

没药中挥发性成分的酶提取及 GC/MS 分析

陈 华, 辛 广, 张兰杰, 张 博

(鞍山师范学院化学系, 辽宁 鞍山 114007)

摘要: 采用纤维素酶提取法(CE)和水蒸气蒸馏提取法(DSE)对没药挥发油成分进行比较研究。利用气相色谱-质谱联用技术对其化学成分进行分析, 从中分别鉴定出 34 种和 38 种化学成分, 用峰面积归一法通过数据处理系统得出各化学成分在挥发油中的百分含量, 分别占挥发油总成分的 70.05% 和 67.95%, 共同组分中含量最多的是乙酸辛酯和辛醇。

关键词: 气相色谱-质谱; 酶提取法; 没药; 挥发性成分

中图分类号: O657.63; R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2007)03-152-06

Analysis of Cellulase Extraction from the Volatile Components of Myrrha by GC/MS

CHEN Hua, XIN Guang, ZHANG Lan-jie, ZHANG Bo

(Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114007, China)

Abstract: The cellulase was used for extracting the volatile components of Myrrha. The cellulase extraction (CE) method was made a comparison with distillation extraction (DSE) method. The chemical components were separated and identified by GC/MS. The experimental results confirm that 34 and 38 chemical components are identified from Myrrha respectively. The components were analyzed quantitatively by normalization method. The amount of the identified components are account for more than 70.05% and 67.95 % of all the volatile oils respectively. The main co-compounds of them are acetic acid octyl ester and 1-octanol.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); cellulase extraction method; Myrrha; volatile component

没药(Myrrha), 又名末药、明没药、蜜儿粒, 为橄榄科植物没药树(*Commiphora myrrha* Engl.)及同属植物茎干皮部渗出的油胶树脂, 产于索马里、埃塞俄比亚及印度等地, 味苦、性平, 归心、肝、脾经, 治跌打损伤、金疮、筋骨、心腹诸痛、症瘕、经闭、痈疽肿痛、痔漏、目障^[1]。现代研究表明, 没药中的挥发油为有效活性成分^[2]。文献^[3-8]报道的均是对没药经炮制处理前后和 SFE-CO₂ 等方法处理前后挥发性成分的比较, 而对经酶处理前后没药挥发性成分的比较未见报道。本工作拟采用纤维素酶法处理没药, 比较

无前处理和用纤维素酶前处理的没药挥发油及其含量, 研究不同处理的没药挥发油, 对于提高没药挥发油的产率及其整体利用价值具有重要意义, 为进一步改进中药提取方法提供一定的理论依据。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

Hewlett Packard 6890-5973 气相色谱-质谱联用仪; 美国惠普公司产品; 水蒸气蒸馏装置及

R-201 型旋转蒸发器:上海中科机械研究所产品。

1.2 主要材料与试剂

没药药材:购于鞍山市药材公司,经鉴定为橄榄科植物没药树树皮渗出的树脂;纤维素酶(BR):活力单位约 $15\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$;其他试剂均为分析纯。

1.3 试验条件

1.3.1 纤维素酶前处理 称取 35 g 干燥没药粗粉,加入 $50\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 纤维素酶,再加入适量 $\text{pH } 5.0$ 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液后充分搅拌,置于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅内保温 12 h 。

1.3.2 挥发油的提取^[9] 用挥发油提取器按常规水蒸气蒸馏法分别提取未经前处理的 50 g 没药粗粉和经纤维素酶前处理的 35 g 没药,提取 5 h ,油水经无水乙醚萃取,得到的挥发油醚溶液用无水硫酸钠处理,干燥两天,旋转蒸发器浓缩,得到具有特殊香味黄色透明浓稠状的液体。

1.4 气相色谱-质谱测定

1.4.1 气相色谱条件 色谱柱:HP-5 弹性石英毛细管柱($25.0\text{ m}\times 0.2\text{ mm}, 0.3\text{ }\mu\text{m}$);升温程序: $60\text{ }^{\circ}\text{C}$,以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 15 min ;载气(He)流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样口温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$;进样量 $0.2\text{ }\mu\text{L}$;溶剂延迟 3 min ;分流比 $20:1$ 。

1.4.2 质谱条件 电离方式 EI,离子源温度

$230\text{ }^{\circ}\text{C}$,接口温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$,四极杆温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$,倍增器电压为 $1\,482\text{ V}$,发射电流 $34.6\text{ }\mu\text{A}$,质量扫描范围 $m/z\text{ }20\sim 500$ 。

1.5 测定方法

1.5.1 定性分析 取 $0.2\text{ }\mu\text{L}$ 没药挥发油,用气相色谱-质谱联用仪分析鉴定。通过 G1701BA 化学站检索 Nist98 谱图库,再结合有关文献进行人工谱图解析,确认其化学成分。

1.5.2 定量分析 通过 G1701BA 化学工作站数据处理系统按峰面积归一化法进行计算,求得各化学成分在挥发性成分中的相对百分含量。

2 结果与讨论

实验测得水蒸气蒸馏-萃取法提取没药挥发油 1.1 g ,产率为 2.2% ,分离鉴定出 38 种成分,占挥发油总成分的 69.75% ;经纤维素酶提取的没药挥发油 2.1 g ,产率为 6% ,分离鉴定出 34 种成分,占挥发油总成分的 70.05% 。经 GC/MS 分析,得到样品的总离子流色谱图示于图 1。由化学工作站的质谱数据进行检索核对,将色谱峰面积进行归一化法处理,得出两种处理方法的没药各组分的相对百分含量,结果列于表 1。两种方法测得没药挥发油主要成分均为乙酸辛酯,分别占总含量的 26.68% 和 27.52% ,此外含量较多的为辛醇,分别占总含量的 11.15% 和 12.89% 。

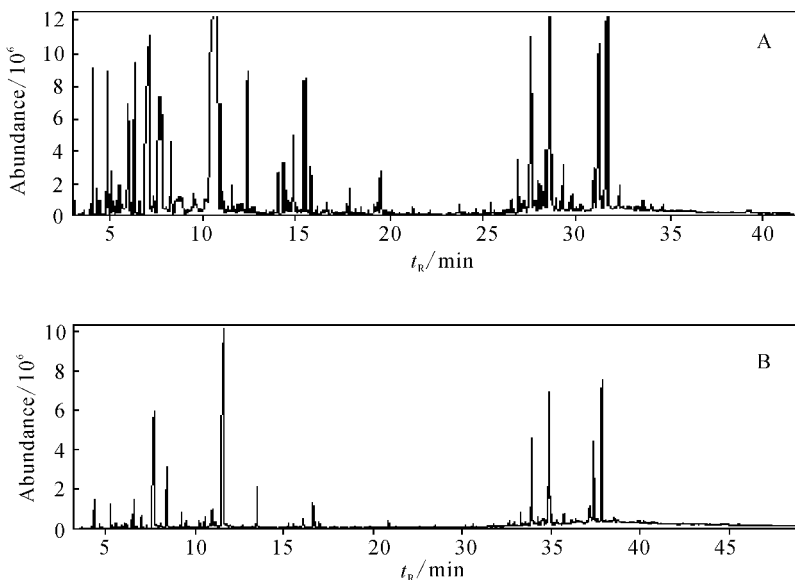


图 1 没药挥发油的总离子流色谱图

A—水蒸气蒸馏-萃取法提取;B—酶提取

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile oil from Myrrha

A—DSE; B—CE

表 1 没药挥发油中化学成分鉴定结果
Table 1 Components of volatile oil from Myrrha

序号 No.	化学成分 Compound	分子式 Molecular formula	相对分子质量		保留时间 <i>t</i> _R /min	相对含量		相似度 Similarity /%
			Relative molecular mass	Relative content /%		CE	DSE	
1	正己醇 1-Hexanol	C ₆ H ₁₄	92	3.13	—	0.24	83	
2	α-水芹烯 α-Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.02	—	0.15	91	
3	1- <i>R</i> -α-蒎烯 1- <i>R</i> -α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.16	—	1.90	97	
4	莰烯 Camphene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.41	0.17	0.28	97	
5	1 <i>S</i> -α-蒎烯 1 <i>S</i> -α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.43	1.29	—	96	
6	4-甲基-1-(1-甲基乙基)双环[3.1.0]己-2-烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.85	—	0.28	94	
	4-Methyl-1-(1-methylethyl)-bicyclo[3.1.0]hex-2-ene							
	(1 <i>S</i>)6, 6-二甲基-2-亚甲基双环[3.1.0]庚烷							
7	(1 <i>S</i>)6, 6-Dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.0]heptane	C ₁₀ H ₁₆	136.13	4.94	—	1.91	95	
8	β-月桂烯 β-Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	5.15	—	0.15	87	
9	(1 <i>S</i>)6, 6-二甲基-2-亚甲基双环[3.1.1]庚烷	C ₁₀ H ₁₆	136.13	5.36	1.14	—	94	
	(1 <i>S</i>)6, 6-Dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptane							
	α-水芹烯 α-Phellandrene							
10	α-水芹烯 α-Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	5.45	—	0.15	87	
11	1-甲基-4-(1-甲基)苯	C ₁₀ H ₁₄	134.11	5.88	0.37	0.30	97	
	1-Methyl-4-(1-methyl)-benzene							
	柠檬烯 Limonene							
12	柠檬烯 Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	5.99	0.67	1.79	90	
13	桉叶油素 Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	6.04	1.37	1.09	98	
14	(<i>E</i>)3, 7-二甲基-1, 3, 6-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	6.14	—	0.30	95	
	(<i>E</i>)3, 7-Dimethyl-1, 3, 6-octatriene							
	乙酸己酯 Acetic acid hexyl ester							
15	乙酸己酯 Acetic acid hexyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.12	6.18	0.24	—	86	
16	3, 7-二甲基-1, 3, 7-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	6.41	0.61	2.38	95	
	3, 7-Dimethyl-1, 3, 7-octatriene							
	1-甲基-4(1-甲基乙基)-1, 4-环己二烯 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-1, 4-cyclohexadiene							
17	1-甲基-4(1-甲基乙基)-1, 4-环己二烯 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-1, 4-cyclohexadiene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	6.63	—	0.15	94	
18	辛醇 1-Octanol	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.13	7.18	12.89	11.15	91	
19	4-萜烯 4-Carene	C ₁₀ H ₁₆	136.13	7.36	0.43	0.14	97	
20	顺-里哪醇氧化物 <i>cis</i> -Linaloloxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.13	7.44	—	0.32	87	
21	3, 7-二甲基-1, 6-辛二烯-3-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	7.73	2.96	4.13	95	
	3, 7-Dimethyl-1, 6-octadien-3-ol							
	3, 5-二甲基环己烯 3, 5-Dimethyl-cyclohexene							
22	3, 5-二甲基环己烯 3, 5-Dimethyl-cyclohexene	C ₈ H ₁₄	110.11	8.37	0.78	1.40	87	
23	[1 <i>S</i> -(1α, 3α, 5α)]-6, 6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.1]庚-3-醇 [1 <i>S</i> -(1α, 3α, 5α)]-6, 6-Dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.12	9.57	0.36	—	87	
24	2-莰醇 Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	9.59	0.62	0.23	90	

续表

序号 No.	化学成分 Compound	分子式 Molecular formula	相对分子质量		保留时间 t_R /min	相对含量		相似度 Similarity /%
			Relative molecular mass			Relative content / %		
						CE	DSE	
25	1-甲基-4-(2-丙烯基)苯 1-Methoxy-4-(2-propenyl)-benzene	C ₁₀ H ₁₂ O	148.09		10.15	—	0.47	96
26	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14		10.64	0.59	—	97
27	乙酸辛酯 Acetic acid octyl ester	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.15		10.85	27.52	26.68	91
28	反-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇 <i>trans</i> -2-Methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.12		10.98	—	0.15	95
29	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol	C ₁₀ H ₂₀ O	156.15		11.04	—	0.12	95
30	(<i>S</i>) α , α , 4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇 (<i>S</i>) α , α , 4-Trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14		11.06	1.25	—	91
31	6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇 6,6-Dimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.12		11.23	0.49	—	90
32	(<i>Z</i>) 3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇 (<i>Z</i>)3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14		11.62	—	0.42	94
33	1,7,7-三甲基-双环[2.2.1]庚-2-基乙酸酯 1,7,7-Trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester acetic acid	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.15		12.44	1.93	2.34	98
34	顺-2,6-二甲基-2,6-辛二烯 <i>cis</i> -2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	C ₁₀ H ₁₈	138.14		14.05	0.25	0.67	97
35	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇乙酸酯 3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.15		14.34	0.78	2.13	91
36	[1 <i>s</i> -(1 α , 2 α , 3 α . β , 4 α , 8 α . β , 9 <i>R</i> *)]-十氢-1,5,5,8 α -四甲基-1,2,4-亚甲基萸 [1 <i>s</i> -(1 α , 2 α , 3 α . β , 4 α , 8 α . β , 9 <i>R</i> *)]-Decahydro-1,5,5,8 α tetramethyl-1,2,4-methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	204.19		14.53	—	0.15	99
37	王古王巴烯 Copaene	C ₁₅ H ₂₄	204.19		14.65	—	0.18	99
38	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204.19		15.76	0.3	0.54	99
39	(顺,顺,顺)-1,1,4,8-四甲基-4,7,10-环十一三烯 <i>cis</i> , <i>cis</i> , <i>cis</i> -1,1,4,8-Tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene	C ₁₅ H ₂₄	204.19		16.58	—	0.18	98
40	[1 <i>s</i> -(1 α , 3 α . β , 4 α , 8 α . β)]十氢-4,8,8-三甲基-9-亚甲基-1,4-亚甲基萸[1 <i>s</i> -(1 α , 3 α . β , 4 α , 8 α . β)]Decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-1,4-methanoazulene	C ₁₅ H ₂₄	204.19		16.71	1.22	2.53	99

续表

序号 No.	化学成分 Compound	分子式 Molecular formula	相对分子质量		保留时间 t_R /min	相对含量		相似度 Similarity /%
			Relative molecular mass	Relative content / %				
						CE	DSE	
41	乙酸癸酯 Acetic acid decyl ester	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.18	16.80	0.43	—	91	
42	1-甲基-环十一烯 1-Methyl-cycloundecene	C ₁₂ H ₂₂	166.17	17.66	—	0.21	89	
43	α -金合欢烯 α -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204.19	17.85	—	0.33	93	
44	月桂酸酐 Lauric anhydride	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.18	19.40	—	0.32	94	
45	十八烷 Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	254.30	25.67	0.17	—	98	
46	十九烷 Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268.31	27.70	0.23	—	98	
47	4a, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13-十氢-2, 3-二乙基环十二烷苯	C ₂₀ H ₃₂	272.25	27.97	0.25	—	92	
	4a, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13-Decahydro-2, 3-diethyl benzocyclo-decene							
	α , α , 4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇丙酯							
48	α , α , 4-Trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol propanoate	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	210.46	28.18	—	0.31	89	
49	1, 1, 4a-三甲基-6-亚甲基-5-(3-甲基-2, 4-戊二烯基)[4as-(4a, α , 5 α , 8a, β)]十氢化萘	C ₂₀ H ₃₂	272.25	28.37	0.78	0.76	99	
	1, 1, 4a-Trimethyl-6-methylene-5-(3-methyl-2, 4-pentadienyl)- [4as-(4a, α , 5 α , 8a, β)]-decahydro-naphthalene							
	1, 5, 9-三甲基-12-(1-甲基乙基)-1, 5, 9-环四甲基癸三烯							
50	甲基癸三烯 1, 5, 9-Trimethyl-12-(1-methylethenyl)-1, 5, 9-cyclotetradecatriene	C ₂₀ H ₃₂	272.25	28.98	4.89	—	86	
51	二十烷 Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282.33	29.63	0.34	—	98	
52	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1, 3-环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	136.13	29.87	1.97	—	94	
	1-Methyl-4-(1-methylethyl)-1, 3-cyclohexa-diene							
	廿一烷 Heneicosane							
53	廿一烷 Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	296.34	30.38	0.5	—	81	
54	(E)-9-十八烷酸(硬脂酸)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.26	32.30	1.97	—	93	
	(E)-9-Octadecanoic acid							
	(E)-9-Octadecanoic acid							
55	1-氯-二十七烷 1-Cholro-heptacosane	C ₂₇ H ₅₅ Cl	414.40	33.89	0.29	—	97	

注:1.“—”表示不含有; 2. CE—酶提取法,DSE—水蒸气蒸馏-萃取法

3 结 论

由表 1 可知,两种处理方法共有 17 种相同成分,多为萜类化合物(单萜、倍半萜)和链状芳香族化合物(烷烃、醇、酯及羧酸)等。两种处理方法的没药挥发油成分存在着一定的差异,纤维素酶处理含有较多烷烃类,某些组分相对含量和结构发生变化,鉴定的组分减少了 4 种。质谱分析发现, α -蒎烯的手性原子发生旋光性由右(*R*)

向左(*S*)改变,仍需对其结构改变进一步分析。(1*S*)-6, 6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.0]庚烷中构成双环的原子数目发生改变,这可能是由纤维素酶的酶解作用使化学成分发生了一些异构化的改变或者是水蒸气蒸馏法提取过程温度高,对热不稳定的物质易发生氧化、聚合等反应导致变性和收集不完全。纤维素酶提取所得的没药油收率比未处理所得的没药油收率提高近 3 倍,挥

发油成分百分含量也较多,其主要原因可能是纤维素酶解过程破坏没药细胞壁,有利于有效成分的提取。

与文献[3-8]比较,本实验测得的没药挥发油主要成分除没有醚类物质和苯丙呋喃类物质,其他均与文献大致相同,鉴定成分多为萜类化合物和链状芳香族化合物。萜类化合物具有多种生物活性,是某些中药的有效成分;柠檬烯可作香料;蒎烯是松节油的主要成分;冰片具有类似胡椒和薄荷香气,用于医药、化妆品工业;金合欢烯具有铃兰的清香气味;石竹烯具有镇痉、抗病毒、平喘、抗菌等作用;柠檬烯和 3, 7-二甲基-1, 6 辛二烯-3-醇是食品用天然成分等同的单体香料。挥发油的主要成分即是香料成分又是药用成分,因此可进一步开发没药的利用前景。

本工作在理论上初步阐明了在用纤维素酶提取没药挥发油化学成分方面的明显不同,这些差异可能与纤维素酶的加入和其他实验条件、操作方法有关。因此可以考虑纤维素酶的浓度、底物的浓度、温度、酸碱度、抑制剂和激活剂等对没药挥发油提取的影响,这些问题都有待于进一步的深入研究^[10]。

参考文献:

- [1] 中草药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科技出版社,1995:1 167-1 169.
- [2] 李广勋. 中药药理毒理与临床[M]. 天津:天津科技翻译出版公司, 1992:238.
- [3] 杨卫贤, 袁铸人. 没药挥发油成分 GC-MS 分析[J]. 中药材, 1989, 12(6):34-36.
- [4] 王 勇, 赵艳红, 陈 彦, 等. SFE-CO₂ 等方法提取没药化学成分及其 GC-MS 研究[J]. 中草药, 2004 (6):821-823.
- [5] 李洪玉, 孙静芸. 气质联用法对没药炮制前后挥发油主成分的比较研究[J]. 中成药, 1998, 20(9): 19-20.
- [6] 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.
- [7] 王 维, 朱永新, 秦祥林, 等. 肯尼亚没药挥发油化学成分研究[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(6): 33-36.
- [8] 符继红, 张丽静. 新疆没药挥发油的气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报, 2006, 27(1):53-55.
- [9] 回瑞华, 侯冬岩, 刘晓媛, 等. 卷柏中挥发性组分的酶提取及气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报, 2006, 27(1):17-21.
- [10] 刘春芬, 贺稚非, 蒲海燕, 等. 纤维素酶及应用现状[J]. 粮食与油脂, 2004, (1):15-17.