

## 固相萃取在兽药残留分析中的应用

祝伟霞<sup>1</sup> 杨冀州<sup>2</sup> 张书胜<sup>1</sup> 梁 玮<sup>2</sup>

(1 郑州大学化学系 郑州 450001)

(2 河南出入境检验检疫局 郑州 450003)

**摘 要** 近年来固相萃取技术在样品前处理中应用越来越广泛,文章根据固相萃取的不同分离模式,综述固相萃取在兽药残留中的应用,并总结不同性质目标化合物选择固相萃取的原则。

**关键词** 固相萃取 兽药残留 分离模式

随着兽药种类及其应用规模剧增,兽药残留问题已成为食品安全的焦点,建立简便、快速、灵敏的兽药残留检测分析方法是十分必要的。在兽药残留检测中60%~80%工作量和操作成本花在样品前处理<sup>[1]</sup>。样品前处理包括传统的液液萃取、离心、沉淀、蒸馏到固相萃取、凝胶净化、分子印迹等现代分离技术,传统方法由于自动化程度低、净化效率低、选择性差、成本高、劳动强度大、环境污染严重逐渐不能满足兽药残留分析的发展要求。1978年商用固相萃取柱问世以来,固相萃取柱便被广泛应用于复杂基质的前处理<sup>[2]</sup>,不同机理的固相萃取柱已经被应用于国家标准和行业标准中,作为样品前处理的一种革命,固相萃取技术已成为目前兽药残留分析前处理的主流技术。

固相萃取是建立在传统的液液萃取基础上,填料为一般硅胶基键合固定相,基于固体填料与样品中的目标化合物产生各种作用力,将目标物与样品基质分离,再用洗脱液洗脱,达到分离和富集目标化合物的目的。固相萃取分离效率高,处理样品的比容量大,且不需要大量有机溶剂,处理过程中不会产生乳化现象,不仅更有效,而且更易于实现自动、快速、定量萃取。根据分离模式,固相萃取可分为正相、反相、离子交换及混合机理分离模式。

### 1 反相固相萃取

填料硅胶表面的亲水硅醇基通过硅烷化化学反应,键合非极性烷基或芳香基、聚合物等材料作为反相固定相,被测物的碳氢键与固定相表面官能团产生非极性的范德华力或色散力,使得极性溶剂中的非极性以及弱极性的物质保留在固定相上,达到净化、富集样品的目的。大多数兽药属于极性或弱极性的化合物,对于强极性药物可以通过加入离子对

试剂的方法,使目标物成为稳定离子对用于反相萃取,弱极性药物可以通过调节PH值、改变溶剂组成的方法使药物残留处在分子状态,减小其极性使其在反相中保留。反相萃取中洗脱液常用甲醇、异丙醇、乙酸乙酯、正乙烷等有机溶剂,文献[3]给出常见有机溶剂的极性和洗脱强度,实验过程中可根据被测物的物理、化学性质选用高淋洗强度洗脱液。Leimer等<sup>[4]</sup>采用聚苯乙烯填料固相萃取柱LiChro-lut EN净化动物组织中四种硝基咪唑类代谢物,用洗脱强度为0.45的乙酸乙酯洗脱分析物。该净化方法回收率在92%~105%之间,四种代谢物的测定低限0.5~5ng/g,中性环境中的硝基咪唑类代谢物净化常用反相固相萃取法。Heller等<sup>[5]</sup>测定鸡蛋中16种磺胺类药物,C<sub>18</sub>固相萃取净化,乙腈洗脱残留药物,样品的测定低限为5~10ng/g,并且对比氨基柱和C<sub>18</sub>柱,氨基柱回收率60%以下。Hirsch等<sup>[6]</sup>用C<sub>18</sub>柱测定水中18种抗生素,被测物回收率60%~91%,但此净化方法不能用于测定四环素类抗生素,因为四环素在EDTA水溶液中会产生不可逆吸收。

### 2 正相固相萃取

正相固相萃取常用氧化铝、硅胶、聚酰胺、硅藻土、活性炭等强极性吸附剂作为正相固定相,利用被测物的极性官能团与填料表面的极性官能团通过氢键、 $\pi$ - $\pi$ 键间、偶极-偶极和偶极-诱导偶极相的相互作用力保留溶于非极性介质中的极性物质,常用极性溶剂作为洗脱液。Shao等<sup>[7]</sup>用硅胶柱净化动物源性食品中十七种磺胺类药物残留,测定低限达0.01~1.0ng/g,回收率52%~120%。并对硅胶柱、氨基-丙烷、氰-丙烷SPE柱净化效果进行比较,发现以丙酮与甲醇混合液作为洗脱液,硅胶柱灵敏度最

高; Seo 等<sup>[6]</sup>研究肌肉中七种激素类药物的测定, 主要包括雌甾二醇、睾甾酮、孕甾酮、折仑诺、己烯雌酚、雌甾二醇代谢物, 这类药物易溶于非极性溶剂, 样品先通过  $C_{18}$  柱净化, 再用正己烷-乙酸乙酯混合液洗脱保留在硅胶柱中药物, 然后乙酸乙酯-甲醇洗脱氨基柱, 经过三种不同保留机理的固相萃取柱净化后样品回收率 68% ~106%, 测定低限 0.1 ~ 0.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 3 离子交换

离子交换固相萃取基质材料通常是聚苯乙烯/二乙烯基苯类树脂<sup>[6]</sup>, 适用于在溶液中带有电荷的化合物, 根据被测物的带电荷基团与键合硅胶上的带电荷基团相互静电吸引实现吸附分离。离子交换分为阴离子(WAX、SAX)和阳离子(WCX、SCX)交换, 阳离子填料通常用硅胶上键合脂肪族磺酸基、脂肪族羧酸基等作为阳离子交换固定相, 阴离子常用脂肪族季铵盐、氨基键合作为固定相, 离子型化合物在柱中的保留与洗脱与其 pH 值、离子强度和反离子强度有关, 对于酸性分析物, 样品溶液 pH 要比其  $\text{pK}_a$  大 2 个单位并有低的离子强度, 处于离子状态的目标物才能靠静电吸引到键合填料中, 在洗脱该药物时, 洗脱液 pH 应小于其  $\text{pK}_a$  值两个单位或加入高离子强度溶液, 分析物才能被洗脱。碱性分析物则相反。Stubbings 等<sup>[9]</sup>用强阳离子 SCX 柱子测定不同动物源性食品中几类碱性药物如硝基咪唑类、苯并咪唑类、左旋咪唑、磺胺类药物等, 药物的洗脱先后用两种不同洗脱液完成, 氨化甲醇和氨化乙腈来完成, 除猪肾中咪唑洛尔回收率 31%, 其它几种药物回收率在 56% ~104% 范围内, 并对混合型 HCX 柱、弱酸型 WCX 柱进行回收率比较, 因为 HCX 柱上样时需要 pH 6 溶液, 并且要吹干有机提取剂乙腈, 该方法操作繁琐; 羧酸基填料 WCX 的  $\text{pK}_a$  4.8, 只能萃取  $\text{pK}_a \geq 8.8$  的药物, 而 SCX 能萃取  $\text{pK}_a \geq 2.8$  的所有碱性药物。Jacobsen 等<sup>[10]</sup>用组合固相萃取柱强阴离子交换 SAX + HLB 测定土壤中四环素类、大环内酯类、磺胺类多种兽药残留, 离子交换柱仅用着净化基质干扰, 不保留被测物, HLB 能富集所有药物使样品测定达较高灵敏度, 测定低限范围 0.6 ~5.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 4 混合作用萃取柱

随着固相萃取技术的发展, 多种萃取模式相结合的固相萃取柱也渐渐被商品化, 这为兽药多残留

技术的研究提供有利的工具, 例如 Oasis HLB 是用于所有化合物的亲水性 N-乙基吡咯烷酮-亲脂性二乙烯基苯以一定的平衡比例聚合成的反相吸附剂, Oasis MCX、Bond-Elut Certify 是用于碱性化合物的混合机理阳离子和反相吸附剂, Oasis MAX、Bond-Elut Certify II 是用于酸性化合物的混合机理阴离子和反相吸附剂。Yang 等<sup>[11]</sup>用 HLB 萃取柱测定废水 11 种四环素和奎诺酮类药物, 测定低限达 0.03 ~ 0.07  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。Pena 等<sup>[12]</sup>测定内酰胺类抗生素, 对 MAX 与  $C_{18}$  的净化效果比较, 内酰胺类在 pH 7.5 ~8.0 时, 在这个条件下  $\text{pH} > \text{pK}_a$ , 内酰胺类能被保留在阴离子交换与非极性混合填料上, 洗脱液酸性甲醇溶液, MAX 柱回收率和净化效果高于  $C_{18}$ , MAX 回收率 82% ~97% (RSD 2% ~9%), 除阿莫西林 (52%, RSD 8%), 测定低限范围 8 ~24 ng/L。Blanca 等<sup>[13]</sup>测定多种兴奋剂时用 Bond-Elut Certify, 洗脱液为二氯甲烷/异丙醇/氨水 80:20:3, 回收率都在 70% 以上。

### 5 结论

固相萃取技术作为一种比液液萃取更简单、更快速、更准确的分离技术, 能选择性去除干扰杂质, 获得高灵敏度。该技术不仅在兽药残留中应用广泛, 并且在农药残留中也成为主要的前处理工具, 今后将会更加广泛地应用于复杂样品的前处理, 并朝着多样化、标准化、仪器化和自动化的方向发展。在固相萃取原理基础上发展起来的固相微萃取、基质分散、插管固相微萃取、分子印迹等技术正在被作为一种新前处理技术应用在兽药检测方面, 随着固相萃取技术的不断发展与完善和人们对食品安全问题的关注, SPE 技术在样品分析前处理方面的应用将会发挥更大的作用。

### 参考文献

- 1 唐英章 现代食品安全检测技术 (M), 北京: 科学出版社, 2004
- 2 Yolanda Picó, Mónica Fernández, María José Ruiz Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment Journal of Biochem Biophys Methods (J) 2007, 70: 117 ~131
- 3 楼蔓藤, 商振华 固相萃取技术的发展与应用 (J) 分析仪器, 1998, 1: 1 ~6
- 4 Alexander Leitner, Peter Zollner, Wolfgang Lindner Determination of the metabolites of nitrofuran antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography - tandem

- mass spectrometry (J) Journal of Chromatography A, 2001, 939: 49 ~58
- 5 David N Heller, Maureen A Ngohl, Dan Donoghue, et al Identification of incurred sulfonamide residues in eggs: methods for confirmation by liquid chromatography tandem mass spectrometry and quantitation by liquid chromatography with ultraviolet detection (J) Journal of Chromatography B, 2002, 774: 39 ~52
- 6 Roman Hirsch, Thomas A Temes, Klaus Haberera, et al Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry (J) Journal of Chromatography A, 1998, 815: 213 ~223
- 7 Bing Shao a, Dan Donga, Yongning Wu, et al Simultaneous determination of 17 sulfonamide residues in porcine meat, kidney and liver by solid-phase extraction and liquid chromatography - tandem mass spectrometry (J) Analytica Chimica Acta, 2005, 546: 174 ~181
- 8 Jungju Seo a, Hye-Young Kim a, Bong Chul Chungb, et al Simultaneous determination of anabolic steroids and synthetic hormones in meat by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography - mass spectrometry (J) Journal of Chromatography A, 2005, 1067: 303 ~309
- 9 George Stubbings, Jonathan Tarbin, Andrew Cooper, et al A multi-residue cation-exchange clean up procedure for basic drugs in produce of animal origin (J) Analytica Chimica Acta, 2005, 547: 262 ~268
- 10 Anne Marie Jacobsen, Bent Halling-Sørensen, Flemming Ingerslev, et al Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography - tandem mass spectrometry (J) Journal of Chromatography A, 2004, 1038: 157 ~170
- 11 Shinwoo Yang, Jongmun Cha, Kenneth Carlson Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (J) Journal of Chromatography A, 2005, 1097: 40 ~53
- 12 E Benito-Pena, A I Parta-Rodera, M E Leon-Gonzalez, et al Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection (J) Analytica Chimica Acta, 2006, 556: 415 ~422
- 13 Jose Blanca, Patricia Muñoz, Miguel Morgado, et al Determination of clenbuterol, ractopamine and zilpaterol in liver and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry (J) Analytica Chimica Acta, 2005, 529: 199 ~205

## The application of solid-phase extraction in analysis of veterinary drugs residue

Zhu Weixia<sup>1</sup> Yang Jizhou<sup>2</sup> Zhang Shusheng<sup>1</sup> Liang Wei<sup>2</sup>

(1 Chemistry Department of Zhengzhou University Zhengzhou 450001)

(2 Henan Entry - Exit Inspection & Quarantine Bureau, Zhengzhou 450003)

**Abstract** Solid-phase extraction (SPE) has extensively applied in determination of veterinary residue according to different separation mechanism, the paper described the usage of SPE in sample pretreatment. At the same time, it generalized how to select the SPE cartridges for compounds of different chemical property.

**key words** Solid-phase extraction Residue Separation mode

(下接第 15 页)

## The study of use of partial least squares in spectroscopy qualitative analysis

Chu Xiaoli Xu Yupeng Lu Wanzhen

(Research Institute of Petroleum Processing, Beijing 100083, China)

**Abstract** In this paper, the applications of partial least squares method in spectroscopy multivariate qualitative analysis, such as discriminant analysis and outliers detection of quantitative calibration models, were introduced based on several examples. Compared with the traditional principal component analysis method, partial least squares discriminant analysis method usually gives better results.

**Key words** Partial least squares Chemometrics Principal component analysis Pattern recognition Spectroscopy analysis