

SPE 固相萃取技术之固相萃取参数的优化

7. 固相萃取参数的优化

在建立了初步的固相萃取方法后就可以用空白样品添加目标化合物后对添加物进行萃取。然后，根据分析结果对初步的固相萃取方法进行优化，以达到最佳的效果。优化过程主要考虑的因素有：

回收率是否达到检测要求？

能否将萃取过程缩短以提高效率？

能否将溶剂使用量减少以节省成本、提高效率、减少污染？

如果检测结果发现回收率较低，应该首先检查整个操作过程是否有错。如果没有，就要从方法本身查找原因了。可以从以下几个方面着手检查：

1. 洗涤溶剂是否合适

— 理想的洗涤溶剂是溶于基质，但对目标物溶解度低。

2. 目标化合物是否没有完全洗脱

— 选择更强的洗脱溶剂（如改变 pH、离子强度、有机溶剂%含量）

— 选择作用力相对较弱的 SPE 柱

3. 目标化合物是否没有被完全吸附

可以采用原萃取方法以双柱叠加的方式将两个性质相同的固相萃取柱串连在一起进行柱子预处理及样品添加操作，然后将两根柱子分开，分别对两根萃取柱洗脱。如果在下方的柱子上发现有目标化合物就表明目标化合物在萃取过程发生了穿透。也就是说目标化合物在样品添加过程中没有按照方法设计要求不很好地吸附。有部分目标化合物在样品添加过程中随样品基质穿过固相萃取柱。发生穿透的原因可能是：萃取机理选择不合适；固相萃取柱的吸附容量不够。目标化合物没有被完全吸附还有另外一种可能性就是对于某些样品来说，由于部分目标化合物没有呈游离状态。如生物样品中的目标化合物与蛋白质结合在一起，所以随着样品基质通过固相萃取柱。

4. 目标化合物与固相萃取填料功能团之间的吸附作用过强

洗脱溶剂的洗脱强度不足以将目标化合物全部洗脱下来。这种情况可以改用吸附力较弱的固相萃取柱或改用洗脱强度更大地溶剂进行洗脱。

在达到预期回收率的前提下，我们希望萃取过程越短越好。提高效率可以从以下几个方面入手：

1、提高流速。包括预处理溶液流速、样品过柱流速。

2、减少洗脱溶液的体积

放射性同位素法优化固相萃取参数

在有条件的实验室，可以通过放射性标记物来查找回收率偏低的原因，优化固相萃取参数。通过同位素示踪的方法可以快速查出回收率偏低的原因，从而优化固相萃取参数。

统计学方法优化固相萃取参数

应用统计学方法或相关的软件（如：Design of Experiment, DOE）可以减少实验次数，加快固相萃取方法的建立与参数的优化。

8. 基质分散 固相萃取 (MSPD)

基质分散固相萃取原理与操作

基质固相分散萃取 (Matrix Solid Phase Dispersion, MSPD) 是 Barker 等人在 1989 年首次提出，并将其应用于哺乳动物组织中目标化合物的萃取。如下所示，与经典的固相萃取装置不同，MSPD 萃取是

将样品与固相吸附剂（C18、硅胶等）一起研磨之后，使样品成为微小的碎片分散在固相吸附剂表面。然后将此混合物装入空的 SPE 柱或注射针筒，用适当的溶剂将目标化合物洗脱下来。

基质固相分散萃取的主要优点是：适用于固体、半固体及粘稠样品的萃取；萃取溶剂与目标化合物的接触面增大，有利于目标化合物的萃取；溶剂完全渗入样品基质中，提高了萃取效率；使用的萃取溶剂比传统的 LLE 减少约 95%，而且所需样品量小、萃取速度也比 LLE 快约 90%。

经典的基质固相分散萃取是将 2 g 固体吸附剂放入无孔的玻璃、铝或玛瑙研磨盆中，并将 0.5 g 或 0.5 mL 样品倒在载体上面。然后用磨棒进行温和的研磨，大约 30 sec~45 sec 样品基本分散在载体表面。

将研磨好的样品/吸附剂转移至有塞片或滤纸的空 SPE 柱或玻璃注射针筒中，也可以根据需要将样品/吸附剂转移至装有吸附剂的 SPE 柱（例如，氟罗里硅土 SPE 柱）中。氟罗里硅土 SPE 柱的作用是吸附基质固相分散萃取共流出干扰物以达到样品净化的目的。也可以将基质固相分散萃取柱叠加在 SPE 净化柱之上进行洗脱。干燥的氟罗里硅土不但可以对基质固相分散萃取洗脱物进行净化，还可以除去洗脱物中的水分。通常每种洗涤或洗脱溶液的用量为 8 mL。洗脱可以利用重力进行，为了提高样品处理的通量，也可以加以真空或正压。洗脱通常是用不同的溶剂按一定的顺序进行，可以按照溶剂的极性大小，由低极性至高极性顺序洗脱，分别收集每个溶剂组分。例如按照正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、乙腈、甲醇、水的顺序洗脱。为了减少杂质对目标化合物的干扰，有时也需要对萃取柱进行洗涤或对萃取物进行进一步的净化。

9. 分散 固相萃取（d-SPE）

分散固相萃取（dispersive solid phase extraction, d-SPE）与基质固相分散萃取有相同之处，两者都是使用分散的固相萃取吸附剂而不是经典的固相萃取柱对样品进行萃取。但是，与基质固相分散萃取不同，d-SPE 是将固相萃取吸附剂颗粒分散在样品的萃取液中，而不是直接加入到原始样品中。d-SPE 最典型的应用就是在多农药残留检测中使用的 QuEChERS 样品前处理方法。

QuEChERS 萃取方法

QuEChERS（发音：catchers）是英文 Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safty 的缩写。即为：“快速、简易、廉价、有效、稳定、安全”的萃取方法。该方法是 Anastassiades 等人于 2002 年在首先在 EPRW 会议提出，并于 2003 年正式发表的一个用于农产品中多农药残留物分析的前处理方法。

Anastassiades 等人最初旨在针对水果、蔬菜、谷物等低脂农产品而建立一个快速、低花费的多农药残留物样品前处理方法。d-SPE 在该方法中被应用于除去样品中的杂质干扰物。该方法已经得到 AOAC 和欧盟农残监测委员会的认可，并且在食品安全检测实验室得到广泛的使用。