

乳香的商品调查与质量检测方法研究

钟名诚, 饶伟文, 肖聪(广西桂林食品药品检验所, 广西 桂林 541002)

摘要: 目的 对市售乳香及其炮制品进行调查鉴定, 并研究其掺伪品中所含松香酸的检测方法。方法 从国内 10 个省市的药材市场中收集样品 50 批, 采用性状、理化、TLC、HPLC-PAD、HPLC-MS 等方法对其中的掺伪成分淀粉、松香酸进行定性定量分析。结果 经检测 50 批市售品, 其中只有 27 批为正品; 23 批掺伪品中有 13 批检出淀粉, 22 批检出松香酸。结论 市售乳香质量问题较严重, 主要是用淀粉、松香掺假, 或在正品中掺入伪品, 本实验所建立的检测方法, 可用于掺伪物松香定性定量检测。

关键词: 乳香; 掺伪品; 伪品; 松香酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱-质谱联用法; 商品鉴定

基金项目: 科技部国家重大新药创制-创新药物研究开发技术平台建设“中药中有害残留物检测技术标准平台”子课题(2009ZX09308-006-4)

作者简介: 钟名诚, 男, 副主任中药师 Tel: (0773)2852843-815 E-mail: zhong_mingcheng@yahoo.com.cn

Study on Determination Methods and Investigate on the Commercial Samples for Olibanum

ZHONG Mingcheng, RAO Weiwen, XIAO Cong(Guangxi Guilin Institute of Food and Drug Control, Guilin 541002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify falsify or counterfeit of Olibanum and different processed products, to compare them with the *Official Frankincense*, and to study determination methods for abietic acid. **METHODS** Fifty batches of Olibanum commercial samples were collected from medicine market of 10 provinces(cities). The starch was identified by morphology and chemical reaction; the abietic acid was identified by TLC, HPLC-PAD and HPLC-MS; the abietic acid content of falsify or counterfeit was determined by HPLC. **RESULTS** From tested fifty batches of Olibanum commercial samples, twenty-seven groups were *Official Frankincense*, and twenty-three were counterfeit. There were thirteen groups detected starch, and twenty-two groups detected abietic acid. **CONCLUSION** The problem of counterfeit and falsify in Olibanum commercial samples is serious. The counterfeit is made by starch and colophony. The falsify is a mixture of counterfeit and Olibanum. The method can meet the requirements of identification and determination.

KEY WORDS: Olibanum; falsify; counterfeit; abietic acid; TLC; HPLC-MS; commercial drug identification

乳香为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw 及同属植物 *Boswellia bhaw-dajiana* Birdw 树皮渗出的树脂。分为索马里乳香和埃塞俄比亚乳香, 每种乳香又分为乳香珠和原乳香。炮制规格有生乳香、炒制乳香及醋制乳香, 具有活血定痛、消肿生肌等作用, 收载于中国药典 2010 年版^[1]。由于目前中药材、中药饮片的生产、经营秩序还较混乱, 掺杂使假现象十分普遍, 并且本品为进口药材, 来源有限, 价格较贵, 市场上常有伪劣品出现^[2]。经市场调查和商品鉴定, 发现乳香及其炮制品中用松脂或松香、淀粉等掺伪现象较常见。本实验报道乳香及其伪品的 TLC、HPLC-PAD、HPLC-MS 等鉴定方法以及检测结果。

1 仪器、试剂与试药

1.1 仪器

Waters2695 型液相色谱-Quattro Micro 质谱联用仪, Waters 2998 PAD 检测器, Masslynx V4.0 工作站; CAMAG Linomat 5 薄层色谱半自动点样仪, CAMAG TLC Visualizer 薄层色谱照相机; BRANSON BUG40-06 超声波清洗器(必能信超声上海有限公司)。

1.2 试剂与试药

松香酸对照品[Sigma-Aldrich, 批号: 0001384625, 纯度: 75%(GC)]; 乳香对照药材(埃塞俄比亚乳香)(中国药品生物制品检定所, 批号: 120970-200904); 乳香样品购自广西、广东、湖南、江西、安徽、四川、重庆等省、市、自治区的市售品; 醋制松脂(自制); 松香(购自广西梧州松脂股份有限公司)。硅胶

GF₂₅₄ 预制薄层板(青岛海洋化工厂), 水为娃哈哈纯净水, 乙腈、四氢呋喃、甲酸为色谱纯, 其余乙醇、石油醚等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 性状鉴别

2.1.1 生乳香 本品多为滴乳状或类圆形颗粒粘合成大小不等的不规则块状物, 表面黄白色, 有时微带绿色、棕黄色、棕红色, 半透明, 被有黄白色粉末, 可见粘附或夹杂其间的树皮。质脆, 遇热软化。破碎面有玻璃样或蜡样光泽。具特异香气, 味微苦。嚼之初破碎成小块, 继之软化成胶块, 粘牙, 唾液成乳白色。

其伪制品为小颗粒泛制而成, 呈类球形、椭圆形、圆锥形或不规则团块状, 大小与乳香相近, 表面淡黄色或黄棕色, 粗糙, 较清洁, 不透明, 可见稍突起的小颗粒, 无树皮残留。质坚实而脆, 破碎面粗糙并散有颗粒。有的具明显的松香气。嚼之唾液无乳白色。

2.1.2 制乳香 形如生乳香, 表面颜色深浅不一, 黄色、黄棕色至棕褐色, 多显油亮, 可见夹杂其间的树皮。质坚脆。有特异香气。

其制伪制品由颗粒紧密粘合成大小不等的不规则块状物组成, 表面黄棕色、棕褐色或黑棕色, 稍有光泽, 可见明显突起颗粒, 颗粒较小且均匀, 无树皮等残留物。体重, 质坚实, 具焦烟气。

2.2 理化鉴别

取供试品粉末 2 g, 加水 20 mL, 加热煮沸并保持微沸数分钟, 放冷, 滤过, 取滤液 5 mL, 加

碘试液数滴。正品水溶液呈白色、黄白色或黄棕色乳状液，加碘试液后溶液颜色不变；伪品水溶液多澄清，伪品或掺伪品加碘试液后溶液颜色变蓝色。

2.3 薄层色谱鉴别

取本品粉末 1 g，加乙醇 25 mL，超声处理 20 min，滤过，滤液作为供试品溶液。另取松香酸对照品适量，加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2010 年版一部附录 VIB)试验，吸取上述供试品溶液 2~5 μ L 和对照品溶液 5 μ L，分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上，以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-冰乙酸(9:1:0.1)为展开剂，展开，取出，

晾干，置紫外光灯(254 nm)下检视。再喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰，分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。结果正品乳香色谱中，在与乳香对照药材色谱相应的位置上，分别显相应的荧光淬灭主斑点、红色主斑点、橙色或蓝色荧光主斑点；掺伪品色谱中，在与松香酸对照试剂及乳香对照药材色谱相应的位置上，均分别显相应斑点；伪品色谱中，在与醋松脂、松香及松香酸对照试剂相应的位置上，均显相同颜色的主斑点，在与乳香对照药材色谱相应的位置上，未显相应的荧光淬灭主斑点、红色主斑点、橙色或蓝色荧光主斑点。见图 1。

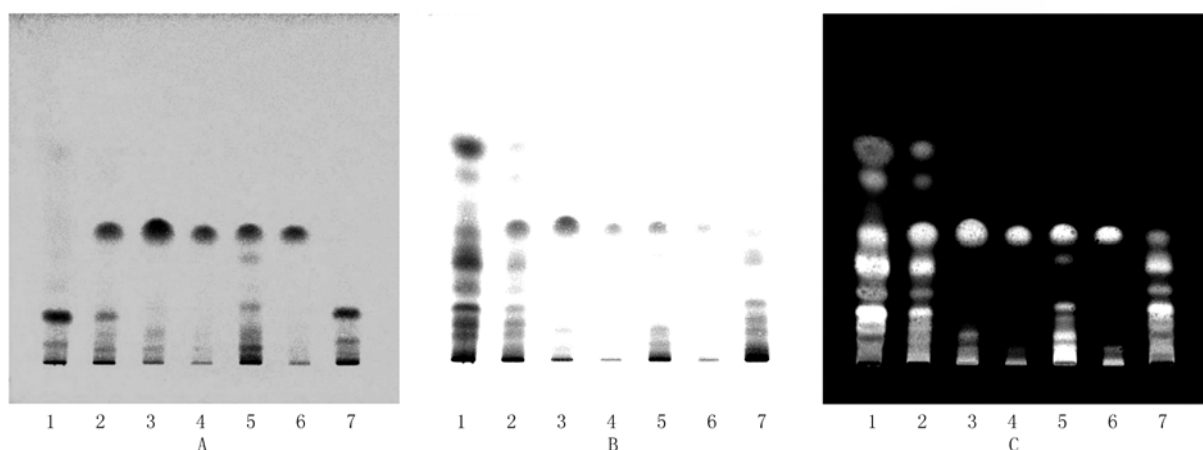


图 1 乳香薄层色谱图

A-紫外光灯(254 nm)下检视；B-10%硫酸乙醇溶液显色，可见光下检视；C-紫外光灯(365 nm)下检视；1-正品乳香；2-掺伪乳香；3-伪品乳香；4-醋松脂；5-松香；6-松香酸；7-乳香对照药材

Fig 1 TLC Chromatograms of Olibanum

A-UV 254 nm; B-with 10% sulphuric acid ethanol as developer, white light; C-UV 365 nm; 1-Official frankincense; 2-falsify; 3-counterfeit; 4-fried turpentine with vinegar; 5-colophony; 6-abietic acid; 7-Olibanum

2.4 HPLC-PAD 检测

2.4.1 色谱条件 色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)；流动相：乙腈-四氢呋喃-0.1%甲酸(35:25:40)；二极管阵列扫描波长范围：210~260 nm；检测波长：241 nm；流速：1.0 mL $\cdot$ min⁻¹；柱温：25 $^{\circ}$ C；理论板数按松香酸对照试剂色谱中的主峰计算，应不低于 2 000。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取松香酸对照品适量，用乙醇制成每 1 mL 中含 50 μ g 的溶液，摇匀，微孔滤膜(0.22 μ m)滤过，即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取自“2.3”项下 TLC 检出松香酸的样品溶液 1 mL，用乙醇稀释至 20 mL，微孔滤膜(0.22 μ m)滤过，即得。

2.4.4 供试品的 HPLC-PAD 检测 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L，注入液相色谱

仪，进行 HPLC-PAD 分析。结果伪品、掺伪品均出现与醋松脂、松香酸对照品色谱保留时间相同的色谱峰，并且其 UV 光谱谱形、最大吸收波长均相同；正品乳香、乳香对照药材及掺伪品的 HPLC 图中有 2 个特征色谱峰，结果见图 2。

2.5 HPLC-MS 检测

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Waters XTerra[®] MS C₁₈(2.1 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m)；流速为 0.3 mL $\cdot$ min⁻¹；其它条件与“2.4.1”项下相同。

2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)正离子检测，毛细管电压为 3.0 kV，锥孔电压为 35 V，脱溶剂气流速 350 L $\cdot$ h⁻¹，锥孔气流速 50 L $\cdot$ h⁻¹，源温度为 110 $^{\circ}$ C，去溶剂气温度为 350 $^{\circ}$ C。扫描方式采用全扫描一级质谱、全扫描二级质谱(MS/MS)。m/z 扫描范围为 50~300。

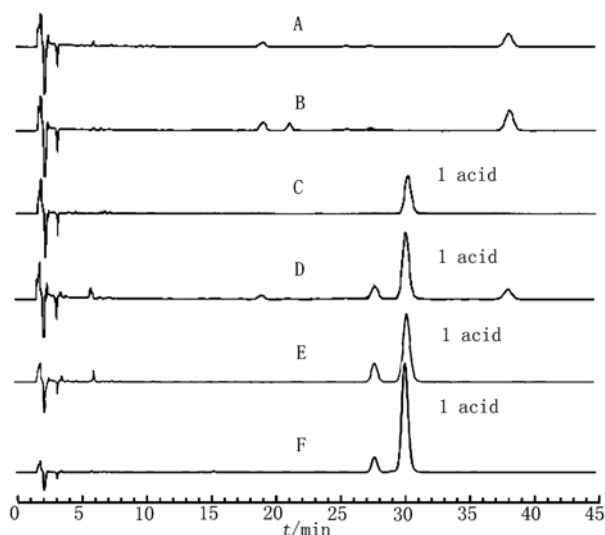


图2 HPLC 色谱图

A-正品乳香; B-乳香对照药材; C-松香酸对照试剂; D-掺伪品; E-伪品; F-醋松脂; 1-松香酸

Fig 2 HPLC chromatograms

A-official Frankincense; B-Olibanum; C-abietic acid; D-falsify; E-counterfeit; F-fied turpentine with vinegar; 1-abietic acid

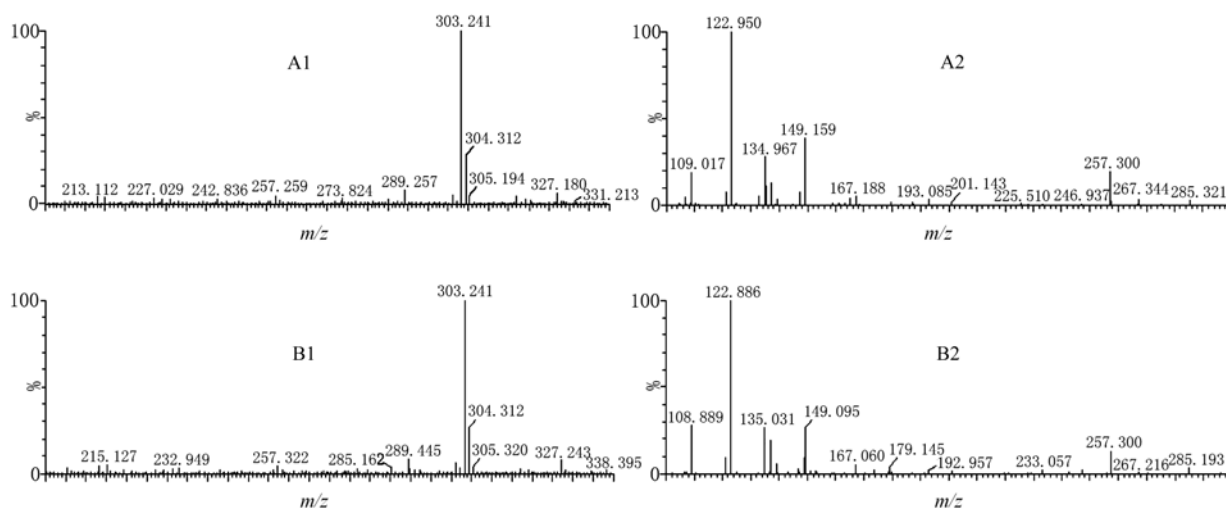


图3 松香酸对照品和掺伪品全扫描质谱图

A1-松香酸对照品一级质谱图; A2-松香酸对照品二级质谱图; B1-掺伪品一级质谱图; B2-掺伪品二级质谱图

Fig 3 Full scan mass spectrograms of abietic acid and falsify

A1-the MS spectrogram of abietic acid; A2-the MS/MS spectrogram of abietic acid; B1-the MS spectrogram of falsify; B2-the MS/MS spectrogram of falsify

2.6.3 线性范围考察 精密称取松香酸对照品 10.94 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 5 mL, 置 20 mL 量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60 μ L, 进样, 测定。以对照品进样质量(μ g)为横坐标(X), 峰面积积分值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。结果表明, 松香酸在 0.054 7~3.282 0 μ g 内线性关系良好, 回归方程为 $Y=2\ 320\ 265X-64\ 582$, $r=0.999\ 9$ 。

2.5.3 供试品的 HPLC-MS 检测 分别精密吸取“2.4”项下的对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱-质谱仪, 进行 MS, MS/MS 分析。分析显示, 伪品及掺伪品与松香酸出现相同的准分子离子峰和碎片离子峰, 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 均为 303, 碎片离子峰 m/z 均为 123, 结果见图 3。

2.6 松香酸的 HPLC 含量测定

2.6.1 供试品溶液的制备 取样品粉末约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)20 min, 放冷, 再称定质量, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀, 静置, 吸取上清液, 经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.6.2 测定法 分别精密吸取“2.4.2”项下对照品溶液 10 μ L 和供试品溶液 5~10 μ L, 注入液相色谱仪, 按“2.4.1”项下色谱条件测定, 即得。

2.6.4 仪器精密度试验 取同一掺伪供试品溶液(6 号样品), 在同一色谱条件下, 重复进样 6 次, 每次 10 μ L, 以松香酸峰面积计算, $RSD=0.53\%$ 。

2.6.5 重复性试验 对同一乳香掺伪品(6 号样品)平行取样品 6 份, 各 0.1 g, 精密称定, 按“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 分别进行测定, 计算松香酸的质量, 结果显示其平均含量为 60.374 6 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 0.28%, 表明重复性良好。

2.6.6 稳定性试验 取供试品溶液(6 号样品), 分

别在 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 h, 各进样 10 μL , 记录松香酸峰面积, 计算其 RSD 为 0.83%。结果表明, 供试品溶液中的松香酸在 84 h 内稳定。

2.6.7 回收率试验 取已知松香酸质量分数的乳香掺伪样品(6 号样品, 其含量为 $60.3746\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)约 0.05 g, 共 9 份, 精密称定, 精密加入不同浓度的对照品溶液 50 mL, 按“2.5.2”项下方法进行样品制备并测定, 计算回收率, 结果见表 1。

2.7 样品测定

对不同来源乳香样品, 按性状、理化、TLC 分别对比鉴别, 并按“2.6”项下方法测定松香酸的含量, 结果见表 2。

表 2 50 批乳香样品调查检测结果

Tab 2 Investigation and determination of fifty batches of Olibanum commercial samples

样品序号	来源	规格	理化鉴别(淀粉)	TLC(松香酸)	松香酸含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	结论
1	广西玉林	药材	/	/	/	正品
2	广西梧州	药材	+	+	17.369 9	掺伪品
3	广西桂林	药材	+	+	8.392 6	掺伪品
4	广西玉林	制乳香	/	/	/	正品
5	广西桂林	制乳香	/	/	/	正品
6	广西桂林	制乳香	+	+	41.255 8	掺伪品
7	广西玉林	制乳香	+	+	109.776 4	伪品
8	广西柳州	制乳香	/	/	/	正品
9	安徽亳州	药材	+	+	3.448 6	掺伪品
10	安徽亳州	药材	/	/	/	正品
11	安徽亳州	制乳香	+	+	41.901 1	掺伪品
12	湖南廉桥	制乳香	/	+	44.735 2	伪品
13	湖南廉桥	制乳香	/	+	31.632 0	伪品
14	湖南廉桥	药材	/	/	/	正品
15	广西桂林	制乳香	+	+	46.310 8	掺伪品
16	江西樟树	制乳香	+	+	54.716 2	伪品
17	江西樟树	制乳香	+	+	48.569 4	伪品
18	广东普宁	药材	/	/	/	正品
19	广东普宁	药材	/	/	/	正品
20	广东普宁	制乳香	/	/	/	伪品
21	广西柳州	制乳香	/	/	/	正品
22	陕西西安	药材	/	/	/	正品
23	四川成都	制乳香	+	+	86.278 6	伪品
24	广西兴安	制乳香	+	+	23.381 2	掺伪品
25	重庆	药材	+	+	67.619 5	伪品
26	重庆	药材	+	+	71.584 5	掺伪品
27	重庆	药材	+	+	79.789 6	伪品
28	重庆	制乳香	+	+	11.956 8	伪品
29	重庆	药材	+	+	79.103 7	伪品
30	重庆	制乳香	/	+	30.618 4	掺伪品
31	重庆	制乳香	+	+	108.995 6	伪品

表 1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test for abietic acid

原有量	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
3.067 0	2.415 0	5.486 2	100.2	100.7	0.69
3.030 8	2.415 0	5.497 8	102.2		
3.067 0	2.415 0	5.489 3	100.3		
3.036 8	3.160 0	6.209 7	100.4		
3.061 0	3.160 0	6.217 5	99.9		
3.030 8	3.160 0	6.227 0	101.2		
3.024 8	3.950 0	6.995 9	100.5		
3.067 0	3.950 0	7.058 3	101.0		
3.048 9	3.950 0	7.005 6	100.2		

续表

样品序号	来源	规格	理化鉴别(淀粉)	TLC(松香酸)	松香酸含量/mg·g ⁻¹	结论
32	重庆	制乳香	/	/	/	正品
33	云南昆明	药材	+	+	132.633 4	伪品
34	北京	药材	/	/	/	正品
35	北京顺义	药材	/	/	/	正品
36	北京延庆	制乳香	/	/	/	正品
37	北京	药材	/	/	/	正品
38	北京	药材	/	/	/	正品
39	四川	药材	/	/	/	正品
40	广西梧州	制乳香	/	/	/	正品
41	广西岑溪	药材	/	/	/	正品
42	广西玉林	药材	/	/	/	正品
43	四川	药材	/	/	/	正品
44	四川	制乳香	/	/	/	正品
45	四川	制乳香	/	/	/	正品
46	广西玉林	药材	/	/	/	正品
47	北京	制乳香	+	+	9.276 6	掺伪品
48	重庆	药材	/	/	/	正品
49	重庆	药材	/	/	/	正品
50	重庆	制乳香	/	/	/	正品

注：理化鉴别(淀粉)为+，表示检出淀粉；TLC(松香酸)为+，表示检出松香酸；20号样经鉴定为没药

Note: The starch was identified by chemical reaction if the sign was regarded as +; the abietic acid was identified by TLC if the sign was regarded as +; the twentieth batch of Olibanum commercial samples was Myrrh.

3 讨论

乳香与松香均为植物树脂类，但乳香含乳香酸类成分，而松香为松脂蒸馏后的固体剩余物。主要成分松香酸(C₁₉H₂₉COOH)，用于松香皂和甘油松香酯等^[3]，对人体有较大的危害。松香质脆，淀粉加水煎煮后有黏性，两者结合可泛成不同形状的伪制品。因其表面、颜色与生乳香的性状特征有较明显的差别，经对比可区别。但当其经高温炒制成“制乳香”时，由于成品外表颜色加深而不易鉴别。通过 TLC、HPLC 等方法可以准确鉴别。含松香酸的乳香样品，不同样品其松香酸含量变动较大(3.448 6~132.633 4 mg·g⁻¹)，所以 TLC 供试品点样量为 2~5 μL，HPLC 进样量为 5~10 μL。

HPLC-MS 由于具有高度的专属性，目前成为检查非法掺伪类现象的主要手段。松香酸为有机酸，流动相中含甲酸，松香酸酸性弱于甲酸，易与 H⁺形成加合物，产生正离子，因此采用正离子检测方式对松香酸对照试剂溶液进行 MS，MS/MS 分析，准分子离子峰[M+H]⁺ m/z 303，碎片

离子峰 m/z 123。

从表 2 乳香商品调查及检验结果可见，50 批样品中仅有 27 批为正品；23 批掺伪品中有 13 批检出淀粉，22 批检出松香酸，说明市售乳香商品中用淀粉、松香掺伪的现象已经较普遍，应加大监管打击力度。而对于掺假的乳香，仅按目前中国药典现有的检验项目，还不能完全控制其质量。性状鉴别掺假乳香，要求操作者有较丰富的经验，理化鉴别专属性不强。松香酸 TLC 特征斑点明显，并可经 HPLC-PDA 及 HPLC-MS 验证，建议增加松香酸的检查项目。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010) Vol I(中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 173, 207.
- [2] XIA X Z, ZHANG C Q. Identification of fake Olibanum and Myrrh [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2007(1): 28-29.
- [3] WANG Z. Dictionary of Chemical Technology(化工辞典) [M]. 4th ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 881-882.

收稿日期: 2011-09-06