

正交试验优选小豆蔻挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺

常占瑛^{1*},刘桂花²,高晓黎^{1#},寇耀红¹(1.新疆医科大学药学院,乌鲁木齐 830011;2.新疆药物研究所,乌鲁木齐 830004)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)07-0630-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.07.18

摘要 目的:优选小豆蔻挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺。方法:采用水蒸气蒸馏法进行提取,以粉碎粒度、加水量、蒸馏时间为考察因素,以挥发油质量分数为评价指标;包合工艺以 β -环糊精与挥发油配比(g:ml)、包合温度、包合时间为考察因素,以包合物收得率、挥发油包合率为评价指标,均采用正交试验优选工艺。结果:优选的提取工艺为小豆蔻饮片直接加10倍量水,提取6 h;包合工艺为挥发油: β -环糊精=1:6(ml:g),包合温度为60℃,包合时间为2 h。结论:所选工艺合理、可行,可用于提取小豆蔻中挥发油以及挥发油与 β -环糊精的包合。

关键词 小豆蔻;挥发油;正交试验;提取工艺;包合工艺

Extraction Technology of Volatile Oil from *Elettaria cardamomum* and Inclusion Technology of β -Cyclodextrin
CHANG Zhan-ying¹, LIU Gui-hua², GAO Xiao-li¹, KOU Yao-hong¹ (1.College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2.Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumqi 830004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of volatile oil from *Elettaria cardamomum* and the inclusion technology of β -cyclodextrin. METHODS: With mass fraction of volatile oil as index, grinding granularity, amount of water, distillation time as factors, volatile oil was extracted from *E. cardamomum* by steam distillation. Using the yield of inclusion compounds and inclusion rate of volatile oil as index, with the ratio of β -cyclodextrin to volatile oil, inclusion temperature and inclusion time as factors, the inclusion technology was optimized by orthogonal test. RESULTS: The optimized extraction conditions were: *E. cardamomum* decoction pieces, adding 10-fold water, extracting for 6 h. The optimized inclusion conditions were: the proportion of volatile oil to β -cyclodextrin was 1:6(ml:g); inclusion temperature was 60℃; inclusion time was 2 h. CONCLUSIONS: The technology is reasonable and feasible, and can be used for the extraction of volatile oil from *E. cardamomum* and the inclusion of β -cyclodextrin.

KEYWORDS *Elettaria cardamomum*; Volatile oil; Orthogonal test; Extraction technology; Inclusion technology

小豆蔻为姜科植物小豆蔻 *Elettaria cardamomum* White et Maton 的干燥成熟果实,夏、秋季采收,晾干。其具有健胃助食、止血止呕、爽口悦志的作用,多用于治疗腹痛腹胀、食少嗝气、呕恶口臭、腹泻反胃、口舌生疮、偏头痛等疾病^[1]。小豆蔻果实含3%~8%挥发油,油中含乙酸松油酯、桉油精、 α -松油醇和松油醇-4等成分^[2]。现代药理研究表明,小豆蔻具有利胆、平喘、杀菌等作用^[3]。笔者拟对小豆蔻挥发油的提取及 β -环糊精包合工艺进行优化研究,以期为进一步开发、利用小豆蔻药材资源提供参考。

1 材料

1.1 仪器

BS110S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);KDM 调温电热套(山东甄城华鲁电热仪器有限公司);FW-177 摇摆式粉碎机(上海隆拓仪器设备有限公司);S312-60 数显恒速搅拌机(上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司);DZF-6090 真空干燥箱(上海一恒科技有限公司);KQ-500DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

* 助教,硕士。研究方向:新疆地产资源。电话:0991-4362442。E-mail:changzhangying1983@163.com

通信作者:教授,博士研究生导师,博士。研究方向:新药研发。电话:0991-4362442。E-mail:xli_g@sina.com

1.2 药材与试剂

小豆蔻饮片,购于新疆麦迪森药业有限公司,批号:20120521,经新疆医科大学药学院帕丽达教授鉴定为姜科植物小豆蔻; β -环糊精(上海山浦化工有限公司)。

2 方法与结果

2.1 小豆蔻挥发油提取工艺研究

2.1.1 试验设计^[4-5] 根据笔者经验和文献,选取粉碎粒度(A)、加水量(B)、蒸馏时间(C)为考察因素,采用 $L_9(3^3)$ 正交表进行试验。提取工艺的因素与水平见表1。

表1 提取工艺的因素与水平

Tab 1 Factors and levels of extraction technology

| 水平 | 因素 | | |
|----|-----|-----|-----|
| | A | B,倍 | C,h |
| 1 | 饮片 | 8 | 3 |
| 2 | 14目 | 10 | 6 |
| 3 | 40目 | 12 | 8 |

2.1.2 试验方法与结果 称取小豆蔻饮片100 g,按 $L_9(3^3)$ 正交试验表的条件,再按2010年版《中国药典》(一部)项下挥发油测定法甲法进行操作,提取挥发油后放置1 h,至挥发油量不再增加为止,读取挥发油量,并计算挥发油质量分数。提取工

艺的正交试验结果见表2;提取工艺的方差分析结果见表3。

表2 提取工艺的正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test of extraction technology

| 试验号 | 因素 | | | | 挥发油质量分数, % |
|-------|-------|-------|-------|-------|------------|
| | A | B | C | D(误差) | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2.10 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4.50 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 4.60 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4.70 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 4.70 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2.60 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 4.10 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 3.00 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 4.30 |
| K_1 | 11.20 | 10.90 | 7.70 | 11.10 | |
| K_2 | 12.00 | 12.20 | 13.50 | 11.20 | |
| K_3 | 11.40 | 11.50 | 13.40 | 12.30 | |
| R | 0.80 | 1.30 | 5.80 | 1.20 | |

表3 提取工艺的方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance of extraction technology

| 方差来源 | 离均差平方和 | 自由度 | 均方 | F | P |
|-------|--------|-----|------|-------|-------|
| A | 0.12 | 2 | 0.06 | 0.39 | |
| B | 0.28 | 2 | 0.14 | 0.95 | |
| C | 7.35 | 2 | 3.67 | 24.86 | <0.05 |
| D(误差) | 0.30 | 2 | 0.15 | | |

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$

note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$

由表2、表3可知,各因素影响挥发油提取效果大小顺序为C(蒸馏时间)>B(加水量)>A(粉碎粒度),且蒸馏时间对提取挥发油效果的影响有统计学意义($P<0.05$)。因饮片粒度对工艺无影响,故选择水平1。最终挥发油提取工艺选择A₁B₂C₂,即药材饮片加入10倍量水,提取6h。

2.1.3 工艺验证试验 称取小豆蔻饮片100g,共3份,按上述优选的工艺分别进行提取,并计算挥发油质量分数。结果显示,3批饮片提取的挥发油质量分数均为4.7%($n=3$),与正交试验最高值相当,表明所选工艺合理、可行。

2.2 挥发油的 β -环糊精包合工艺研究

2.2.1 β -环糊精溶解度试验 取100ml蒸馏水,在规定条件下加入适量 β -环糊精,超声溶解后继续加入少量 β -环糊精,直至溶液成胶状,继续加入少量 β -环糊精,若其不再溶解,则呈胶状时的溶解量即为 β -环糊精的溶解度。不同条件下 β -环糊精的溶解度见表4。

表4 不同条件下 β -环糊精的溶解度

Tab 4 Solubility of β -cyclodextrin under different conditions

| 试验号 | 温度, °C | 溶解度, g |
|-----|--------|--------|
| 1 | 40 | 3.95 |
| 2 | 50 | 5.28 |
| 3 | 60 | 8.73 |
| 4 | 70 | 12.93 |
| 5 | 80 | 21.12 |

2.2.2 挥发油密度的测定 取挥发油11ml,置10ml比重瓶中,按2010年版《中国药典》(一部)项下相对密度测定法测定

挥发油密度。测得挥发油密度为0.9524($n=3$)。

2.2.3 空白回收率试验 精密吸取1ml“2.1”项下提取的挥发油,置于烧瓶中,按“2.1.2”项下方法用200ml蒸馏水提取挥发油4h,至挥发油量不再增加时停止加热,放置1h,读取挥发油量,按下式计算回收率:回收率=提取出的挥发油量/加入的挥发油量 $\times 100\%$ 。空白回收率试验结果见表5。

表5 空白回收率试验结果($n=3$)

Tab 5 Results of blank recovery tests($n=3$)

| 试验号 | 得油量, ml | 回收率, % |
|-----------|---------|--------|
| 1 | 0.95 | 95 |
| 2 | 0.94 | 94 |
| 3 | 0.96 | 96 |
| \bar{x} | 0.95 | 95 |

2.2.4 试验方法^[6-9] 根据笔者经验和文献,采用饱和水溶液法制备,精密称取 β -环糊精适量,置于200ml具塞三角锥形瓶中,加入蒸馏水,加热使之完全溶解,降至所需温度,在恒温下搅拌。吸取50%挥发油-乙醇液(精密吸取25ml挥发油至50ml量瓶,加适量无水乙醇,定容,摇匀,即得50%挥发油-乙醇液)缓慢滴加至 β -环糊精饱和溶液中,加塞,继续搅拌至规定时间,置4℃冰箱中冷藏过夜,快速抽滤,先用少量水冲洗,后用20ml石油醚(30~60℃)少量多次洗涤(洗去未包合的挥发油),抽干,45℃干燥5h,称质量,计算挥发油包合率[挥发油包合率=包合物中实际含油量/(挥发油投入量 \times 空白回收率) $\times 100\%$]、包合物收得率[包合物收得率=包合物质量/(β -环糊精加入量+挥发油投入量 \times 挥发油密度 $\times 100\%$)]。以 β -环糊精与挥发油配比(A)、包合温度(B)、包合时间(C)为考察因素,每个因素取3个水平,以挥发油包合率和包合物收得率的综合评分(综合评分=挥发油包合率 $\times 70$ +包合物收得率 $\times 30$)为评价指标,采用L₉(3³)正交表进行试验。包合工艺的因素与水平见表6;包合工艺的正交试验结果见表7;包合工艺的方差分析结果见表8。

表6 包合工艺的因素与水平

Tab 6 Factors and levels of inclusion technology

| 水平 | 因素 | | |
|----|---------|-------|------|
| | A, g:ml | B, °C | C, h |
| 1 | 4:1 | 40 | 1 |
| 2 | 6:1 | 50 | 2 |
| 3 | 8:1 | 60 | 3 |

由表7、表8可知,各因素对工艺的影响程度大小顺序为A>B>C,表明 β -环糊精与挥发油对比对包合工艺的影响有统计学意义($P<0.05$)。最佳包合工艺为A₂B₃C₂,即 β -环糊精与挥发油比例为6:1(g:ml),包合温度为60℃,包合时间为2h。

2.2.5 工艺验证试验 精密称取 β -环糊精和挥发油适量,共3份,按“2.2.4”项下优选的工艺和方法进行包合,并计算挥发油包合率和包合物收得率。结果显示,3次包合后挥发油的平均包合率为94.39%,包合物的平均收得率为82.39%,均高于正交试验最高值,表明所选工艺合理、可行。包合工艺的验证试验结果见表9。

表7 包合工艺的正交试验结果

Tab 7 Results of orthogonal test of inclusion technology

| 试验号 | 因素 | | | | 包合物收得率, % | 挥发油包合率, % | 评分 |
|-------|--------|--------|--------|--------|-----------|-----------|-------|
| | A | B | C | D | | | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 60.73 | 63.16 | 69.57 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 67.59 | 78.95 | 83.90 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 69.76 | 73.68 | 80.76 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 79.66 | 84.21 | 92.28 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 80.46 | 93.68 | 99.65 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 81.41 | 89.47 | 96.85 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 77.48 | 78.95 | 87.54 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 78.78 | 73.68 | 84.09 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 80.07 | 84.21 | 92.43 |
| k_1 | 234.23 | 249.39 | 250.51 | 261.65 | | | |
| k_2 | 288.78 | 267.64 | 268.61 | 268.29 | | | |
| k_3 | 264.06 | 270.04 | 267.95 | 257.13 | | | |
| R | 54.55 | 20.65 | 18.10 | 11.16 | | | |

表8 包合工艺的方差分析结果

Tab 8 Analysis of variance of inclusion technology

| 方差来源 | 离差平方和 | 自由度 | 均方 | F | P |
|------|--------|-----|--------|-------|-------|
| A | 497.40 | 2 | 248.70 | 23.68 | <0.05 |
| B | 85.03 | 2 | 42.51 | 4.05 | |
| C | 70.24 | 2 | 35.12 | 3.34 | |
| 误差 | 21.01 | 2 | 10.50 | | |
| 总变异 | 673.68 | 8 | | | |

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

表9 包合工艺的验证试验结果

Tab 9 Results of validation test of inclusion technology

| 试验次数, 次 | 挥发油包合率, % | 包合物收得率, % |
|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 94.74 | 82.38 |
| 2 | 93.68 | 82.46 |
| 3 | 94.74 | 82.32 |
| \bar{x} | 94.39 | 82.39 |

2.3 薄层层析法检测包合物

取挥发油-乙醇液(1:1, V/V) 1.0 ml, 加石油醚定容至50 ml, 再吸取1.0 ml, 加石油醚定容至50 ml, 制成0.2 μl/ml的样品1。取挥发油-乙醇液(1:1, V/V) 1.0 ml与β-环糊精3.000 6 g, 加石油醚定容至50 ml, 再吸取1.0 ml, 加石油醚定容至50 ml, 制成0.2 μl/ml的样品2。取包合物0.530 8 g, 加石油醚定容至50 ml, 再吸取1.0 ml, 加石油醚定容至50 ml, 制成0.2 μl/ml的样品3。分别取上述样品液约0.5 μl, 按顺序点于硅胶G薄层

板上(CMC-Na为黏合剂), 经105 °C活化1 h以上, 以苯-乙酸乙酯(19:1, V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷2%香草醛硫酸溶液-乙醇(2:8, V/V)的混合溶液, 热风吹至斑点显色清晰。结果, 物理混合物中挥发油与原混合油在相应位置上显相同颜色的斑点, 而包合物样品则无该颜色斑点, 表明包合成功。

3 讨论

目前, 对小豆蔻药材的研究报道较少, 笔者通过对小豆蔻挥发油的提取工艺及β-环糊精挥发油包合工艺进行研究, 可为小豆蔻的开发、利用奠定一定的基础。

笔者通过正交试验优选小豆蔻挥发油的包合工艺, 得到β-环糊精与挥发油比例为6 g:1 ml, 包合温度为60 °C, 包合时间为2 h, 挥发油饱和率达到93%以上, 包合物收得率为82%, 表明工艺合理、稳定。其中, β-环糊精与挥发油比例对包合物的质量评价有显著影响, 在工业化生产时要掌握好投料比例。

薄层层析结果表明, 采用优选工艺制得的包合物性质稳定, 挥发油损失少, 利用率高, 且在制剂中较为稳定。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 维吾尔药分册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 4.
- [2] 马新玉, 潘苇琴. 小豆蔻的显微鉴别研究[J]. 新疆中医药, 2005, 23(2): 48.
- [3] 邱娇英, 周文兰. 丁香挥发油的提取与β-环糊精包合工艺研究[J]. 中医药导报, 2008, 14(12): 67.
- [4] 侯娟, 杜丽英, 张兰桐, 等. 乳痛消结颗粒中5种挥发油的提取及β-环糊精包合物的制备[J]. 中国药房, 2007, 18(15): 1 136.
- [5] 马桂芝, 滕亮, 彭一峰, 等. 强氢酸Vc胶囊挥发油超声包合工艺的研究[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(3): 238.
- [6] 杨炳火. 正交试验法优选姜黄挥发油β-环糊精包合物的制备工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(8): 1 041.
- [7] 马媛, 帕依曼·亥米提, 李志辉, 等. 薰鲁香挥发油β-环糊精包合工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1 613.
- [8] 贺冰, 孙殿甲, 滕亮. 宣肺清热颗粒中挥发油β-CD包合工艺的研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1 305.
- [9] 任淑娟, 陈世虎. 丁香挥发油β-环糊精包合物制备工艺研究制剂技术[J]. 中国药业, 2009, 18(17): 27.

(收稿日期: 2013-03-23 修回日期: 2013-05-31)

国家卫生和计划生育委员会公共政策专家咨询委员会成立

本刊讯 2014年1月16日, 国家卫生和计划生育委员会(以下简称国家卫生计生委)公共政策专家咨询委员会成立会议在京召开。十二届全国人大常委会副委员长陈竺, 国家卫生计生委主任李斌出席会议。

陈竺到会并表示祝贺。他指出, 在应对国内、外系列挑战过程中, 公共政策的研究机构和学者, 发挥了不可替代的作用。基于智库的政策咨询和循证决策, 已成为推动科学决策和治理创新的国际潮流。陈竺要求专家咨询委员的各位同

仁, 在研究和决策咨询中, 要以服务公众利益为宗旨, 坚持正确导向, 坚守学术良知, 遵循学术规范。

李斌指出, 卫生计生工作正处在深化改革、转型发展的关键时期, 迫切需要广泛听取各方意见, 凝聚各领域和全社会的智慧。李斌强调, 要围绕贯彻落实党的十八届三中全会精神, 开展联合攻关, 在重大理论政策和体制机制问题的研究上谋求突破。她期待专家咨询委员会在理论创新、制度创新、破解难点问题、厘清思路和路径等方面发挥重要作用。