 Chong 和 Malik^[18], 发展出用溶胶-凝胶技术涂制在石英纤维上的 PDMS 涂层, 使其能牢固键合在纤维表面, 具有三维多孔网状结构, 最高使用温度提高到 320 $^{\circ}\text{C}$, 抗溶剂冲洗, 传质速度快, 萃取效率高。这是 SPME 萃取相涂层方法的一项突破性进展, 为随后各类新涂层的迅速出现起到了关键作用。

1998 年, Nickerson^[19]提出把萃取相涂在瓶内, 直接对瓶内试样进行萃取。显著增加了平衡态下的萃取量, 提高了灵敏度, 但因瓶内涂层厚度和均匀性难以控制, 影响结果的重现性。

1999 年, 荷兰学者 Baltussen 等^[20]提出将 PDMS 液体涂在搅拌棒上, 直接放到样品溶

液中进行搅拌萃取。在 10mm 和 40mm 长的搅拌棒上可分别涂上 $55\mu\text{L}$ 和 $219\mu\text{L}$ 涂层,前者适用于 10~50mL 样品体积,后者则可用至 250mL 样品体积,平衡时间为 30min 和 60min。萃取后的搅拌棒放入 GC 热解吸后,质谱检测,测得水中多环芳烃的检出限为 $0.01\sim 0.1\text{ng/L}$ 。他们还提出了这种搅拌棒萃取方法 (SBSE) 的理论,为以后的进一步发展打下了基础。

第三节 近十年来固相微萃取方法的快速发展

SPME 方法近十年来得到了迅速发展。通过萃取头的形状结构、涂层材料和萃取模式的不断改进和创新,与气相色谱、高效液相色谱等分析仪器的高通量、自动化联用,更完善进样接口的研制和商品化,场地 SPME 分析仪器的简便化和小型化等等,使得这种技术可实现对气、液、固等多种基质的样品,进行快速、高效和高灵敏的萃取分析,检出限在 $\mu\text{g/L}$ 至 ng/L 数量级,相对标准偏差一般为 $5\%\sim 10\%$ 。分析对象除有机化合物外,近年来还用于金属有机化合物及其形态环保分析,应用领域不断扩大。至今,已出版了三本 SPME 的专著^[21~23]和一本手册^[24]。发表的文献从 1999 年的 400 余篇增加到如今的近 4000 篇,国内有 1000 多篇;内容涉及环境保护、食品、临床、医药、天然产物、工业卫生、生物、毒理和法医学等。其中在各领域中的综述 [Review],在 2000 一年中在同一 JChromatogrA 期刊上就发表了 6 篇,而其总量,近五年 (2004~2008) 仅从 SCIE 网站上发表的已达 240 余篇,充分说明了 SPME 这项技术的广泛应用前景,及其迅速发展的成效。为此,对 Waterloo 大学 Pawliszyn 教授领导的研究组,在开拓和发展 SPME 技术所作的贡献受到了人们的高度赞扬。

以下重点介绍近几年来 SPME 方法发展的几个方面。

一、萃取头的改进与发展

SPME 技术的核心是涂有特定涂层的萃取头。常用的萃取头是以熔融石英纤维为载体,涂上一层固定相,与其他组件组合而成。近年来,萃取头从结构形状、固相涂层、载体材料三个方面都得到了深入研究。

萃取头的结构形状,目前已由单根纤维发展到纤维簇、棒状、管状、针头状和薄膜状等多种形式。

1. 纤维状结构的萃取头

通常有膜型和体型两种形式。

(1) 膜型结构 不同材质载体上涂渍固定相涂层的萃取头,都可认为是膜型结构,萃取时起作用的是膜状涂层,这是当今使用最广的一种。它的发展主要表现在涂层性质和纤维载体材料方面。

涂层性质是萃取头的核心,它决定了 SPME 方法的灵敏度和选择性,近年来研究新涂层的文献数量迅速增加,已发展出 50 多种非商品化新涂层^[25~27],其主要制备方法有物理涂敷、溶胶-凝胶、电化学聚合、分子印迹技术等,新涂层中诸如冠醚、杯芳烃、环糊精、富勒烯 C_{60} 等结构,均有分子识别选择性,特别对一些同族异构体。导电性聚合物属离子交换型涂层,对无机离子和离子型有机化合物有特殊选择性,适用于复杂体系中特定目标物的萃取和富集。还有石墨、活性炭、硅胶或表面改性硅胶等无机化合物涂层,它们均是多孔结构,表面积大,只需少量薄膜层就有大的吸附容量^[28,29]。2002 年 Pawliszyn 小组以烷基二

醇硅胶等通道限进介质作为 SPME 涂层, 为直接测定生物样品时, 不需事先除去蛋白质等大分子化合物开创了先例^[30,31]。上述新研发出的涂层, 克服了现有商品纤维头涂层种类有限、有机相涂层的耐温性较差、使用寿命短、价格贵等不足, 大大扩大了应用范围。有关涂层的详细内容将在第四章中讨论。

在纤维材料方面, 石英纤维具有很好的耐热性和化学稳定性, 表面也易于固定相的涂敷、键合和交联固化处理。缺点是在操作中易脆断, 故而发展出用铂金、银、不锈钢和合金等多种金属丝作为涂层载体。如 Pawliszyn 研究小组将吡咯用电沉积法承载在铂金丝上, 形成 SPME 导电聚吡咯涂层, 分别与流动注射、高效液相色谱、质谱和电化学方法联用, 成功实现了水样和尿样中阴、阳离子化合物的直接萃取检测, 无需衍生化, 通过调节适宜电位可高效、高选择性地萃取目标物, 避免共存物的干扰^[32,33]。Farajzadeh 等用醋酸纤维与聚氯乙烯混合涂敷在银丝上, 萃取测定水样中 $C_{10} \sim C_{15}$ 高碳烷烃^[34]。Giardina 等^[35]则用低温玻璃碳包封的微粒硅胶, 通过 Sol-gel 方法固载在不锈钢丝上, 用于萃取分析人体呼吸气中 5 种与肺癌相关的挥发性有机物, 回收率比商用涂层高 3~8 倍, 检出限达 pmol, 克服了在粘涂方法中, 采用环氧树脂黏合剂对分析结果带来的影响^[36]。近年来, PDMS/DVB、PDMS/CAR、PDMS/DVB/CAR 以及 PDMS 等商品纤维头, 也改用具有弹性的金属合金丝代替石英纤维, 克服了后者容易脆断、不耐用等问题^[37]。

(2) 体型结构 在 SPME 萃取时起作用的是纤维本身, 如铅笔心、玻璃碳、活性炭纤维和各种经表面处理的金属丝等。采用商品石墨铅笔心通过磨细、表面活化处理, 制作 SPME 碳质纤维, 是由 Wan 等^[38]首次提出。他们用它结合 GC-ECD 萃取测定水样中 2-氯酚和林丹等农药, 检出限达 $0.005 \sim 1 \text{ ng/mL}$, 水中腐殖酸的存在并不影响萃取结果。继后, 伊朗大不里士大学的 Djozan^[39]将铅笔心制作的纤维, 改用 600°C 水蒸气活化处理, 降低了成本, 简化了制作方法, 提高了纤维抗高温的能力, 检出限可达 pg/mL 。他们还用这种铅笔心纤维头结合 GC-FID (氢火焰离子化检测器), 萃取测定了活体昆虫嗅觉腺体释放出的自卫性挥发物, 灵敏度比商品 PDMS 高 1000 倍, 方法快速、高效^[40]。云南大学方瑞斌等首次在国内研制成石墨碳质纤维^[41], 对六种有机氯农药的检出限比商品 PDMS 和 PA 低 1~2 个数量级^[42]。Aranda^[43]则用多晶石墨铅笔心和玻璃碳制成细棒, 用 SPME-HPLC 萃取测定水中非离子型表面活性剂。上海交通大学贾金平等^[44]研制出膜型与体型活性炭纤维, 它比一般活性炭具有更大的比表面积和孔容积, 其中体型碳纤维萃取量约是膜型纤维的 4~6 倍, 性能优异, 应用面广^[45~48]。上述碳质纤维的主要特性是吸附量大、耐热、耐酸、耐碱、吸附和解吸特性好、增强了纤维的强度、提高了使用寿命, 但实验精度不如膜型涂层纤维。近年来用阳极电镀法制得铝^[49]、铜^[50]和锌^[51]等金属丝用作 SPME 萃取头, 结合 GC 直接从气相或溶液顶空, 进行固相微萃取, 可测定醇、胺和苯硫酚类极性化合物。这类金属丝表面分别形成一层多孔金属氧化物, 层厚可由电镀过程的条件控制。它们吸附量大、坚固、耐用、价廉、制作简单、重现性好、精度高, 可吸附萃取极性物, 也可以有效萃取弱极性或非极性的石油类产品和苯系列化合物。

2. 纤维簇萃取头

Xia 等^[52]改变了传统的单根纤维作为萃取头的方式, 将 15 根涂有 C_{18} 键合硅胶、直径约为 $33 \mu\text{m}$ 的石英纤维扎在一起, 制备成一个纤维簇萃取头, 它的表面积是 $100 \mu\text{m}$ 聚合物涂层纤维的 500 倍, 萃取速率比商用纤维快 10 倍, 吸附容量得到大大提高。但该装置制作较为困难, 且与商用手柄不能配套使用。

3. 微型搅拌棒

1999年首先由荷兰学者 Baltussen 提出^[20], 于2000年商品化。搅拌棒一般为长度10~40mm内封铁心的玻璃管, 在其外部套上一段等长的医用PDMS橡胶管用作萃取相(壁厚0.3~1mm), 其体积一般为55~250 μ L, 比纤维SPME和In-tube SPME大50倍以上, 相比(萃取相与样品相的比值)要高100~400倍, 因此这种方法具有很高的富集效率, 即使对辛醇/水的分配系数 $K_{O/W} < 100$ 的化合物^[53], 见图1-1。检出限小于ng/L, 比传统的纤维型SPME下降1~2个数量级, 凸现出这一技术在痕量目标物测定中的优势。由于萃取时搅拌棒自身完成搅拌, 又可避免了常用搅拌子的竞争吸附。当今德国Gerstel公司已将SBSE商品化并以Twister命名。近几年来的发展, 主要表现在增加萃取相的种类、极性和稳定性, 改善快速有效的解吸装置和扩大应用范围。

关亚风研究组在SBSE的涂层、热解装置及应用研究方面做了很多很好的工作^[54~57]。他们首次用溶胶-凝胶技术在玻璃棒上键合交联PDMS, 涂层厚度达36 μ m, 这种涂层最高使用温度可达300 $^{\circ}$ C, 耐溶剂冲洗。萃取分析蔬菜中有机磷农药, 检出限 $LOD \leq 0.15$ ng/g, 在海水中有机氯农药用ECD检测 LOD 为0.05~2.53ng/L, 还研制了专用的热解装置。近来又采用耐热工程塑料——聚醚砜酮(PPEsk), 通过浸入沉淀方法涂覆在内封磁心的玻棒表面, 制得针对中等极性和极性化合物的萃取分析, 对苦参中有机氯农药的 LOD 为3~17 μ g/g, $RSD < 17\%$, 回收率达82%~128%^[57]。

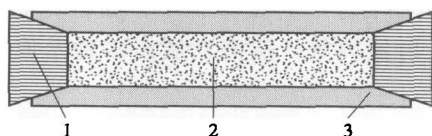


图 1-2 双相搅拌棒的示意

1—磁性棒塞；2—碳；3—PDMS

采用顶空和直接两种模式萃取, 结合GC-MS有效测定了蔬菜、食品和环境样品中诸多极性化合物。对极易挥发的 $C_1 \sim C_4$ 气体也有很高的富集能力。

Lambert等^[59]则用烷基二醇硅烷(ADS)的限进材料(RAM)作为SBSE涂层, 可分馏生物样品中的蛋白质, 克服了在直接萃取血浆等生物样品时, 涂层受蛋白质的污染堵截, 增加了使用寿命, 也简便了生物样品的制备方法。通过改变涂层上的功能基团, 如 C_4 、 C_8 或离子交换基团, 能萃取更宽范围的极性化合物, 扩大了RAM-SBSE方法对生物分析使用的多功能性。目前SBSE这一项技术已成功应用于环境样品中的污染物^[60~62]、食品中的风味物和农药残留^[63~65]、药物^[66]、生物样品中的相关物质及其代谢物等的分析^[67, 68]。最近David等^[69]还将SBSE方法在环境、食品和生物医学方面的应用列表作了综述。但是, 该方法的主要缺点是搅拌棒从样品中移去、清洗、擦干均是手工操作, 费时费力, 也易引入误差。此外, 尚需配备可自控的热解析装置和与之配套的柱头冷聚焦装置, 以及快速程序升温蒸发器(PTV)等设备, 这不但提高了资金投入, 也增加了操作的复杂性, 在一定程度上限制了它更为广泛的应用, 特别在国内。

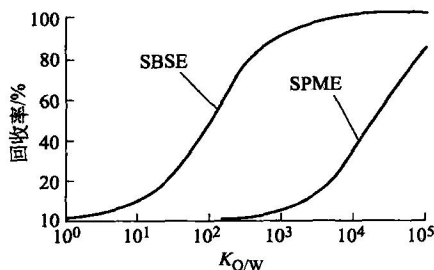


图 1-1 比较 SBSE 和 SPME 两种方法中 $K_{O/W}$ 与回收率的关系

为了改善极性化合物的回收率, Bicchi 等^[58]应用一种具有吸收-吸附功能的双相搅拌棒, 如图 1-2 所示。

图 1-2 中采用长 1cm、壁厚 0.5mm 或 1mm 的商品 PDMS 橡胶管, 内填充有活性炭一类的吸附剂, 管子两端用一段涂有聚四氟乙烯的磁性搅拌棒堵塞,