

农药残留分析的全自动化样品前处理方案

PromoChrom Technologies Ltd.

前言

农药残留分析的样品前处理通常包括四个步骤：1) 样品提取；2) 提取液的过滤和浓缩；3) 浓缩提取液的净化；4) 净化提取液的再次浓缩。目前提取液的净化可以使用自动固相萃取仪实现，但是其它步骤的净化还是需要手动进行。整个样品处理过程需要操作人员专注和细心，否则就会造成回收率偏低。

新一代的 Promchrom SPE-03 多通道固相萃取仪由于采用了加拿大博朗科技的管路集成专利技术，增加了更多样品处理的功能。它不仅可以进行柱层析和在线组分浓缩，还可以在加热条件下进行样品的浸泡提取和提取液的浓缩。通过将这个过程自动化，可以减少操作人员的工作强度，并提高分析结果的可靠性。

本文以茶叶中甲基对硫磷的分析为例，介绍使用 SPE-03 多通道固相萃取仪自动完成全部样品前处理步骤的方法。本方法也可用于其它干燥固体样品(如土样，谷物，烟草，饲料等)的处理。

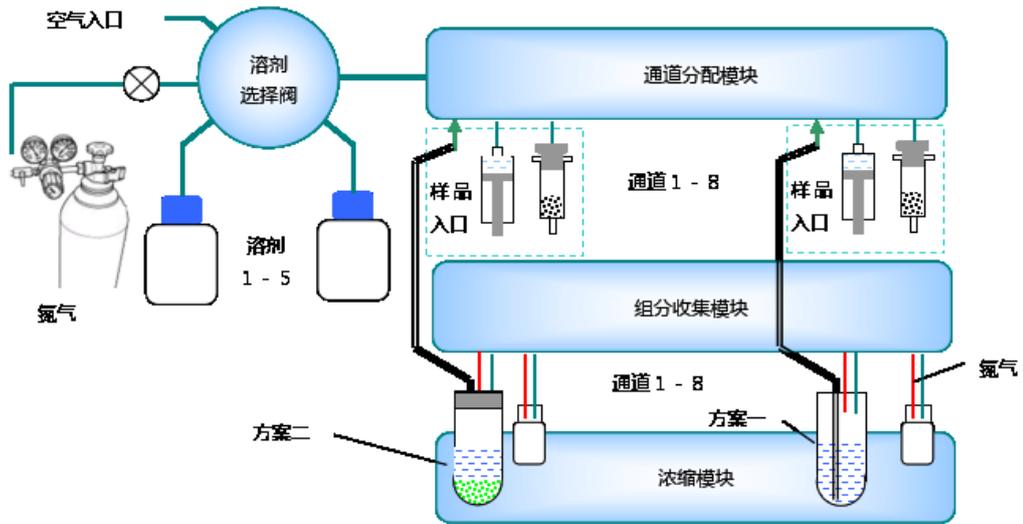
关键词： SPE-03 多通道固相萃取仪，茶叶，甲基对硫磷

1. SPE-03 实验方案

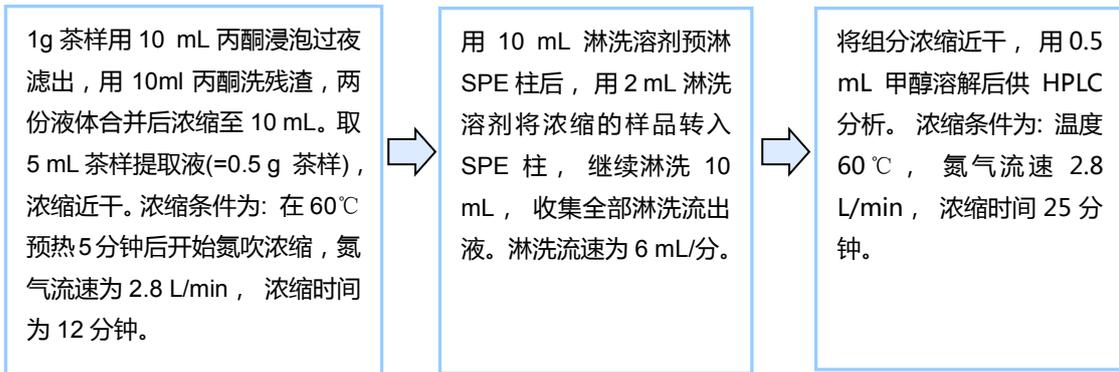
本实验设计了两种自动化的方案。方案一是从提取液的浓缩开始，方案二从样品的浸泡提取开始。为了缩短提取时间，方案二采用加热+浸泡，将提取时间由放置过夜缩短到 30 分钟。

以下是 SPE-03 的工作原理示意图和用于本试验的设置：





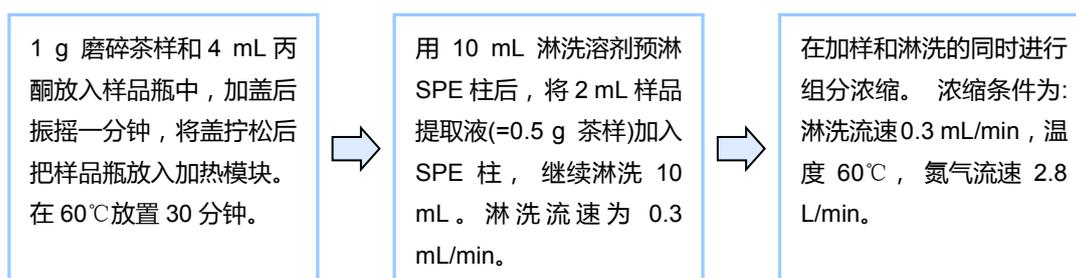
方案一中 SPE-03 的处理步骤如下：



方案一在 SPE-03 中的方法设置如下：

行号	操作	流速	体积	注释
1	Heat	60 (°C)	5.0 (min)	开始预热
2	Elute 1	8	10	将淋洗溶剂切换到溶剂 1，用 10 mL 预淋 SPE 柱
3	Evap F1	10(无用)	12 (min)	浓缩样品
4	Clean 1	8	2.0	在样品瓶中加入 2 mL 淋洗溶剂
5	Add samp	8	0.1	将样品瓶中液体转入 SPE 柱，同时开始组分收集。为了保证转入完全，设定体积略大于样品瓶中液体的实际体积。
6	Collect 1	8	2.5	
7	Elute 1	8	0.0	将淋洗溶剂切换到溶剂 1，收集 10 mL 组分。
8	Collect 1	8	10.0	
9	Evap F1	10 (无用)	25	60℃下浓缩 25 分钟

以下是方案二中 SPE-03 的处理步骤及相应的方法设置：



方案二在 SPE-03 中的方法设置如下：

行号	操作	流速	体积	注释
1	Heat	60 (°C)	30.0 (min)	加热提取 30 分钟
2	Elute 1	8	10	将淋洗溶剂切换到溶剂 1，用 10 mL 预淋 SPE 柱
3	Add samp	8	0.2	将 2.0 mL 样品提取液转入 SPE 柱，同时进行组分收集和浓缩，此时流速自动减为 0.3 mL/分。
4	Con F2	8(无用)	2.0	
5	Elute 1	8	0.0	将淋洗溶剂切换到溶剂 1，收集 10 mL 组分。同时进行组分收集和浓缩，流速自动减为 0.3 mL/分。
6	Con F2	8(无用)	10.0	

2. HPLC 分析条件

仪器：Agilent 1100 四元泵+紫外检测器

流动：A 为水， B 为甲醇

梯度洗脱：在 6 分钟内将 B 从 30% 匀速增加到 95%，保持 2.5 分钟后再降回 30%

分析柱：PCT-C18， 250mm×4.6mm， 5μm；

UV 波长：276 nm；

流速：1.5mL/min；

进样量：20μL。

3. 结果与讨论

3.1 浓缩过程中目标分析物的损失

在痕量分析的样品制备中，浓缩过程中目标分析物的挥发是造成回收率偏低的一个常见原因。挥发损失主要发生在溶剂蒸干之后，因此控制浓缩终止的时间尤其重要。SPE-03 可以根据溶剂的挥发速度准确控制停止时间，但是同时处理八个样品，样品间在浓缩速度可能出现 1~2 分钟的差异。本研究对这方面的影响通过添加回收率进行了评估。以下是三

种处理条件下甲基对硫磷的损失情况:

处理一	处理二	处理三
10 μg 甲基对硫磷加入 5 mL 丙酮, 65 $^{\circ}\text{C}$ 下浓缩至干, 然后继续浓缩 3 分钟。氮气流速 2.8 L/min。	10 μg 甲基对硫磷加入 5 mL 乙氰 + 甲苯(3:1), 85 $^{\circ}\text{C}$ 下浓缩至干, 然后继续浓缩 3 分钟。氮气流速 2.8 L/min。	10 μg 甲基对硫磷加入 0.5 mL 甲醇, 在敞口瓶中自然挥发 20 小时。
损失率 < 6%	损失率 = 30-50%	损失率 = 30-35%

根据以上结果, 在浓缩温度不高于 65 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 1~2 分钟的过度浓缩, 不会对有机磷农药的回收率造成显著影响。浓缩温度越高, 过度浓缩速造成的影响越显著。因此当溶剂的沸点较高时, 需要将浓缩时间适当缩短, 以防止完全将液体蒸干。

3.2 添加回收率

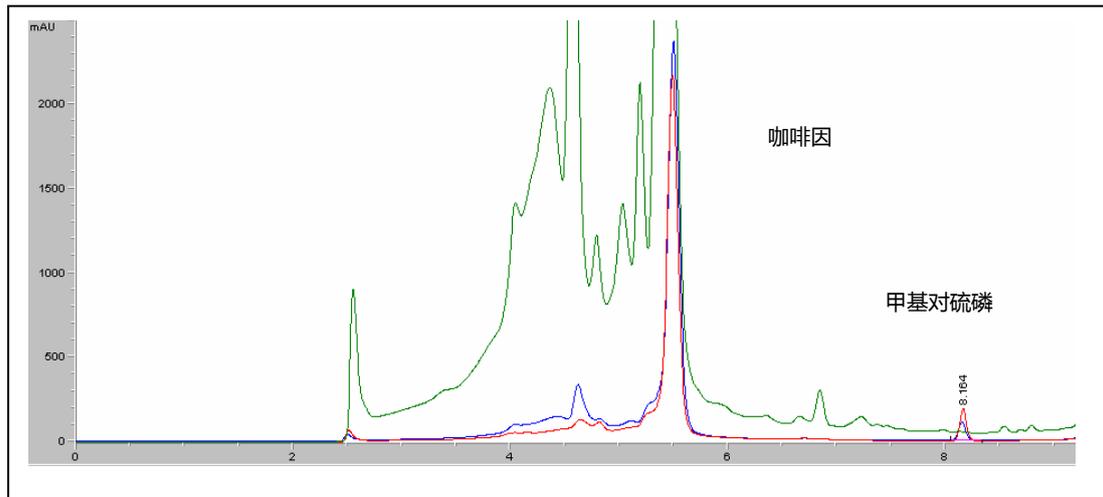
在方案一的回收率试验中, 5 μg 甲基对硫磷被加入到 5 mL 茶叶提取液 (相当于 0.5 g 茶样) 中。在方案二的回收率试验中, 2 μg 甲基对硫磷被加入到 1 g 磨碎茶样中, 按照方案一的方法处理。样品经相应方案处理后, 用 HPLC 测定回收率。所有样品的回收率都在 95% 以上, 说明使用样品和组分的在线浓缩都不会造成有机磷农药的损失。

3.3 提取效率的研究

方案二使用 60 $^{\circ}\text{C}$ 加热 30 分钟的提取方法取代原有的浸泡过夜的方法。要比较两种方法的提取效率, 通常需要使用真实样品。这里采用了另一种途径: 考察茶样色素的浸出浓度。茶样提取液 (相当 1g 茶叶) 经石墨化碳黑柱萃取后再用 20 mL 二甲基甲酰胺洗脱, 然后观察色素颜色的深浅。

在右边的图片中, 左边的一瓶是采用方案二的加热提取, 右边的一瓶是采用过夜浸泡提取。可见方案二的加热提取能更有效的进入样品基质, 将内含物浸出。虽然加热提取会增加样品干扰物质在提取液中的浓度, 但并不影响样品的净化效果。





- 5 mL 茶样提取液(浸泡过夜, 相当于 0.5 g 茶样) 浓缩至 0.5 mL 后直接用 HPLC 测定
- 0.5g 茶样使用方案二处理后用 HPLC 测定
- 5 mL 茶样提取液(浸泡过夜, 相当于 0.5 g 茶样) 使用方案一处理后用 HPLC 测定

3.4 样品处理效率

使用方案一处理一批样品(八个)所用的时间为 50 分钟, 使用方案二处理一批样品 (八个)所用的时间为 80 分钟, 平均每个样品的处理时间都在 10 分钟以内。使用手动样品处理, 通常可以 4~8 个样品同时进行过柱净化, 处理速度和自动处理差别不大。但是提取液和净化组分的浓缩比较费时, 特别是样品转移过程, 费事而且容易出错。这部分操作每个样品需要的时间约为 30 分钟。

关于中国总代理绿绵科技和销售联系方式

北京绿绵科技有限公司(简称: 绿绵科技)以体现客户服务最高价值为宗旨, 以专业精神和技能为广大实验室分析工作者提供样品前处理、样品制备及分析、实验数据精确分析和管理的全面解决方案, 致力于协助客户提高分析检测的效率和水平。主要代理产品: LabOS 实验室运营系统、Lumtech 半制备/制备液相色谱、MassWorks 准确质量测定及分子式识别、New Objective 纳喷离子源、GE 生命科学设备、凝胶净化前处理、气相离子迁移谱、电喷雾离子迁移谱、全柱成像毛细管等电聚焦电泳仪、实验室氮气氢气空气发生器、Agilent 中端气相液相、生物耗材、Buffer 缓冲液。电话: 010-82676061/2/3/4/5/6/7 传真: 010-81676068 E-mail: info@lumtech.com.cn