

农药残留分析的全自动化样品前处理方案

(1.PromoChrom Technologies Ltd. 2.北京绿绵科技有限公司)

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。

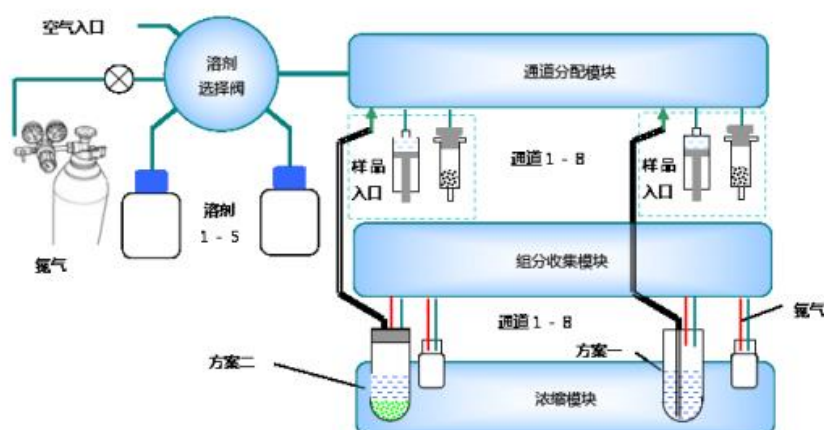
本文以茶叶中甲基对硫磷的分析为例, 介绍使用 SPE-03 多通道固相萃取仪自动完成 全部样品前处理步骤的方法。 本方法也可用于其它干燥固体样品(如土样, 谷物, 烟草, 饲料等)的处理。

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

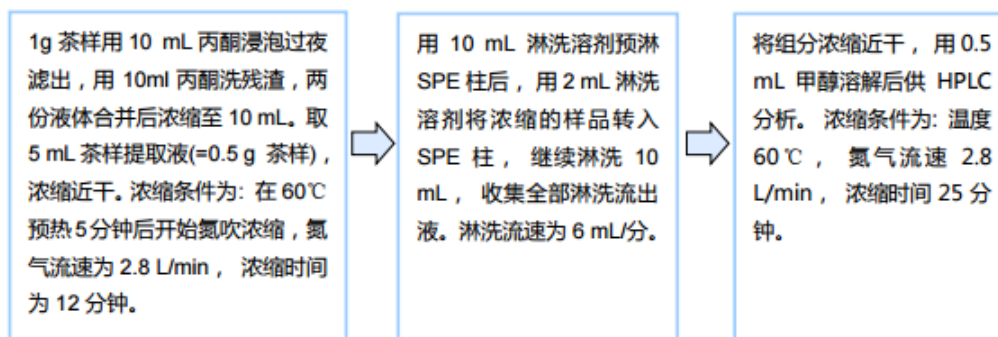
本实验设计了两种自动化的方案。方案一是从提取液的浓缩开始, 方案二从样品的浸 泡提取开始。为了缩短提取时间, 方案二采用加热+浸泡, 将提取时间由放置过夜缩短到 30 分钟。

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

SPE-03 的处理步骤如下：

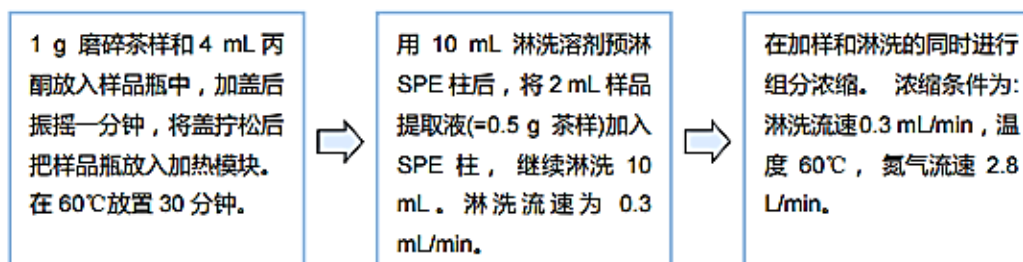


SPE-03 方法设置如下：

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

方案二

SPE-03 的处理步骤及相应的方法设置：



SPE-03 中的方法设置如下：

行号	操作	流速	体积	注释
0	Heat	60 (°C)	30.0 (min)	加热提取 30 分钟
1	Elute 1	8	10	将淋洗溶剂切换到溶剂 1，用 10 mL 预淋 SPE 柱
2	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。
3	Con F2	8(无用)	2.0	
4	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。
5	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：276nm；

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℃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 乙腈 + 甲苯 (3:1)， 85℃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℃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

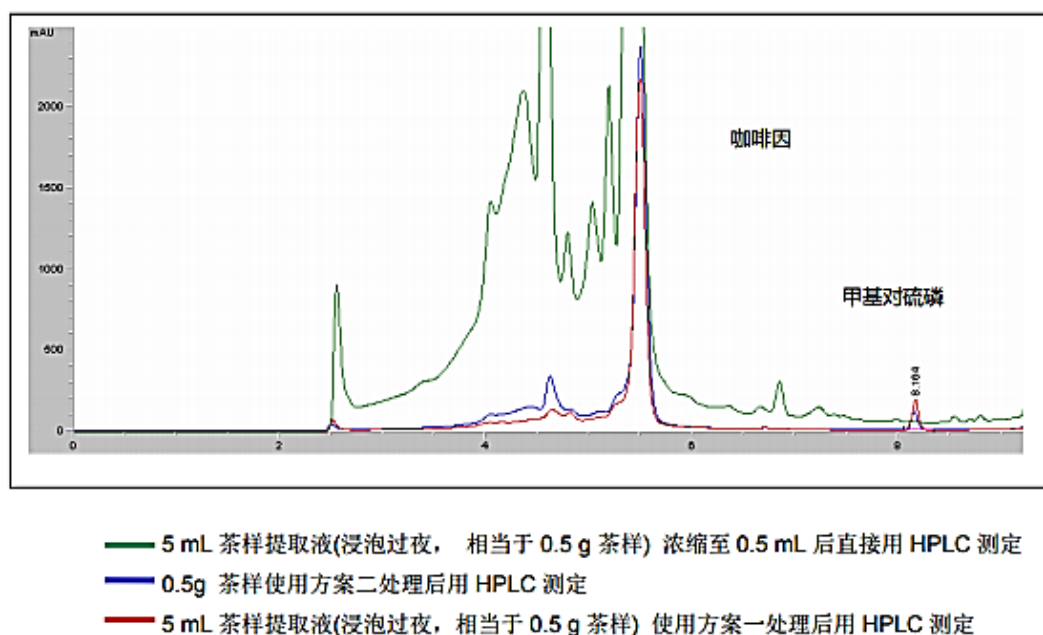
在方案一的回收率试验中，5 μg 甲基对硫磷被加入到 5mL 茶叶提取液（相当于 0.5g 茶样）中。在方案二的回收率试验中，2 μg 甲基对硫磷被加入到 1g 磨碎茶样中，按照方案一的方法处理。样品经相应方案处理后，用 HPLC 测定回收率。所有样品的回收率都在 95%以上，说明使用样品和组分的在线浓缩都不会造成有机磷农药的损失。

3.3 提取效率的研究

方案二使用 60℃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 20mL 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。





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。