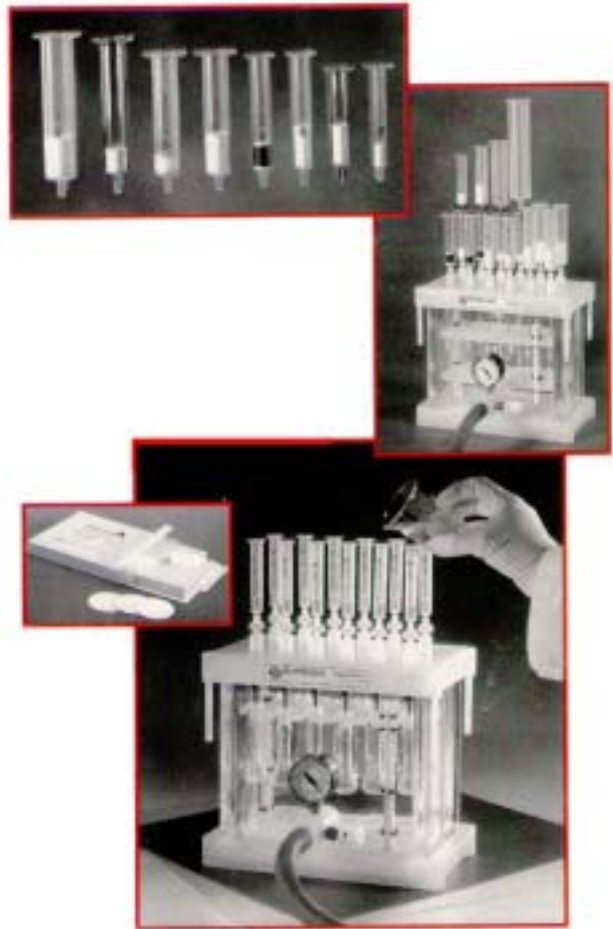


	页码
<b>概述</b>	1
<b>填料种类</b>	2
反相填料	
正相填料	
离子交换填料	
吸附填料	
<b>固相萃取理论</b>	3
化合物是怎样被吸附而保留的	
反相固相萃取法	
正相固相萃取法	
离子交换固相萃取法	
二级相互作用	
固相萃取法中 pH 的影响	
<b>固相萃取的使用</b>	5
常用的固相萃取管和片	
选择适当的萃取方案	
固相萃取的五个步骤	
样品前处理方法	
—液体样品	
—固体样品	
固相萃取处理样品时所用装置和配件	



## 概述

固相萃取 (SPE) 是一种用途广泛而且越来越受欢迎的样品前处理技术。使用固相萃取能够避免液—液萃取带来的许多问题, 比如, 相分离不完全、定量分析回收率较低、使用玻璃器皿的昂贵易碎、产生大量有机废液。与液—液萃取相比, 固相萃取不仅更有效, 而且更容易实现自动、快速、定量萃取, 同时减少溶剂用量和萃取时间。

固相萃取常用于萃取液体样品特别是不易挥发或不挥发的液体样品, 除此以外也可用于处理预先提取到溶液中的固体样品。固相萃取对样品的萃取、浓缩和净化都有极好的效果。针对样品性质, 我们提供多种固相萃取装置, 以供选择。



## 填料种类

<b>硅胶填料 40 μm 颗粒, 60Å 孔径</b>			
反相	LC-18	硅胶上接有十八烷基, 键端处理过	反相萃取, 适合于非极性到中等极性的化合物, 如: 抗菌素、巴比妥酸盐、酞嗪、咖啡因、药物、染料、芳香油、脂溶性维生素、杀真菌剂、除草剂、农药、碳水化合物、对羟基甲苯酸取代脂、苯酚、邻苯二甲酸脂、类固醇、表面活性剂、茶碱、水溶性维生素。
	ENVI <sup>TM</sup> -18	硅胶上接有十八烷基, 键端处理过	相覆盖率和碳含量高于LC-18, 有很强的耐酸碱性能, 对非极性化合物有较高的容量。反相萃取, 适合于非极性到中等极性的化合物, 如: 抗菌素、咖啡因、药物、染料、芳香油、脂溶性维生素、杀真菌剂、除草剂、农药、PNAs、碳水化合物、对羟基甲苯酸取代脂、苯酚、邻苯二甲酸脂、类固醇、表面活性剂、水溶性维生素。
	LC-8	硅胶上接有辛烷, 键端处理过	反相萃取, 适合于非极性到中等极性的化合物, 如: 抗菌素、巴比妥酸盐、酞嗪、咖啡因、药物、染料、芳香油、脂溶性维生素、杀真菌剂、除草剂、农药、碳水化合物、对羟基甲苯酸取代脂、苯酚、邻苯二甲酸脂、类固醇、表面活性剂、水溶性维生素。同时也有片状型号。
	ENVI-8	硅胶上接有辛烷, 键端处理过	相覆盖率和碳含量高于 LC-8, 有很强的耐酸碱性能, 对非极性化合物有较高的容量。反相萃取, 适合于非极性到中等极性的化合物, 如: 巴比妥酸盐、酞嗪、咖啡因、药物、染料、芳香油、脂溶性维生素、杀真菌剂、除草剂、农药、PNAs、碳水化合物、对羟基甲苯酸取代脂、苯酚、邻苯二甲酸脂、类固醇、表面活性剂、茶碱、水溶性维生素。
	LC-4	硅胶上接有二甲基丁烷, 键端处理过(孔径 500Å)	相对 LC-8 或 LC-18, 其疏水性弱一点, 适合于多肽和蛋白质的萃取。
	LC-ph	硅胶上接有苯基, 尤其是芳香族化合物	相对 LC-8 或 LC-18, 其保留时间稍短, 反相萃取, 适合于非极性到中等极性的化合物。
	Hisep <sup>TM</sup>	疏水性的表面上键合亲水性基团网络	反相萃取, 生物样品中的蛋白质被排出, 药物小分子被保留。
正相	LC-CN	硅胶上接有丙氰基烷, 键端处理过	反相萃取, 适合于中等极性的化合物; 正相萃取, 适合于极性化合物。比如, 黄曲霉毒素、抗菌素、染料、除草剂、农药、苯酚、类固醇。弱阳离子交换萃取, 适合于碳水化合物和阳离子化合物。
	LC-Diol	硅胶上接有二醇基	正相萃取, 适合于极性化合物。
	LC-NH2	硅胶上接有丙氨基	正相萃取, 适合于极性化合物。弱阴离子交换萃取, 适合于碳水化合物、弱阴离子和有机酸化合物。
离子交换	LC-SAX	硅胶上接有卤化季铵盐	强阴离子交换萃取, 适合于阴离子、有机酸、核酸、核苷酸、表面活性剂。容量: 0.2 毫克量/克。
	LC-SCX	硅胶上接有磺酸钠盐	强阳离子交换萃取, 适合于阳离子、抗菌素、药物、有机碱、氨基酸、儿茶酚胺、除草剂、核酸碱、核苷、表面活性剂。容量: 0.2 毫克量/克。
	LC-WCX	硅胶上接有碳酸钠盐	弱阳离子交换萃取, 适合于阳离子、胺、抗菌素、药物、有机碱、氨基酸、儿茶酚胺、除草剂、核酸碱、核苷、表面活性剂。
	LC-Si	无键合硅胶	极性化合物萃取, 如乙醇、醛、胺、药物、染料、除草剂、农药、酮、含氮类化合物、有机酸、苯酚、类固醇。
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 填料 晶体状, 色谱纯, 不规则颗粒, 60/325目</b>			
吸	LC-Alumina-A	酸性	极性化合物离子交换和吸附萃取, 如维生素。
	LC-Alumina-B	碱性	吸附萃取和阳离子交换。
	LC-Alumina-C	中性	极性化合物吸附萃取。调节PH, 阳和阴离子交换。适合于维生素、抗菌素、芳香油、酶、糖苷、激素。
<b>Florisil<sup>®</sup> 填料 硅酸镁, 100/120目</b>			
	LC-Florisil		极性化合物的吸附萃取, 如: 乙醇、醛、胺、药物、染料、除草剂、农药、PCBs、酮、含氮类化合物、有机酸、苯酚、类固醇。
	ENVI-Florisil		极性化合物的吸附萃取, 如: 乙醇、醛、胺、药物、染料、除草剂、农药、PCBs、酮、含氮类化合物、有机酸、苯酚、类固醇。
<b>石墨碳填料 无键合相</b>			
附	ENVI-Carb	无孔, 120/400 目。	极性和非极性化合物的吸附萃取。表面积 100m <sup>2</sup> /g。
	ENVI-Carb C	无孔, 80/100 目。	极性和非极性化合物的吸附萃取。表面积 10m <sup>2</sup> /g。
	<b>树脂填料 80-160 μm, 球型颗粒</b>		
	ENVI-Chrom P		极性芳香化合物的吸附萃取, 如从水溶液样品中萃取苯酚。也能用于非极性到中等极性芳香化合物的吸附萃取。

## 固相萃取理论

### 化合物是怎样被吸附而保留的

#### 反相

(极性液体相, 非极性改良固体相)

疏水性相互作用

- 非极性—非极性相互作用
- 范德华力或色散力

#### 正相

(非极性液体相, 非极性改良固体相)

亲水性相互作用

- 极性—极性相互作用
- 氢键
- $\pi$ - $\pi$ 相互作用
- 偶极—偶极相互作用
- 偶极—诱导偶极相互作用

#### 离子交换

带有电荷的化合物靠静电吸引到带有电荷的吸附剂表面

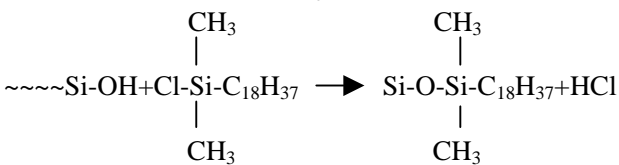
#### 吸附

(化合物与未改良材料的作用)

疏水性相互作用或亲水性相互作用, 其取决于所选用的固相材料。

### 反相固相萃取

反相分离包括一个极性(通常是水溶液, 见第八页表 A) 或中等极性的样品基质(流动相) 和一个非极性的固定相。分析物通常是中等极性到非极性。几种 SPE 材料属于反相类, 如烷基, 或芳香基键合的硅胶(LC-18, ENVI-18, LC-8, ENVI-8, LC-4, 和 LC-Ph)。在这里, 纯硅胶(一般孔径为 60—40nm 大小的颗粒) 表面的亲水性硅醇基通过硅烷化学反应, 被含有疏水性的烷基或芳香基取代了。



由于分析物中的碳氢键同硅胶表面官能团的吸附作用, 使得极性溶液(例如, 水) 中的有机分析物能保留在这些 SPE 物质上。这种非极性-非极性吸附力通常称为范德华力或色散力。为了从反相 SPE 管或片上洗脱被吸附的化合物, 一般采用非极性溶剂去破坏这种化合物被吸附到填充物质上的力。LC-18 和 LC-8 是标准的单键合硅胶, 而 ENVI-18 和 ENVI-8 则属于聚合键合类填料, 具有很高的硅表面覆盖率和较高的碳含量。这类聚合键合类填料具有更强的抗酸碱性, 因而更适合于环境应用, 如从酸化的液体样品中富集有机化合物。所有使用过的键合硅胶相都有一定数量的未反应硅醇基, 它将成为二级相互作用之源。在萃取或保留强极性分析物或污染物时, 这种二级相互作用是非常有用的, 但是对分析物的吸附也可能是不可逆

(见第五页上的二级相互作用)。

以下物质也用于反相条件: ENVI-Carb(碳), ENVI-Chrom P(聚合类)和 Hisep(聚合涂层的键合硅胶)。

含碳的吸附物质, 如 ENVI-Carb 材料, 是由石墨和无孔碳组成, 它对极性和非极性样品中的极性和非极性有机化合物有较高的吸附能力。该碳表面是正六圆环的原子结构, 每个碳原子在石墨层上相互联接。这种正六圆环结构对某些分子有很强的选择性, 比如平面型芳香化合物或类正六圆环分子和可形成许多表面触点的烃链分子。分析物的保留取决于其结构(形状和大小), 而不是其上官能团与吸附剂表面的相互作用。洗脱时, 使用中等极性到非极性溶剂。与烷基键合硅胶相比, 尤其是在键合硅胶不灵时, ENVI-Carb 显示出特有的结构和选择性优势。

聚合类吸附物质, 如 ENVI-Chrom P 是苯乙烯-二乙烯基苯物质, 用之保留一些含有亲水性官能团的疏水性化合物, 尤其是芳香型化合物。有时在反相条件下, 苯酚很难保留在 C<sub>18</sub> 键合硅胶上, 这主要是因为它在水中的溶解度大于有机相。而 ENVI-Chrom P 在反相条件下可很好地保留苯酚。洗脱时, 使用中等极性到非极性溶剂, 这是因为, 聚合类填料对所有的溶剂都是很稳定的。

Hisep 是一个疏水基(类似 C<sub>18</sub>) 键合硅胶涂上一层亲水聚合物, 常用于反相条件, 这种有孔的聚合物能阻止不必要的大分子被吸附到硅胶表面。聚合物的孔径大小只允许所分析的疏水性有机小分子化合物(如药物) 接近硅胶表面, 而不必要的大分子(如蛋白质) 则被聚合物层隔离在外, 没有机会接近硅胶表面, 并被冲洗出固相萃取管。Hisep 固相萃取过程类似于 LC-18 固相萃取过程。

### 正相固相萃取

正相固相萃取包括了一个极性分析物质、中等极性到非极性的物质(如丙酮, 卤化溶剂和正己烷) 和二个极性固定相。极性官能团键合硅胶(如 LC-CN, LC-NH<sub>2</sub> 和 LC-Diol) 和极性吸附物质(如 LC-Si, LC-Florisil, ENVI-Florisil 和 LC-Alumina) 常用于正相条件。在正相条件下, 分析物如何保留取决于分析物的极性官能团与吸附剂表面的极性官能团之间的相互作用, 具体包括氢键、 $\pi$ - $\pi$ 相互作用、偶极—偶极相互作用和偶极-诱导偶极相互作用及其它。因此, 由以上几种机理所吸附的分析物, 应用比样品本身更极性的溶剂去破坏其相互作用, 这样分析物才随之而洗脱。

键合硅胶 LC-CN、LC-NH<sub>2</sub> 和 LC-Diol, 有一个带有极性官能团的较短烷基链键合在硅胶表面上。因为极性官能团的存在, 这种硅胶相对于反相硅胶更具有亲水性。常用的正相硅胶, 它能从非极性的样品中吸附极性化合物。这种固相萃取管已用于吸附和选择性洗脱结构很类似的化合物(如异构体) 复杂的混合物或者象药物和脂类化合物。为了利用它这种疏水性, 它也可用于反相条件(如水溶液样品)。



LC-Si 填料是一种没有衍生的硅胶，一般用来作所有键合硅胶的基体。这种硅胶极亲水，必须保持干燥，这就要求所分析的样品必需无水。硅胶用于从非极性物质中吸附化合物官能团的都是表面自由羟基。LC-Si 从非极性物质中吸附极性化合物，然后用一种极性更强的有机溶剂洗脱。多数情况下，LC-Si 是作为一种吸附剂，当硅胶基体用于有机萃取时，分析物不停留在硅胶上，而不要的化合物则被吸附在硅胶上，随之扔掉。这种过程称为样品前处理。

LC-Florisil 和 ENVI-Florisil 固相萃取是一个镁化硅胶，通常用在样品的有机萃取，用其进行有机样品的前处理。它是一种强极性物质，可以有效地从非极性物质中吸附极性化合物。ENVI-Florisil 固相萃取是由聚四氟乙烯或者不锈钢滤片制作。这种对环境过程非常重要的结构详述在美国环境保护组织的方法中。ENVI-Florisil 已用气相色谱分析法测定其背景较小。

LC-Alumina 固相萃取用于吸附和样品前处理的过程， $Al_2O_3$  材料可为酸性 ( $Al_2O_3$ -A, pH 约为 5) 碱性 ( $Al_2O_3$ -B, pH 约为 8.5) 或者中性 ( $Al_2O_3$ -N, pH 约为 6.5)。  $Al_2O_3$  的活性水平随水加入的多少，从 1 级到 5 级而变化，装管时， $Al_2O_3$  可在装管前预处理或者装管后再处理。

## 离子变换固相萃取

离子交换固相萃取适用于带有电荷的化合物（一般为水溶液，也有有机溶液）。阴离子（负电荷）化合物可用 LC-SAX 或 LC-NH<sub>2</sub> 键合硅胶管进行分离；阳离子（正电荷）化合物可用 LC-SCX 或 LC-WCX 键合硅胶管进行分离。基本原理是静电吸引，也就是化合物上的带电电荷基团与键合硅胶上的带电电荷基团之间的吸引。为了从水溶液中将化合物吸引到离子交换树脂上，样品的 pH 值一定要保证其分离物的官能团和键合硅胶上的官能团均带电荷。如果某种离子带有与分析物一样的电荷，它将会干扰分析物的吸附。当然这种情况也可能是罕见的。洗脱溶液一般是其 pH 值能中和分离物官能团上所带电荷，或者中和键合硅胶上官能团所带电荷。当官能团上的电荷被中和，静电吸引也就结束，分析物则随之洗脱。另外，洗脱溶液也可能是一种其离子强度很大或含有另一种离子能取代被吸附的化合物，这样被吸附的化合物也随之而洗脱。

### 阴离子交换

LC-SAX 是一种脂肪族季铵盐键合在硅胶上的物质，季铵盐是一种很强的碱，带有一个正电荷，能交换或吸附溶液中的阴离子，称之为阴离子交换 (SAX)。季铵盐的 pH 值很高 (>14)，在水溶液中，所有的 pH 条件下，都能带上电荷。这样 LC-SAX 可分离很强的阴离子化合物（很低的 pH 值，<1）或弱阴离子化合物（中等的 pH 值，>2），只要样品在其 pH 条件下，分析物带有电荷即可。对于阴离子分析物（酸性），为使之带上电荷，其 pH 值必需大 2 个单位。大多数情况下，被分析物是强酸性的或弱酸性的。

因为化合物被吸附地如此之紧，只有在不要其

阴离子回收率时（化合物被分离，然后扔掉），才能用 LC-SAX 萃取强阴离子。弱阴离子则能用 LC-SAX 分离，因为它们能被另外一种阴离子所取代或者被一种酸性溶液所洗脱，该酸性溶液的 pH 值可中和被取代的阴离子（pH 小 2 个单位）。如果要求强阴离子其回收率时，可选用 LC-NH<sub>2</sub>。

LC-NH<sub>2</sub> 固相萃取填料适用于正相分离，当用于水溶液时也做为一种弱阴离子交换树脂 (WAX)。LC-NH<sub>2</sub> 填料含有一个脂肪族季氨基，并键合在硅胶表面上。这种伯胺基的 pH 值大约为 9.8。因为其用于阴离子交换，样品的 pH 值必需小于 9.8 至少 2 个单位，此 pH 还必需保证所分析的阴离子化合物带上电荷（比其 pH 值大 2 个单位）。LC-NH<sub>2</sub> 也可适用于强阴离子或弱阴离子分离回收，这是因为硅胶表面的氨基能被中和强阴离子或弱阴离子（比其 pH 大 2 个单位），这样强阴离子或弱阴离子都能被洗脱。弱阴离子也能用一种溶液（pH 比该阴离子的 pH 小 2 个单位）而洗脱，或者加入另外一种阴离子取而代之。

### 阳离子交换

LC-SCX 填料含有一个脂肪族磺酸基，并键合在硅胶表面上。这种磺酸基有很强的酸性（pH 值 < 1），它能吸附或者交换溶液的阳离子，称之为强阳离子交换 (SCX)。在所有的 pH 条件下，这种键合官能团都能带有电荷，只要该 pH 能保证所分析化合物带有电荷，因此其能用于强阳离子（pH 值 > 14）或弱阳离子（pH 值 < 12）化合物的分离。对于所分析的阳离子（碱性）化合物，样品的 pH 要比其 pH 值小 2 个单位，以保证其带电荷。多数情况下，所分析的化合物是强碱性的或弱碱性的。

当不要求强阳离子回收或者被洗脱时，LC-SCX 固相萃取管可用于强阳离子的分离。弱阳离子则可以用 LC-SCX 分离和洗脱。洗脱时，用一种 pH 比其 pH 大 2 个单位的溶液（中和分析物的电荷），或者加入另外一种阳离子取而代之。如果要求强阳离子回收率，可选用 LC-WCX。

LC-WCX 固相萃取填料含有一个脂肪族羧酸基团，并键合在硅胶表面上。这种羧基是一种弱酸性阴离子，所以它可作为一种弱性阳离子交换 (WCX)。LC-WCX 上羧基的 pH 约为 4.8。当 pH 比其 pH 大 2 个单位时，它保持带负电荷，能分离此 pH 下带电荷的阳离子。LC-WCX 适用于强阳离子或弱阳离子分离和回收，因为硅胶表面的羧基能被中和（pH 比其 pH 小 2 个单位），强阳离子或者弱阳离子则被洗脱。对于弱阳离子可用一种溶液（pH 比阳离子 pH 大 2 个单位）中和而洗脱，或者加入另外一种阳离子取而代之。

在很多情况下，由离子交换固相萃取所吸附的分析物被洗脱在水溶液中。如果必需使用酸性溶液或者碱性溶液去洗脱固相萃取管上的分析物，同时分析物又必需以有机溶剂来分析，而有机溶剂又不溶于水，这时可根据情况，试用含有酸的甲醇（98% 甲醇、2% 浓盐酸）或者含有碱的甲醇（98% 甲醇、2% 氢氧化氨）来洗脱。由于甲醇很容易挥发，样品可再溶解在另一种溶剂里。如果需要一个很强（非极性）的溶剂从固

相萃取填料上去洗脱所分析物，可加一些二卤甲烷、正己烷、乙酸乙酯到酸或碱性的甲醇里。

## 二级相互作用

以上详述了化合物在固相萃取方法中是如何保留的基本原理。对键合硅胶可能有二级相互作用的存在。

对反相键合硅胶，基本原理是非极性的相互作用。然而，由于硅胶只是主体，有一少部分硅甲醇存在，这就有一些极性二级相互作用（正如我们在正相固相萃取取所谈）将要发生。如果非极性溶剂不能有效地从反相固相萃取填料上洗脱化合物，就有必要加些极性溶剂（如甲醇），以破坏极性相互作用而保留的化合物。在这种情况下，甲醇与硅胶上的羟基形成氢键，打断了分析物与硅胶上的羟基形成的氢键。

硅甲醇在硅胶表面，Si-OH，也可为酸性，当 pH 大于 4 时，以 Si-O<sup>-</sup>型式存在。这时在硅胶基体上也可能发生阳离子交换的二级相互作用，能吸附阳离子或碱性分析物。在这些情况，调整洗脱溶液的 pH 非常重要，以破坏这些相互作用而洗脱分析物（酸中和硅甲醇或碱中和分析物）。可选用含有酸的甲醇（98% 甲醇、2% 浓盐酸）或者含有碱的甲醇（98% 甲醇、2% 浓氢氧化氨），或者用一种溶于甲醇的非极性有机溶剂来洗脱。

正相键合硅胶通过其键合基团展示了极性保留机理，但是也有一些二级相互作用发生在分析物与联接键合基团的烷基链之间。在这种情况下，更非极性的溶剂或极性—非极性混和溶剂可用来做洗脱溶剂。作为反相键合硅胶，硅胶基体与分析物之间的二级相互作用和阳离子交换作用也可能发生。

离子交换键合硅胶不仅能提供这种分析物与硅胶上部分非极性基团之间的非极性二级相互作用，而且还有分析物与硅胶基体之间的极性和阳离子交换作用。要从这些填料上洗脱分析物，一个准确的 pH、离子强度和有机物的含量是必要的。

## 固相萃取中的 PH 影响

用在固相萃取中的溶液有很大 pH 范围的溶液有。硅胶作为基体原料，如高压液相色谱柱，通常稳定的 pH 范围是 2-7.5。当 pH 高于和低于这个范围，键合相就会水解和从硅胶上断链下来，或者硅胶本身就溶解了。然而，在固相萃取中，常常溶液只与吸附剂接触较短的时间。实际上固相萃取管都是一次性使用，允许任何 pH 溶液以达到最佳保留和洗脱效果。如果固相萃取管对 pH 极限的稳定性非常重要时，聚合或碳键合固相萃取材料均可选用，如 ENVI-Chrom P 或 ENVI-Carb。这些材料在 1-14pH 范围内都是稳定的。

对于键合硅胶上反相固相萃取过程，如果希望保留分析物，预处理的溶液和样品（基本上或全部为水溶液）的 pH 应调至最适宜分析物保留。如果，分析物是酸或碱性的，通常情况下，使用的 pH 应该阻止化合物带电荷。中性化合物（无酸性和碱性基团）的保留，一般不受 pH 影响。相反，也能调节 pH，使样品中不需要的化合物保留在固相萃取的填料上，而分

析物则不被保留而流出。在适当的 pH，分析物的再次亲水性和阳离子交换作用则能被利用（详见二级相互作用）。

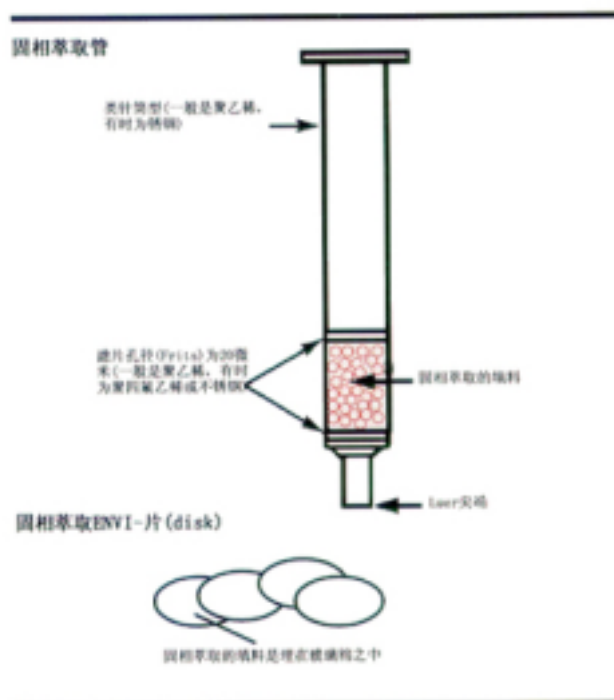
吸附剂(如 ENVI-Chrom P 和 ENVI-Carb)用于反相条件，则应选择 pH，使分析物最大程度地保留在反相硅胶上。一般使用有机溶剂洗脱时，这一点上的 pH 无足轻重。令人吃惊的是，当溶液在中性 pH 条件下，苯酚可带电荷，它能更好的保留在 ENVI-Chrom P 上，而不是溶液在酸性 pH，苯酚不带电荷的情况。这表明，相对键合硅胶吸附剂对某些化合物有不同的选择性。当使用这类填料时，应对样品和预处理溶液的 pH 范围有所研究。

对于键合硅胶或吸附剂上的正相固相萃取过程，pH 一般是无关重要的。因为在这些过程中所用的溶剂一般为非极性有机溶剂，而不是水。

离子交换固相萃取是如何保留化合物，很大程度上取决于样品和预处理溶液的 pH。为了保留化合物，样品的 pH 应保证分析物和硅胶表面的官能团带上相反的电荷。详见第四页。

## 固相萃取的使用

### 常用的固相萃取管和片 (Disk)

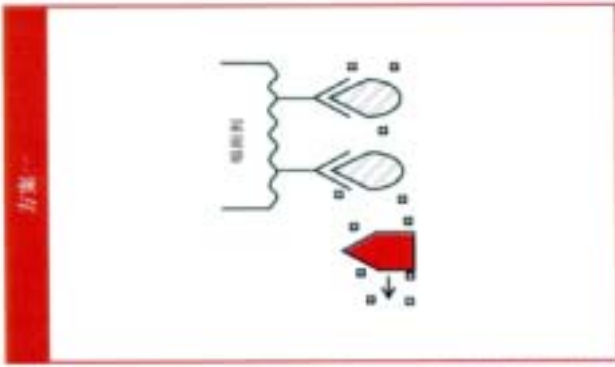


## 选择适当的萃取方案

利用固相萃取纯化物质有三种方法：

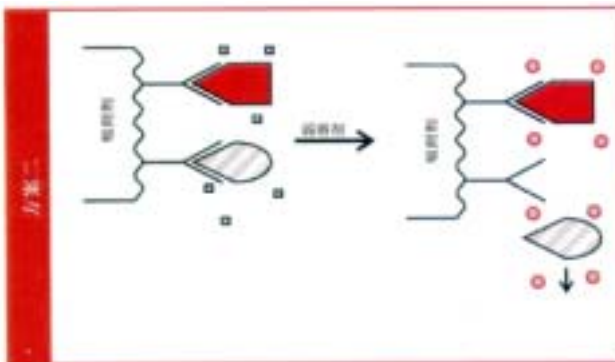


### 选择性萃取



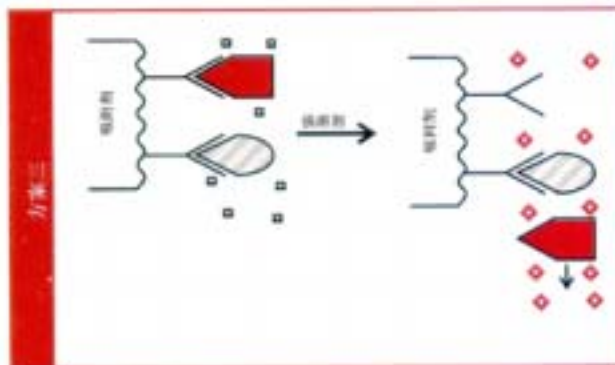
选择一个固相萃取的吸附剂，能吸附样品中分析物或要祛除的杂质。当样品流过固相萃取管时(流出物即样品减去被吸附在固相萃取管上的那些化合物)，所选择的物质被保留在其中。然后，通过洗脱来收集被吸附的分析物，或者扔掉含有萃取杂质的萃取管。

### 选择性冲洗



当样品流过固相萃取管时，分析物和杂质都被保留在固相萃取填料上，然后用一种强的能洗脱杂质而又弱的能保留要分析化合物的冲洗液来冲洗杂质。

### 选择性洗脱



将被吸附的化合物洗脱在溶液里，而将强保留的杂质留在其后。

## 固相萃取的五个步骤

固相萃取过程要求样品以溶液形式存在，没有干扰，而且有足够的浓度以被检测。固相萃取的发展过程分为五步：

### 第一步 选择萃取管或片



注意：建议固相萃取片用于大体积样品、含有大量颗粒或处理时需要很高流速的样品。

### 选择固相萃取管或片：吸附剂类型

(注解：参见第 12 页的示意图)

#### 样品基质是水溶液

分析物更溶于水

带电荷

弱阴离子和酸性：使用 LC-SAX 或 LC-NH<sub>2</sub> 管

强阴离子和酸性：要回收萃取分析物使用 LC-NH<sub>2</sub> 管，不回收萃取分析物使用 LC-SAX

弱阳离子和碱性：使用 LC-SCX 或 LC-WCX 管

强阳离子和碱性：要回收萃取分析物使用 LC-WCX 管，不回收萃取分析物使用 LC-SCX

中性

如果分析物很难用反相填料(如酒精、糖、甘醇)萃取，可试用 ENVI-Carb 或 ENVI-Chrom P 管，或用反相萃取 LC-SAX 或 LC-SCX 管除去干扰物。

分析物更溶于有机溶液

带电荷 试用反相或离子交换萃取

中性 试用反相萃取

#### 样品基质是有机溶液

挥发浓缩分析物，然后将其溶解在另外一种溶剂中。

极性 用水稀释至有机物少于 10%，按照易溶于水 水溶液分析物基质方案进行

中等极性 试用正相或挥发至干，再将其溶于水或一种水互溶性溶剂之中，然后用水稀释至如上所述，按照水溶液分析物基质方案进行。

### 选择固相萃取管或片：大小

样品量	萃取管规格
<1ml	1ml
1ml 至 250ml, 不要求萃取速度	3ml
1ml 至 250ml, 要求萃取速度	6ml
10ml 至 250ml, 要求高样品容量	12, 20, 60 ml
<1L, 萃取速度不重要	12, 20, 60ml
100ml 至 1L	47mm
>1L, 要求高样品容量	90mm



## 选择固相萃取管或片：大管填料量

### 正相、反相、吸附

样品质量不超过填料质量的 5%

### 离子交换

由离子交换容量确定

1. LC-SAX 和 LC-SCX 管：其吸附剂容量为 0.2 毫当量/克（1 毫当量=1 毫摩尔的[+1]或[-1]带电荷物质）。

2. LC-NH2 和 LC-WCX 管：离子交换容量由应用决定。

## 第二步 预处理萃取管或片



在萃取样品之前，为了预处理固相萃取管填料，要用一满管溶剂冲洗管子。对萃取片则用 5-10 毫升。

反相类型硅胶和非极性吸附剂介质，通常用水溶性有机溶剂，如甲醇，预处理，然后用水或缓冲溶液。甲醇湿润吸附剂表面和渗透键合烷基相，以允许水更有效地润湿硅胶表面。有时预处理溶剂在此之前使用甲醇。这些溶剂通常与洗脱剂一样是用于消除固相萃取管上的杂质及其对分析物的干扰，也可能该杂质只溶于强洗脱溶剂。

正相类型固相萃取硅胶和极性吸附剂介质通常用样品所在的有机溶剂来预处理。

离子交换填料将用于非极性有机溶剂中的样品，并用样品溶剂来预处理。对极性溶剂中的样品，用水溶性有机溶剂，再用具有适当 pH 值、适当含量和盐的浓度的有机溶剂的。

为了使固相萃取填料从预处理到样品加入时都保持润湿，允许大约 1ml 的预处理溶剂在管过滤片或萃取片表面上。如果样品是从一个贮液管或过滤管引入固相萃取管，则多加入 0.5ml 最后的预处理液到 1ml 的固相萃取管中、2ml 到 3ml 管中、多加入 4ml 到 6ml 管中等等。这是为了保证在样品加入之前，填料管干了，重复预处理过程。在重新引入有机溶液之前，用水冲洗管中缓冲溶液的盐。如果适当，此时样品贮液管可以用一个接口装在管上。

## 第三步 加入样品



用移液管或微量吸液管准确地将样品转移到管或贮液管内，样品必需以适应固相萃取的形式存在。样品的总体积可以从 1 微升到数升（见步骤一），当过量体积的水溶液被萃取时，反相硅胶填料渐渐减少预处理时所获得的溶剂化层。这就会降低萃取效率和样品的回收率。对样品 >250ml，加入少量的水溶性溶剂（大约为 100%）以适当地保持反相填料的湿润性。对于每一个的应用和使用条件，样品的最大容量是特定的。如果回收率较低或重现性不好，可以按以下技术检测分析物的流失：用一个接口接两个有相同填料及预处理过的固相萃取管。让样品流过这两个管子，完成以后，分开这两个管子，分别洗脱。如果在下面管子的萃取物中发现分析物则样品体太大或填料太少，以致分析物的流失。

为使适当的化合物保留在填料上，洗脱或沉淀不要化合物，要调节 pH、盐的浓度和样品溶液在有机相中的含量。为了避免堵塞固相萃取管的过滤片或固相萃取片，如果可能，在萃取之前预先过滤或离心样品。

用真空或正压，慢慢地让样品溶液通过萃取装置，流速会影响某些化合物的保留。一般来说，对于离子交换固相萃取管，流速小应大于 2ml/min；对于其它上的固相萃取管，流速不应大于 5ml/min；对于萃取片，大约为 50ml/min。如果时间不是一个因素的话，滴速最佳。

对于某些很难的样品基质，另外的前处理是必要的。见下页样品前处理介绍。

## 第四步 冲洗填料



如果分析物被保留在填料上，使用与能溶解样品的相同溶液，或另外一种不能洗脱所要化合物的溶液，去冲洗掉不要的或不要保留的物质。通常所用冲洗溶液不超过一个管体积，对固相萃取片为 5-10 ml。

为消除不要的、可能保留很弱的物质，用比样品基质强，但其强度又不至于洗脱分析物的溶剂去冲洗填料。典型的溶液可含有比最后洗液少一点的有机或无机盐，也可以调节不同的 pH。与最后洗脱液完全不同极性的纯溶剂或溶剂混合物可为有用的洗脱液（见表 A）。

如果选用分析物不被保留在填料上的方案，则应用相当于一管体积的样品溶剂去洗脱管上的任何残余、分析物或 5-10 ml 去洗脱萃取片上的这些物质。在这种情况下，冲洗是作为洗脱来完成萃取过程。

表 A 在固相萃取中常用溶剂的性质

极性			溶剂	是否溶于水
非极性	强反相	弱正相		
↓	↑	↓	正己烷	不
			异辛烷	不
			四氯化碳	不
			三卤甲烷	不
			二卤甲烷	不
			四氢呋喃	是
			乙醚	不
			乙醚/乙脂	差
			丙酮	是
			乙腈	是
异丙醇	是			
甲醇	是			
水	是			
醋酸	是			
极性	弱反相	强正相		

### 第五步 洗脱感兴趣的化合物



用少量能洗脱分析物的溶液去冲洗填料（一般 200ml-2 ml，这取决于管的大小；5 ml-10 ml，取决于片状的大小），但是要留下在冲洗时未被除去的任何杂质。收集洗脱液及为将来做适当的准备。

用两次少量液体洗脱分析物比用一次大量体积更有效，当每次洗脱液停留在管填料或片上为 20 秒到 1 分钟时，分析物的回收率最好。在这一步慢速和滴速是最有利的。

固相萃取中使用的强和弱洗脱剂列入表 A 之中。

• 对于反相、正相和离子交换过程，一般五步全都需要进行；

• 对于样品净化过程，只需要前三步，并且在第三步，分析物将随着样品从管内流出而收集，干扰杂质保留在吸附剂上。

### 样品的前处理

除了保证样品适当的 pH 值（见第五页在固相萃取法中的 pH 值影响），您还应该考虑其它样品前处理的需要。以下部份描述了在使用固相萃取装置之前某些很难的样品应该怎样进行前处理：

### 液体

#### 生物基质

**血清、血浆、血液：**血清和血浆样品不需要前处理即可用于固相萃取。然而，在很多情况下，分析物（如药物）可能结合在蛋白质上，它会降低固相萃取的回收率。为了破坏生物体内蛋白质的键合，在反相或离子交换萃取过程中，可选用以下方法之一：

• 用 0.1M 或更大浓度碱或酸调节 pH 至极限值（ $\text{pH} < 3$  或  $\text{pH} > 9$ ）。用上层溶液做样品进行固相萃取。

• 用极性溶剂如乙腈、甲醇或丙酮沉淀蛋白质（通常用两份溶剂/一份生物体液），混合均匀和离心之后，移取上层溶液，用水或缓冲溶液稀释即可用于固相萃取。

• 为沉淀蛋白质，用酸或无机盐如甲酸、高卤酸、三卤乙酸、硫酸氨、硫酸钠或硫酸锌来处理生物体液。在用于固相萃取之前，上层溶液的 pH 可能需要调节。

• 生物体液超声波处理 15 分钟，加入水和缓冲溶液，离心，上层溶液用于固相萃取。

**尿：**对于反相或离子交换固相萃取，尿样品不需要前处理，但样品加入前，经常需用水或有适当 pH 的缓冲溶液稀释。但某些情况下，酸水解（对碱性化合物）或碱水解（对酸性化合物）用来保证所分析的化合物在尿样品中自由溶剂化。通常将一个强酸（如浓盐酸）或碱（如 10M 氢氧化钾）加入尿中。加热尿样 15-20 分钟，然后冷却，用缓冲液稀释，调至适当的 pH 即可用于固相萃取。也可用酶水解来释放被结合的化合物或药物。

### 细胞培养基质

细胞培养基质不用处理即刻使用。某些方法可能需要用水或有适当 pH 的缓冲溶液稀释其介质，以保证分析物在样品中自由溶剂化。如果细胞培养基质含有满载颗粒，是很难通过固相萃取装置。在用于固相萃取之前，它可能需要摇动和离心。大部分细胞培养基质的固相萃取使用反相和离子交换方法。

### 牛奶

一般牛奶使用反相和离子交换固相萃取条件。样品可能要用水和极性溶剂混合物（如甲醇，大约至 50%）稀释。某些过程需要用酸处理来沉淀蛋白质（典



型的盐酸、硫酸、三卤乙酸)。沉淀以后,样品要离心,上层溶液即用于固相萃取。

### 水样品

饮用水、地下水及污水只要不含大量固体颗粒,可直接用于同相萃取。地下水及污水在使用固相萃取之前可能需要过滤,如果所分析的化合物被结合在被遗弃的颗粒上,过滤会降低其回收率。如有可能尽量不过滤样品,让未过滤样品直接通过固相萃取装置,在洗脱过程中,让溶剂通过在吸附剂之上的颗粒,这将提高回收率。因为用这种方法,被结合在颗粒上的要分析化合物将得到回收。在很多情况下,水样品使用反相或离子交换固相萃取。

### 酒、啤酒、液体饮料

在反相或离子交换条件下,液体和酒精饮料不用处理就可用于固相萃取。对反相萃取,如酒精含量很高,需要用水或缓冲溶液稀释到酒精含量小于 10%;如果有固体在样品之中,在用于固相萃取之前,有必要离心或过滤样品。

### 水果汁

水果汁一般不用前处理或离心既可用于固相萃取。如果离心,上层溶液用于固相萃取。粘性果汁可能需要用水或有适当 pH 的缓冲溶液来稀释。

### 药用液体样品

因为液体药品主要是水溶液,这类样品使用反相或离子交换固相萃取。如果样品具有粘性,必须用水或有适当的缓冲溶液来稀释。样品的有机萃取物可能要用正相固相萃取。

### 油类

碳氢或脂肪油通常是在正相萃取条件下分析的,因为它们不能用水稀释。稀释溶剂常选用中等极性到非极性溶剂,如正己烷和卤化剂。稀释的样品通过正相键合硅胶或吸附剂,样品在通过时被收集。所分析的化合物通过而不被保留,杂质则被保留在吸附剂上。如果分析物被保留在填料之上,不断地用增加溶剂的极性或用极性稀释混合物冲洗固相萃取填料,直到分析物回收到某一流份之中。为收集水样品中的油,使用反相同相萃取。

### 固体

#### 土壤和沉积物

土壤和沉积物一般用中等极性到非极性溶剂通过索格利特萃取或超声波处理萃取。萃取物使用正相固相萃取除去干扰物,如果必要,净化的萃取物可被挥发,再溶解在另一种溶剂之中,如果需要,再次用固相萃取。如果所分析化合物的萃取取决于 pH,土壤和沉积物样品在萃取和固相萃取净化之前,要将其均匀化。在某些情况下,少量的土壤和沉积物可用适当的溶剂均匀化。然后,只要颗粒不堵塞固相萃取装置,不用前处理就可通过固相萃取装置。分析物可通过任

何颗粒而被保留在固相萃取填料和片上。

### 植物组织、水果、蔬菜和谷类

植物组织、水果、蔬菜和农产品(如动物的食物及谷类),要用水、极性溶剂(如甲醇,乙腈)或水及这些溶剂的混合物来均匀化,用反相及离子交换使之净化。通过离心或过滤除去沉淀的蛋白质和固体后,样品的 pH 可能需要调节。分析物可能吸附在固相萃取填料或者简单地通过而与干扰物分开。样品也可能用中等极性到非极性溶剂均匀化,以用于正相固相萃取。同样,在用于固相萃取之前,样品可能需要离心或过滤。

### 食用肉类、鱼类和动物组织

食用肉类、鱼类和其它的动物组织能用相同于以上描述的固体水果及蔬菜类的处理方法。除了在水中均匀化以外,如用于反相和离子交换的样品,可能需要用酸(一般为盐酸或三卤乙酸)水解或降解食用肉类及组织、或者用碱(如氢氧化钠)皂化。也可使用酶水解方法。样品接着可离心,取上层溶液用于固相萃取。用中等极性到非极性溶剂获取的组织萃取物,能用于正相固相萃取。

### 药片和其它药用固体样品

药片和其它药用固体样品应粉碎成细粉状,然后用水或适当的缓冲溶液萃取或均匀化,使用反相或离子交换固相萃取。中等极性到非极性溶剂用于正相净化过程。

### 样品处理装置及其配件

固相萃取管可以一个单管处理塞独立使用(图 A 所示),或与注射器及接口(图 B 所示)联用。液体样品放在固相萃取管内,处理塞或注射器用来提供正压,可将液体推过管子。以空气或氮气气流提供正压,也可将液体推过管子。

图 C 真空三角瓶示意图

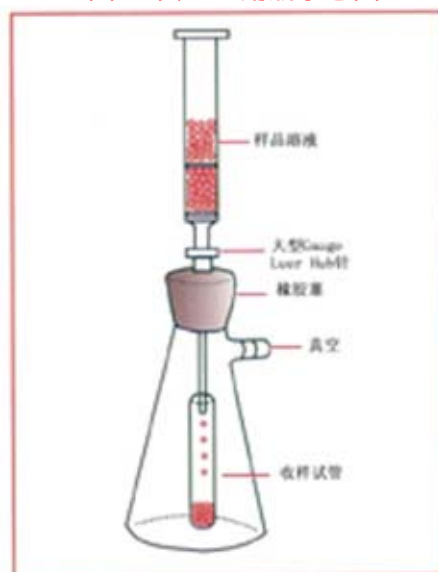


图 A 单管处理塞

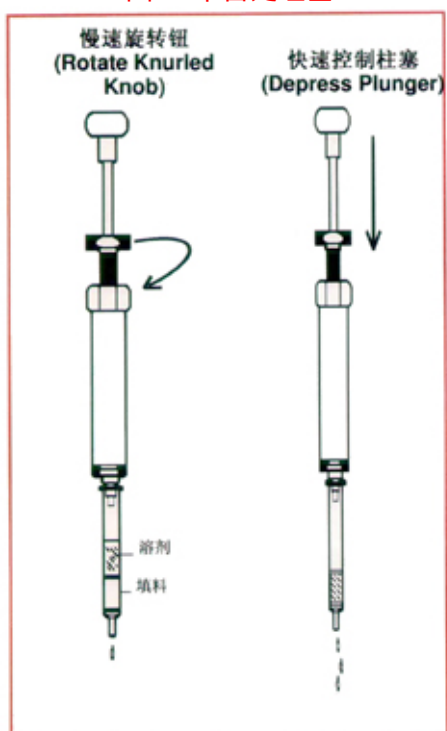
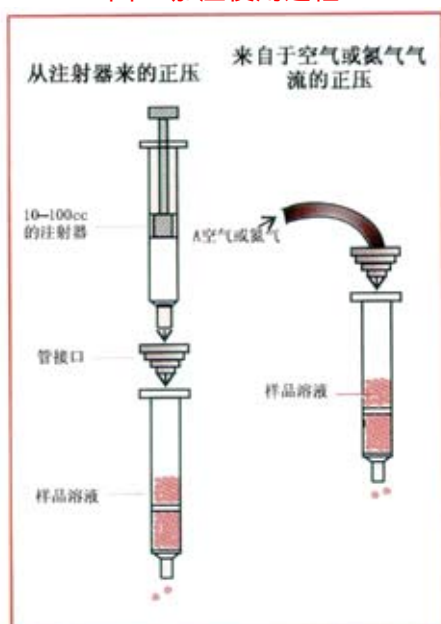


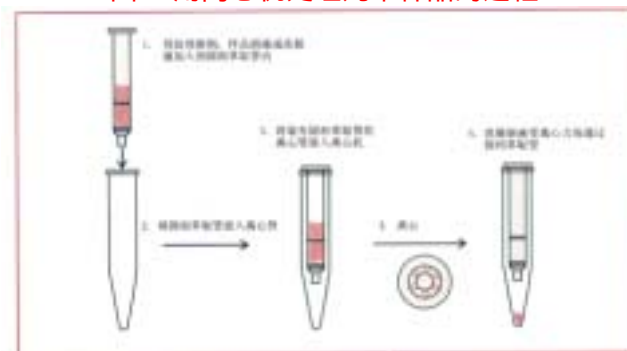
图 B 加压使用过程



还可用一个真空三角瓶及橡胶（图 C 所示）提供负压，可将溶液吸过一个固相萃取管。然后将溶液收集在真空瓶内的试管里。

几个固相萃取管可用离心机同时处理（图 D 所示），溶液放在固相萃取管内，离心力使溶液通过管子而进入试管内。必须确定适当的离心速度，其取决于管内填料的种类和重量及样品体积。对于样品加入，用步骤三中讨论过的流速（见第七页）。

图 D 用离心机处理几个样品的过程



用 12 孔型或 24 孔型真空多歧管装置，可同时处理多个管子。SUPELCO 提供两种类型的 Visiprep™ 固相萃取真空多歧管装置（立盖式和一次性层式装置）。

• 本公司的立盖式多歧管装置（图 E 所示）有独特的流速控制阀，能控制每一个固相萃取管的流速。可反复使用的不锈钢引导针直接引导样品进入下面的玻璃缸。

图 E 真空多歧管与其标准盖



• 在 DL 多歧管装置盖上的阀口（图 F 所示）内有一个一次性聚四氟乙烯层，直接将样品引入玻璃缸内。这种层式装置是一次性使用的、惰性的，在一些要求严格的应用中，它消除了相互污染。

图 G 固相萃取真空收集装置



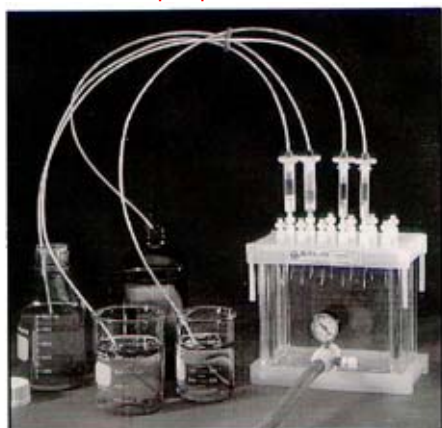
图 F Vi si prep 真空多歧管装置和一次性层式装置



两种类型的真空多歧管装置都有一个耐溶剂真空表和阀门，用之在萃取过程中监测和释放真空。收集在玻璃缸底部不要的溶剂，通过真空装置不断抽进真空回收瓶（图 G 所示），其位于真空泵和多歧管装置之间。这个过程防止不要的溶剂在玻璃缸内积累，减少污染。在多歧管装置中，装备了可调节的收集管架系统。这种管架很容易调节，适应于多种类型和大小的收集器。如小试管（10mm）、大试管（16 mm）、容量瓶（1-10ml）和许多种类的自动进样瓶。

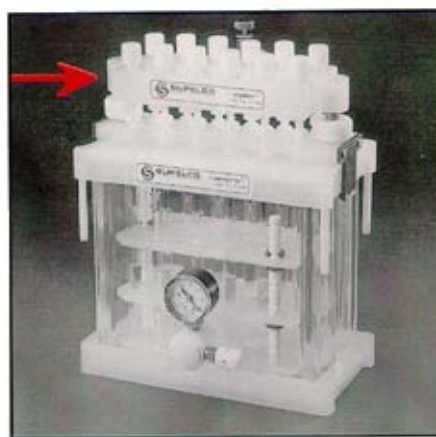
固相萃取管可单独操作或与一个能提供不同选择性的接口联用。少量体积可直接加入固相萃取管中操作。大量体积则加入一个贮液管，再通过一接口接在固相萃取管上。对特大体积的样品，有一个大容量进样装置，可自动进样（图 G 所示）。

图 H Vi si prep 大容量进样装置



Visidry™ 干燥器装置（图 I 所示），有 12 孔和 24 孔两种型号，能用在固相萃取过程中，干燥，挥发和浓缩收集的样品。

图 I Vi si dry 干燥装置



固相萃取片可用在三角过滤瓶的装置上（图 J 所示）。

图 J



ENVI 片夹（图 K 和图 L）是设计来消除和可能的泄露，这种泄露一般发生在习用的瓶夹上。当没有标准的三角过滤瓶装置时，可用 ENVI 片夹。

图 K



图 L

图 M





## 样品的性质决定固相萃取过程

样品基质：

分析物更溶于：

化合物：

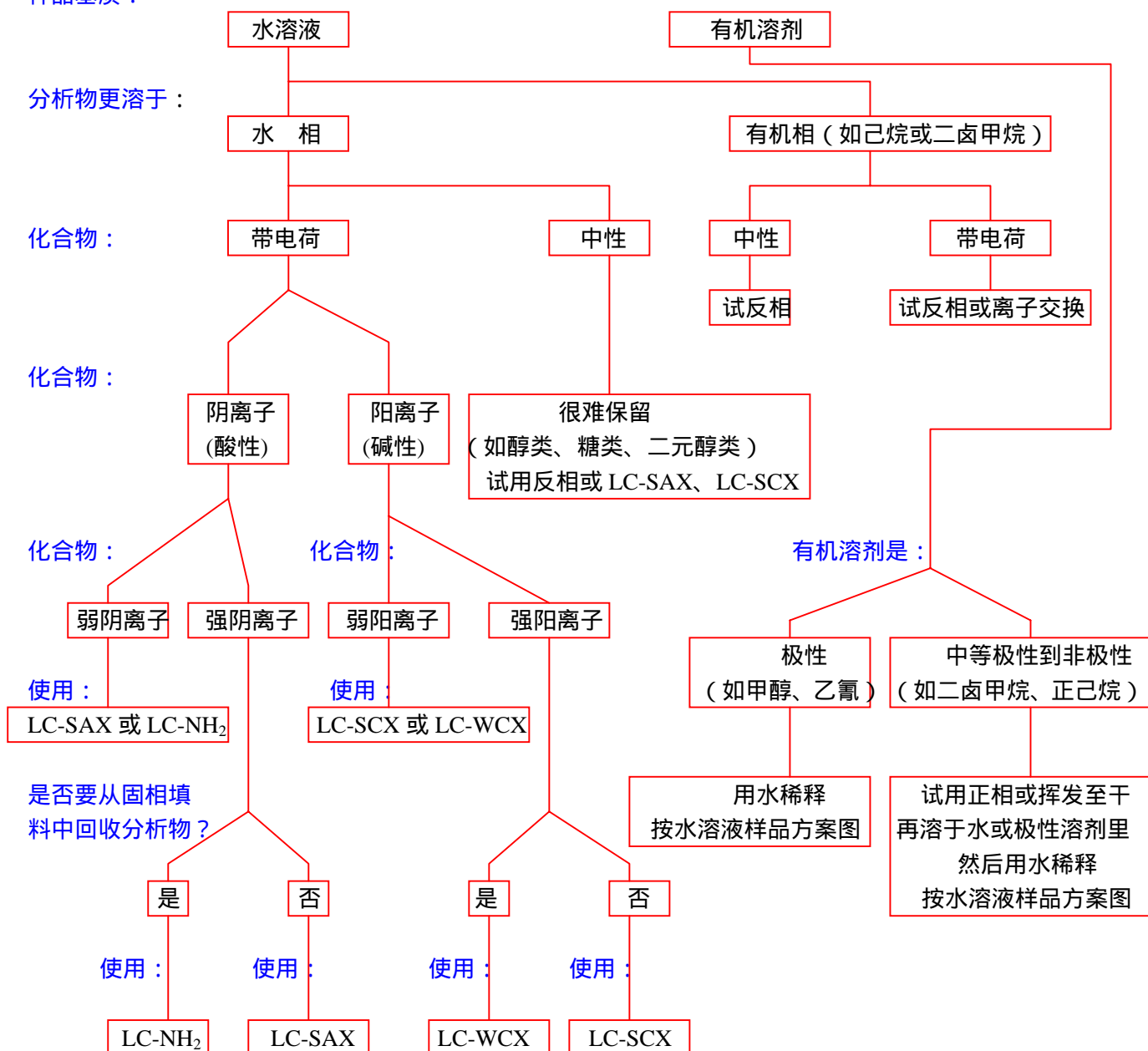
化合物：

化合物：

化合物：

有机溶剂是：

是否要从固相填料中回收分析物？



选择固相萃取装置取决于：

- 样品体积
- 污染程度
- 样品基质的复杂性
- 分析物量的大小
- 样品基质的类型和溶剂强度

技术服务

如需要帮助选择适当的样品处理装置，  
请与本公司联系。

## 康林科技

地址：北京市海淀区长春桥路5号新起点嘉园10楼1107室 邮编：100089

电话：010-82562233 传真：010-82562928 网址：www.sepuke.com E-mail：kanglin@sepuke.com

上海：021-64571322 广州：020-38845076 成都：028-82517310 南京：025-3702394 重庆：023-68730564

西宁：0771-3329717 石家庄：0311-8953257