

# 乳香、没药挥发油的亚临界 R134a 萃取及 GC-MS 分析

毛跟年<sup>1\*</sup>, 杜磊<sup>1</sup>, 王荣<sup>2</sup>, 杨文娟<sup>1</sup>, 牛阳<sup>2</sup>, 吕婧<sup>1</sup>, 张轲易<sup>1</sup>

(1. 陕西科技大学, 西安 710021; 2. 宁夏医科大学, 银川 750004)

**[摘要]** 目的: 优选烫伤膏中乳香、没药挥发油的萃取工艺条件并对其挥发性成分进行分析鉴定。方法: 选择 1, 1, 1, 2-四氟乙烷 (R134a) 为萃取溶剂, 以挥发油提取率为指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察原料粒度、萃取温度及时间对烫伤膏中乳香、没药挥发油亚临界萃取工艺的影响。采用气相色谱-质谱法 (GC-MS) 对挥发油进行成分分析。结果: 最佳萃取工艺为原料粒度 80 目, 萃取温度 50 ℃, 萃取时间 30 min, 萃取数 1 次; 挥发油提取率 5.19%。GC-MS 分析共鉴定出 39 种化合物, 以萜类、链状芳香族化合物 (烷烃、醇、酯) 为主, 其中以苯氧乙酮和 [1R-(1 $\alpha$ , 7 $\beta$ , 8 $\alpha$ .  $\alpha$ )]-1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8a-八氢-1, 8a-二甲基-7-(1-甲基乙基)-萘的含量最高, 分别为 37.04%, 8.16%。结论: 优选的亚临界萃取工艺稳定可靠、合理可行, 为烫伤膏的质量控制及二次开发提供实验依据。

**[关键词]** 亚临界萃取技术; 乳香; 没药; 烫伤膏; 挥发油; 1, 1, 1, 2-四氟乙烷

**[中图分类号]** R283.6; R284.1; R284.2; R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0006-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060006

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150127.1147.006.html>

**[网络出版时间]** 2015-01-27 11:47

## Subcritical R134a Extraction and GC-MS Analysis of Volatile Oil from Olibanum and Myrrha

MAO Gen-nian<sup>1\*</sup>, DU Lei<sup>1</sup>, WANG Rong<sup>2</sup>, YANG Wen-juan<sup>1</sup>, NIU Yang<sup>2</sup>, LYU Jing<sup>1</sup>, ZHANG Ke-yi<sup>1</sup>  
(1. Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China; 2. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction conditions of volatile oil from Olibanum and Myrrha in Tangshang ointments and analyze its compositions. **Method:** Taking 1, 1, 1, 2-tetrafluoroethane (R134a) as extraction solvent, with yield of volatile oil as index, based on single factor tests, effects of materials granularity, extraction temperature and time on extraction process were investigated by orthogonal test. Composition of volatile oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Result:** Optimum conditions was as following: materials granularity of 80 mash, subcritical extraction temperature of 50 ℃, extraction once for 30 min. Under these conditions, yield of volatile oil from Olibanum and Myrrha was 5.19%. Thirty-nine components were identified by GC-MS, terpenes, aromatic hydrocarbons (hydrocarbons, alcohols, esters) were the major components among them, contents of 1-phenoxy-2-propanone and [1R-(1 $\alpha$ , 7 $\beta$ , 8 $\alpha$ .  $\alpha$ )]-1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 8a-octahydro-1, 8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-naphthalene were 37.04% and 8.16%, respectively. **Conclusion:** This extracting techniques is feasible and stable, this study can provide a scientific basis for quality control and further research of Tangshang ointments.

**[Key words]** subcritical extraction technology; Olibanum; Myrrha; Tangshang ointments; volatile oil; 1, 1, 1, 2-tetrafluoroethane

烫伤膏是宁夏吴忠回医正骨医院临床用于治疗 浅Ⅱ度烧烫伤患者的传统方剂, 由乳香、没药、黄芩、

**[收稿日期]** 20140722(013)

**[基金项目]** 宁夏回族自治区科技攻关项目([2010]088)

**[第一作者]** 杜磊, 在读硕士, 从事中药药理研究, Tel:15319777567, E-mail:305823811@qq.com

**[通讯作者]** \*毛跟年, 教授, 从事天然产物活性成分研究, Tel:18710487265, E-mail:maogn@sust.edu.cn

黄柏、大黄等共 9 味药材组成,具有活血祛瘀、和营生新、祛腐生肌的作用<sup>[1]</sup>。拟采用现代制剂工艺对该制剂进行二次开发与研究。方中乳香、没药占全方约 27.3%,二者化学成分非常相似,主要含挥发油、树脂和树胶等<sup>[2-3]</sup>,乳香、没药挥发油的提取常采用水蒸气蒸馏法和超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法。水蒸气蒸馏法得油率低,热敏成分易受破坏,且能耗高、生产率低;超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法具有萃取温度较低、操作简单、对环境无污染等优点,但对设备要求较高,大规模推广应用受限<sup>[4]</sup>。

亚临界流体萃取法是依据有机物的相似相溶原理,将物料中目标成分转移至液态萃取剂中,通过减压蒸发将萃取剂与产物分离的方法<sup>[5]</sup>。该法与超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法相比,具有萃取压力低和萃取条件温和的特点。1,1,1,2-四氟乙烷(R134a)具有临界温度及压力适中、低毒、不易燃、不破坏臭氧层等特性,已成为亚临界萃取的首选萃取剂<sup>[6-7]</sup>。目前关于亚临界萃取乳香和没药挥发油的研究尚未见报道。本实验采用亚临界 R134a 萃取法萃取乳香、没药中挥发油,通过单因素试验和正交试验优选萃取工艺条件,采用 GC-MS 分析挥发油的化学组成,为烫伤膏新剂型的开发与工业生产提供参考。

## 1 材料

HA131-1.5-2 型亚临界萃取装置(江苏常州特威电气自动化系统有限公司),7890A/5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司)。乳香、没药产地均为广东,均购自西安鸣鹿药业有限公司,经陕西科技大学杨文娟讲师分别鉴定为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* 皮部切伤后渗出的树脂,橄榄科植物地丁树 *Commiphora myrrha* 树干分泌的油胶脂状物质;1,1,1,2-四氟乙烷(R134a,纯度 99%,山东淄博化工试剂厂),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 挥发油的萃取** 将乳香、没药粉碎过筛,按处方量称取适量物料置于萃取釜中,萃取设备抽真空至 -0.8 MPa。将溶剂由溶剂罐泵入萃取釜中,至完全淹没物料为止,通过热水循环进行加热到适宜温度,萃取一定时间后,用加压泵将萃取剂导入分离罐中,通过减压蒸发将溶剂与目的产物分离,在分离罐中对油脂进行收集,按提取率 = 油脂质量/物料质量 × 100% 计算挥发油提取率。

**2.2 GC-MS 分析** 色谱条件为 HP-5MS 5% 苯基甲基氧化硅弹性石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m,0.25 μm),载气高纯氦气,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,不分流,

进样量 1 μL,进样口温度 290 °C,柱温升温程序(初始柱温 50 °C,保持 2 min;以 5 °C·min<sup>-1</sup>升至 300 °C,保持 5 min;以 10 °C·min<sup>-1</sup>升至 310 °C,保持 1 min)。质谱条件为电离方式 EI,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,电子倍增管电压 1 635 V,全谱扫描,*m/z* 30 ~ 500。

**2.3 单因素试验考察** 在预试验基础上,选取原料粒度、萃取温度、萃取时间及萃取次数为考察因素,乳香、没药每次投料量均为 42 g。在亚临界萃取过程中,当萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa 时,R134a 可始终保持液态,故固定萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa。

**2.3.1 原料粒度** 将乳香、没药粉碎至粒度分别为 20,40,60,80,100 目。恒定萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa,萃取温度 50 °C,萃取时间 30 min,萃取数 1 次的条件下,按 2.1 项下方法萃取,计算挥发油提取率分别为 1.75%,5.94%,5.50%,3.71%,2.95%,故选择原料粉碎粒度 40 目。

**2.3.2 萃取温度** 恒定萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa,原料粒度 40 目,萃取时间 30 min,萃取数 1 次的条件下,萃取温度分别为 20,30,40,50,60 °C,计算挥发油提取率分别为 4.46%,6.68%,9.69%,5.94%,3.51%,故选取萃取温度 40 °C。

**2.3.3 萃取时间** 恒定萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa,原料粒度 40 目,萃取温度 50 °C,萃取数 1 次的条件下,萃取时间分别为 20,30,40,50,60 min,计算提取率分别为 4.05%,4.30%,5.42%,5.94%,6.15%。结果表明随萃取时间的延长,提取率增加,但是增加幅度不明显,这是由于油脂在萃取釜中溶解度已趋近饱和,从节约能耗方面考虑,选择萃取时间 40 min。

**2.3.4 萃取次数** 恒定萃取压力 1.0 ~ 1.2 MPa,原料粒度 40 目,萃取温度 50 °C,萃取时间 30 min 的条件下,萃取数分别为 1,2,3 次,结果提取率分别为 5.94%,6.03%,6.10%,故固定萃取数 1 次。

**2.4 正交试验优选** 在单因素试验基础上,称取乳香、没药各 42 g,选择原料粒度、萃取温度、萃取时间为考察因素,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表设计试验,试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对萃取工艺的影响主次为 C > B > A。方差分析表明因素 C 对挥发油提取率的影响具有显著性差异,其他因素则均无显著性影响,故确定最佳萃取工艺 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即原料粉碎粒度 80 目,萃取温度 50 °C,萃取时间 30 min。

**2.5 挥发油 GC-MS 分析** 按优选的工艺条件提取乳香、没药挥发油,萃取物用适量丙酮溶解,采用

表1 烫伤膏中乳香和没药挥发油萃取工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of extraction process of volatile oil from *Olibanum* and *Myrrha* in Tangshang ointments

No.	A 原料粒度 /目	B 萃取温度 /℃	C 萃取时间 /min	D(空白)	提取率 /%
1	40	30	20	1	2.49
2	40	40	30	2	3.51
3	40	50	40	3	3.40
4	60	30	30	3	4.56
5	60	40	40	1	3.05
6	60	50	20	2	3.95
7	80	30	40	2	4.11
8	80	40	20	3	3.01
9	80	50	30	1	5.19

GC-MS 进行分析,挥发油总离子流程见图1。排除溶剂峰影响,经标准质谱图库检索,并对检索结果进行人工核对,运用峰面积归一化法计算各色谱峰的相对质量分数,见表3。结果从乳香、没药挥发油中共分离鉴定出39种化合物,成分多为萜类化合物、链状芳香族化合物(烷烃、醇、酯)等,主要萜类化合

表3 烫伤膏中乳香和没药挥发油化学成分 GC-MS 分析

Table 3 GC-MS analysis of components in volatile oil from *Olibanum* and *Myrrha* in Tangshang ointments

峰号	化合物	$t_R$ /min	相对质量分数/%
1	乙酸辛酯	14.991	3.35
2	罗勒烯	18.415	0.26
3	$\alpha$ -葑澄茄烯	19.441	0.33
4	[1s-(1 $\alpha$ ,3 $\alpha\alpha$ ,3b $\beta$ ,6a $\beta$ ,6b $\alpha$ )]-十氢-3a-甲基-6-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-环丁烷[1,2,3,4]并二环戊烯	19.681	0.33
5	4-亚甲基-1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯-1-基)-1 乙烯基-环庚烷	19.859	0.61
6	1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萜	20.550	0.33
7	$\gamma$ -榄香烯	20.906	0.29
8	[1s-(1 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,8a $\alpha$ )]-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1,8a-二甲基-7-(1-甲基乙基)萜	22.309	0.90
9	[1aR-(1 $\alpha\alpha$ ,4a $\beta$ ,7 $\alpha$ ,7a $\beta$ ,7b $\alpha$ )]-十氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-1H-环内基[e]甘菊环]	22.571	0.34
10	(1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萜	23.126	0.25
11	4,6-二甲基-2-氨基吡啶	25.126	5.95
12	2-羟基-2,4,6-环庚三烯-1-酮	25.398	2.12
13	3,4,4a,9,10,10a-六氢-4a-甲基,1(2H)菲酮	28.068	0.33
14	(1S-cis)-1,2,3,4-四氢-1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萜	28.214	2.73
15	1,4-二甲基-7-(1-甲基乙基)-奥昔菊环-2-醇	28.591	0.35
16	1,6-二乙酰基萜	29.607	0.71
17	1-甲基,2(1H)-喹啉酮	30.214	0.29
18	5,7-二甲基,1-萜酚	30.423	1.44
19	7,7-bis(三氟甲基吡啶)-1,3,5 环庚三烯	30.936	7.59
20	异丙安替比林	31.041	0.40
21	2,5,8-三甲基,1-萜酚	31.093	0.85
22	1,4,4a,9a-四氢-9,10-蒽醌	31.303	5.86

表2 挥发油提取率方差分析

Table 2 Variance analysis of yield of volatile oil

方差来源	SS	MS	F	P
A	1.52	0.76	12.19	>0.05
B	1.47	0.74	11.80	>0.05
C	2.56	1.28	20.51	<0.05
D(误差)	0.12	0.06	1.00	

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

物为罗勒烯, $\alpha$ -葑澄茄烯和 $\gamma$ -榄香烯等。

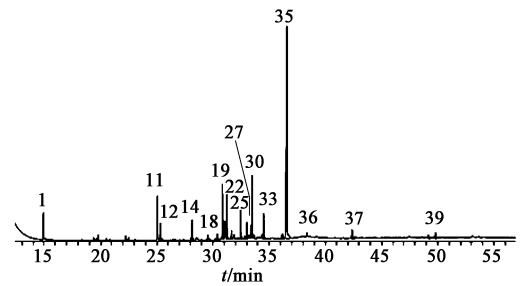


图1 烫伤膏中乳香和没药挥发油总离子流

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile oil from *Olibanum* and *Myrrha* in Tangshang ointments

续表 3

峰号	化合物	$t_R$ /min	相对质量 分数/%
23	2,6-二异丙基萘	31.711	1.25
24	1,1,4a-三甲基-6-亚甲基-5-(3-甲基-2,4-戊二烯基)[4as-(4a $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,8a $\beta$ )]十氢化萘	31.952	0.35
25	1-乙烯基-1-甲基-2,4-二异丙基-环己烷	32.538	3.54
26	1-(4-甲基苯基)-1 <i>H</i> -吡咯-2,5-二酮	32.873	0.30
27	4-甲基-2,6-二羟基喹啉	33.072	2.37
28	1,5-二乙酰基萘	33.250	0.37
29	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)-环己烯	33.428	1.20
30	[1 <i>R</i> -(1 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,8 $\alpha$ )]-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1,8a-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)-萘	33.554	8.16
31	[1 <i>R</i> -(1 <i>R</i> <sup>*</sup> ,3 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>R</i> <sup>*</sup> ,12 <i>R</i> <sup>*</sup> )]-4,8,12,15,15 五甲基-二环[9.3.1]十五碳-3,7-二烯-12-醇	33.721	0.45
32	(1-丁氧基-1-甲基乙基)-苯	34.412	0.49
33	1-甲氧基-4-(2-苯基乙烯基)-苯	34.559	3.57
34	4-亚甲基-1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯-1-基)-1-乙烯基环庚烷	36.224	1.86
35	苯氧乙酮	36.621	37.04
36	4,6,10,10-四甲基-5-氧杂三环[4.4.0.0(1,4)]癸-2-烯-7-醇	38.422	0.68
37	5,6-二乙烯基-1-甲基-环己烯	42.422	1.75
38	3,5,6,7,8,8a-六氢-4,8a-二甲基-6-(1-甲基乙烯基),2(1 <i>H</i> )萘酮	49.248	0.37
39	(8 <i>S</i> - <i>cis</i> )-2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4-(1-甲基亚乙基)-5(1 <i>H</i> )-萘酮	49.845	0.64

### 3 讨论

单因素试验考察时,随原料粒度的减小,挥发油提取率升高,至粒度达 40 目时,提取率达最高值,之后原料粒度进一步增大,提取率则呈下降趋势。这是由于物料粒度对油脂的提取具有双重影响,物料越细,其表面积越大,与流体的接触面也越大,有助于溶质的提取;但物料过细,在高压条件下容易被压实,反而不利于溶质的提取<sup>[8]</sup>。乳香、没药挥发油的提取率随温度的升高而增大,但当温度 > 40 °C 时,提取率随温度升高呈现下降趋势。原因可能是起初由于温度升高有助于溶质挥发和扩散,使得溶质容易浸出;但当温度升高的同时流体也被汽化,导致流体密度降低,溶质的溶解度随之降低。

通过 GC-MS 分析亚临界萃取的乳香、没药挥发油,共鉴定出 39 种化合物,与文献报道存在一些差别,苯氧乙酮和 1,4,4a,9-四氢-9,10-蒽醌等成分未见文献报道,但主要成分——2-羟基-2,4,6-环庚三烯-1-酮,乙酸辛酯,1-乙烯基-1-甲基-2,4-二异丙基-环己烷等与文献报道基本一致<sup>[9-10]</sup>。造成差异的原因可能与药材来源、产地、品种有关。

#### [参考文献]

[1] 张金玉,张金军,杨义成,等. 回药张氏烧烫伤膏治疗浅 II 度烧烫伤 100 例疗效观察[J]. 中外健康文摘, 2013,10(26):45-46.

[2] 赵金凤,周春兰,周凤琴,等. 乳香挥发性成分 GC-MS 分析[J]. 中国中药杂志,2011,36(8):1050-1053.

[3] 赵金凤,周春兰,韩陆,等. 没药研究进展[J]. 中国药房,2011,22(7):661-665.

[4] 刘芳,吴萍,王宇红,等. HPLC-DAD 同时测定川芎 CO<sub>2</sub> 超临界流体萃取物中阿魏酸、洋川芎内酯 A 和藁本内酯含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,22(8):2020-2022.

[5] 朱刚,赵启政,赵煜,等. 亚临界萃取技术在提取花椒籽油中的应用研究[J]. 粮油食品科技,2010,18(4):24-26.

[6] Corr S. 1,1,1,2-Tetrafluoroethane; from refrigerant and propellant to solvent[J]. J Fluorine Chem, 2002, 118(1):55-67.

[7] 胡凯,杨晓晨,安东雨,等. 亚临界流体 1,1,1,2-四氟乙烷(R134a)萃取原花青素的工艺研究[J]. 北京化工大学学报:自然科学版,2013,40(4):8-12.

[8] 柳仁民,张坤,崔庆新. 碱蓬籽油的超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取及其 GC/MS 分析[J]. 中国油脂,2003,28(2):42-45.

[9] 孙亦群,魏刚,周莉玲. 乳香、没药炮制前后挥发油化学成分及含量变化[J]. 中药材,2001,24(8):566-567.

[10] 王艳艳,王团结,宿树兰,等. 乳香、没药药对配伍挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 现代中药研究与实践, 2011,25(2):31-34.

[责任编辑 刘德文]