



TN210 加速溶剂萃取在线选择性除去干扰物的技术

简介

在萃取的过程中有时一些干扰物质会被一起萃取出来，这些共萃取物可能会干扰分析或使分析仪器的性能降低。过去通常通过色谱技术比如凝胶色谱（GPC）、或在玻璃柱中装入特殊的吸附材料比如固相萃取的方式在分析前对萃取液进行净化，最近有多篇已经发表的论文^{1, 3-10, 12-17}讨论了 ASE 技术的新进展：在萃取的同时除去干扰物—萃取和净化一步完成。

本技术注解汇总了 ASE 从 7 种不同基质中除去多种共萃取物的方式：从富含脂肪的样品中选择性萃取极性组分和从生物样品中分馏脂肪。

本技术注解仅作为对 ASE 方法开发的指导，需要更详细的信息，请参考每个方法下面注明的参考文献原文，或与戴安公司联系。

非极性组分的选择性萃取

为省去萃取后的净化步骤，戴安公司及 ASE 的使用者曾经研究了各种可直接放到萃取池中的吸附材料。对于多种样品形式已有很多成功的证据证明这样产生的干净的萃取液可以直接进行分析。例如非极性脂肪在萃取鱼肉组织时经常被共萃取出来，向萃取池中加样品或样品混合物前在萃取池中先加入氧化铝（氧化铝 Al_2O_3 ，酸化，放到干燥烘箱内 $350^\circ C$ ，活化 15 分钟），其结果证实干扰分析的脂肪没有被萃取出来。如果将样品与 C18 树脂（1：2）混合后萃取，结果证明 C18 树脂可以将有机干扰物保留在萃取池中（硅胶基质的 C18，直径 $35-70\mu m$ ，孔径 60 \AA ，Alltech，其它品牌的相同产品也可以使用）。

在 ASE 萃取同时进行在线净化，溶剂的选择往往会影响到干扰物的保留。例如，正己烷/丙酮（1：1）混合溶液通常被用来萃取动物组织中的有机氯杀虫剂，萃取后经常需要经过净化过程除去共萃取出的脂肪，如果在萃取池底部预先加入氧化铝并用正己烷萃取就可以避免干扰物的影响，但是，如果使用正己烷/丙酮（1：1）做萃取溶剂，几乎没有脂肪被保留在氧化铝上。表 1 列出了两种脂肪保留剂在使用非极性溶剂时保留脂肪的比例，表 2 列出的是用 ASE 选择性萃取时常用吸附剂

表 1，使用非极性溶剂萃取时不同脂肪保留剂对每克脂肪的比率

脂肪保留剂名称	脂肪保留剂脂肪 g/g
氧化铝	20-25
酸化硅胶	45.5

*结果最好的非极性溶剂是正己烷或庚烷，增加萃取的温度或增加萃取溶剂的极性可以降低脂肪保留剂保留脂肪的能力

表 2，针对不同干扰物的吸附剂

吸附剂*	干扰分析物
炭	除去有机物（用于二恶英分析） ¹
铜	除去硫磺 ²
离子交换树脂**	除去有机物、影响离子色谱和 IC/MS 分析的离子干扰物 ³
C18 树脂	除去有机物、极性组分、脂肪、色素 ⁴



酸化硅胶**	除去脂肪 ^{5, 6}
氧化铝**	除去非极性脂肪、色素 ^{7, 8, 9}
Florisil (一种硅酸镁载体)	除去非极性脂肪油 ^{10, 11}
硅胶	除去非极性脂肪 ¹²

注：*戴安不建议将硫酸钠和硫酸镁做为在线吸附剂，因为会引起潜在的堵塞问题，这些化合物还会损坏 ASE 静态阀等关键部件。

**这些选择性技术在下面详述

对各种非极性组分选择性在线净化的技术

利用酸化硅胶从鱼肉组织样品中选择性萃取多氯联苯 (PCBs)^{5, 6}

吸附剂和分散剂

硅胶

ASE Prep DE (硅藻土) (戴安 P/N 062819)

硫酸钠*

Ottawa 砂子

*硫酸钠仅在正己烷或庚烷做萃取溶剂时使用，如果使用其他溶剂，请特别注意使用硅藻土替代。

40%酸化硅胶的准备

600克硅胶在200℃下加热至少12小时后冷却，将400克硫酸加入到冷却的硅胶中，搅拌4小时。

ASE萃取条件：

萃取溶剂：正己烷

压力：1500psi.

温度：100° C

静态萃取时间：5 分钟

静态循环次数：2 次

冲洗体积：60%

吹扫时间：90 秒

萃取池体积：33 毫升

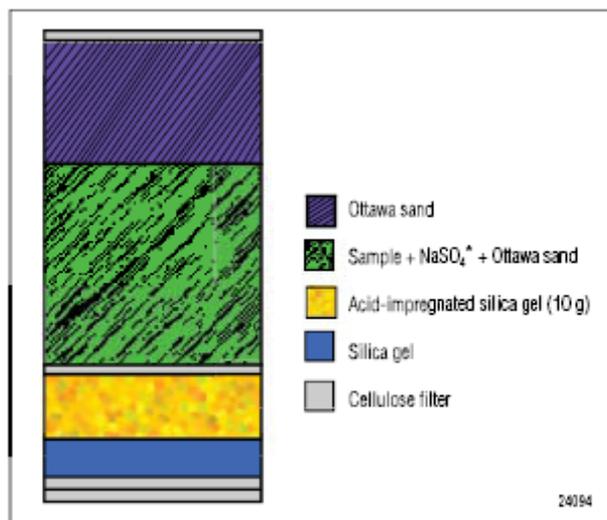


Figure 1. Preparation of ASE cell for the selective extraction of PCBs from fish meal.

萃取池准备

33 毫升萃取池在底部加入两片纤维素滤膜，然后如图 1 所示从底部到顶部依次加入未酸化硅胶、酸化硅胶，加入间隔用纤维素过滤膜，加入按下面步骤准备的样品混合物，将上部空间用砂子填满（可选择在最上层加上一片滤膜）

样品准备

取 2 克硫酸钠、2 克砂子与 2 克鱼肉一起在研钵中混合研磨，按照图 1 的方式将样品混合物加到萃取池中，将装有样品的萃取池放到萃取仪上并按照上面列出的萃取条件进行萃取。将萃取液浓缩至 1 毫升，然后用正己烷稀释至 2 毫升，根据 EPA8020 方法进行分析

利用铝粉从鱼肉组织中选择性萃取多氯联苯⁷

吸附剂和分散剂



ASE Prep DE 硅藻土 (戴安 P/N062819)

硫酸钠* (Fisher Scientific)

氧化铝, 60-325 目 Brockman activity I, acidic (Fisher Scientific)

*硫酸钠仅在正己烷或庚烷做萃取溶剂时使用, 如果使用其他溶剂, 请使用硅藻土替代。

氧化铝的活化准备

将氧化铝加热 350° C, 15 小时

ASE 萃取条件

萃取溶剂: 正己烷

压力: 1500psi

温度: 100° C

静态萃取时间: 5 分钟

静态循环次数: 2 次

冲洗体积: 60%

吹扫时间: 120 秒

萃取池体积: 33 毫升

萃取池准备 (图 2)

如图 2 萃取前在 33 毫升萃取池中底部加入一片滤膜, 滤膜上加入活化的氧化铝粉。

样品准备

3 克鱼肉与 15 克硫酸钠在研钵中混合研磨, 将混合物加入到 33 毫升萃取池中 (如图 2), 用 2 毫升正己烷淋洗研钵后加到萃取池中, 将装有样品的萃取池放到仪器上按照上面的萃取条件萃取。萃取液用 EPA8082 方法进行分析。

氧化铝的量取决于鱼肉组织所含的脂肪量以及被萃取鱼肉组织样品的量 (表 1)。

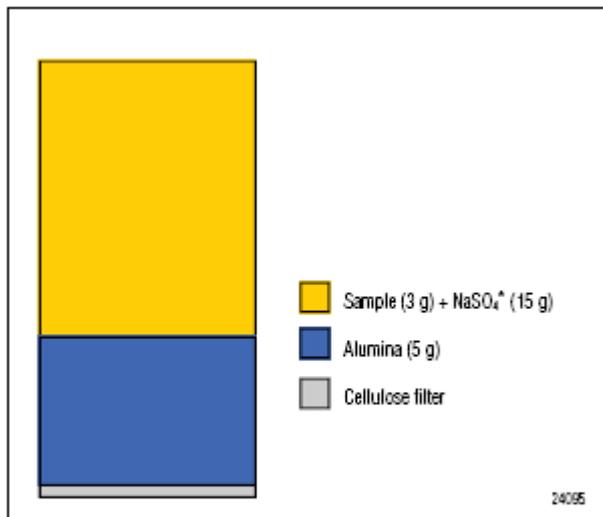


Figure 2. Preparation of ASE cell for the selective extraction of PCBs from fish tissue using alumina.

从极性样品基质中选择性萃取极性组分

利用离子交换树脂选择性萃取蔬菜组织中的高氯酸盐³

离子交换树脂和吸附剂

戴安 OnGuard II Sample Pretreatment Cartridges

Ag (戴安 P/N 057089)

Ba (戴安 P/N 057093)

H (戴安 P/N 057085)

RP (戴安 P/N 057083)

ASE Prep DE (戴安 P/N 062819) (硅藻土)

碱性氧化铝 (Fisher Scientific Cat No.)

ASE 萃取条件

萃取溶剂: 水 (HPLC 级)

压力: 1500psi

温度: 80° C

静态萃取时间: 5 分钟

静态循环次数: 3 次

冲洗体积: 30%

吹扫时间: 120—240 秒



萃取池体积：33 毫升或 100 毫升

萃取池准备

萃取前在 100 毫升萃取池底部放置 2 片玻璃纤维滤膜，将 OnGuard 树脂柱底部切断将树脂颗粒分别放入烧杯备用，从底部至顶部如图 3 依次放入各种离子交换树脂，铝粉和玻璃纤维膜，上部空间用硅藻土填满，如果采用 33 毫升萃取池，按照同样的步骤相应减少树脂的用量

为确保树脂的干净，在正式萃取样品前用上述 ASE 条件对装有树脂和吸附剂的萃取池进行萃取。

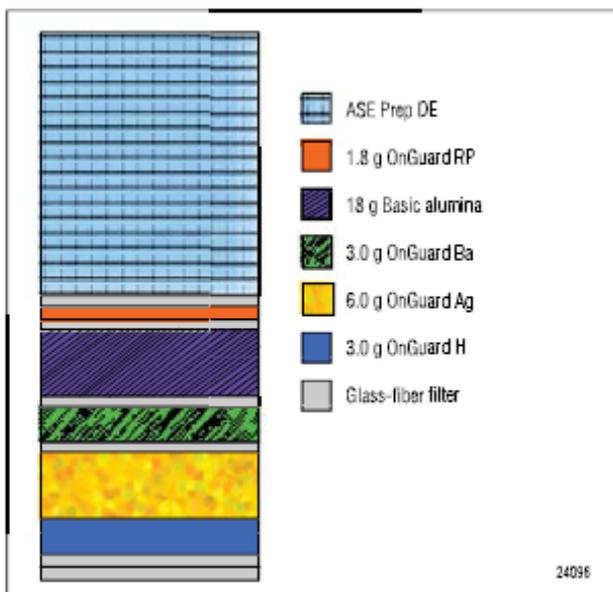


Figure 3. Preparation of ASE cell for the selective extraction of perchlorate from vegetation.

样品的准备

从上述的萃取池中取 10 克干净的硅藻土与 5 克蔬菜样品混合研磨，混合物填回到萃取池中，将萃取池放到 ASE 上并用上面列出的 ASE 条件进行萃取，将萃取液最终调节到 40 毫升（使用 33 毫升萃取池时）或 100 毫升（使用 100 毫升萃取池时）

从牛肝中选择性萃取皮质类固醇¹³

本方法是一种分馏萃取的方法，第一步萃取（脱脂步骤）除去非极性的甘油三酸酯，第二步萃取（萃取步骤）回收感兴趣的待分析物

ASE 萃取条件

	脱脂	萃取
溶剂	正己烷	正己烷- 乙酸乙酯(1:1, v/v)
温度	60° C	50° C
压力	1500 psi	1500 psi
静态萃取时间	5 min	5 min
冲洗体积	100%	60%
吹扫时间	100 s	100 s
静态循环次数	3	1
萃取池体积	22 mL	22 mL

样品的准备



5克牛肝组织与7.5克硅藻土混合后放入22毫升萃取池，萃取池底部加入一片纤维素滤膜，用上述的条件对同一萃取池第一步脱脂，第二步萃取分析物。第二步的萃取液蒸发至干燥后用4毫升无水乙醇溶解，4000 rpm离心机离心，取出乙醇层，将乙醇蒸发至干燥，剩余物用500微升甲醇溶解后用LC/MS进行分析。

从动物组织中选择性萃取磺胺类药物^{4, 14}

本方法描述了在萃取过程中用 C18 树脂除去大部分非极性脂肪的过程。共萃取出的极性脂肪通过冷却沉淀后离心分离，含有感兴趣待分析物的上层液用 HPLC/MS/MS 分析。

ASE 萃取条件

萃取溶剂： HPLC 级水
压力： 1500psi.
温度： 160° C
静态萃取时间： 5 分钟
静态循环次数： 1 次
冲洗体积： 60%
吹扫时间： 60 s
萃取池体积： 11 mL

样品准备：

用任一标准化的匀浆器将肉样品匀浆，匀浆时需加入 HPLC 级去离子水，将匀浆机设定到 5000 转/分，达到 5000 转/分后逐步升至 25000 转/分，15 分钟。将过量的水蒸发掉，称重 2 克左右匀浆组织与 4 克 C18 树脂充分混合直至匀质，将其转移到预先加入玻璃纤维滤膜的 11 毫升萃取池中，将萃取池放到 ASE200 上，按照上述的 ASE 条件萃取，萃取后将萃取液在-18° C 下冷冻 1 小时沉淀脂肪¹⁴，取上层萃取液 10000 rpm 离心机离心 5 分钟，取上清液按照参考文献 4 中的条件 LC-MS/MS 分析。

用在线净化法萃取可可和咖啡中的丙烯酰胺¹⁵

将 Florisil (硅酸镁载体) 加入到萃取池中可以极大地简化分析复杂的食品样品如可可、咖啡等中的丙烯酰胺的过程，图 4 展示了实验的结果，咖啡样品通过在萃取池中预先装入不同量的 Florisil 后萃取，然后将萃取液放入 Isolute Multimode 固相萃取柱 (如图 4)，可以看到随着萃取池中 Florisil 量的增加，共萃取出的物质明显减少，实验发现萃取池中加入 6 克 Florisil 可以得到足够净化的萃取物

更详细的 ASE 萃取条件和样品的准备过程请见戴安公司应用注解 AN358¹⁶

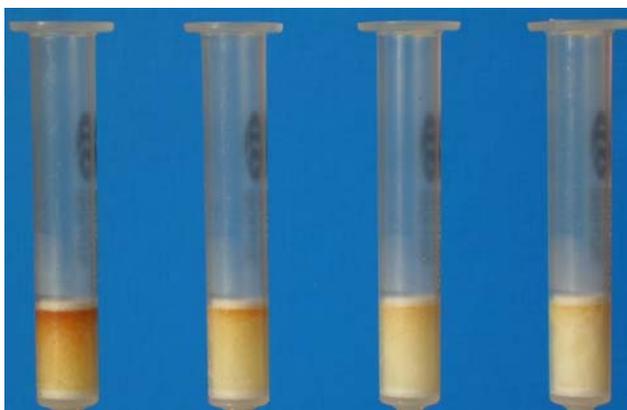




图4, 咖啡样品ASE萃取后残留的共萃取物被Isolute Multi-mode固相萃取柱捕获的情况 从左至右ASE萃取池中加入的硅酸镁量: 1、没有; 2、2克; 3、4克; 4、6克

生物样品的脂肪分馏法^{16, 17}

下面的发展的 ASE 方法是用分馏法从生物样品中萃取非极性的脂肪和极性的磷脂, 在 ASE 萃取池中预先加入特殊的吸附剂, 在萃取非极性脂肪时磷酸酯被吸附到吸附剂上, 当非极性脂肪被完全萃取后, 样品用极性稍强的溶剂再次萃取, 可以得到极性的磷脂, 每次萃取的萃取液直接进入不同的接收瓶, 使得两种不同极性的脂肪分离开。由于 ASE 的垂直设计使得这个分馏方式变得切实可行, 溶剂控制器可以连续地变换萃取溶剂, 例如: 一个 ASE 萃取程序可以按照下面的方式连续编程: 正己烷/丙酮 (9: 1) 萃取出甘油三酸酯, 接着用氯仿/甲醇 (1: 4) 萃取出磷脂或羟基脂肪酸。进一步详细的情况请见参考文献 16 和 17。

5、结论

垂流设计的 ASE 允许系统在萃取的过程中结合各种在线净化过程, 省略后面的净化步骤, 减少溶剂的使用和倾倒, 节省操作者的时间和劳动力, 这使得 ASE 成为整个样品准备总过程的有力工具。

参考文献

1. Nording, M.; Sporning, S.; Wiberg, K.; Bjorklund, E.; Haglund, P. Monitoring Dioxins in Food and Feedstuffs Using Accelerated Solvent Extraction with a Novel Integrated Carbon Fractionation Cell in Combination with CAFLUX Bioassay. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *381*, 1472-1475. (戴安国际论文目录: 359)
2. U.S. EPA Method 3660B, Sulfur Cleanup. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, 1996.
3. Dionex Corporation. Determination of Perchlorate in Vegetation Samples Using Accelerated Solvent Extraction(ASE) and Ion Chromatography. (戴安应用技术注解AN356 LPN 1807. Sunnyvale, CA, 2006.)
4. Dionex Corporation. Rapid Determination of Sulfonamide Residues in Animal Tissue and Infant Food Containing Animal Products Using Accelerated Solvent Extraction (ASE). (戴安应用技术注解AN353 LPN 1708. Sunnyvale, CA, 2005.)
5. Bjorklund, E.; Muller, A.; von Holst, C. Comparison of Fat Retainers in Accelerated Solvent Extraction for the Selective Extraction of PCBs from Fat-Containing Samples. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4050-4053. (戴安国际论文目录: 175)
6. Sporning, S.; Bjorklund, E. Selective Pressurized Liquid Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Fat-Containing Food and Feed Samples Influence of Cell Dimensions, Solvent Type, Temperature and Flush Volume. *J. Chromatog., A.* **2004**, *1040*, 155-161. (戴安国际论文目录: 333)
7. Ezzell, J.; Richter, B.; Francis, E. Selective Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Fish Tissue Using Accelerated Solvent Extraction. *American Environmental Laboratory.* **1996**, *12*, 12-13. (戴安国际论文目录: 30)
8. Dionex Corporation. Selective Extraction of PCBs from Fish Tissue Using Accelerated Solvent Extraction (ASE). (戴安应用技术注解AN322 LPN 0764.Sunnyvale, CA, 1996.)
9. Dionex Corporation. Determination of PCBs in Large-Volume Fish Tissue Samples Using Accelerated Solvent Extraction (ASE). (戴安应用技术注解AN342 LPN 1204. Sunnyvale, CA, 2000.)
10. Gomez-Ariza, J.L.; Bujalance, M.; Giraldez, I.; Velasco, A.; Morales, E. Determination of Polychlorinated Biphenyls in Biota Samples Using Simultaneous Pressurized Liquid Extraction and Purification. *J. Chromatog., A.* **2002**, *946*, 209-219. (戴安国际论文目录: 275)
11. U.S. EPA Method 3620C, Florosil Cleanup. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH,



2000.

12. Gomez-Ariza, J.L.; Garcia-Barrera, T.; Lorenzo, F.; Gustavo Gonzales, A. Optimisation of a Pressurised Liquid Extraction Method for Haloanisoles in Cork Stoppers. *Anal. Chim. Acta.* **2005**, *540*, 17-24. (戴安国际论文目录: 417)
13. Draisci, R.; Marchiafava, C.; Palleschi, L.; Cammarata, P.; Cavalli, S. Accelerated Solvent Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Quantitation of Corticosteroid Residues in Bovine Liver. *J. Chromatog., B.: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2001**, *753*, 217-223. (戴安国际论文目录: 167)
14. Gentili, A.; Perret, D.; Marchese, S.; Sergi, M.; Olmi, C.; Curini, R. Accelerated Solvent Extraction of Confirmatory Analysis of Sulfonamide Residues in Raw Meat and Infant Foods by Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4614-4624.
15. Dionex Corporation. Extraction and Clean Up of Acrylamide in Complex Matrices Using ASE Followed by Liquid Chromatography, Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). (戴安应用技术注解 AN358 LPN 1871. Sunnyvale, CA, 2006.)
16. Poerschmann, J.; Carlson, R. New Fractionation Scheme for Lipid Classes Based on “In-Cell Fractionation” Using Sequential Pressurized Liquid Extraction. *J. Chromatog., A.* **2006**, *1127*, 18-25.
17. Poerschmann, J.; Trommler, U.; Biedermann, W.; Truyen, U.; Lucker, E. Sequential Pressurized Liquid Extraction to Determine Brain-Originating Fatty Acids in Meat Products as Markers in Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Assessment Studies. *J. Chromatog., A.* **2006**, *1127*, 26-33.