

固相微萃取和液相色谱联用装置 测定水样中磺胺类抗生素

No.LC-037

摘要： 搭建了可以对样品进行自动预处理和定量分析的固相微萃取与高效液相色谱联用装置，可以自动地实现样品的富集、分离，并用此装置测定水样中磺胺类抗生素。该方法快速、准确，自动化的前处理有效地降低了人为操作带来的误差，连续八次进样，峰面积相对标准偏差小于5.4%。样品在2–200 ng/mL的范围内线性关系良好，相关系数大于0.999，检测限可达0.18–0.67 ng/mL。

关键词： 固相微萃取 液相色谱 联用 磺胺 抗生素

在多种常规分析仪器和分析方法发展较为成熟的今天，样品预处理仍然被认为是一个耗时耗力的过程，甚至于可能成为整个分析任务顺利完成的瓶颈。1989年，Pawliszyn等人首先开发出了固相微萃取技术，它具有操作简便，萃取快速，不需有机溶剂，易于自动化，萃取效率高，方便与气相色谱、液相色谱联用等优点[1–3]。现在固相微萃取和气相色谱联用的自动化装置已经实现商品化，但是固相微萃取和液相色谱联用的自动化装置还很少。

本文构建了一种新型的固相微萃取–液相色谱联用装置，采用输液泵，流路切换阀结合自动进样器，可使整个分析过程通过程序控制，具有组装容易，定量准确，重现性好的特点。

实验部分

1、仪器

Shimadzu LC-20A分析系统：包括系统控制器CBM-20A；脱气机DGU-20A₃；输液泵LC-20ADx2；自动进样器SIL-20A，带2 mL定量环；梯度混合器MixerSUS20A；柱温箱CTO-20AC；紫外检测器SPD-20A；流路切换阀FCV-12AH；色谱工作站LC solution。

2、分析条件

CBM-20A的 Fire Start Relay On选择Inj. only。

流动相：乙腈/20 mM乙酸铵缓冲液（pH 5.0）= 24/76（v/v）

流动相流速：1 mL/min(Pump B，分析时1 mL/min，解吸时0.03 mL/min)

携带液：0.2%甲酸水溶液

携带液流速：0.04 mL/min (Pump A)

进样体积：300 μL

色谱柱：Hypersil ODS 4.6 mmx200 mm, 5 μm

萃取柱：含有辛基和磺酸基的硅胶整体柱
(0.25mmx150mm)

柱温：30℃

检测波长：269 nm

时间程序：

Time	Module	Command	Value
0.01	Column Oven	CTO. RVL	0
10.49	Pumps	Pump B Flow	1
10.50	Pumps	Pump A Flow	0.04
10.50	Pumps	Pump B Flow	0.03
10.50	Column Oven	CTO. RVL	1
10.51	Pumps	Pump A Flow	0
15.49	Pumps	Pump B Flow	0.03
15.50	Column Oven	CTO. RVL	0
15.50	Controller	Start	
15.51	Pumps	Pump B Flow	1.0
27.49	Pumps	Pump A Flow	0
27.50	Pumps	Pump A Flow	0.04
30.50	Controller	Stop	

注：CTO.RVL代表流路切换阀，Value“0”代表萃取、清洗、分析和活化过程，Value“1”代表解吸过程。

结果与讨论

1、磺胺样品的色谱图

八种磺胺类抗生素样品色谱图如图Fig.1所示（A为50 ng/mL水样经常规液相色谱直接进样的色谱图，进样量 20 μ L；B为50 ng/mL水样经Fig.2所示固相微萃取后的色谱图，进样量300 μ L）。从图中可以看出，在线固相微萃取系统可以增大进样体积而不会造成峰明显扩展。

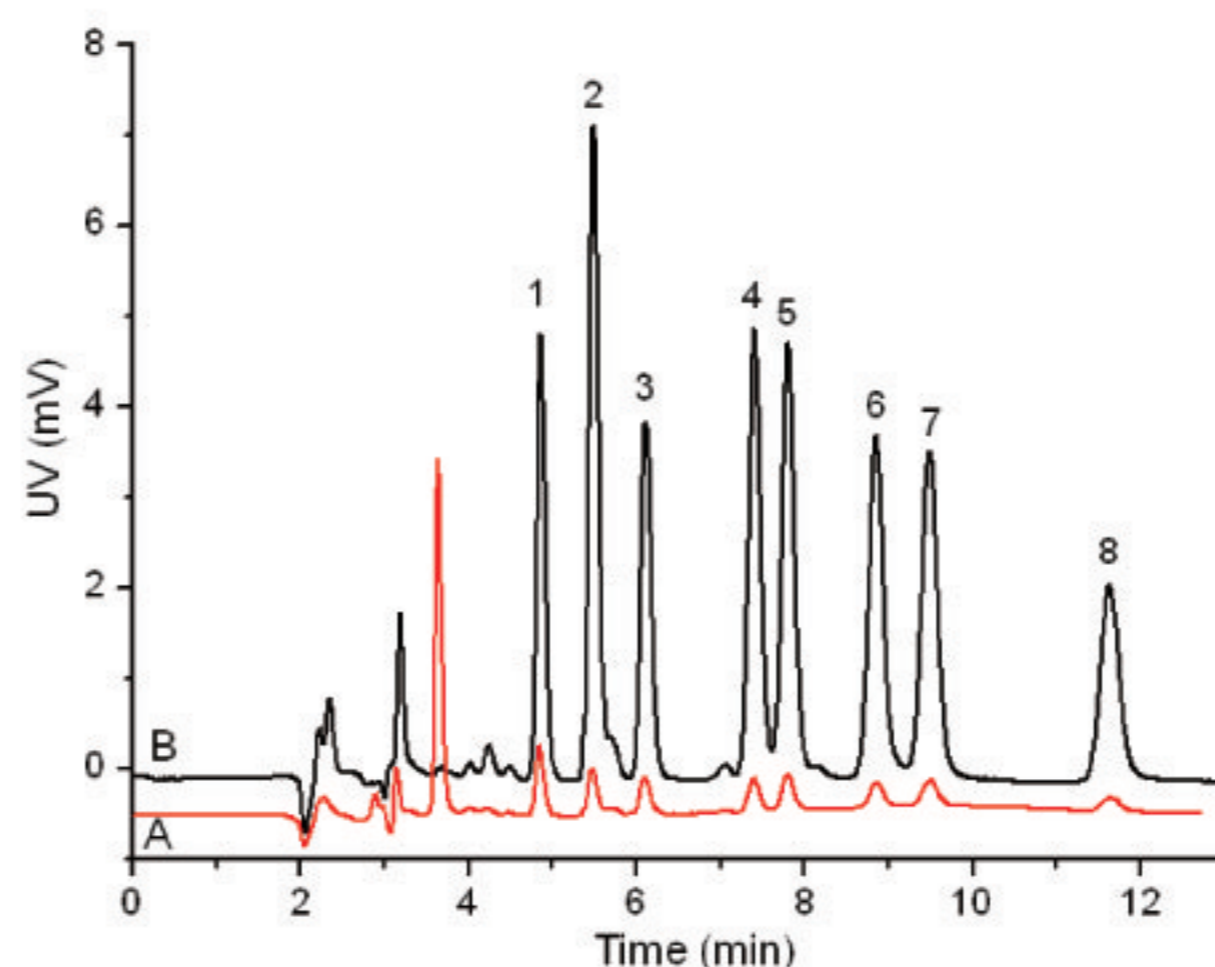


Fig. 1 自动化装置分析水样中八种磺胺类抗生素色谱图

（1. 磺胺嘧啶SDZ；2. 磺胺吡啶SPD；3. 磺胺甲基嘧啶SMR；4. 磺胺对甲氧基嘧啶SME；
5. 磺胺二甲嘧啶 SMZ；6. 磺胺间甲氧嘧啶SMM；7. 磺胺氯哒嗪SCP；8. 磺胺邻二甲氧嘧啶SD）

2、系统流程

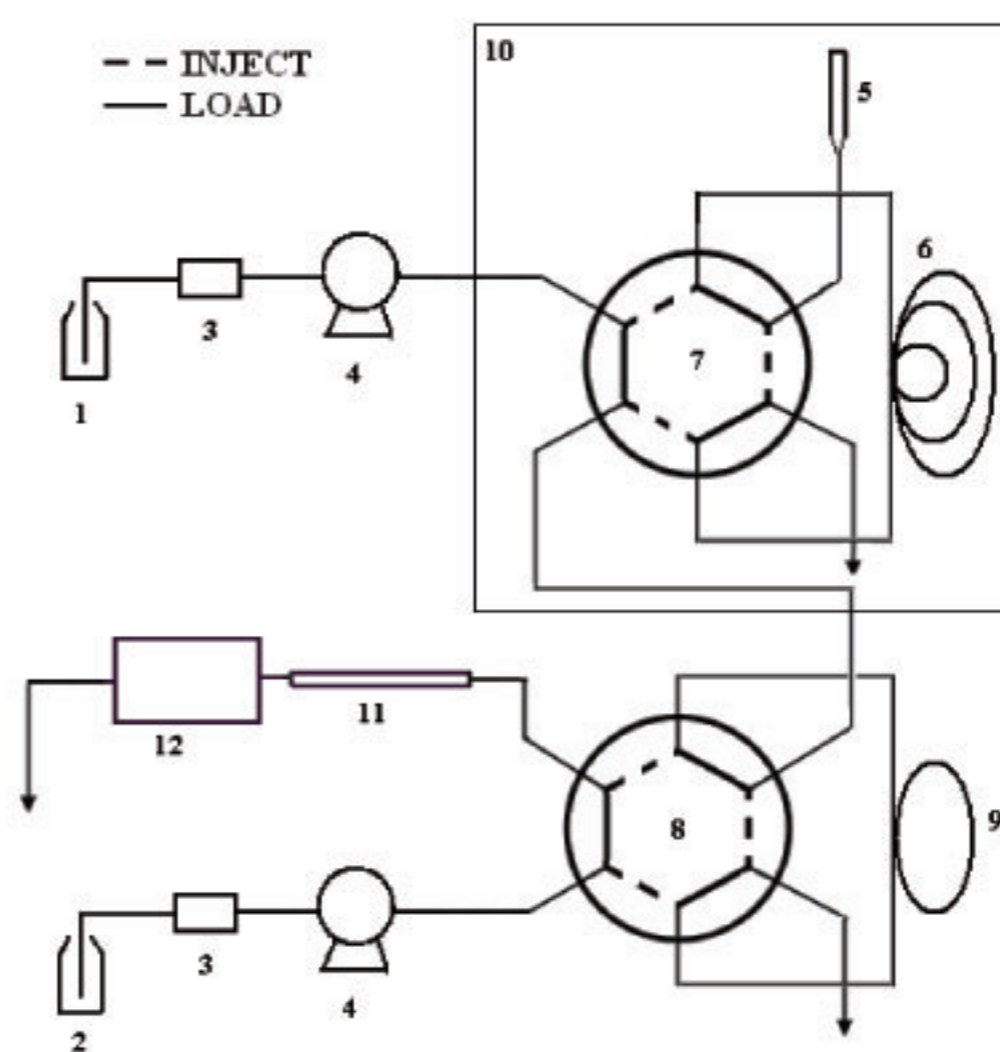
萃取：自动进样器将一定体积的样品溶液吸入定量环，切换到进样位置，携带液驱动样品溶液自定量环进入萃取柱，开始萃取。

清洗：在萃取完成后，携带液通过萃取柱直到管内的样品溶液被其替换，防止未被吸附的分析物进入色谱柱。（到10.5 min萃取和清洗结束）

解吸：流路切换阀切换到进样位置（10.5 min），使流动相经过萃取毛细管将吸附的分析物解吸到色谱柱上。

分析：解吸完毕后，将流路切换阀切换到载样位置（15.5 min），流动相经分析柱进入检测器，进行色谱分离检测。

活化：携带液经输液泵驱动，在流路切换阀处于载样位置时，以所需流速通过萃取毛细管，对之进行活化。（27.50–30.50 min）



1.携带液 2.流动相 3.脱气机 4.输液泵 5.进样针 6.定量环 7.高压阀
8.切换阀 9.萃取柱 10.自动进样器 11.色谱柱 12.检测器

Fig.2 在线固相微萃取分析流路图

3、标准曲线的制作

分别准确配制2 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL的磺胺类抗生素溶液，用上述自动化装置萃取和定量分析，制作标准曲线（见表1）。在2-200ng/mL的范围内，线性关系良好，相关系数均大于

4、回收率、检测限和定量限

在选定的实验条件下，考察该方法的回收率、检测限和定量限（见表1）。结果表明，该方法定量准确，灵敏度高。

5、重现性实验

考察了该自动化装置进行萃取分析的重现性（见表2和表3）。八次萃取分析得到的保留时间相对标准偏差（RSD）<0.5%，峰面积的相对标准偏差（RSD）≤5.4%，说明该在线固相微萃取装置重现性好，结果可靠，完全满足日常分析的需要。

■ 结论

构建了一种新型的全自动固相微萃取-液相色谱联用装置，萃取柱直接连接于流路切换阀上，进样系统由自动进样器和液相色谱输液泵组成。通过自动进样器来精确控制进样体积，由液相色谱输液泵驱动携带液推动样品环中的样品溶液进入萃取柱进行萃取。该装置构建简单，整个操作过程全自动化，重现性好，可以大大提高工作效率。

表1 八种磺胺类抗生素在线固相微萃取分析的线性、回收率及检测限、定量限

Name	Linear Range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Recovery(%)
SDZ	2-200	0.9990	0.18	0.60	109.7
SPD	2-200	0.9992	0.24	0.80	84.9
SMR	2-200	0.9996	0.33	1.09	94.4
SME	2-200	0.9991	0.33	1.11	85.9
SMZ	2-200	0.9994	0.55	0.82	99.1
SMM	2-200	0.9991	0.37	1.23	86.5
SCP	2-200	0.9990	0.33	1.11	89.8
SD	2-200	0.9996	0.67	2.22	97.8

表2 八种磺胺类抗生素在线固相微萃取分析的保留时间及重现性（n=8）

Name	1	2	3	4	5	6	7	8	RSD (%)
SDZ	4.885	4.891	4.885	4.874	4.882	4.879	4.889	4.879	0.030
SPD	5.508	5.514	5.508	5.496	5.504	5.504	5.513	5.502	0.030
SMR	6.137	6.141	6.136	6.126	6.133	6.133	6.142	6.132	0.026
SME	7.430	7.433	7.430	7.451	7.428	7.428	7.436	7.426	0.037
SMZ	7.836	7.840	7.837	7.858	7.832	7.833	7.840	7.830	0.04
SMM	8.884	8.887	8.883	8.906	8.880	8.886	8.887	8.877	0.038
SCP	9.528	9.530	9.529	9.551	9.525	9.534	9.534	9.522	0.038
SD	11.674	11.680	11.678	11.700	11.671	11.680	11.684	11.670	0.037

表3 八种磺胺类抗生素在线固相微萃取分析的峰面积及重现性（n=8）

Name	1	2	3	4	5	6	7	8	RSD (%)
SDZ	9604	9950	10194	10164	10235	10537	10628	10389	3.2
SPD	8214	8969	9012	9226	9331	9457	9730	9636	5.2
SMR	6275	6416	6737	6843	6945	7258	7152	7270	5.4
SME	7241	7509	7647	7903	7853	8337	8014	8070	4.4
SMZ	10970	11374	11527	11845	11832	11909	12087	12138	3.4
SMM	9563	9314	9515	9457	9557	9380	9414	9616	1.1
SCP	11727	11747	11511	11685	11939	11542	11532	12032	1.6
SD	5643	6009	5836	6245	5972	6632	6400	6378	5.4