

• 综述 •

# 顶空固相微萃取技术及其在中药分析领域的应用

李颖<sup>1</sup>, 李宗<sup>2\*</sup>

(1. 福建中医学院药学系, 福建 福州 350003;

2. 福建省药品不良反应监测中心, 福建 福州 350001)

[摘要] 顶空固相微萃取(Head-space Solid-Phase Microextraction, SPME) 技术是一种新的样品预处理手段, 特别适合于微量挥发性成分的富集。与传统样品预处理方法相比, 具有高效(快速、简便)、无需溶剂等优点, 越来越多地应用于环境、食品和药品检测等多个领域。该文介绍了顶空固相微萃取的概况、原理、操作方法、影响因素及其在中药分析领域的应用情况, 并探讨了其应用前景与发展方向。

[关键词] 顶空固相微萃取; 挥发性成分; 中药

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2008)07-0076-04

## Head Space-Solid-Phase Microextraction and its Application in Traditional Chinese Medicine

LI Ying<sup>1</sup>, LI Zong<sup>2\*</sup>

(1. Department of Pharmacology, Fujian College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China;

2. Fujian Adverse Drug Reaction Monitoring Center, Fuzhou 350001, China)

[Abstract] **Objective:** As a new technique for sample pretreatment, head-space solid-phase microextraction especially suit for extraction and concentration of low quantity volatile components. Compared with traditional sample pretreatment methods, it has many advantages such as high efficiency (rapid extraction, convenient), and solvent free. This method has been extensively applied to many fields such as environment, food and medicine. The paper reviews HS-SPME technique of its overview, principle, operating method, influencing factors and application in analysis of traditional Chinese medicine. The development and perspective of the technique are also discussed.

[Key words] Head space solid-phase microextraction; volatile component; traditional chinese medicine

固相微萃取技术(Solid-Phase Microextraction, 简称 SPME) 是基于上世纪 70 年代固相萃取技术<sup>[1]</sup> 发展起来的一种新的样品预处理方法, 由加拿大 Waterloo 大学 Arthurhe 和

Pawliszyn<sup>[2]</sup> 于 1990 年首创并成功应用于测定水中微量挥发性卤代烃。SPME 技术特别适合于微量挥发性成分的检测, 操作简便、不用或少用有机溶剂, 能有效减少底物及液态基质中干扰物质的影响, 集采集、萃取、浓缩、进样、分析于一体, 易实现自动化, 方便与色谱仪器联用。供试品预处理是中药分析的重要步骤之一, 其主要目的是将被测物从样品中提取出来, 同供试品基体中的干扰物分离。以往通常采用水蒸汽蒸馏法(SD)<sup>[3]</sup>、固相萃取法(SPE)<sup>[4]</sup>、凝胶色谱(GPC)<sup>[5]</sup>、液相色谱或超临界萃取(SFE)<sup>[6]</sup> 等技术, 这些预处理方法在不同程度上存在操作繁琐、耗时长、费用高、使用大量有机溶剂伤害人体、污染环境等缺陷。固相微萃取技术可有效弥补

[收稿日期] 2007-10-26

[基金项目] 陈可冀中西医结合发展基金·福建省高校中药学重点实验室(福建中医药学院) 开放课题基金(3000-905012020)

[通讯作者] \* 李宗, Tel/Fax: (0591) 87603069; E-mail: lzong2002@yahoo.com.cn。

传统样品预处理方法的不足,在中药分析领域的应用日益增多。

### 1 固相微萃取简介及顶空固相微萃取概述

固相微萃取的工作原理是,在一根纤细的熔融石英纤维表面涂布一层高分子聚合物作为萃取介质,将萃取头直接浸入样品溶液(直接固相微萃取法,DF-SPME)或插入密闭样品瓶顶空中进行萃取(顶空固相微萃取法,HS-SPME)。

SPME 萃取器由手柄(Holder)和萃取头(Fiber)两部分构成<sup>[7]</sup>。萃取头是一根涂布不同色谱固定相或吸附剂的熔融石英纤维,接不锈钢丝,外套不锈钢针管(保护石英纤维不被折断并可刺穿橡胶塞完成采集和进样)。见图 1。

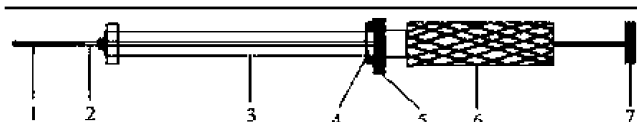


图 1 固相微萃取器结构示意图

1. 石英纤维 2. 针管 3. 针筒 4. 密封头  
5. 固定螺丝 6. 柱塞杠(内有弹簧) 7. 手柄

固相微萃取包括直接固相微萃取(DF-SPME)和顶空固相微萃取(HS-SPME),而应用最广的当属 HS-SPME。HS-SPME 技术是将萃取头置供试品上方的蒸气相中萃取、吸附组分。较 DF-SPME 的优势在于:首先,能消除静态水层对萃取的影响而使被测物的分散能力大大提高;第二,避免将水蒸汽带入色谱柱,延长柱的使用寿命;第三,能使 SPME 技术应用到组成较为复杂的样本中去,更适于分析气态、液态和固态样品中的挥发性成分。

### 2 顶空固相微萃取技术条件的优化

影响固相微萃取过程的因素主要有:萃取头表面固定相及吸附剂涂层的种类、厚度、萃取过程的温度、萃取时间、离子强度、有机溶剂的加入、溶液 pH 值、搅拌等。操作时应注意优化提取条件,使分析更加高效、灵敏、准确。

**2.1 萃取头的选择** 萃取头的选择至关重要,它直接关系到目标物能否被有效地从供试品基质中萃取出来。涂层的厚度对待测物的吸附量和平衡时间都有一定的影响。原则上说,涂层越厚,吸附量就越大。但涂层越厚,到达吸附平衡的时间就越长,分析速度越慢。此外,各种萃取头对分析物的亲和力符合“相似相溶”原理。常用的萃取纤维类型包括:PDMS(100, 30, 7 μm); PDMS/DVB(65, 60 μm); PA(85 μm); CAR/PDMS(75, 85 μm); CW/DVB(65, 70 μm)等等,在实际工作中须根据供试品中不同的目标组分选取适宜极性和厚度的固定相涂层。

**2.2 萃取温度的影响** 萃取温度的影响具有两面性,一方面,温度升高加快待测物的分子运动,气相中待测物浓度提高,有利于提高吸附效率。同时,温度升高加强了扩散和对流,能缩短平衡时间,加快分析速度,对萃取有利;另一方面,温度升高也会令待测物在顶空气相与涂层间的分配系数下降,从而降低萃取头的吸附能力。实验中要根据样品性质综

合考虑,选择最佳萃取温度。

**2.3 萃取时间影响** 萃取时间是指达到或接近吸附平衡所需的时间。在萃取初始阶段,挥发性组分能很容易地富集到固定相涂层中,因此萃取头固定相中物质浓度增加得很快,随着萃取时间延长,富集速度逐渐缓慢,进而接近吸附平衡。

**2.4 pH 效应和盐效应** 适当调节样品溶液 pH 值可增加溶液的离子强度,使待测物以分子形态出现,溶解度减小,更容易从基质中分离,提高萃取效率。尤其是萃取酸性或碱性物质时,通过调节样品的 pH 值来改善组分亲脂性,能大大提高萃取效率。但需注意: pH 值不宜过高或过低,酸、碱性太强的溶液很容易破坏固相涂层,缩短萃取头的寿命。

无机盐<sup>[8]</sup> 在顶空固相微萃取操作之前,向液体试样中加入少量氯化钠、硫酸钠等无机盐可增强溶液离子强度,降低极性成分在水中的溶解度,起到盐析作用,提高分配系数,增加萃取头对组分的吸附。

**2.5 搅拌的影响** 为促进样品尽快达到分配平衡,通常在萃取过程中对样品进行搅拌。搅拌能加快待测物由液相向气相扩散的速度,缩短萃取时间。搅拌方式主要有磁力转子搅拌、高速匀浆、超声波震荡等<sup>[9]</sup>。而磁力转子搅拌设备最简单,是最常用的搅拌方法。

此外,近年来在顶空固相微萃取研究中还有采用衍生化的方法<sup>[10]</sup>,通过向样品中加入衍生剂,使其中强极性、难挥发的待测物转化为极性较弱或较易挥发的物质,也能极大地提高萃取效率和方法的灵敏度。

### 3 顶空固相微萃取技术在中药分析领域的应用

顶空固相微萃取技术在环境监测、农药、食品、生物材料等领域已充分展现出优势。目前,其在中药化学分析领域也已得到初步运用,积累了许多成熟的经验。主要是 HS-SPMS 与气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、毛细管电泳等技术联用分析中药材或中药制剂中的挥发性成分,其中应用最广、最为成熟的当数其与 GC 联用。

**3.1 顶空固相微萃取在中药制剂分析中的应用** 早在 2000 年, H wang 等<sup>[11]</sup>就采用顶空固相微萃取考察了小柴胡汤等 8 个中药复方中农药残留情况,并与索氏提取法的检测结果进行了比较。此后,有研究者<sup>[12,13]</sup>用 HS-SPME-GC-MS 法分别鉴定了复方祛风湿止痛膏、经典成方制剂小承气汤中的挥发性成分,表明它是一种快速、有效分析中药制剂挥发性成分的方法。翟晨晨等<sup>[14]</sup>用该技术建立了粉尘螨舌下滴剂中残留丙酮的检测方法。张家骊等<sup>[15]</sup>运用 HS-SPME-GC/MS 联用法研究制定了醒脑静注射液的指纹图谱,并与溶剂萃取进行比较。董丽等<sup>[16]</sup>采用自制固相微萃取涂层对葫芦巴浸膏的挥发性成分进行萃取后用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术分离分析,此后,又对罗汉果浸膏的挥发性成分进行了成功的分离鉴定<sup>[17]</sup>。黎维勇等<sup>[18]</sup>、魏宁漪等<sup>[19]</sup>运用 HS-SPME-GC 联用技术分别测定大蒜素注射液中大蒜素和醒脑静注射剂中麝香酮的含量,后者还同水蒸气蒸馏提取进行了比较,结果表明 HS-SPME 提取所得麝香酮含量值较高、RSD 较小。

### 3.2 顶空固相微萃取在中药材挥发性成分分析方面的应用

Ho 等<sup>[20]</sup>以 SPME 结合微波振荡提取苍术、甘草和茯苓中的有机氯类农药,并用气相色谱法和电子捕获器检测。廖堃等<sup>[21]</sup>、廖远熹等<sup>[22]</sup>采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术分别成功地对不同产地补骨脂和柴胡的挥发性成分进行了比较。据文献报道,有研究者<sup>[23~29]</sup>以 HS-SPME-GC/MS 联用法鉴定了石菖蒲、马樱丹、佛手、砂仁、干柴胡、蔓荆子、千年健的挥发性成分。邓小军等<sup>[30]</sup>用多次顶空固相微萃取的方法,分析了拟南芥的 3 种绿叶挥发性成分;孙凡等<sup>[31]</sup>采用固相微萃取法富集蓖麻挥发物中的创伤诱导挥发物,并经质谱分析鉴定了其中 8 种成分;另有研究者<sup>[32~34]</sup>采用顶空固相微萃取技术和 GC/MS 联用定性分析了麻黄、野菊花、白术的挥发性成分,并都与传统的水蒸气蒸馏提取进行了比较。HS-SPMS 技术在鉴定药材掺伪方面也有应用:魏宁漪等<sup>[35]</sup>采用 GC-MS 和顶空进样、固相微萃取进样结合,对麝香掺伪成分进行了检测,认为该法样品用量少,尤其适合贵重药材的鉴别和定量。

近年来 HS-SPME 在中药分析领域的应用研究渐增,优势逐步显现。同溶剂萃取、水蒸气蒸馏等传统提取方法的比较研究均证明:该技术可有效避免溶剂萃取乳化现象,且操作简单、快速、灵敏,能取代传统提取方法作为中药挥发性成分的质量评价手段之一。然而目前该技术主要用于对中药制剂或药材挥发性成分的初步探讨,运用范围较窄,在中药新药开发、掺伪鉴定、中药材规范化种植、中药材农药残留检测等方面的实际应用有待进一步推广。

### 4 展望

中药挥发性成分在药材中含量一般在 1% 以下,转移到制剂后则更低。中药材和中药制剂中的挥发性成分组成相当复杂,这就对样品制备、成分提取纯化技术提出了很高的要求。而传统样品制备技术往往操作繁琐、耗时、重复性差,成为制约中药分析发展的“瓶颈”。固相微萃取以操作快速、简单、廉价、实用;集样品采集、萃取、浓缩、进样、分析于一身;整个过程实现无溶剂化,减轻环境污染,提高柱效、缩短分析时间等优点,弥补了传统样品预处理方法的不足,为中药材及中药制剂分析领域注入了新的力量。特别是其中应用更为广泛的 HS-SPME 技术,重现性好、灵敏度高,对样品基体要求不高,对种类繁多、基体成分复杂、含量相差悬殊的重要挥发性成分分析有特殊意义。

HS-SPME 技术发展的一个重要趋势就是自身的完善和与其他技术联用同时发展。首先,涂层更新。现有涂层的最高使用温度一般不超过 300℃,对沸点更高的成分无法完成吸附,限制了涂层的应用范围。据此,应着力开发耐高温固相涂层。涂层的耐腐蚀性也有待进一步提高。此外,随着所分析样品范围的扩大,更需要具有选择性甚至专一性的固相涂层,使之具有分子识别能力,这样能大大拓宽 HS-SPME 的应用范围;其次,联用范围的拓展。目前 HS-SPME 在中药分析方面主要局限于与 GC-MS 联用,而与其他技术联用则极少

涉足,特别是在一些先进技术诸如膜分离技术、传感器、微分离技术和纳米分离技术日益进步的今天,HS-SPME 与它们的结合将促进该技术在未来的应用。

综上所述,HS-SPME 技术仍处于发展阶段,虽然优势明显,但仍存在许多有待解决的问题。随着科技工作者认识的深化和研究的不断深入,该技术必将得到很大程度的改进与提高。可以预见,HS-SPME 技术在中药分析领域的应用有着非常广阔的前景。

### [参考文献]

- [1] Broich JR, Hoffman DB, Goldner SJ, *et al.* Liquid2solid extraction of lyophilized biological material for forensic analysis, I. Application to urine samples for detection of drugs of abuse. *J. Chromatogr.* 1971, 63: 309.
- [2] Belardli RG Paw lizyn, J. The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns[ J]. *Water Pollution, J Can*, 1989, 24: 179-191.
- [3] 唐课文,陈国斌.气相色谱-质谱法分析姜黄挥发油化学成分[ J]. *质谱学报*, 2004, 25(3): 163-165.
- [4] 苗爱东,梁乾德,刘 勇,等. SPE-HPLC 制备色谱法从当归挥发油中分离纯化  $\alpha$ -藁本内酯[ J]. *中药材*, 2005, 28(9): 778-779.
- [5] 刘咏梅,王志华,储晓刚.凝胶渗透色谱净化-气相色谱分离同时测定糙米中 50 种有机磷农药残留[ J]. *分析化学*, 2005, 9(6): 104-106.
- [6] 邱 琴,凌建亚,张 莉,等.不同方法提取的白苏叶挥发油的气质联用成分分析[ J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(1): 114-119.
- [7] H Kataoka, H L. Lord, J Pawlisygn. Application of solid phase microextraction in food analysis [ J ]. *J of Chromatography A*, 880 (2000) 35-62.
- [8] Arthur CL, Lillam LM, Buchholz KD, *et al.* Automation and Optimization of Solid-Phase Microextraction[ J]. *Anal Chem*, 1992, 64(7): 1960.
- [9] H. Geppert. Solid-phase Microextraction with Rotation of the Microfiber[ J]. *Anal Chem*, 1998, 70(9): 3981-398.
- [10] 栾天罡,李攻科,张展霞.固相微萃取-衍生化法与气相色谱-质谱联用分析葡萄酒中多酚类化合物[ J]. *中山大学学报*, 2001, 40(1): 54-57.
- [11] Hwang B H, Lee M R. Solid-phase microextraction organochlorine pesticide residues analysis in Chinese herbal formulations[ J]. *Journal of Chromatography A*, 898(2000): 245-256.
- [12] 廖远熹,王昊阳,郭寅龙,等.复方祛风湿止痛药粉末中挥发性成分静态顶空-气相色谱-质谱分析[ J]. *分析测试技术与仪器*, 2004, 10, (3): 145-150.

- [13] Sha YF, Shen S, *et al.* Solid phase microextraction-gas Chromatography-mass spectrometric analysis of volatile compounds in a compounded Chinese medicinal prescription, Xiao Cheng Qi Tang [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 36(2): 381-385.
- [14] 翟晨溪, 陈东英, 迟颖红. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定粉尘螨舌下滴剂中丙酮的残留量[J]. *中国生物制品学杂志*, 2006, 19(4): 414-415.
- [15] 张家骊, 王利平, 袁身淑, 等. 醒脑静注射液指纹图谱的顶空固相微萃取气质联用研究[J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(5): 466-467.
- [16] 董 丽, 蔡凌霜, 朱书奎, 等. 固相微萃取与气相色谱/质谱法联用分析葫芦巴浸膏的挥发性成分[J]. *武汉大学学报*, 2004, 50(2): 151-156.
- [17] 董 丽, 王 翔. 固相微萃取和气相色谱-质谱联用分析罗汉果浸膏的挥发性成分[J]. *新乡医学院学报*, 2004, 21(1): 26.
- [18] 黎维勇, 吴 波, 宋 波. 固相微萃-气相色谱法测定大蒜素注射液的含量[J]. *中国药科大学学报*, 2005, 36(1): 90-91.
- [19] 魏宁漪, 马长华, 段天璇. 固相微萃取-气相色谱法测定醒脑静注射剂中的麝香酮[J]. *色谱*, 2005, 23, (5): 565-566.
- [20] Ho WH, Hsieh SJ. Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants[J]. *Anal Chem Acta*, 2001, 428(1): 111.
- [21] 廖 堃, 刘 梅, 肖 竞, 等. SPME/GC/M 法分析补骨脂挥发性成分[J]. *中药材*, 2003, 26(10): 719-722.
- [22] 廖远熹, 王昊阳, 郭寅龙, 等. 中药柴胡挥发性成分的静态顶空-气相色谱-质谱分析[J]. *质谱学报*, 2005, 26(3): 187-192.
- [23] 马长华, 魏璐雪, 阎汝南, 等. 固相微萃取技术应用于中药石菖蒲中挥发性成分的研究[J]. *中草药*, 2000, 31(增刊): 49.
- [24] 高泽正, 吴伟坚, 吴建雄, 等. 固相微萃取气质联用分析马樱丹花的挥发性化学成分[J]. *中草药*, 2004, 35(12): 1338-1339.
- [25] 郑孝华, 翁雪香. 固相微萃取气相色谱-质谱分析佛手挥发性成分[J]. *浙江师范大学学报*, 2004, 27(1): 48-51.
- [26] 宋国新, 邓春晖, 吴 丹, 等. 静态顶空-固相微萃取-气相色谱/质谱分析砂仁的挥发性成分[J]. *复旦学报*, 2004, 43(4): 676-679.
- [27] 曾 栋, 陈 波, 姚守拙. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析干柴胡药材中有机挥发物[J]. *分析化学研究简报*, 2004, 33(4): 491-494.
- [28] 杨再波, 赵 超. 固相微萃取/气相色谱/质谱法分析蔓荆子挥发性化学成分[J]. *河南大学学报*, 2006, 25(3): 16-19.
- [29] 杨再波, 赵 超. 固相微萃取/气相色谱/质谱法分析千年健中挥发性化学成分[J]. *精细化工*, 2007, 24(2): 149-153.
- [30] 邓晓军, 杜家纬. 采用多次顶空固相微萃取分析拟南芥绿叶挥发性物质[J]. *生态学杂志*, 2005, 24(8): 970-974.
- [31] 孙 凡, 鲁继红. 蓖麻挥发物与创伤诱导挥发物组成成分分析[J]. *林业科学*, 2006, 42(9): 140-142.
- [32] 黄滔敏, 陈念祖, 杨 蓓, 等. 麻黄中挥发性化学成分的空固相微萃取技术气相色谱/质谱分析[J]. *复旦学报*, 2006, 33(6): 848-850.
- [33] 周明瑞, 田建坤, 周海梅. 固相微萃取-气相色谱-质谱分析不同产地野菊花的挥发性成分[J]. *云南中医中药杂志*, 2006, 27(5): 46-47.
- [34] 郭方遒, 黄兰芳, 周邵云. 顶空固相微萃取气相色谱-质谱法用于白术中挥发性成分的分析[J]. *色谱*, 2007, 25(1): 43-47.
- [35] 魏宁漪, 段天璇, 杜守颖, 等. 顶空进样和固相微萃取进样鉴别掺伪麝香[J]. *中药材*, 2004, 27(1): 8-11.