

当归、薄荷挥发油提取及包合工艺研究

张玲玲 倪健 杜雪莹 张欣 张娟 王海涛 杨春静 付京 张森 郝晓凤 谢立科 曲昌海

【摘要】 目的 优选当归、薄荷挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺。方法 采用水蒸气蒸馏法进行提取,以加水倍量、蒸馏时间为考察因素,以挥发油体积为评价指标。包合工艺以温度、搅拌时间、挥发油与 β -环糊精和水的配比(mL : g : mL)为考察因素,以挥发油包合率和包合物产量为评价指标,采用饱和水溶液法,以正交试验优选包合工艺。采用 X 射线衍射法和显微镜法对包合物进行验证。结果 优选的提取工艺为当归、薄荷加 8 倍量水,提取 6 小时;包合工艺为温度 30℃,搅拌 3 小时,挥发油 : β -CD : 水 = 1 : 6 : 60 (mL : g : mL)。验证结果显示包合物形成。结论 所选工艺合理、可行,可用于当归、薄荷中挥发油的提取及挥发油与 β -环糊精的包合。

【关键词】 当归; 薄荷; 挥发油; 提取工艺; 包合工艺; β -环糊精

【中图分类号】 R284.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.07.007

Study on the extraction and inclusion process of volatile oil from angelicae sinensis radix and mentha canadensis ZHANG Lingling, NI Jian, DU Xueying, et al. Institute of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Corresponding author: QU Changhai, E-mail: quchanghai@bucm.edu.cn

【Abstract】 Objective To optimize the extraction process of essential oil from *Angelica sinensis* and *Mentha Canadensis* and the inclusion process of beta cyclodextrin. **Methods** Steam distillation was used to extract, the amount of water and distillation time were taken as the research factors, and the volume of volatile oil was used as the evaluation index. Temperature, mixing time, the ratio of volatile oil, beta cyclodextrin and water (mL : g : mL) were taken as the research factors of inclusion process. The inclusion rate and inclusion yield of volatile oil were used as evaluation indexes, and saturated water solution method was used, the inclusion process was optimized by orthogonal test. The inclusion complexes were verified by X ray diffraction and microscopy. **Results** The optimized extraction conditions were 8 times amount of water, extracting for 6 hours. The optimized inclusion conditions were the temperature is 30℃, stirring for 3 hours, the volatile oil : beta -CD : water = 1 : 6 : 60 (mL : g : mL). Validation results showed inclusion complexes formed. **Conclusion** The process is reasonable and feasible, and can be used for the extraction of volatile oil from *Angelica sinensis* and *Mentha Canadensis*, and be used for the inclusion of volatile oil and beta cyclodextrin.

【Key words】 *Angelicae sinensis radix*; *Mentha canadensis*; Volatile oil; Extraction technology; Inclusion technology; β -cyclodextrin

基金项目:北京市科学技术委员会“十病十药”专项基金(Z141100002214001)

作者单位:100102 北京中医药大学中药学院[张玲玲(硕士研究生)、倪健、杜雪莹(硕士研究生)、张欣(硕士研究生)、张娟(硕士研究生)、王海涛(硕士研究生)、杨春静(博士研究生)、付京(博士研究生)、张森(博士研究生)、曲昌海];中国医学科学院眼科医院内障眼病2科(郝晓凤、谢立科)

作者简介:张玲玲(1990-),女,2014级在读硕士研究生。研究方向:中药新剂型与新技术。E-mail:zjiuling@163.com

通信作者:曲昌海(1980-),博士,助理研究员。研究方向:药物制剂新技术及递药系统研究。E-mail:quchanghai@bucm.edu.cn

当归为伞形科植物当归 *Angelicae Sinensis* (Oliv.) Diels 干燥根,具有补血和血、调经止血、润肠滑肠之功^[1-2]。薄荷为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分,味辛凉,是一味常用解表药,具有宣散风热、清头目、透疹之功效^[3]。

据报道^[4-5]当归对多种实验性肝损伤具有保护作用,当归的水溶性成分含有阿魏酸、当归多糖等,挥发油中主要含藁本内酯、丁烯基苯酚等 40 多种成分。薄荷挥发油具有清凉、镇痛抗炎、杀菌止痒等较强的药理作用,且广泛应用于中药方药中^[6]。为了更有效地提取二者的挥发油类成分,本文对其提取工艺进行了优化,并且对混合油进行了 β-环糊精包合工艺的考察^[7]。

1 材料与方法

1.1 试验仪器

ZDHW 型电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);MP5002 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);METTLER XS105 型电子分析天平(梅特勒—托利多仪器有限公司);DZ-2BC 型真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);ZNCL-S-10D 型多电磁力加热板(河南爱博特科技发展有限公司)。

1.2 药材与试剂

当归(产地:甘肃,批号:501002827);薄荷(产地:江苏,批号:401002358),均购自北京同仁堂(亳州)饮片有限责任公司,由本院中药鉴定系刘春生教授鉴定,符合 2015 年版《中华人民共和国药典》(一部)项下的有关要求;水(高纯水);β-环糊精(批号:130518),购自山东新大精细化工有限公司;无水乙醇(批号:20150812,分析纯),购自北京化工厂。

1.3 当归、薄荷挥发油提取工艺研究

1.3.1 试验方法 考察溶剂倍量及提取时间,根据预试验及文献报道^[7-9],选取加水倍量(8 倍、10 倍、12 倍)、蒸馏时间作为考察因素,以挥发油体积为评价指标^[10-11]。称取当归 300 g、薄荷 125 g,三份,分别加入 8、10、12 倍量水,提取挥发油至油量不再增加,记录不同溶剂倍量各时间点挥发油量。

1.3.2 工艺验证试验方法 称取当归 300 g、薄荷 125 g,共三份,按上述优选的工艺分别进行提取,并计算挥发油得率,挥发油得率(%) = 挥发油量(mL)/药材总质量(g) × 100%。

1.4 挥发油的 β-环糊精包合工艺研究

1.4.1 试验方法 采用 β-环糊精饱和和水溶液法制备挥发油包合物。按照 L9(3⁴) 正交试验表安排试验,根据预实验,结合实际生产的需要,以出油量为指标考察温度、搅拌时间、挥发油与 β-环糊精和水的比例,具体见表 1。

表 1 正交因素表

水平	温度 (°C)	搅拌时间 (小时)	挥发油(mL) : β-CD(g) : 水(mL)
	A	B	C
1	30	1	1 : 6 : 60
2	40	2	1 : 8 : 80
3	50	3	1 : 10 : 100

1.4.2 包合物的制备 饱和水溶液法制备薄荷、当归挥发油 β-CD 包合物,首先将 β-CD 加入规定比例的蒸馏水中,搅拌均匀制成 β-CD 饱和溶液,置磁力搅拌器上,控制条件温度,缓慢滴加用乙醇稀释的挥发油提取物(乙醇与挥发油体积比为 1 : 1),搅拌规定的时间,抽滤,滤饼依次用水、无水乙醇洗至无挥发油味,40℃ 干燥,即得白色疏松状包合物粉末^[12-13]。

1.4.3 包合物中挥发油的提取 精密称定上一步中制得的 β-环糊精包合物,置于挥发油提取器中,然后加蒸馏水 200 mL,按照 2015 年版《中华人民共和国药典》(四部)项下挥发油测定法(甲法)进行操作。读取挥发油量,按下述公式进行计算:包合物收率 = 包合物质量(g) / [挥发油重量(g) + β-CD 重量(g)] × 100%;实际包合率 = 包合物中挥发油含量(mL) / [投油量(mL) × 空白回收率] × 100%。

1.4.4 挥发油空白回收率的测定 取 1 mL 挥发油置于圆底烧瓶中,加蒸馏水 100 mL,连接挥发油提取器,按照 2015 年版《中华人民共和国药典》(四部)项下挥发油测定法(甲法)进行操作。加热煮沸至油量不再增加时停止加热,静置 1 小时,读取挥发油量。空白回收率 = 实际测得挥发油量(mL) / 蒸馏前投油量(mL) × 100%;以挥发油包合率为考察指标,优选挥发油最佳包合工艺。

1.5 包合物的验证

1.5.1 包合物的显微成像分析 取适量 β-CD、挥发油包合物及挥发油与 β-环糊精物理混合物,过 100 目筛,分别放于三张载玻片上,以少量蒸馏水分散溶解,盖上盖玻片,于 400 倍显微镜下观察。

1.5.2 X 射线衍射法 取 β-CD 与混合油的包合物、空白 β-CD、混合挥发油与 β-CD 的物理混合物分

别进行 X 射线衍射,以扫描角度为横坐标,衍射强度为纵坐标,采用 Origin 软件绘制 X 射线粉末衍射图^[14-15]。

2 结果

2.1 挥发油提取试验结果

结果当加水量为 8 倍量时,出油量最高;提取 6 小时后,随着时间的延长,出油量不再增加;因此选择加水 8 倍量,提取 6 小时。详见表 2。

2.2 挥发油提取验证结果

结果显示,3 批饮片挥发油的平均提取率为 0.58%,RSD=1.408%,表明此工艺合理、可行。详见表 3。

表 3 验证试验结果(n=3)

组别	出油量(mL)	挥发油得率(%)
1	0.75	0.59
2	0.73	0.57
3	0.74	0.58

2.3 正交实验及方差分析结果

正交实验结果见表 4,采用 SPSS 17.0 软件进行分析。从直观分析以及方差分析表,可以看出:(1)

以包合物收率为考察指标时,方差结果显示温度、搅拌时间、挥发油:β-CD:水比例均没有显著影响,由直观分析得到的最佳工艺为 A2B2C2;(2)以实际包合率为评价指标时,方差分析结果显示 B 因素(搅拌时间)具有显著性差异,直观分析显示:最佳工艺为 A1B2(3)C1;(3)根据综合分析结果,可以看出同样是只有 B 因素(搅拌时间)具有显著差异,直观分析得到的最佳工艺为: A1B3C1,即温度 30℃,搅拌时间 3 小时,挥发油(mL):β-CD(g):水(mL)=1:6:60。

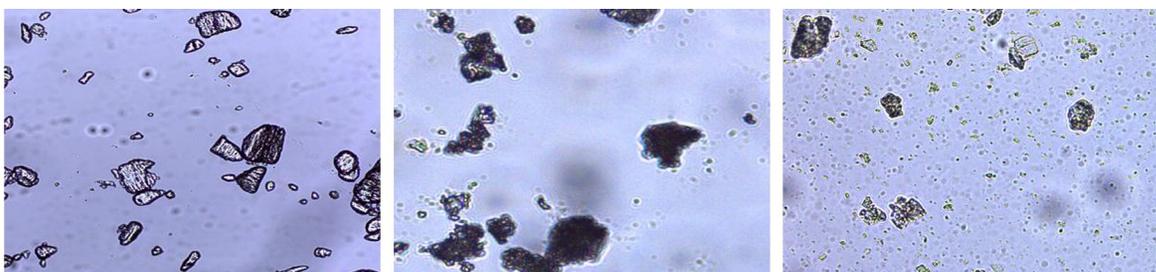
2.4 包合物验证试验结果

2.4.1 包合物显微成像 结果 β-环糊精在显微镜下成板块状结晶,成像清晰;包合物为不透明的团状物,晶粒粒度小,未见明显油状物;挥发油与 β-环糊精物理混合物更类似于 β-环糊精,且有细小油滴存在。详见图 1。

2.4.2 包合物 X 射线衍射结果 由混合油包合物 X 射线衍射测定结果可知,混合挥发油与 β-CD 的物理混合物、β-CD、β-CD 混合油包合物的主要特征峰有明显的区别,物理混合物的衍射峰呈现混合油与 β-CD 叠加的特征,而包合物的衍射峰并非是混合油与 β-CD 的简单叠加,包合物在 $2\theta=5^\circ\sim 6^\circ$ 、

表 2 不同溶剂倍量各时间点挥发油提取量(mL)

加水量(倍)	挥发油提取量										
	0.25 小时	0.5 小时	0.75 小时	1 小时	2 小时	3 小时	4 小时	5 小时	6 小时	7 小时	8 小时
8	0.15	0.20	0.21	0.30	0.32	0.40	0.45	0.52	0.70	0.70	0.70
10	0.10	0.12	0.15	0.17	0.20	0.25	0.30	0.40	0.55	0.55	0.55
12	0.05	0.15	0.20	0.23	0.27	0.31	0.35	0.50	0.50	0.56	0.60



注:挥发油与 β-环糊精物理混合物显微图挥发油包合物显微图

图 1 包合物显微成像结果(×400)

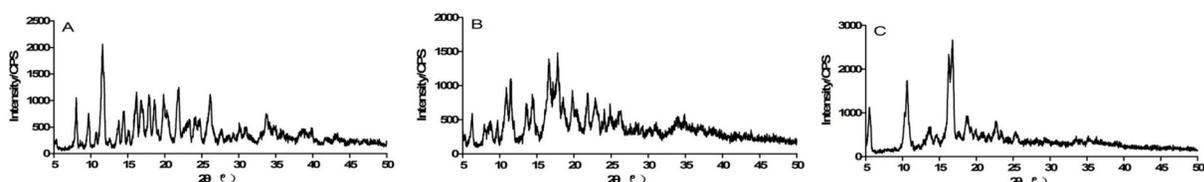


图 2 包合物 X 射线衍射图

表 4 正交试验结果表

序列号	A	B	C	D	包合物收率(%)	实际包合率(%)	综合评分(%)
1	1	1	1	1	70.48	65.22	66.80
2	1	2	2	2	79.59	78.26	80.94
3	1	3	3	3	69.93	78.26	82.43
4	2	1	2	3	74.73	43.48	52.86
5	2	2	3	1	85.76	70.65	75.18
6	2	3	1	2	76.45	78.26	80.00
7	3	1	3	2	76.03	54.35	60.85
8	3	2	1	3	73.05	78.26	78.98
9	3	3	2	1	85.73	70.65	75.18
包合物收率	k1	73.33	73.75	73.33	80.66		
	k2	78.98	79.47	80.02	77.36		
	k3	78.27	77.37	77.24	72.57		
	R	5.64	5.72	6.69	8.09		
实际包合率	k1	73.91	54.35	73.91	68.84		
	k2	64.13	75.72	64.13	70.29		
	k3	67.75	75.72	67.75	66.67		
	R	9.78	21.37	9.78	3.62		
综合评分	k1	76.72	60.17	75.26	72.39		
	k2	69.35	78.37	69.66	73.93		
	k3	71.67	79.20	72.82	71.42		
	R	7.38	19.03	5.60	2.51		

10° ~ 12°、12°、16° ~ 18°、22° ~ 24°左右产生新的吸收峰;在 2θ = 8°、10°、20°、24°、34°左右的吸收峰消失或减弱,表明混合油与 β-CD 形成了包合物。结果见图 2。

3 讨论

当归、薄荷挥发油提取工艺研究中,2015 版《中华人民共和国药典》中当归挥发油用重油提取器提取,而薄荷挥发油用轻油提取器提取,查阅相关文献发现二者合提挥发油相关报道较少,因此对二者单独提取以及合并提取进行了预实验,发现合提之后,混合挥发油呈现轻油特性,即混合油密度小于水的密度,故而采用轻油提取器进行提取,并且合提之后,克服了当归出油量过低、损失较大的问题。本试验中将当归与薄荷混合提取挥发油,对今后二者混合提油具有一定的指导意义。该工艺合理可行,且能节约能耗,符合工业生产的需求。

在包合过程中发现,当 β-环糊精饱和和溶液配制过程中,搅拌时间过久会析出结晶,影响包合物产率,因此,β-环糊精饱和和水溶液配制过程中应尽量保证快速,从而保证试验结果的可靠性。

β-环糊精包合物验证方法有薄层色谱法、显微

观察法、热分析法、X 射线衍射法、荧光光谱法及紫外光谱法等。本试验选用的两种方法操作较为简单,准确度较高。但本试验所提取的为当归、薄荷的混合油,从表征只能判定包合物的形成,今后仍可对混合油成分通过气质联用技术进行测定表征。

参 考 文 献

- [1] 宋秋月,付迎波,刘江,等. 当归的化学成分研究[J]. 中草药, 2011,42(10):1900-1904.
- [2] 李曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材,2013,36(6): 1023-1028.
- [3] 徐凌玉,蔡芷辰,钱士辉. 薄荷化学成分的研究[J]. 中草药, 2013,44(20):2798-2802.
- [4] 杜俊蓉,白波,余彦,等. 当归挥发油研究新进展[J]. 中国中药杂志,2005,30(18): 1400-1406.
- [5] 张新春,蔡大伟. 当归及其有效成分对实验性肝损伤的保护作用[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(9):739-741.
- [6] 谢媛,王洛临,施之琪,等. 高压均质法制备薄荷挥发油纯胶包合物[J]. 中成药,2015,37(2):289-294.
- [7] 陈秋实,张洪,吴杰,等. 薄荷挥发油的提取及其 β-环糊精包合物制备工艺研究[J]. 云南中医学院学报,2008,31(1): 13-16.
- [8] 赵碧清,杨磊,黄海兵,等. 川芎、薄荷挥发油的提取及包合工艺的研究[J]. 中南药学,2007,5(4):311-314.
- [9] 郑伟然,陶永华,施静,等. 当归挥发油水蒸气蒸馏法提取工

- 艺的优化[J]. 中国现代中药, 2013, 15(10): 879-882.
- [10] 张云芳. 正交实验优选当归挥发油的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1962-1963.
- [11] 彭修娟, 杨新杰, 王月茹. 逍遥颗粒中薄荷挥发油提取工艺研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(2): 255-257.
- [12] 田禾, 冯程, 张伯锋, 等. 健脾祛湿颗粒剂中挥发油 β -环糊精包合工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(3): 46-49.
- [13] 钱平, 刘志辉, 钱芳. 当归、甘松挥发油 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中成药, 2010, 32(4): 667-669.
- [14] 司奇, 吴丹, 曹青日, 等. 缬草挥发油 β -环糊精包合物的制备与评价[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2309-2313.
- [15] 谢晓霞, 杨建云, 肖炳坤, 等. X 射线衍射法研究药物多晶型应用进展[J]. 现代科学仪器, 2013, 4(2): 8-12.
- (收稿日期: 2016-06-16)
(本文编辑: 王馨瑶)