

# 液相色谱分析中不同类型样品预处理方式应用探索与比较

刘炜

(富美实(上海)化学技术有限公司, 上海 浦东 200120)

**摘要:** 伴随着液相分析技术的发展, 相对应的液相分析中样品预处理技术也日新月异, 样品预处理过程对于液相色谱分析结果的准确性和重现性至关重要, 因此针对不同类型样品选择合适的预处理方式显得尤为重要。文中通过列举常见的不同类型样品在液相分析中的预处理技术, 结合部分具体实例, 系统阐述了液相分析中面对不同类型样品应该如何选择相应的预处理技术, 同时对预处理技术的发展进行展望。文章内容对于从事液相色谱分析的工作人员具有较高的指导作用。

**关键词:** 样品预处理; 液相色谱; 样品基质; 分析技术

中图分类号: X-1

文献标识码: A

## Exploration and comparison of different sample pretreatment methods in liquid chromatographic analysis

Liu Wei

(FMC (Shanghai) Chemical Technology Co., Ltd, Pudong, Shanghai, 200120, China)

**Abstract:** With the development of liquid chromatography analysis technology, sample pretreatment technology in liquid chromatography analysis is also changing rapidly. Sample pretreatment process is crucial to the accuracy and reproducibility of liquid chromatography analysis results, so it is particularly important to select appropriate pretreatment methods for different types of samples. By enumerating common pretreatment techniques for different types of samples in liquid chromatography analysis and combining with some concrete examples, this paper systematically expounds how to choose the corresponding pretreatment techniques for different types of samples in liquid chromatography analysis, and prospects the development of pretreatment techniques. This paper has a high guiding role for the personnel engaged in liquid chromatography analysis.

**Keywords:** Sample pretreatment; Liquid chromatography; Sample matrix; Analytical technique

高效液相色谱法是利用液体作为流动相的色谱法。其自 20 世纪 60 年代崛起，经过了数十年的漫长发展，在理论和实践等方面都日趋完善。液相色谱分析应用广泛，几乎遍及定量及定性分析的各个领域，如食品、医药、环境、石油、化工、农药等<sup>[1]</sup>。它是实验室日常分析中不可或缺的一种手段，而样品预处理制备亦是液相色谱分析整个流程（见图 1 所示）中必不可少的一部分。对样品进行预处理制备的目的是为了能够获得可重现性良好的均质溶液，同时能够使试样中的干扰物质相对除净、不损害色谱柱。

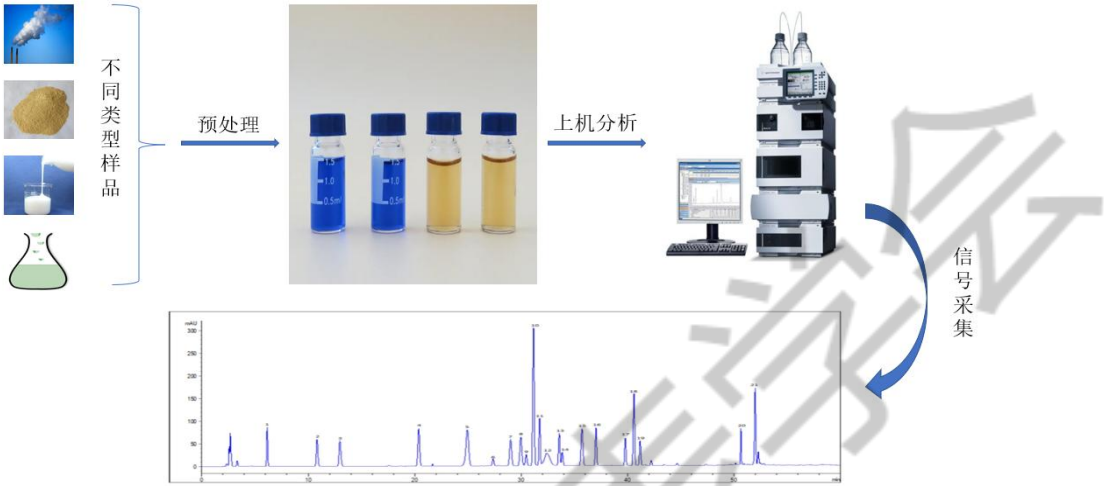


图 1 样品液相色谱分析流程图

在日常分析工作中，我们所能接触到的样品基质主要分为四大类，分别为气态、液态、半固体（胶体、混悬液）和固态，在这四类样品中，有机会不经过任何预处理就能上机的只有液体样品，而在液体样品中又仅仅只有很小一部分样品能够直接上机分析。因而样品预处理是液相分析测试过程中的一个关键性步骤，而且预处理好坏会成为实验测定结果误差的主要来源<sup>[2]</sup>。

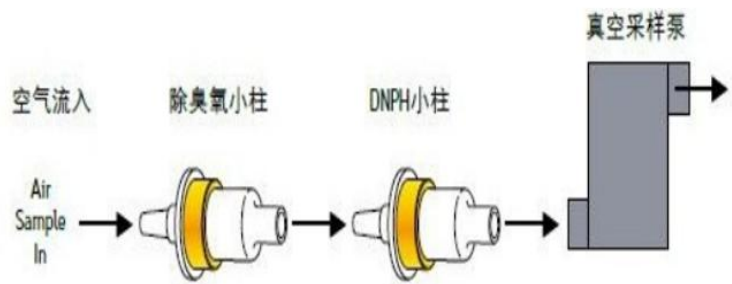
## 1 气态样品

在很多人的印象中，气体样品一般都用气相色谱来测定，但也有一些特殊的气体样品，由于其本身物理化学性质，需要使用液相色谱来测定。用液相色谱来测定气体样品一般在环境领域应用较多。

### 1.1 气态样品固相富集技术

气体样品通过装有吸附剂的装置，比如活性炭管、硅胶管、石英纤维滤筒等固体吸附装置，气体中的目标物组分被吸附管中的吸附剂吸附富集达到浓缩的目的，然后再用甲醇、乙腈等适合液相分析的有机溶剂进行洗脱，收集洗脱液后上机分析。典型的方法有高效液相色

谱法测定环境空气中的醛酮类化合物<sup>[3]</sup>，气体样品通过涂布有 DNPH (2, 4-二硝基苯肼) 衍生剂的小柱，目标物组分被吸附截留（如图 2 所示），然后用乙腈进行洗脱，对洗脱液过滤除



颗粒物后便可上机分析。

图 2 采用 DNPH 采样管的采样系统示意图

1.2 气态样品液相富集技术

顾名思义，就是将吸附剂由固相变成液相，液相吸附剂一般为水或者是其它混合溶液，用于吸附空气中的目标物并且使其稳定保存。比如采用多孔玻板吸收瓶采集空气中的甲醛气体，采集完成后气体样品就转变成了液体样品，如图 3 所示，进而可以采用液相来进行分析测定。

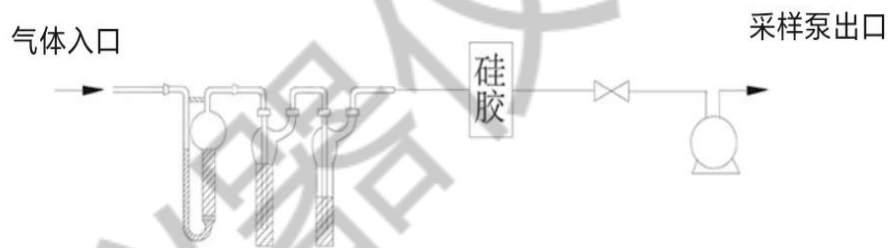


图 3 气体采样系统示意图

2 固态样品

液相色谱测定固态样品是无法直接测定的，因为液相进样只能进液体，所以需要将固态样品通过某些前处理手段转化成为液态，然后再进行分析。固态样品大致分为两种，一种是在溶剂中溶解度较高或者能够完全溶解的，还有一种就是无法溶解但能被提取的。

2.1 直接溶解

这类样品主要是一些化工原料，医药或者农药中间体，它们在有机溶剂中具有很高的溶解度，一般称取少量样品，加入适量溶剂就能获得均质的溶液，同时加入溶剂可以对样品进行稀释，以免浓度过高造成过载。

## 2.2 振荡提取

提取前需要对固体样品进行细碎处理，减小固体颗粒物的粒径，有利于增大固体颗粒与提取溶剂之间的接触面积，让固体样品均匀分布在溶剂中，然后将样品放置于水平振荡仪或者翻转振荡器上，通过不断的振摇，来达到让固体中的目标组分溶出至液体中的目的，然后再对液体样品进行过滤，过滤后再对液体样品进行萃取浓缩等前处理操作，这类前处理方式在固废毒性鉴别中常用。

## 2.3 超声提取

超声提取与振荡提取原理类似，将细小的分散样品浸没在装有合适溶剂的器皿中，进行超声辐射，超声的同时还可以进行加热来加快目标物组分的溶出度。超声设备很容易在实验室获取，因而此法使用频率也较高。

## 2.4 索氏提取

索氏提取是一种比较经典的样品提取方式，传统的索氏提取是将固体样品放置于索氏套筒中（一种由滤纸折叠而成的多孔容器），然后将套筒放置于索氏提取器中，加入提取溶剂（低沸点有机溶剂，如二氯甲烷、丙酮）将装有样品的套筒浸没后进行加热回流。回流提取的冷凝溶剂流入套筒中，反复萃取可溶性的目标物。该方法对目标物的提取效率很高，可以获得良好的回收率，但其回流提取时间很长，一般为 6~12h，不适用于大量样品预处理，因而渐渐淡出人们的视野。不过随着科技的发展，仪器设备自动化程度越来越高，现代新型索氏提取器应运而生<sup>[4]</sup>，其与传统的索氏提取相比，萃取过程可加快 8~10 倍，大大节约了样品预处理时间，提高了样品通量。

## 2.5 加速溶剂萃取（ASE）

加速溶剂萃取也叫增强溶剂提取，整个过程在密闭容器中进行，以常用的有机溶剂在高温（50~200℃）和高压（150~2000psi）下从固体样品中提取可溶性被测物。此法需要将固体样品事先研磨或者破碎成细小颗粒，然后将样品放置于密封容器中，仪器自动加入提取溶剂后加热至提取溶剂沸点以上，同时对其进行加压，这样自动萃取出来的样品就可以进行下一步处理，比如浓缩后试剂转换成甲醇或者乙腈，再进行浓缩定容，最后上机分析。

## 2.6 加压流体萃取

加压流体萃取是一种高效的分离提取技术，它利用高压流体对样品进行前处理，从而实现目标化合物的提取和分离。运用此法首先需要将样品制备成适合加压流体萃取的形式，例如粉末、颗粒等，然后将样品放入加压容器中（一般为不锈钢套筒），两端封上滤膜垫片后放入设备中，仪器自动加入适量萃取剂，然后在高温高压下进行提取（加热温度范围 100~180℃，压力可以达到 2000psi）。可以在设备上设置提取次数，确保提取效率。该技术具有操作简便，提取效率高，样品通量大的优点，因而在化学、生物及环境检测领域得到广泛应用。例如在测定土壤样品中的多环芳烃类物质中<sup>[5]</sup>，需要在土壤样品中加入硅藻土除水，并且研磨成细小颗粒，然后将样品转移入加压流体萃取仪的萃取池中进行高温高压提取。待提取液收集完成后进行氮吹浓缩并用层析柱进行净化，最后将溶剂转换成乙腈进行液相色谱分析。

## 2.7 超临界流体提取

将样品放置于流通容器中，超临界流体（如 CO<sub>2</sub>）穿过样品，降低压力后，提取的样品收集在溶剂中或者捕集到吸附剂上，然后再用溶剂对吸附剂进行淋洗解吸。此法收集的样品通常比较浓，但几乎没有污染，样品基质对提取过程影响较大。

## 3 半固态样品

### 3.1 加试剂溶解

一些半固态样品如凝胶、乳胶等，介于液体与固体之间，具有一定的粘稠度，如果直接上机分析也是不行的，而且其基质可能比较复杂，因而可以直接加入强有机溶剂进行溶解，溶解之后可以获得均质的溶液，同时相当于对样品进行了稀释，减少了样品基质在液相色谱分析过程中可能带来的干扰因素。

### 3.2 离心过滤

对于混悬液样品，其中既含有液体，也含有不溶解的固体颗粒，这种类型的样品可以通过离心的方式来使得固体颗粒沉降在容器底部，然后取上清液用针式过滤器进行过滤，这样就能得到澄清透明的液体样品，然后再作进一步处理。

### 3.3 压榨或匀浆

压榨及匀浆这种前处理方式常用于食品前处理中，例如从半固体物质（如植物、水果）等样品中挤压出液体，然后再对液体进行提取、浓缩、净化等前处理操作，直至获得可上机的分析样品。

## 4 液态样品

液态样品是液相色谱分析中占比最高的一类样品，其前处理较其它几类基质样品也简单许多，主要以过滤直接上机、固相萃取、液液萃取等手段为主。

### 4.1 直接过滤分析

此类样品基质较简单，溶剂一般为水或者其它与流动组成相近的有机溶剂。样品中目标物组分浓度较高，能够在不浓缩富集的前提下具有较高的响应。对于这类样品只需用针式过滤器或者微孔滤膜（孔径一般为 0.22 $\mu\text{m}$  或 0.45 $\mu\text{m}$ ，材质有尼龙、聚四氟乙烯以及聚醚砜等）进行过滤，除去液体样品中的不溶颗粒物，以免其堵塞液相管路及色谱柱造成压力升高。

### 4.2 固相萃取

固相萃取（Solid-Phase Extraction，简称 SPE）是 19 世纪 70 年代后期发展起来的一项样品预处理技术。它利用固体吸附剂将样品中的目标化合物吸附，与样品中的复杂基质及干扰物进行分离，然后再用洗脱液进行洗脱，从而达到分离及富集的目的(固相萃取过程见图 4)。

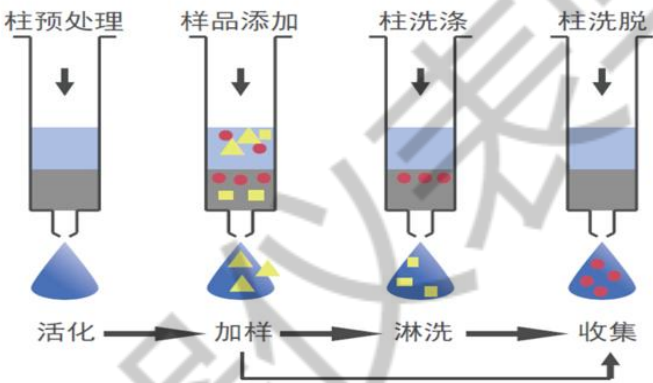


图 4 固相萃取过程示意图

对于待测目标物在液体中浓度较低的样品，比如地表水质样品，如样品直接上机无法满足方法检出限要求，达不到检测器的灵敏度下限，在仪器上无响应或响应较低，此时需要通过使用固相萃取装置，将大体积水样缓慢通过固相萃取柱，水体中的待测目标物被固体吸附剂截流吸附，萃取完成后用有机溶剂将被吸附住的目标物洗脱下来，然后再进行浓缩上机分析。与直接进样相比，原先 1mL 样品直接分析，通过固相萃取将 1000mL 水样中的目标物最后集合在 1mL 体积，相当于浓缩了 1000 倍，此时再上机分析就能获得较高的色谱响应。

### 4.3 液液萃取

液液萃取（Liquid-Liquid Extraction，简称 LLE）是利用被测目标物在两种不互溶液体之间的分配系数不同而达到分离目的的一种预处理技术。在液液萃取中一相通常为水相，而另

外一相则是与水互不相溶分层的有机溶剂，如二氯甲烷、氯仿、正己烷、甲苯等。亲水性强的化合物进入极性的水相多，而疏水性强的化合物则从水相中脱离进入有机相。如需要测定甲苯溶液中的无机阴离子，此时需要在甲苯溶液中加入去离子水，然后液液萃取后静置分层，也可离心分层，最后取水相样品上离子色谱进行分析。再如需要测定水中的有机物含量，则取一定体积的水样加入分液漏斗中，加入适量氯化钠（目的：1、盐析作用；2、防乳化），然后加入有机溶剂二氯甲烷，遵循少量多次萃取的原则，合并所有的萃取液，加入无水硫酸钠脱水并过滤至氮吹管中，对萃取液进行氮吹浓缩至 1mL 左右，再加入乙腈转换溶剂，继续浓缩定容后进行液相色谱分析。

## 5 总结与展望

综上所述，液相样品预处理方式多种多样，各有针对性，如何选择合适的预处理方式，需要结合样品实际情况进行考虑。液相分析中样品预处理是一个关键的环节，通过对不同类型基质的样品进行预处理可以获得我们想要的待测样品溶液。同时通过样品预处理一方面可以提高方法的选择性和灵敏度，另一方面也可以保护我们的仪器不受样品基质的干扰与影响。在实际分析工作中，对于样品的预处理方式往往都不是单一的，而是多元化组合，这就要求我们的分析人员需要具备扎实的理论基础与实践经验，从而在遇到复杂基质的样品时不至于无从下手。

随着科学技术的不断发展，传统的预处理手段与设备不断更新与优化，以往一些耗时耗力的预处理手段将被不断替代，渐渐被市场淘汰。同时各种自动化程度高的集成预处理设备将会占据未来的实验室分析市场，慢慢解放分析人员的双手，甚至实现无人看管，远程操控，将曾经的不可能变为现实。

## 参考文献

- [1] 实用高效液相色谱法的建立/（美）森德尔（Snyder, L.R.）等著；张玉奎，王杰，张维冰译. 北京：华文出版社，2001.7.
- [2] 田一茗. 高效液相色谱分析中的样品前处理[J]. 现代食品，2021(22): 139-141.
- [3] HJ 683-2014，环境空气 醛、酮类化合物的测定 高效液相色谱法[S]. 北京：中国环境出版社，2014.
- [4] 刘明雷，张剑锋，张潇，等. 一种新型内管直通集热式索氏提取器及其应用[J]. 实验室科学，2013,16(05): 171-173.

[5] HJ784-2016, 土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法[S].北京: 中国环境出版社,  
2016.

中国仪器仪表杂志