

关。高温下挥发油挥发性增强，而且泊洛沙姆 407 易发生粘连；强光照下包封率显著降低，这是由于甲基正壬酮在该条件下不稳定。

综上所述，本实验制备了鱼腥草挥发油聚合物胶束，其粒径小，包封率高，可将挥发油被动靶向到治疗部位，而且能明显增加其溶解度，掩盖其不良气味。采用 Box-Behnken 响应面法优化制备工艺，可减少实验时间，降低资源浪费<sup>[14]</sup>，为后续研究鱼腥草挥发油及相关制剂提供依据。

#### 参考文献:

- [1] 杜向群, 陈敏燕, 许颖. 鱼腥草成分、药理的研究进展[J]. 江西中医药, 2012, 43(2): 66-68.
- [2] 胡汝晓, 肖冰梅, 谭周进, 等. 鱼腥草的化学成分及其药理作用[J]. 中国药业, 2008, 17(8): 23-25.
- [3] 陈婧, 方建国, 吴方建, 等. 鱼腥草抗炎药理作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(2): 284-289.
- [4] 覃梦岚. 中药鱼腥草药理作用及临床应用的研究进展[J]. 大众科技, 2015, 17(5): 105-107.
- [5] 薛青松. 鱼腥草挥发油的研究进展[J]. 中国药业, 2014, 23(4): 15-18.
- [6] 郑亚娟, 彭秋实, 马义虔, 等. 鱼腥草化学成分的研究进展[J]. 广东化工, 2017, 44(17): 85-86.
- [7] 阎红, 熊江菡, 于瑞洪, 等. 鱼腥草药理作用研究进展[J]. 农业开发与装备, 2017(6): 41.
- [8] Wu X Y, Ge W H, Shao T F, et al. Enhancing the oral bioavailability of biochanin A by encapsulation in mixed micelles containing Pluronic F127 and Plasdone S630 [J]. *Int J Nanomed*, 2017, 12: 1475-1483.
- [9] Meng X, Liu J S, Yu X R, et al. Pluronic F127 and D- $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol succinate (TPGS) mixed micelles for targeting drug delivery across the blood brain barrier[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2964.
- [10] Wakaskar R R. Polymeric micelles and their properties [J]. *J Nanomed Nanotechnol*, 2017, 8(2): 1000433.
- [11] 张壮丽, 赵宁, 赵志鸿, 等. 鱼腥草挥发油提取工艺优化[J]. 中国医药科学, 2015, 5(1): 82-85.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 208-209.
- [13] 张壮丽, 王亚飞, 荣晓哲, 等. 鱼腥草挥发油羟丙基- $\beta$ 环糊精包合物的制备[J]. 中成药, 2017, 39(5): 926-933.
- [14] 毛君, 尹航, 崔闯, 等. 基于 Minitab 确定最佳参数的实验设计[J]. 煤矿机械, 2008, 29(8): 14-16.

## 亚临界流体萃取沉香挥发油工艺的优化及精制精油测定

沈汝青<sup>1</sup>, 朱力<sup>2</sup>, 冯志豪<sup>2</sup>, 朱宝璋<sup>2</sup>, 谭亮<sup>3\*</sup>, 丁恺<sup>4</sup>, 陆麒<sup>1</sup>, 丁志刚<sup>1</sup>, 丁俊<sup>1</sup>

(1. 海南香岛休闲农业科技发展有限公司, 海南海口 570208; 2. 广州市浩立生物科技有限公司, 广东广州 510220; 3. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 青海西宁 810001; 4. 青海省草原总站草原保护科, 青海西宁 810000)

摘要: 目的 优化亚临界流体 [1, 1, 1, 2-四氟乙烷 (R134a)] 萃取沉香挥发油工艺, 并测定精制精油含量。方法 在单因素试验基础上, 以料液比、提取压力、提取温度、提取时间、乙醇(夹带剂)体积分数为影响因素, 沉香挥发油提取率为评价指标, 正交试验优化萃取工艺。然后, GC-MS 法测定精制精油含量。结果 最佳条件为料液比 1:30, 提取时间 6 h, 提取压力 1.55 MPa, 提取温度 60 °C, 乙醇体积分数 80%, 沉香挥发油提取率 (3.77±0.21)%。在蒸馏温度 70 °C、蒸馏压力 10 Pa 条件下, 挥发性精油含量为 1.45%; 在蒸馏温度 80 °C、蒸馏压力 1 Pa 条件下, 液体精油含量为 0.867%。结论 该方法选择性好, 稳定可靠, 可用于亚临界流体萃取沉香挥发油。精制精油中以挥发性成分为主。

关键词: 沉香; 挥发油; 亚临界流体萃取; 精制精油; 正交试验; GC-MS

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)07-1495-07

收稿日期: 2018-10-29

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ2016004); 青海省重点实验室发展建设专项 (2017-ZJ-Y10)

作者简介: 沈汝青 (1968—), 男, 硕士生, 高级农艺师, 研究方向为沉香、精油的提取、应用和种植。Tel: (0898) 65380708,

E-mail: xiangdao@0898ex.com

\* 通信作者: 谭亮 (1984—), 男, 硕士, 工程师, 研究方向为天然产物化学成分分析。Tel: (0971) 6132750, E-mail: tanliang@

nwipb.cas.cn

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.07.004

## Optimization of sub-critical fluid extraction for volatile oils of *Aquilaria agallocha* and determination of refined essential oils

SHEN Ru-qing<sup>1</sup>, ZHU Li<sup>2</sup>, FENG Zhi-hao<sup>2</sup>, ZHU Bao-zhang<sup>2</sup>, TAN Liang<sup>3\*</sup>, DING Kai<sup>4</sup>,  
LU Qi<sup>1</sup>, DING Zhi-gang<sup>1</sup>, DING Jun<sup>1</sup>

(1. Hainan Xiangdao Leisure Agricultural Science and Technology Development Co., Ltd., Haikou 570208, China; 2. Guangzhou Haoli Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510220, China; 3. Qinghai Provincial Key Laboratory for Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 4. Administrative Office of Grassland Conservation, Qinghai Provincial Grassland General Station, Xining 810000, China)

**KEY WORDS:** *Aquilaria agallocha* (Lour.) Roxb.; volatile oils; sub-critical fluid extraction; refined essential oils; orthogonal test; GC-MS

沉香为瑞香科植物沉香 *Aquilaria agallocha* (Lour.) Roxb. 含有树脂的木材, 全年均可采收<sup>[1]</sup>, 通常在健康状态下并无分泌物产生, 只有在受到自然或人工伤害后才会分泌多种次级代谢产物, 经过复杂的结香过程后与木质部组织共同组成沉香<sup>[2]</sup>, 主产于我国广东、广西、海南、云南、台湾等地, 具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘的功效, 临床上主要用于治疗胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急<sup>[3]</sup>。沉香中挥发油含有量较高, 具有浓郁的香气, 是其主要药效成分<sup>[4]</sup>, 临床应用广泛, 可保护消化系统、中枢神经系统等<sup>[5]</sup>。

沉香是珍贵药材, 随着中医药发展对其需求量也日益增加, 其提取工艺必然成为研究重点。目前, 相关研究大多为沉香叶和种子中化学成分<sup>[6-8]</sup>、沉香挥发性成分药理活性<sup>[9]</sup>、沉香化学成分<sup>[10-13]</sup>; 对于沉香精油的提取方法, 已有水蒸气蒸馏、果胶酶预处理辅助提取、纤维素酶辅助提取、动态-微波辅助、溶剂回流提取、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法<sup>[14-19]</sup>, 也有亚临界流体萃取<sup>[20]</sup>, 但尚无应用 1, 1, 1, 2-四氟乙烷 (R134a) 萃取沉香挥发油的报道。

本研究在单因素试验基础上, 通过正交试验优化亚临界流体 (R134a) 萃取沉香挥发油工艺, 然后利用分子分离技术对其作进一步精制, 得到挥发性、液体精制精油, 并以 GC-MS 法测定其含有量, 为该药材质量控制及相关资源开发利用提供实验依据。

### 1 材料

1.1 试药 沉香收集于海南定安县下坡村, 共 3 批, 经中国科学院西北高原生物研究所高庆波副研

究员鉴定为瑞香科植物沉香 *Aquilaria agallocha* (Lour.) Roxb. 含有树脂的木材。R134a (含有量 99%) 购自西宁城西老史制冷配件批发部。无水乙醇为分析纯 (天津市百世化工有限公司); 水为超纯水。

1.2 仪器 中试亚临界流体萃取装置 (型号 3×10 L+1 L, 广州市浩立生物科技有限公司、华南理工大学联合研制); 一级沉香纯油专用分子分离设备 (型号 MDS-80a-I, 广州市浩立生物科技有限公司); 数显恒温 (玻璃) 水浴电动搅拌机 (型号 76-SH, 上海达平仪器有限公司); 电子天平 (型号 ME403)、精密电子天平 (型号 AG135) (瑞士 Mettler-Toledo 公司); 电热鼓风干燥箱 (型号 101-1, 北京科伟永兴仪器有限公司); 超纯水机 (型号 UPE-II-40 L, 上海优普实业有限公司)。

### 2 方法

2.1 提取工艺优化 沉香含树脂部分阴干、粉碎后过 40 目筛, 置于 50 °C 恒温干燥箱内干燥过夜, 取出, 装入密封袋中密封, 置于干燥器中保存。取 300 g, 80% 乙醇浸润后装入布袋中封口, 置于亚临界流体萃取装置的萃取罐中, 盖好压环及上堵头进行提取。在单因素试验基础上, 以料液比 (A)、提取压力 (B)、提取温度 (C)、提取时间 (D)、夹带剂 (乙醇) 体积分数 (E) 为影响因素, 沉香挥发油提取率为评价指标, 正交试验优化提取工艺, 平行 3 次。

2.2 醇化和精油精制 将沉香挥发油置于醇化罐中进行升温醇化处理, 至 45 °C 时保持温度不变, 继续搅拌醇化 1 d, 置于一级沉香纯油专用分子分离设备中进行不同阶段分子蒸馏。随着蒸馏温度逐

渐增加，蒸馏压力逐渐减小，并在一定条件下接出馏分，以沉香投入量为对照计算各馏分含有量。

### 3 结果

#### 3.1 单因素试验

3.1.1 料液比 称取沉香粉 300 g，固定提取压力 1.55 MPa，提取温度 60 °C，提取时间 6 h，夹带剂 80%乙醇（物料：夹带剂 = 2：3），考察料液比 1：5、1：10、1：20、1：30、1：40、1：50 对沉香挥发油提取率的影响，结果见图 1，可知提取率先提高后趋于平稳，但略有下降，在 1：30 时最高。溶剂量过少时，提取液达到饱和，导致提取不完全；溶剂量过多时，提取液提取需更长的时间，故选择 1：20、1：30、1：40 进行考察。

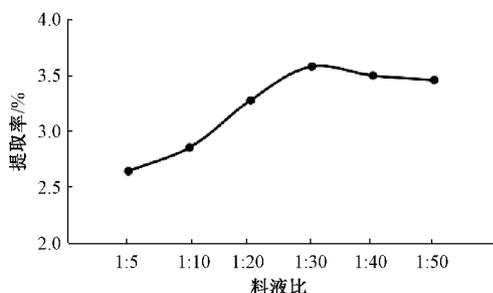


图 1 料液比对提取率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on extraction rate

3.1.2 提取压力 称取沉香粉 300 g，固定料液比 1：30，提取温度 60 °C，提取时间 6 h，夹带剂 80%乙醇（物料：夹带剂 = 2：3），考察提取压力 0.80、1.00、1.20、1.45、1.50、1.55、1.60、1.65、1.80 MPa 对沉香挥发油提取率的影响，结果见图 2，可知提取率先提高后略有降低，在 1.55 MPa 时最高。随着提取压力升高，R134a 密度、溶解能力增加，从而使得提取率上升；但继续升高时，R134a 黏度变大，限制了沉香挥发油扩散速率，导致其提取率反而下降，故选择 1.50、1.55、1.60 MPa 进行考察。

3.1.3 提取温度 称取沉香粉 300 g，固定料液比 1：30，提取压力 1.55 MPa，提取时间 6 h，夹带剂 80%乙醇（物料：夹带剂 = 2：3），考察提取温度 40、45、50、55、60、65、70、75 °C 对沉香挥发油提取率的影响，结果见图 3，可知提取率先提高后降低，在 60 °C 时最高。随着提取温度升高，溶质蒸气压增加，有利于提高其挥发性、传质速率、溶解度，从而使得提取率上升；但继续升高时，R134a 密度、溶解能力降低，导致提取能力反而下降，故选择 55、60、65 °C 进行考察。

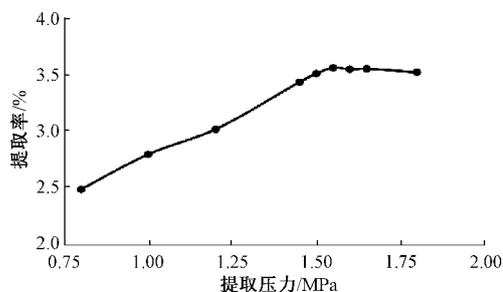


图 2 提取压力对提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction pressure on extraction rate

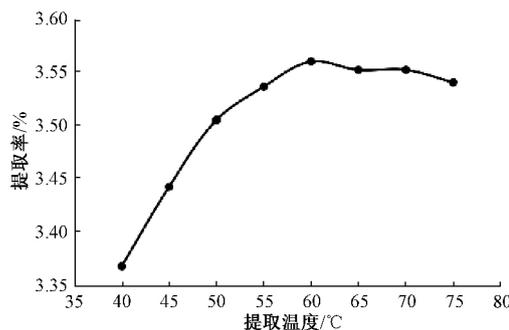


图 3 提取温度对提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on extraction rate

3.1.4 提取时间 称取沉香粉 300 g，固定料液比 1：30，提取压力 1.55 MPa，提取温度 60 °C，夹带剂 80%乙醇（物料：夹带剂 = 2：3），考察了提取时间 1、1.5、2、3、4、6、8、10、12 h 对沉香挥发油提取率的影响，结果见图 4，可知提取率逐渐增加，在 6 h 时最高。随着提取时间延长，沉香挥发油逐渐减少，传质阻力逐渐下降，提取率增长程度不明显，故选择 3、4、6 h 进行考察。

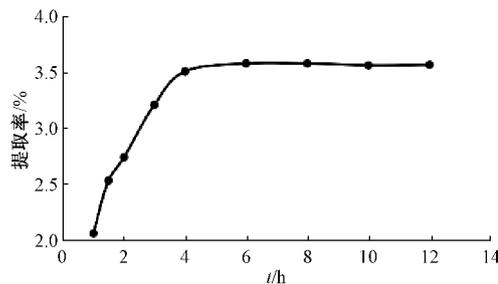


图 4 提取时间对提取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on extraction rate

3.1.5 夹带剂 夹带剂可增加压力和温度对溶质在亚临界流体中溶解度变化的灵敏度，以达到更精密的分离要求，同时可降低亚临界流体操作压力或减少其用量。图 5 显示，不同夹带剂下沉香挥发油提取率依次为甲醇 > 乙醚 > 乙醇 > 乙酸乙酯 > 丙酮，但加入甲醇后提取率仍低于 80% 乙醇，故选择

75%、80%、85%乙醇进行考察。

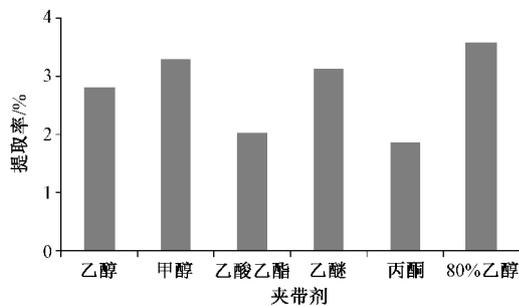


图5 夹带剂种类对提取率的影响

Fig. 5 Effect of entrainer kind on extraction rate

称取沉香粉 300 g, 固定料液比 1 : 30, 提取压力 1.55 MPa, 提取温度 60 °C, 提取时间 6 h, 考察 50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%乙醇 (物料 : 夹带剂 = 2 : 3) 对沉香挥发油提取率的影响, 结果见图 6, 可知提取率逐渐增加, 在 80% 时最高; 但乙醇体积分数继续升高时提取率恒定, 甚至略有降低。

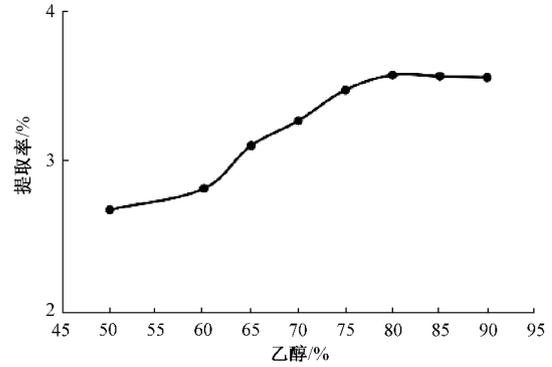


图6 乙醇体积分数对提取率的影响

Fig. 6 Effect of ethanol concentration on extraction rate

3.2 正交试验 表 1 显示, 各因素影响程度依次为  $A > B > E > D > C$ , 从  $k$  值分析, 最优工艺为  $A_2B_2C_2D_3E_2$ , 而正交试验中为  $A_2B_2C_3D_3E_1$ , 通过 SPSS 19.0 软件分析可知因素 C 对试验结果影响最小, 故以其为误差, 方差分析见表 2。由表可知, 因素 A、B、D 对沉香挥发油提取率有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 而因素 E 无显著影响 ( $P > 0.05$ )。

表 1 试验设计及结果

Tab. 1 Design and results of tests

试验号	A 料液比	B 提取压力	C 提取温度	D 提取时间	E 乙醇体积分数	沉香挥发油提取率/%
1	1(1 : 20)	1(1.50 MPa)	1(55 °C)	1(3 h)	1(75%)	1.65
2	1	2(1.55 MPa)	2(60 °C)	1	2(80%)	2.65
3	1	3(1.60 MPa)	3(65 °C)	1	3(85%)	2.23
4	1	3	3	2(4 h)	3	2.56
5	1	1	1	2	1	2.34
6	1	2	2	2	2	3.02
7	1	2	2	3(6 h)	2	2.83
8	1	3	3	3	3	2.65
9	1	1	1	3	1	2.44
10	2(1 : 30)	1	2	1	3	2.78
11	2	2	3	1	1	3.22
12	2	3	1	1	2	2.63
13	2	3	1	2	2	3.07
14	2	1	2	2	3	2.89
15	2	2	3	2	1	2.74
16	2	2	3	3	1	3.52
17	2	3	1	3	2	3.15
18	2	1	2	3	3	2.76
19	3(1 : 40)	1	3	1	2	2.77
20	3	2	1	1	3	2.67
21	3	3	2	1	1	3.05
22	3	3	2	2	1	2.61
23	3	1	3	2	2	2.01
24	3	2	1	2	3	2.59
25	3	2	1	3	3	3.06
26	3	3	2	3	1	3.34
27	3	1	3	3	2	2.91
$K_1$	22.37	22.55	23.60	23.65	21.69	—
$K_2$	26.76	26.30	25.93	23.83	25.04	—
$K_3$	25.01	25.29	24.61	26.66	24.19	—
$k_1$	2.49	2.51	2.62	2.63	2.41	—
$k_2$	2.97	2.92	2.88	2.65	2.78	—
$k_3$	2.78	2.81	2.73	2.96	2.69	—
R	0.49	0.42	0.26	0.33	0.37	—

表2 方差分析

Tab. 2 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P值
校正模型	2.602	8	0.325	3.781	0.009
截距	203.583	1	203.583	2.367×10 <sup>3</sup>	0.000
A	1.085	2	0.543	6.309	0.008
B	0.837	2	0.418	4.864	0.020
D	0.633	2	0.317	3.682	0.046
E	0.303	2	0.152	2.114	0.150
C(误差)	0.047	18	0.023	—	—
总计	207.733	27	—	—	—
矫正后的总变异	4.150	26	—	—	—

3.3 验证试验 对工艺 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>E<sub>2</sub> 进行验证试验,称取沉香粉 300 g,平行 3 批,得到深黄色、略带橙红色的油状液体,流动性差,带有醇厚的香气,并夹杂一丝腥味,置于 2~8 ℃ 冰箱中冷藏时转变为蜡状固体,提取率为 3.77%,优于工艺 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>E<sub>1</sub> 下测得的 3.52%。由此确定,最优工艺为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>E<sub>2</sub>,即料液比 1:30,提取时间 6 h,提取压力 1.55 MPa,提取温度 60 ℃,乙醇体积分

数 80%。

3.4 精制精油含有量测定 将“3.3”项下优化工艺提取的沉香挥发油置于玻璃恒温水浴电动搅拌机醇化罐中,60 r/min 下搅拌,逐渐升温至 45 ℃ 时保持温度不变,继续搅拌醇化 1 d,再置于一级沉香纯油专用分子分离设备中,进行 3 个阶段的分子蒸馏:在蒸馏温度 50 ℃、蒸馏压力 200 Pa 条件下,得到水分;在蒸馏温度 70 ℃、蒸馏压力 10 Pa 条件下,得到挥发性精油,其颜色呈明黄色,又略带有红色,流动性较差,具有沉香特有的浓郁醇厚香气,并兼具凉意,气味丰富饱满,层次分明,其组成和含有量见表 3;在蒸馏温度 80 ℃、蒸馏压力 1 Pa 条件下,得到液体精油,其颜色呈黄色,又略带有红褐色,流动性差,带有沉香特有的香气,但气味比挥发性精油淡,其组成和含有量见表 4。由此可知,挥发性、液体精油含有量分别为 1.45%、0.867%,说明沉香精油中主要以挥发性成分为主。

表3 挥发性精油组成和含有量 (n=3)

Tab. 3 Compositions and contents of volatile essential oils (n=3)

编号	成分	相对含有量/ %	编号	成分	相对含有量/ %	编号	成分	相对含有量/ %
1	2,2-二甲基-丁烷	0.19	21	表-γ-桉叶油醇	0.33	41	异白木香醇	3.48
2	甲基-环己烷	6.28	22	沉香螺萜醇	0.65	42	亚油酸乙酯	1.53
3	2,5-二甲基-己烷	0.85	23	马兜铃烯	0.22	43	油酸乙酯	3.52
4	2,4-二甲基-己烷	0.74	24	愈创醇	1.44	44	硬脂酸乙酯	0.65
5	乙基-环己烷	0.55	25	α-桉叶油醇	1.21	45	二氢叶酸甲酯	0.24
6	1,2,4-三甲基-环戊烷	0.41	26	白檀油烯醇	0.65	46	9,10-环氧硬脂酸甲酯	1.00
7	1-辛烯	0.18	27	α-白檀油醇	2.21	47	2-苯乙基-4H-苯并吡喃-4-酮	7.56
8	2,3-二甲基-己烷	0.07	28	沉香雅桉蓝醇	0.33	48	花生酸乙酯	0.32
9	2-甲基-庚烷	1.28	29	长松香芹酮	2.09	49	正二十四烷	0.12
10	3-甲基-庚烷	0.79	30	异西柏醇	0.64	50	正二十五烷	0.29
11	辛烷	2.77	31	3,3,8,8-四甲基-三环[5.1.0.0 (2,4)]辛基-5-烯-5-丙酸	0.13	51	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]- 2H-1-苯并吡喃-4-酮	9.95
12	壬烷	0.56	32	二氧卡拉酮	1.27	52	正二十六烷	0.57
13	4-苯基-2-丁酮 (苯基丙酮)	0.51	33	β-桉叶醇	0.39	53	双(2-乙基己基) 间苯二甲酸酯	0.99
14	4,6-二-(1,1-二甲基乙 基)-2-甲基-苯酚	0.04	34	β-愈创木烯	7.31	54	二十四碳酸乙酯	0.75
15	斯巴醇(桉油烯醇)	0.17	35	棕榈酸甲酯	0.83	55	6,7-二甲基-2-苯乙基色酮	6.68
16	十六烷	0.06	36	4-(3,3-二甲基丁-1-炔基)- 4-羟基-3,5,5-三甲基- 环己烯-2-酮	0.92	56	二十七烷	0.74
17	马兜铃-(10)-烯-9-醇	0.08	37	愈创木-(10),二烯-12-醇	5.49	57	2-甲基二十六碳酸甲酯	0.83
18	二氢-β-沉香呔喃 (6S,10R)-二甲基二环	0.27	38	β-环木香烯内酯	4.09	58	二十八烷	4.90
19	[4.4.0]十碳-1-烯-3-酮	0.08	39	棕榈酸乙酯	4.72	59	波菜甾酮	0.59
20	异香橙烯环氧化物	0.30	40	1,5-二苯基-1-戊烯-3-酮	0.96	60	豆甾-4-烯-3-酮	0.60

注:相对含有量是指该成分在挥发性精油中所占比例

表4 液体精油组成和含量 (n=3)

Tab. 4 Compositions and contents of liquid essential oils (n=3)

编号	成分	相对含量/%	编号	成分	相对含量/%	编号	成分	相对含量/%
1	2,2-二甲基-丁烷	0.27	16	茴香酮	0.59	31	棕榈酸甲酯 (4 $\alpha$ R,5S)-1-羟基-	0.36
2	甲基-环己烷	6.96	17	二氢- $\beta$ -沉香呋喃	0.35	32	4 $\alpha$ ,5-二甲基-3-(丙烯-2- 亚苄基)-4,4 $\alpha$ ,5,6-四氢萘- 2(3H)-酮	9.53
3	2,5-二甲基-己烷	0.94	18	(6S,10R)-二甲基二环[4. 4.0]十碳-1-烯-3-酮	0.33	33	$\beta$ -环木香烯内酯	4.34
4	2,4-二甲基-己烷	0.78	19	异香橙烯环氧化物	0.24	34	橘霉素	0.99
5	乙基-环己烷	0.55	20	表- $\gamma$ -桉叶油醇	0.25	35	棕榈酸乙酯	2.45
6	1,2,4-三甲基-环戊烷	0.50	21	沉香螺萜醇	0.59	36	异白木香醇	2.49
7	2-甲基-庚烷	1.48	22	$\alpha$ -古巴烯-11-醇	1.26	37	亚油酸乙酯	0.65
8	3-甲基-庚烷	0.95	23	(8S,13)-柏木二醇 6-异丙烯基-4,8 $\alpha$ -二甲基-1-	1.87	38	油酸乙酯	1.48
9	辛烷	3.12	24	1,2,3,5,6,7,8,8 $\alpha$ - 八氢萘-2,3-二醇	0.28	39	硬脂酸乙酯	0.23
10	壬烷	0.65	25	长松香芹酮	1.45	40	9,10-环氧硬脂酸甲酯	0.36
11	4-苄基-2-丁酮 (苄基丙酮)	0.59	26	异西柏醇 3,3,8,8-四甲基-三环	0.74	41	2-苄乙基-4H-苯并吡喃-4-酮	12.25
12	乙酸甘油酯	0.14	27	[5.1.0.0(2A)]辛基- 5-烯-5-丙酸	0.72	42	[2-(4-甲氧基苄基)乙基]- 2H-1-苯并吡喃-4-酮	9.18
13	4,6-二-(1,1-二甲基 乙基)-2-甲基-苯酚	0.11	28	莎草酮	1.02	43	6,7-二甲基-2-苄乙基色酮	5.91
14	斯巴醇(桉油烯醇)	0.19	29	$\beta$ -桉叶醇	0.50	44	二十七烷	0.24
15	十八烷	0.12	30	$\beta$ -愈创木烯	5.81	45	二十八烷	2.04

注: 相对含量是指该成分在挥发性精油中所占比例

#### 4 讨论和结论

目前, 沉香精油的提取方法有水蒸气蒸馏、果胶酶预处理辅助提取、纤维素酶辅助提取、动态-微波辅助、溶剂回流提取、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取等, 其中水蒸气蒸馏提取率低, 萃取挥发油仅为沸点较低的小分子; 酶辅助提取对温度、能耐受 pH 值、酶本身活力要求比较高; 微波萃取时挥发性成分随着萃取时间的延长而逐步散失; 溶剂回流提取后有溶剂残留, 并且回收繁琐费时; 超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺简单, 但萃取装置属于高压设备, 投资费用昂贵; 亚临界流体萃取溶剂残留少, 不会对物料中的热敏性成分造成损害, 克服了传统工艺不足, 在保留超临界流体萃取优点的同时溶剂选择面大、物料广泛, 无污染, 提取效率高, 运行成本低, 条件温和, 易与产物分离, 并且不需要高压设备, 提取量大, 在液态和临界点附近具有良好的溶剂性能, 尤其适合天然原料萃取, 在医药、保健品领域具有良好的应用前景<sup>[21-22]</sup>。本实验采用亚临界流体 [1, 1, 1, 2-四氟乙烷 (R134a)] 萃取沉香挥发油, 发现该方法对挥发油这类极性较小的成分具有良好

的选择性和较高的萃取率。

虽然经本实验优化工艺所得沉香提取物的气味立体逼真, 但仍然存在酸味、杂气过重等问题, 需进一步除酸, 并将提取过程中引入的溶剂蒸出来, 即进行醇化处理。其中, 醇化温度是沉香醇化过程中最好的催化剂, 本实验发现当温度升高至 45 °C 以上时低分子挥发油被逐渐蒸出, 对香料气味至关重要, 并且温度过高会改变沉香气味, 导致其难闻, 直接影响药材品质。时间是影响沉香醇化的另一个重要因素, 醇化时间越长, 药材味道、品相越理想, 但醇化超过 24 h 后提取物颜色明显变深, 由原来黄色、略带橙红色变为红褐色, 品相变差, 故最终确定在 45 °C 下持续搅拌 1 d 进行醇化。

然后, 对挥发性、液体沉香精油进行 GC-MS 分析。表 3 显示, 前者中 6, 7-二甲基-2-苄乙基色酮为色酮类成分, 4-苄基-2-丁酮 (苄基丙酮)、4, 6-二-(1, 1-二甲基乙基)-2-甲基-苯酚、1, 5-二苄基-1-戊烯-3-酮为芳香族类成分, 斯巴醇 (桉油烯醇)、白檀油烯醇、异香橙烯环氧化物、表- $\gamma$ -桉叶油醇、沉香螺萜醇、马兜铃烯、愈创醇、 $\alpha$ -桉叶油

醇、 $\alpha$ -白檀油醇、异白木香醇等为倍半萜类成分, 棕榈酸甲酯、亚油酸乙酯等为脂肪酸酯类成分, 上述成分占总量的 49.41%, 其中愈创木醇、沉香螺萜醇、苜基丙酮等为沉香特征制香成分, 占总量的 14.65%; 表 4 显示, 后者中 6,7-二甲基-2-苯乙基色酮为色酮类成分, 4-苜基-2-丁酮(苜基丙酮)、4,6-二-(1,1-二甲基乙基)-2-甲基-苯酚为芳香族类成分, 斯巴醇(桉油烯醇)、异香橙烯环氧化物、表- $\gamma$ -桉叶油醇、沉香螺萜醇、 $\beta$ -桉叶醇、异白木香醇等为倍半萜类成分, 棕榈酸甲酯、亚油酸乙酯等为脂肪酸酯类成分, 上述成分占总量的 36.69%, 其中愈创木烯、沉香螺萜醇、苜基丙酮等为沉香特征制香成分, 占总量的 6.51%。

#### 参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 185.

[2] 尚丽丽, 陈媛, 晏婷婷, 等. 沉香的化学成分和品质评价研究进展[J]. 木材工业, 2018, 32(3): 29-33.

[3] 马永青, 袁丽华, 刘永利. 沉香化学成分与分析方法研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(2): 181-192.

[4] 杨峻山. 沉香化学成分的研究概况[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1): 99-103.

[5] 刘庆林. 沉香药对的临床应用[J]. 湖南中医杂志, 2005, 21(5): 70-71.

[6] 吴海涛, 韩东岐. 聚酰胺树脂纯化富集沉香叶中主要黄酮苷元的工艺[J]. 海峡药学, 2018, 30(1): 47-51.

[7] 弓宝, 陈德力, 赵祥升, 等. 沉香种子中脂肪油成分的分析与鉴定[J]. 中国中医药科技, 2017, 24(1): 51-52.

[8] 黄惠芳, 王丽萍, 黄秋伟, 等. 广西白木香叶二氯甲烷提取物化学成分分析[J]. 农业研究与应用, 2016, 31(2): 1-4.

[9] 陈晓颖, 黄跃前, 陈玉婵, 等. 沉香挥发性成分与其抗肿瘤活性的灰色关联度分析[J]. 中成药, 2018, 40(1): 224-227.

[10] 陈亚, 江滨, 曾元儿. 高效液相色谱法测定沉香药材中两种活性成分的含量[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1697-1698.

[11] 杨锦玲, 梅文莉, 董文化, 等. 沉香 GC-MS 指纹图谱分析[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1765-1770.

[12] 郑克敏, 张继全, 沈平孺, 等. 高速逆流色谱法分离制备沉香中的沉香四醇和 4'-甲氧基沉香四醇[J]. 中成药, 2011, 33(1): 96-99.

[13] 杨林, 乔立瑞, 谢丹, 等. 国产沉香中的二萜类化学成分[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2088-2091.

[14] 弓宝, 黄立标, 冯锦东, 等. 正交试验法探讨实验室提取沉香挥发油的最佳条件[J]. 香料香精化妆品, 2011(5): 4-6.

[15] 李明月, 沈华杰, 何海珊, 等. 果胶酶预处理辅助提取沉香精油研究[J]. 林业工程学报, 2017, 2(6): 55-59.

[16] 弓宝, 杨云, 黄立标, 等. 纤维素酶辅助提取沉香挥发油的工艺研究[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(15): 1833-1835, 1839.

[17] 陈志雄, 樊亚鸣, 何芝洲, 等. 动态-微波辅助法提取沉香精油的中试工艺研究[J]. 食品科技, 2012, 37(8): 200-203.

[18] 李响, 王卫飞, 周璐, 等. 超临界二氧化碳萃取沉香精油的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2014, 35(20): 280-283, 287.

[19] 沈汝青, 陆麒, 朱宝璋. 全新低能耗沉香提取专用超临界设备及配套工艺研究[J]. 化工设计通讯, 2018, 44(2): 180-181.

[20] 王健松, 李远彬, 王玲娜, 等. 超临界和亚临界提取的沉香精油的气相色谱-质谱联用分析[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1082-1085.

[21] Rasmussen S E, Frederiksen H, Krogholm K S, et al. Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2005, 49(2): 159-174.

[22] 毛跟年, 杜磊, 王荣, 等. 乳香、没药挥发油的亚临界 R134a 萃取及 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 6-9.