



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106959349 B

(45)授权公告日 2019.04.26

(21)申请号 201710250191.0

G01N 30/08(2006.01)

(22)申请日 2017.04.17

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

CN 1500540 A, 2004.06.02,

申请公布号 CN 106959349 A

CN 205920097 U, 2017.02.01,

(43)申请公布日 2017.07.18

审查员 李哲

(73)专利权人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌区八一路
299号

(72)发明人 邢钧 叶晓雨 黄文瑜

(74)专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限公司 42102

代理人 唐万荣 徐晓琴

(51)Int.Cl.

G01N 30/16(2006.01)

G01N 30/06(2006.01)

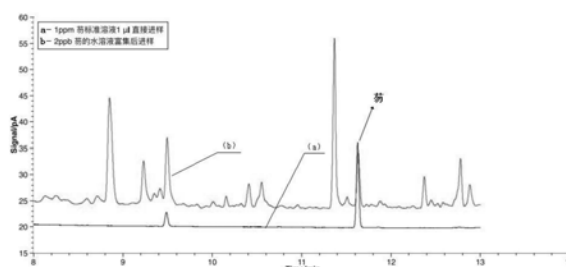
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种微柱富集进样方法

(57)摘要

本发明属于样品前处理领域,具体公开了一种微柱富集进样方法,所述方法是以具有萃取功能的微萃取柱作为进样针,使样品流过进样针,期间分析物被萃取到进样针内的萃取介质中;然后,在进样针内注满有机溶剂,并保持一定时间,使被萃取的分析物溶入微萃取柱内的有机溶剂中形成进样溶液;最后,封闭进样针的一端,将另一端直接插入气相色谱进样口,使进样溶液受热膨胀自动从进样针释放到进样口中,完成进样操作。本发明所述方法集分离、富集及进样于一体,样品及有机溶剂用量少、富集效率高;省去了固相萃取方法中必须的氮吹浓缩操作,可大幅度提高样品前处理的工作效率。



1. 一种微柱富集进样方法,其特征在于,包括如下步骤:以具有萃取功能的微

萃取柱作为进样针,使样品流过进样针,期间分析物被萃取到进样针内的萃取介质中;然后,在进样针内注满有机溶剂,并保持一定时间,使被萃取的分析物溶入到微萃取柱内的有机溶剂中形成进样溶液;最后,封闭进样针的一端,将另一端直接插入气相色谱进样口,使进样溶液自动从进样针释放到进样口中,完成进样操作,所述微萃取柱中萃取介质所占体积不超过微萃取柱内总体积的90%,所述有机溶剂在进样针内保持的时间不超过45min,所述样品溶液流过进样针的流速不超过1mL/min。

2. 根据权利要求1所述的微柱富集进样方法,其特征在于,具体包括如下步骤:

(1) 将微萃取柱制备成注射器的微萃取针头;

(2) 将微萃取柱针头与注射器针筒紧密连接,利用输液装置使活化液流过微萃取柱,完成对微萃取柱的活化;

(3) 利用恒流输液装置使样品溶液以一定的流速流过微萃取柱,完成上样操作;

(4) 利用输液装置使清洗液流过微萃取柱,完成对微萃取柱的清洗,并使微萃取柱内的水尽可能排出;

(5) 利用输液装置在微萃取柱内注满有机溶剂,用硅胶垫封闭微萃取柱的两端并静置一段时间,使被萃取的分析物溶入有机溶剂中形成进样溶液;

(6) 最后,取下微萃取柱一端的硅胶垫,另一端保持封闭,将开口端直接插入气相色谱进样口,使进样溶液自动从微萃取柱释放到进样口中,完成进样操作。

3. 根据权利要求1或2所述的微柱富集进样方法,其特征在于,微萃取柱的内径为0.05mm~0.6mm,外径为0.06mm~0.7mm,长度为2cm~10cm。

一种微柱富集进样方法

技术领域

[0001] 本发明属于样品前处理领域,具体涉及一种微柱富集进样方法。

背景技术

[0002] 样品前处理的主要目的是将样品中的待测目标物质通过提取、净化、浓缩的过程使之转化成可测定的形式,并去除样品基质中的干扰物质。传统的样品前处理方法包括索氏抽提、液-液萃取(LLE)等,然而这些方法在不同程度上具有处理时间长,操作繁琐、有机溶剂消耗量大等不足。为解决这些问题,后来出现了一系列新的样品前处理方法,如超声波辅助萃取(USAE)、微波辅助萃取(MWAE)、加压溶剂萃取(PLE)及超临界流体萃取(SCFE)等都能有效提高对固态样品中目标物的提取效率,而固相萃取、固/液相微萃取等则是目前液态样品的提取、净化与浓缩的代表性方法。由于本专利不涉及固态样品的提取,因此,下文仅介绍液态样品前处理有关的研究背景。

[0003] (1) 固相萃取(SPE)

[0004] 固相萃取(SPE)是目前应用最广泛的一种前处理方法,其原理是利用固相吸附对样品中目标物或干扰物的选择性吸附,使目标物与干扰物分离。典型的SPE的形式是SPE小柱和圆盘,其中SPE小柱应用最为广泛。后来,还出现了一些新的SPE方式,如磁性固相萃取(MSPE)、基质分散固相萃取(MSPD)等。这些新的SPE方式与采用SPE柱的萃取方式相比,主要差异是上样方法,其余步骤则基本相同。

[0005] SPE小柱就是将固体吸附剂装填于一根类似注射器针筒的萃取装置,当样品流过SPE小柱时,分析物被萃取到吸附剂上。SPE操作一般包括四个步骤,即活化、上样、清洗和洗脱。对于SPE而言,目标物的理论富集倍数就决定于上样溶液的体积与用于分析测定的溶液体积之比,因此,为了提高检测灵敏度,通常还需要借助氮吹等手段,将含有目标物的洗脱液浓缩到一定的体积,然后用微量进样针进样。

[0006] 磁性固相萃取(MSPE)的特点是在固体吸附剂含有磁性内核。使用时将磁性的吸附剂直接分散于液态样品中,在萃取结束后,利用磁铁来回收吸附了分析物的吸附剂。后续的清洗、洗脱等操作则与前述的SPE方法没有显著的差别。

[0007] 基质分散固相萃取(MSPD)主要用于生物组织样品的前处理,特点是将吸附剂与切碎的生物组织混合,并在研钵中适度研磨,利用吸附剂将样品进一步撕裂,以提高萃取效率。然后将吸附剂从样品中分离出来,再按照普通SPE的方法完成吸附剂的清洗及分析物洗脱等操作。

[0008] (2) 固相微萃取(SPME)

[0009] 固相微萃取(SPME)是一种无溶剂萃取方式,并且集采样、浓缩及进样于一体,操作步骤简单。典型的装置是纤维固相微萃取(In Fiber SPME)。此外,还有管内固相微萃取(In-tube SPME)、固相微萃取搅拌棒技术(Stirring bar sorptive extraction, SBSE)等新的形式。这些新形式虽然有其自身的特点,但都不具备“无溶剂”这一优势。

[0010] 纤维固相微萃取(In Fiber SPME)的特点是将分析物萃取到纤维表面所覆盖的吸

附涂层中,它既可以与气相色谱联用,也可以与液相色谱联用。与气相色谱联用时,是将萃取头直接插入进样口,通过热解析使所萃取的分析物从萃取头中释放出来,以完成进样操作。若与液相色谱联用,则需要利用有机溶剂将分析物洗脱下来,然后利用微量进样器进样。

[0011] 管内固相微萃取(In-tube SPME)的特点是将分析物萃取到毛细管内所含的萃取材料中,该技术目前主要用于与液相色谱联用。若与气相色谱联用,则需要先将分析物洗脱下来得到洗脱液,然后利用微量进样器进样。

[0012] 搅拌棒固相微萃取(Stirring bar sorptive extraction, SBSE)的特点是将分析物吸附到搅拌棒表面所覆盖的萃取材料中,它既可以气相色谱联用,也可以与液相色谱联用。与气相色谱联用时,有两种进样方式,一是先将分析物洗脱下来,然后氮吹浓缩,最后利用微量进样器进样;二是将萃取了分析物的搅拌棒置于特制的装置中,加热使分析物气化,然后通过专用气路用载气将分析物导入气相色谱的进样口。与液相色谱联用时,则需要将分析物从搅拌棒上洗脱,然后用氮气将洗脱液吹干并用流动相复溶,最后再利用微量进样器进样。

[0013] (3) 液相微萃取

[0014] 液相微萃取与传统的液液萃取在本质上是完全相同的。不同之处是液相微萃取(mLLE)是利用极少量的有机溶剂(数百微升)对几百毫升样品进行一次萃取,操作步骤与传统的LLE没有多少区别。在此基础上,后来还出现了一些新的方法,如单滴微萃取(SDME)、分散液相微萃取(DLLME)及中空纤维液相微萃取(HF-LPME)。

[0015] 单滴微萃取(SDME)的特点是从微量进样器中推出适量有机溶剂,使之悬挂于进样器的针尖形成萃取相液滴,然后将其置于样品溶液中或样品的顶空部分进行萃取。萃取结束后,将萃取相液滴吸回到进样器中,然后进样。

[0016] 分散液相微萃取(DLLME)的特点是将少量有机溶剂(辅以一定比例的增溶剂)作为萃取剂分散于样品中的萃取方法,萃取结束后通过离心等方法实现相分离,然后用微量进样器将萃取剂吸出,并取其中的一部分用于进样。

[0017] 中空纤维液相微萃取(HF-LPME)是取一段管壁具有微孔的小管作为萃取管(用于稳定萃取溶剂),将其一端套在微量进样器针头上;再从微量进样器向小管注满萃取溶剂,并使萃取管浸没在样品溶液中,分析物就会被萃取到有机溶剂中。结束萃取后,将萃取溶剂吸回微量进样器并取下萃取管,即可进样。

发明内容

[0018] 本发明的目的在于提供一种微柱富集进样方法,该方法是一种新的样品前处理方法。

[0019] 为实现上述发明目的,本发明采用的技术方案为:

[0020] 一种微柱富集进样方法,包括如下步骤:以具有萃取功能的微萃取柱作为进样针,使样品流过进样针,期间分析物被萃取到进样针内的萃取介质中;然后,在进样针内注满有机溶剂,并保持一定时间,使被萃取的分析物溶入到微萃取柱内的有机溶剂中形成进样溶液;最后,封闭进样针的一端,将另一端直接插入气相色谱进样口,使进样溶液自动从进样针释放到进样口中,完成进样操作。

[0021] 进一步地,本发明提供一种所述微柱富集进样方法的具体操作,包括如下步骤:

[0022] (1) 将微萃取柱制备成注射器的微萃取针头;

[0023] (2) 将微萃取柱针头与注射器针头紧密连接,利用输液装置使活化液流过微萃取柱,完成对微萃取柱的活化;

[0024] (3) 利用恒流输液装置使样品溶液以一定的流速流过微萃取柱,完成上样操作;

[0025] (4) 利用输液装置使清洗液流过微萃取柱,完成对微萃取柱的清洗,并使微萃取柱内的水尽可能排出;

[0026] (5) 利用输液装置在微萃取柱内注满有机溶剂,用硅胶垫封闭微萃取柱的两端并静置一段时间,使被萃取的分析物溶入微萃取柱内的有机溶剂中形成进样溶液;

[0027] (6) 最后,取下微萃取柱一端的硅胶垫,另一端保持封闭,将开口端直接插入气相色谱进样口,进样溶液受热膨胀自动从进样针释放到进样口中,完成进样操作。

[0028] 上述方案中,所述微萃取柱中萃取介质所占体积不超过微柱内总体积的90%。

[0029] 上述方案中,所述微萃取柱的内径为0.05mm~0.6mm,外径为0.06mm~0.7mm,长度为2cm~10cm。

[0030] 上述方案中,所述样品溶液流过进样针的流速不超过1mL/min。

[0031] 上述方案中,所述有机溶剂在进样针内的保持时间不超过45min。

[0032] 本发明的有益效果:

[0033] (1) 本发明所述方法集分离、富集及进样于一体,可以提高样品前处理的工作效率,并减少引入测定误差的机会;普通的固相萃取操作步骤中,通常需要使用若干毫升有机溶剂将被吸附的目标物从固相萃取柱内洗脱下来,然后通过氮吹等方式将含有目标物的洗脱液浓缩或氮吹近干后再重新定容至一定体积(数十至一百微升),最后利用微量进样器吸取一定量的浓缩液进样;而采用本发明所述方法,则可省去浓缩步骤,有利于提高样品前处理的工作效率;并且,在省去氮吹操作后,显然可避免氮吹及重新定容等操作所引入的测定误差;

[0034] (2) 采用本发明所述方法对样品进行前处理可以获得更高的富集倍数;在利用微量进样器进样时,为了保留足够的样品溶液用于清洗进样针,同时为了方便取样,浓缩后的样品溶液体积通常为数十到一百微升;而本发明所述方法是直接利用微萃取柱进样,微萃取柱进样针内的有机溶剂总量仅有约两微升,实验证实可获得更高的富集倍数;

[0035] (3) 本发明所述方法更为绿色环保;与传统的固相萃取方法相比,本发明所述方法不仅有有机溶剂使用量由毫升级降低至微升级,而且由于省去了氮吹浓缩过程,还可以避免有机溶剂挥发对操作人员及环境的危害;

[0036] (4) 本发明所述方法更适合量少的样品前处理:由于采用本发明所述方法具有更高的富集效率,因此,在浓缩倍数相同的情况下,本申请所述方法所需的样品量可以更少。

附图说明

[0037] 图1为芴的水溶液(100ng/L)经本发明所述微柱富集进样方法处理后得到的色谱图(b)和直接进样芴的二氯甲烷溶液(1μg/L)得到的色谱图(a)。

具体实施方式

[0038] 为了更好地理解本发明,下面结合实施例进一步阐明本发明的内容,但本发明的内容不仅仅局限于下面的实施例。

[0039] 实施例1

[0040] 本实施例以多环芳烃样品芴作为分析目标物考察方法的富集效果

[0041] (一)、微萃取柱进样针的制备

[0042] 1、毛细管的预处理

[0043] (1) 石英毛细管(320 μ m, I.D.)用1mol/L NaOH溶液,以0.1mL/min流速冲洗2h后,柱内充满NaOH溶液,两端用硅橡胶封口,置于气相色谱柱箱内50℃反应2h;

[0044] (2) 用超纯水,以0.2mL/min流速冲洗至中性;再用1mol/L HCl,以0.1mL/min流速冲洗1h,接着用超水洗至中性;

[0045] (3) 然后在160℃下通氮气干燥10h。

[0046] 2. 辛基微萃取柱的制备

[0047] 将140 μ L四乙氧基硅烷(TEOS)和正辛基三乙氧基硅烷(C8-TEOS)加入到300 μ L甲醇、20 μ L水和20 μ L 0.5mol/L盐酸的混合溶液中,搅拌,放入60℃水浴中水解3h;冷却至室温后,加入10mg十二烷胺并混合均匀,用一次性注射器充入预处理过的石英毛细管中,总长度25cm,两端用硅橡胶封口,于40℃下反应12h;然后用无水乙醇冲洗毛细管柱3h来除去十二烷胺和没有反应完的硅烷偶联剂,最后将柱子置于60℃烘箱中干燥48h,干燥好的整体柱截成5cm的小柱备用,其中萃取介质约占微萃取柱柱内体积的50%。

[0048] 3. 微萃取柱进样针的制作

[0049] 取一支注射器针头,去除注射器针头的金属针管部分,并在针头座的底部塞入大小适当、厚度约为2.0mm的硅胶垫,截取5cm长的微萃取柱,使其垂直穿过针头座内的硅胶垫,微萃取柱即可固定在针头座上,得到微萃取柱进样针。

[0050] (二)、样品分析

[0051] 1. 样品:芴水溶液(100ng/L),作为样品溶液;芴的二氯甲烷溶液(1mg/L),为对比组。

[0052] 2. 样品前处理与进样:

[0053] 将微萃取柱进样针(针头)紧密地与容量为1mL的注射器针筒连接,分别在针筒中注入0.5ml甲醇和0.3ml去离子水,利用注射泵使之依次流过微萃取柱,完成对微萃取柱的活化操作。再在针筒内加入1ml样品溶液,利用注射泵使之以60 μ L/min的流速流过微萃取柱,完成上样操作。然后,在针筒内加入0.2ml去离子水,利用注射泵对微萃取柱进行清洗,并用取另一注射器向微萃取柱内吹空气,将微萃取柱内的水尽可能排出。利用注射器注射泵在微萃取柱内注满异丙醇,用硅胶垫封闭微萃取柱的两端并静置20min。最后,取下微萃取柱一端的硅胶垫,将开口端直接插入气相色谱的进样口进样。

[0054] 3. 分析方法

[0055] 分析仪器:气相色谱仪,配有氢火焰离子化检测器(GC-FID)。

[0056] 主要色谱条件:进样口温度250℃,不分流模式下进样2min;检测器温度260℃;程序升温方法:初温80℃,保持3分钟,以10℃/分钟升至270℃,40℃/分钟升至290℃,保持1分钟。

[0057] 4.评价方法与结果

[0058] 利用GC-FID分别测试采用本发明所述微柱富集进样方法处理后的样品溶液(100ng/L)和标准溶液(1mg/L,进样量1 μ L),得到的色谱图见图1。分别对谱图中目标物峰面积积分并计算峰面积之比,可以得到:采用本发明所述微柱富集进样方法处理后的样品溶液富集倍数约为230倍。

[0059] 实施例2

[0060] 本实施例以7种有机氯农药作为分析目标物考察方法的应用结果

[0061] (一)、微萃取柱进样针的制备:同实施例1;

[0062] (二)、样品分析

[0063] 1.样品:用7种有机氯农药(α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH,P,P-DDE,P,P-DDD及O,P-DDT)配制成浓度均为100ng/L混合水溶液,用作样品溶液;用上述7种有机氯农药配制成浓度均为100 μ g/L的二氯甲烷溶液,用做对照组。

[0064] 2.样品前处理与进样:同实施案例1

[0065] 3.分析方法

[0066] 分析仪器:气相色谱仪,配质谱检测器(GC-MS)。

[0067] 主要色谱条件:进样口温度250 $^{\circ}$ C,不分流模式下进样2min。程序升温条件:100 $^{\circ}$ C保持1min,然后10 $^{\circ}$ C/min升至280 $^{\circ}$ C并保持2min。质谱采用选择离子模式(SIM)采集数据。

[0068] 4.评价方法与结果

[0069] 利用GC-MS(SIM)分别测试采用本发明所述微柱富集进样方法处理后的混合有机氯样品溶液(100ng/L)和标准溶液(100 μ g/L,进样量1 μ L),并分别计算各目标物的信噪比,结果见表1。表1显示,在目标物浓度比为1000的情况下,经本发明所述微柱富集进样方法处理后的样品溶液中,7个目标物信噪比下降到6.1到25.1的范围之内,由此说明,本发明所述微柱富集进样方法具有非常好的富集效果。

[0070] 表1有机氯农药富集前后信噪比数据

[0071]

分析物	信噪比		浓度之比	信噪比之比
	直接进样 (100 μ g/L)	微柱进样针 (100 ng/L)		
α -HCH	1530	250	1000	6.1
β -HCH	1838	298	1000	6.2
γ -HCH	657	175	1000	3.8
δ -HCH	2308	441	1000	5.2
P,P-DDE	7801	311	1000	25.1
P,P-DDD	1928	327	1000	5.9
O,P-DDT	1569	136	1000	11.5

[0072] 显然,上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的实例,而并非对实施方式的限制。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而因此所引申的显而易见的变化或变动仍处于本发明创造的保护范围之内。

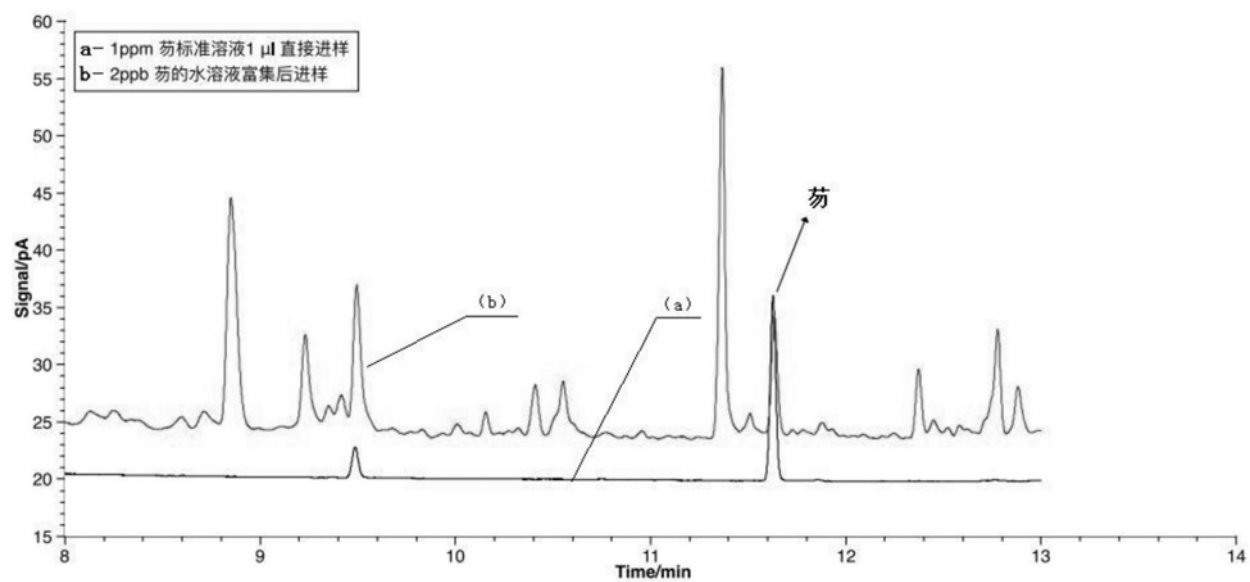


图1