

离子液体-顶空 GC-MS 法快速分析百草油中的挥发性成分

张福成^{1*},倪美萍²,王朝虹³,赵蒙³,蒋晔^{2#}(1.空军总医院药学部,北京 100036;2.河北医科大学,石家庄 050017;3.公安部物证鉴定中心,北京 100038)

中图分类号 R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)39-3705-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.39.19

摘要 目的:建立快速分析百草油中挥发性成分的方法。方法:采用离子液体-顶空气相色谱-质谱联用技术。色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×250 μm×0.25 μm),采用程序升温方式,以离子液体 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐([Emim][BF₄])为顶空溶剂,鉴定百草油中的挥发性成分;并传统顶空溶剂水的鉴定结果进行对比。结果:在顶空平衡时间为 30 min、平衡温度为 150 ℃ 的条件下,以离子液体[Emin][BF₄]为顶空溶剂共鉴定出 11 种挥发性化合物。以水为顶空溶剂时,在相同顶空时间、平衡温度为 80 ℃ 的条件下,仅检测到 6 种挥发性化合物。结论:室温下以离子液体作为顶空溶剂与传统顶空溶剂水相比能鉴定出更多挥发性成分,且试验方法简单、快速,可用于百草油中挥发性成分的快速分析鉴定,并可为进一步合理开发利用百草油提供科学依据。

关键词 离子液体;顶空;气相色谱-质谱联用技术;百草油;挥发性成分;快速分析

Rapid Analysis of Volatile Components in Baicao Oils by Ionic Liquid-headspace-GC-MS

ZHANG Fu-cheng¹, NI Mei-ping², WANG Chao-hong³, ZHAO Meng³, JIANG Ye²(1.Dept. of Pharmacy, General Hospital of Air Force, Beijing 100036, China; 2.Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 3.Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for rapid analysis of volatile components in Baicao oils. METHODS: The volatile components of Baicao oils were determined by ionic liquid-headspace-GC-MS. The separation was performed on HP-5MS fused-silica capillary column (30 m×250 μm×0.25 μm) by temperature programming with ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride ([Emim][BF₄]) as matrix medium; the method was compared with the identification of traditional headspace solvent. RESULTS: The analytes were equilibrated with oven temperature 150 ℃ for 30 min, and 11 kinds of volatile components were identified using ionic liquid [Emin][BF₄] as matrix medium. Using water as matrix medium, the analytes were equilibrated with oven temperature 80 ℃ for 30 min. Only six components were determined. CONCLUSIONS: Compared with water, ionic liquids as matrix medium solvent can determine more volatile components in Baicao oils at room temperature. The simple and fast method can be used for rapid analysis and identification of volatile components in Baicao oils, and provide a scientific basis further development for Baicao oils.

KEY WORDS Ionic liquids; Headspace; GC-MS; Baicao oils; Volatile components; Rapid analysis

百草油由两面针、徐长卿等 79 味中药材及适量叶绿素加茶油制成,是一种用于祛风解毒、消肿止痛的良药^[1]。其处方复杂,活性成分较多,其中樟脑等挥发性成分具有清凉止痒、抗菌消炎和止痛的作用,是百草油中的主要活性成分。已有文献^[2-9]对百草油中的樟脑、水杨酸甲酯、桉油精等挥发性成分进行分析。但是,除了文献报道的成分,百草油中仍含有许多其他的挥发性成分,其药效发挥是多种成分共同作用的结果。因此,全面鉴定分析百草油中的挥发性成分,不仅可使百草油的质量评价更加全面、科学,也可为进一步研究其作用机制提供科学依据。

挥发性成分在进入色谱系统检测前,首先需要有一定的前处理过程对样品进行提取分离及纯化。文献报道百草油中挥发性成分的含量分析方法为有机溶剂溶解后直接进样的气

相色谱(GC)法^[1-3]、挥发油提取器提取后的 GC 法^[4-5]及顶空 GC 法^[6]。采用直接进样 GC 法,样品中大量难挥发或不挥发组分会严重污染色谱柱和质谱(MS)检测器;而挥发油提取器提取后的 GC 法操作烦琐、费时,且挥发性成分在暴露的操作过程中易损失,造成样品信息的失真。顶空 GC 法是一种具有纯化富集功能的分析方法,可弥补上述缺点,但传统的顶空溶剂,例如水,沸点较低,顶空温度受限制,导致高沸点活性成分无法完全逸出,易造成活性成分“漏检”;而二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)等高沸点的顶空溶剂,本身具有挥发性,易形成宽大的溶剂峰,掩盖待检活性成分,同时过高的温度会导致压力过大,引起爆炸等安全问题。本试验中,笔者建立了离子液体-顶空 GC-MS 法鉴定百草油中的多种挥发性成分。采用离子液体作为顶空溶剂,利用其没有挥发性、热稳定性强的特点^[7-9],克服了传统顶空溶剂因沸点低而顶空温度受限、容易污染色谱柱等缺点,可升高顶空温度至高沸点组分完全溢出;并利用 NIST 谱图库,对百草油中挥发性成分进行了定性分析,可为百草油中挥发性活性成分的分析提供更全

* 主任药师,硕士研究生导师。研究方向:制药工艺、生物药剂学。电话:010-66928505。E-mail:Zfc59511@sohu.com

通信作者:教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:药物质量控制。电话:0311-86266069。E-mail:jiangye@hebm.edu.cn

面的依据。

1 材料

1.1 仪器

7890A/5975N型GC-MS联用仪、GC-MS 5975C型化学工作站(美国Agilent公司)。

1.2 挥发油与试剂

百草油(广东罗浮山药业有限公司,批号:L08E091、L08E092、L08E093);离子液体(上海成捷化学有限公司,使用前先经减压、氮气吹扫对其进行纯化)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

精密量取百草油2 μl,置于20 ml顶空瓶中,加入离子液体2 ml,加盖密封,即得。

2.2 色谱条件

色谱柱:HP-5MS弹性石英毛细管柱(30 m×250 μm×0.25 μm);载气:高纯氮气;进样口温度:150 ℃;载气流量:1 ml/min;程序升温:起始温度为100 ℃,以4 ℃/min升至112 ℃,再以10 ℃/min升至182 ℃,保持10 min;进样方式:分流进样,分流比:50:1;电离方式:电轰击电离(EI);离子源温度:230 ℃;四级杆温度:150 ℃;全扫描模式;质量扫描范围(*m/z*):45~350 amu。

2.3 顶空条件

将供试品溶液于100 ℃平衡30 min,抽取顶部空气50 μl,注入GC-MS联用仪进行分析鉴定,得到总离子流图,见图1。

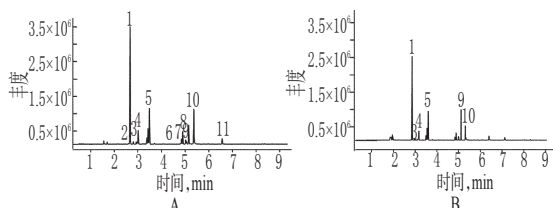


图1 百草油挥发性成分的总离子流图

A. 以离子液体[Emim][BF₄]为顶空溶剂;B. 以水为顶空溶剂

Fig 1 TIC of volatile components in Baicao oils

A. [Emim][BF₄] as matrix medium; B. water as matrix medium

2.4 百草油中挥发性成分的鉴定

分别用离子液体[Emim][BF₄]与水为顶空溶剂,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,并按“2.2”及“2.3”项下条件进样测定。经GC-MS联用仪计算机的NIST谱图库自动检索、分析,得出相应的化学成分,详见表1。其中,以水为顶空溶剂共鉴定出6种化合物,而以离子液体为顶空溶剂时分别得到超过10种化合物,尤以亲水性离子液体[Emim][BF₄]为顶空溶剂时得到的化合物种类最多,共11种,并且灵敏度最高。

由表1可见,以离子液体[Emim][BF₄]为顶空溶剂时检测得到的化合物成分的数量及检测灵敏度明显高于以水为顶空溶剂时得到的结果,其原因可能是由于样品中的半挥发组分的沸点较高,而水的沸点仅为100 ℃,过高的温度可能会导致压力过大,引起系统耐压和气密性的问题,而一般顶空温度不超过80 ℃,因而导致这些半挥发的高沸点组分无法完全逸出。而离子液体由于几乎无蒸汽压,顶空富集时温度可升至150 ℃甚至更高,从而可使高沸点的半挥发性组分充分逸出至顶部空间,其他挥发性组分的顶空效率也得到了很大提升。

3 讨论

表1 百草油中的挥发性成分

Tab 1 Volatile components of Baicao oils

| No. | 保留时间, min | 以[Emim][BF ₄]为顶空溶剂 | | 以水为顶空溶剂 | |
|-----|-----------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| | | 化合物 | 分子式 | 化合物 | 分子式 |
| 1 | 2.526 | α -Pinene(α -蒎烯) | C ₁₀ H ₁₆ | α -Pinene(α -蒎烯) | C ₁₀ H ₁₆ |
| 2 | 2.669 | Camphene(莜烯) | C ₁₀ H ₁₆ | | |
| 3 | 2.892 | β -Pinene(β -蒎烯) | C ₁₀ H ₁₆ | β -Pinene(β -蒎烯) | C ₁₀ H ₁₆ |
| 4 | 3.335 | β -Phellandrene(β -水芹烯) | C ₁₀ H ₁₆ | β -Phellandrene(β -水芹烯) | C ₁₀ H ₁₆ |
| 5 | 3.397 | Camphor(樟脑) | C ₁₀ H ₁₆ O | Camphor(樟脑) | C ₁₀ H ₁₆ O |
| 6 | 4.845 | Eucalyptol(桉油脑) | C ₁₀ H ₁₈ O | | |
| 7 | 4.922 | D-Limonene(香芹烯) | C ₁₀ H ₁₆ | | |
| 8 | 5.056 | Cyclohexanone(环己酮) | C ₆ H ₁₀ O | | |
| 9 | 5.169 | Cyclohexanol(环己醇) | C ₆ H ₁₂ O | Cyclohexanol(环己醇) | C ₆ H ₁₂ O |
| 10 | 5.402 | Methyl salicylate(水杨酸甲酯) | C ₈ H ₈ O ₃ | Methyl salicylate(水杨酸甲酯) | C ₈ H ₈ O ₃ |
| 11 | 6.678 | Estragole(爱草醚) | C ₁₀ H ₁₂ O | | |

百草油中的一些高含量挥发性成分一般采用甲醇、丙酮、四氯化碳等有机溶剂溶解后直接进样^[1-3]进行分析,但采用直接进样GC法,样品中大量难挥发或不挥发组分不仅容易污染色谱柱,且不能与某些检测器[如电子捕获检测器(ECD)、MS等]联用;采用挥发油提取法对样品中的挥发性成分进行提取后再进样分析^[4-5],可减少样品对色谱柱和检测器的污染,但方法操作烦琐、费时,且提取过程在敞开体系中进行,挥发性成分易损失,易造成样品信息的失真。顶空GC法是一种具有纯化富集功能的分析方法,可弥补上述缺点。有文献^[6]以水为顶空溶剂,在水中加入甲醇作为改进剂,采用顶空GC法测定了百草油中薄荷脑及水杨酸甲酯的含量。但是,其采用的顶空溶剂水的沸点较低,顶空温度受限制,从试验结果可见,桉油脑、爱草醚等高沸点活性成分无法逸出。因此,本试验采用离子液体作为顶空溶剂,由于其没有挥发性,热稳定性强,还能克服水沸点较低的问题,最终使顶空温度升到了150 ℃,总共检测得到百草油中11种挥发性组分,同时也提高了检测灵敏度。

参考文献

- [1] 廖志钟.采用气相色谱法同时测定罗浮山百草油中3种成分的含量研究[J].中国现代药物应用,2011,11(5):87.
- [2] 吴运莉,舒阳,孟小夏.HPLC法测定香青百草油中丁香酚的含量[J].贵阳医学院学报,2011,36(5):488.
- [3] 陈日添,廖建良.罗浮山百草油鉴别和含量测定研究[J].中成药,1998,20(6):12.
- [4] 蒋懿,何小稳,蒋晔.大口径毛细管气相色谱法测定百草油中4种挥发性成分的含量[J].中成药,2009,31(10):1572.
- [5] 曾惠芳,黄耀海,李湘力.百草油中薄荷脑、肉桂醛、丁香酚的含量测定[J].中成药,2007,29(4):558.
- [6] 何小稳,蒋懿,蒋晔.直接顶空GC测定罗浮山百草油中的薄荷脑和水杨酸甲酯[J].华西药理学杂志,2009,24(5):524.
- [7] Wei D, Ivaska A. Applications of ionic liquids in electrochemical sensors [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 607(8):126.
- [8] 雷利利,蒋晔.温室离子液体在色谱分离中的应用进展[J].分析科学学报,2009,25(6):715.
- [9] Welton T. Ionic liquids in catalysis[J]. *Coordina Chem Rev*, 2004, 248(7):2459.

(收稿日期:2012-09-21 修回日期:2012-11-11)