

壳聚糖/凹凸棒复合辅料固化薄荷挥发油的工艺优化及粉体性能评价

宋萍, 高建德, 张淑丹, 马贝娜, 白昀川, 陈晖, 刘雄* (甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000)

摘要: 目的 以壳聚糖(chitosan, CS)和凹凸棒(attapulgit, ATP)为原料, 制备适宜于固化薄荷挥发油的复合辅料。方法 以3%冰醋酸为分散介质分散CS和ATP, 薄荷挥发油为模型药物, 薄荷挥发油保留率为考察指标, 复合辅料改性比例、搅拌时间及搅拌温度为考察因素, 通过响应面法优选CS/ATP复合辅料固化薄荷挥发油的最佳工艺参数, 并对该工艺条件下复合辅料的粉体性能及固化挥发油后的湿、热稳定性进行测试, 同时进行扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱、X射线衍射表征分析。结果 复合辅料CS/ATP固化薄荷挥发油的最佳工艺参数: CS与ATP比例为1:9, 搅拌时间为16 h, 搅拌温度为55℃。在CS/ATP复合辅料制备工艺优选条件下, 50℃放置3 d后, 薄荷挥发油的保留率为78.02%, 较同等条件下未用CS/ATP固化的薄荷挥发油保留率提高了90.45%; CS/ATP复合辅料粉体性能测试表明, 复合辅料阻湿性较好, 复合后流动性良好。结论 CS/ATP复合辅料制备工艺简单, 可操作性强, 在固化薄荷挥发油方面有潜在的应用价值。

关键词: 壳聚糖/凹凸棒; 薄荷挥发油; 粉体性能; 稳定性

中图分类号: R944 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)09-1133-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.09.001

引用本文: 宋萍, 高建德, 张淑丹, 等. 壳聚糖/凹凸棒复合辅料固化薄荷挥发油的工艺优化及粉体性能评价[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1133-1141.

Process Optimization and Powder Performance Evaluation of Chitosan/Attapulgit Compound Excipients for Curing Peppermint Volatile Oil

SONG Ping, GAO Jiande, ZHANG Shudan, MA Beina, BAI Yunchuan, CHEN Hui, LIU Xiong* (School of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare a compound excipient suitable for curing peppermint oil using chitosan(CS) and attapulgit(ATP) as raw materials. **METHODS** CS and ATP were dispersed with 3% glacial acetic acid as dispersion medium, peppermint oil was used as a model drug, the retention rate of peppermint oil was the inspection index, the modification ratio of the composite excipients, the stirring time and the stirring temperature were the investigation factors, the best process parameters of CS/ATP composite excipients for curing peppermint oil was optimized by response surface methodology, and the powder properties of the composite excipients and the moisture and thermal stability after curing the volatile oil under the process conditions were tested, and scanning electron microscope, Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction characterization analysis was performed at the same time. **RESULTS** The best process parameters for the composite excipient CS/ATP to solidify the volatile oil of mint were: the ratio of CS to ATP was 1 : 9, the stirring time was 16 h, and the stirring temperature was 55 °C. Under the optimal conditions for the preparation of CS/ATP composite excipients, it was placed at 50 °C after 3 d, the retention rate of the oil of peppermint was 78.02%, which was 90.45% higher than the retention rate of the oil of peppermint which was not cured with CS/ATP under the same conditions. The powder performance test of CS/ATP composite excipients showed that the composite excipients had better moisture barrier properties and good liquidity. **CONCLUSION** The preparation process of CS/ATP composite excipients is simple and has strong operability. It has potential application value in curing peppermint oil.

KEYWORDS: chitosan/attapulgit; peppermint volatile oil; powder properties; stability

薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 为唇形科多年生宿根草本植物, 具有疏散风热、清利头目、理气解郁的功效。现代研究表明其主要成分为薄荷挥发油^[1-2], 具有祛痰、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、清

咽润喉、舒缓身心等生物活性^[3-4]。但薄荷油存在不稳定、易挥发的缺陷, 限制了其应用^[5]。为了提高薄荷挥发油的稳定性, 许多研究人员对挥发油的稳定固化做了大量工作, 如将其制成包合物^[6]、微

基金项目: 国家自然科学基金项目(82060821); 甘肃省高等学校科研项目(2020A-080); 甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2019-22)

作者简介: 宋萍, 女, 硕士生 E-mail: 1753638644@qq.com 共同第一作者: 高建德, 男, 博士, 副教授 E-mail: 329315749@qq.com

*通信作者: 刘雄, 男, 教授 E-mail: lx@gszy.edu.cn

囊^[7]、固体脂质纳米粒^[8]等,但这些方法在实际应用中仍存在工艺复杂、辅料用量大、安全性不高等问题^[9-10],因此寻找工艺简单、可操作性强的稳定固化方法以提高挥发油稳定性显得尤为重要。

壳聚糖(chitosan, CS)是一种生物相容性、生物降解性、吸附能力良好的天然药用高分子材料。大量研究表明,将 CS 与其他辅料复合后可改善其性能,增加 CS 表面的孔洞数量和比表面积,提高其吸附能力^[11-13]。凹凸棒(attapulgite, ATP)是一种含水镁铝硅酸盐黏土矿物,具有比表面积大、吸附性能良好、价格低廉、生物相容性好、安全性高等优势,现已被美国药典作为药用辅料收录^[14-15],但由于 ATP 表面亲水性且吸附性能有限,限制了其在实际中的应用。李洪圆等^[16]通过改性 ATP 吸附磺胺甲恶唑发现,改性 ATP 可有效吸附磺胺甲恶唑,吸附去除率达 98%,且吸附速率较快。胡盛等^[17]将 ATP 与 CMC-Na 复合后吸附盐酸四环素,发现对盐酸四环素的吸附容量为 132.59 mg·g⁻¹。大量研究表明,将 2 种或多种辅料按一定比例均匀混合在一起,可实现优势互补,产生特定功能,具备更加优越的性能^[18-19]。廖晓峰等^[20]通过接枝改性 ATP 吸附重金属废水中的 Pb²⁺,发现改性 ATP 对 Pb²⁺的最大吸附容量为 129.32 mg·g⁻¹。胡盛等^[13]将 CS 与 ATP 复合后发现,CS 与 ATP 复合辅料可改善 ATP 表面亲油性能,明显增加复合材料的表面粗糙度、表面褶皱及孔隙结构,提高了对盐酸四环素的吸附性能。然而,目前有关 CS/ATP 复合辅料固化挥发油的研究报道较少。

鉴于上述背景,本实验选择薄荷挥发油为模型药物,以 CS/ATP 为固化载体,优选最佳复合辅料,并进行 CS/ATP 复合辅料粉体性能测试和湿、热稳定性试验,同时对 CS/ATP 复合辅料采用扫描电子显微镜(SEM)、X 射线衍射(XRD)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)表征分析,以期 CS/ATP 为载体固化薄荷挥发油提供理论依据。

1 仪器与试剂

5977B 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); 6700 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); 6390LV 扫描电镜(日本电子公司); D2 PHASER X 射线衍射仪(德国布鲁克公司); Blue Star A 紫外可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); ALC-104 型电子天平(上海市 Mettler Toledo 有限公司); KQ-700E 超声波清洗器

(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

薄荷(甘肃复兴厚生物医药科技有限公司,批号:20201101);薄荷脑(上海源叶生物科技有限公司,批号:Z24D10H106777;含量≥98%);壳聚糖(批号:69047438)、甲醇(批号:20201106)、冰醋酸(批号:20191212)均购自国药集团化学试剂有限公司;乙酸乙酯(山东禹王和天下新材料有限公司,批号:2019092601)。

2 方法与结果

2.1 薄荷挥发油的提取

参考中国药典,用水蒸气蒸馏法提取^[1]。精密称取 5 mm 的薄荷短段 100 g 置于圆底烧瓶中,加入 600 mL 水与少许沸石,连接挥发油提取器,自冷凝管加入蒸馏水充满挥发油提取器的刻度部分,并溢流入烧瓶为止,置电热套中加热至微沸后提取 3 h,将挥发油从挥发油提取器下口缓缓放出。

2.2 挥发油总含量测定

2.2.1 测定波长的选择 精密量取 1 mL 薄荷挥发油,用甲醇定容至 25 mL 量瓶中,用超声溶解,待用。以甲醇为空白,对待用液在 200~800 nm 内进行波长扫描,在 297 nm 处有最大吸收波长。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密量取 1 mL 薄荷挥发油至 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,作为对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取 0.2 mL 薄荷挥发油,滴入 0.3 g CS/ATP 复合辅料中,快速充分研磨后用甲醇少量多次转移、溶解并定容至 10 mL 量瓶中,即得供试品溶液。

2.2.4 线性关系的考察 分别取“2.2.2”项下对照品储备液 0.4, 0.8, 1, 1.3, 1.5, 2 mL,用甲醇定容至 10 mL 量瓶中,在最大吸收波长处测定吸光度,以吸光度(A)对薄荷挥发油浓度(C)作标准曲线,得线性回归方程 $A=0.13C-0.0087$ ($R^2=0.9988$),在 2~8 μL·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.2.5 仪器精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液,在 297 nm 处测定吸光度,连续测定 6 次,得吸光度的 RSD 值为 0.90%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在 297 nm 处测定吸光度,得 6 份样品吸光度的 RSD 为 2.43%,表明方法的重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取对照品溶液,在 0,

2, 4, 6, 8, 12 h 测定吸光度, 得吸光度的 RSD 为 3.83%, 说明 12 h 内稳定性良好。

2.3 CS/ATP 复合辅料的制备

精密称取 1.0 g CS, 加入至 100 mL 3% 的冰醋酸溶液, 在磁力搅拌器上以 $1\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 充分搅拌 2 h 后, 在一定温度下加入不同量 ATP 搅拌一定时间, 除去冰醋酸, 干燥研磨过 50 目筛得 CS/ATP 复合辅料。

2.4 CS/ATP 复合辅料固化薄荷挥发油的单因素考察

2.4.1 CS/ATP 复合辅料改性比例的考察

精密称取 ATP, 分别以 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9 (CS/ATP) 的比例加入至 100 mL CS 溶液中, 在 $35\ ^\circ\text{C}$ 下充分搅拌 24 h 后, 干燥研磨过 50 目筛即得复合辅料。将一定量的薄荷挥发油滴入至 CS/ATP 复合辅料中, 充分快速研磨, 在 $50\ ^\circ\text{C}$ 下放置 3 d, 测定挥发油保留率。保留率(%)=加速后的总油含量/加速前的总油含量 \times 100%。

随着 ATP 的增加, 挥发油保留率先增大后减小, 当 CS 与 ATP 比例为 1:7 时, 保留率最高, 这是由于两者间存在作用力, 提高了复合辅料对挥发油的吸附率, 之后随着 ATP 量的增加, 挥发油保留率降低, 这是由于在 CS 中发生团聚, 减少了复合辅料的吸附位点, 保留率降低, 因此将 1:7 作为后续单因素试验的参考水平。单纯挥发油在同等条件下的保留率为 7.45%, 远小于复合辅料吸附后的保留率。结果见图 1A。

2.4.2 CS/ATP 复合辅料搅拌温度的考察

精密称取 ATP, 以 1:7(CS/ATP) 的比例加入至 100 mL CS 溶液中, 分别在 20, 35, 50, 65, $80\ ^\circ\text{C}$ 下充分搅拌 24 h 后, 按“2.4.1”项下方法测定挥发油保留率。

随着搅拌温度的增加, 保留率呈现先增大后减小的趋势, 当搅拌温度为 $35\ ^\circ\text{C}$ 时, 保留率最高。随着温度的升高, 薄荷油的分子运动加快, 与复合辅料的吸附位点有更多碰撞, 以此增大对薄荷油的吸附, 但当温度继续升高时, 壳聚糖与 ATP 间的氢键作用被破坏, 导致吸附性能降低, 复合辅料对薄荷油的保留率减小。结果见图 1B。

2.4.3 CS/ATP 复合辅料搅拌时间的考察

精密称取 ATP, 以 1:7(CS/ATP) 的比例加入至 100 mL 壳聚糖溶液中, 在 $35\ ^\circ\text{C}$ 下分别充分搅拌 2, 8, 16, 24, 32 h 后, 按“2.4.1”项下方法测定挥发油保留率。

随着时间的增加, 挥发油保留率先增大后减

小, 当搅拌时间为 16 h 时, 挥发油保留率达到最高。这是因为在初始阶段复合辅料表面有大量吸附位点, 以此增大对薄荷油的吸附, 随着时间的延长, 对薄荷油的吸附逐渐稳定达到平衡, 薄荷油的保留率趋于稳定。结果见图 1C。

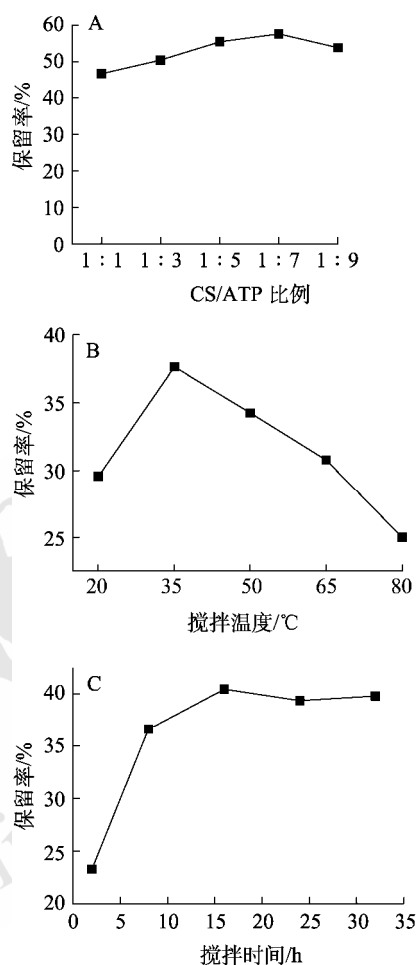


图 1 CS/ATP 比例、搅拌温度和搅拌时间对保留率的影响 A—CS/ATP 比例; B—搅拌温度; C—搅拌时间。

Fig. 1 Influence of CS/ATP ratio, stirring temperature and stirring time on retention rate

A—CS/ATP ratio; B—stirring temperature; C—stirring time.

2.5 CS/ATP 复合辅料条件响应面优化设计

根据单因素试验结果进行 3 因素 3 水平的响应面优化设计试验, 因素水平表见表 1。以挥发油保留率为响应指标, 结果见表 2。采用 Box-Behnken Design 法对表 2 的试验结果进行回归拟合后, 得回归方程 $Y=81.37+2.42A-2.04B-0.13C-0.74AB+0.17AC-1.27BC-4.78A^2-2.01B^2-2.81C^2$ 。表 3 为回归方程的方差分析结果, 显著性检验表明该模型极显著($P<0.000\ 1$), 模型的决定系数 R^2 为 0.978 5, 调整后的 R^2 为 0.950 8, 失拟项 $P=0.095\ 4>0.05$, 说明该模型与试验结果拟合较好, 各自变量与响应值

间线性关系显著, 可用该回归方程有效预测 CS/ATP 复合辅料吸附保留薄荷油工艺。

表 1 响应面试验的因素和水平

Tab. 1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	A(CS/ATP 比例)	B(搅拌时间/h)	C(搅拌温度/°C)
-1	1 : 5	16	35
0	1 : 7	24	50
1	1 : 9	32	65

表 2 响应面试验结果

Tab. 2 Results of response surface test

编号	A	B	C	保留率/%
1	0	0	0	79.27
2	0	1	-1	72.48
3	-1	1	0	62.74
4	1	1	0	68.47
5	-1	0	1	63.89
6	0	-1	1	76.16
7	0	0	0	77.70
8	1	0	-1	69.33
9	0	-1	-1	76.20
10	1	0	1	73.73
11	0	0	0	78.93
12	-1	0	-1	64.18
13	-1	-1	0	66.22
14	0	0	0	77.26
15	0	0	0	78.69
16	1	-1	0	77.88
17	0	1	1	68.35

表 3 响应面模型方差分析

Tab. 3 Analysis of variance of response surface model

变异来源	均方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	541.06	9	60.12	34.08	<0.000 1	极显著
A	130.82	1	130.82	74.16	<0.000 1	极显著
B	74.18	1	74.18	42.05	0.000 3	极显著
C	2.03	1	2.03	1.27	0.297 2	不显著
AB	8.88	1	8.88	5.03	0.059 8	不显著
AC	5.50	1	5.50	3.12	0.120 8	不显著
BC	4.12	1	4.12	2.34	0.170 3	不显著
A ²	238.66	1	238.66	135.29	<0.000 1	极显著
B ²	16.95	1	16.95	9.61	0.017 3	显著
C ²	39.39	1	39.39	22.33	0.002 1	极显著
残差	12.35	7	1.76			
失拟项	9.44	3	3.15	4.33	0.095 4	不显著
纯误差	2.91	4	0.726 8			
总和	553.41	16				

F 值可以显示各因素对试验指标的影响程度, F 值越大, 表明对响应值的影响程度越大。由表 3 可以得出因素 A、B 对响应值有极显著影响($P < 0.01$), 对薄荷挥发油保留率的影响顺序为 CS/ATP 比例>搅拌时间>搅拌温度, 结果见表 3。方程的二次项 A²、C² 对响应值的影响极显著($P < 0.01$), B² 对响应值呈显著影响($P < 0.05$), AB、AC、BC 交互作用对响应值的影响不显著, 由图 2 的响应面等高线图可以看出, 等高线呈不同程度的稀疏, 可以验证此结果。

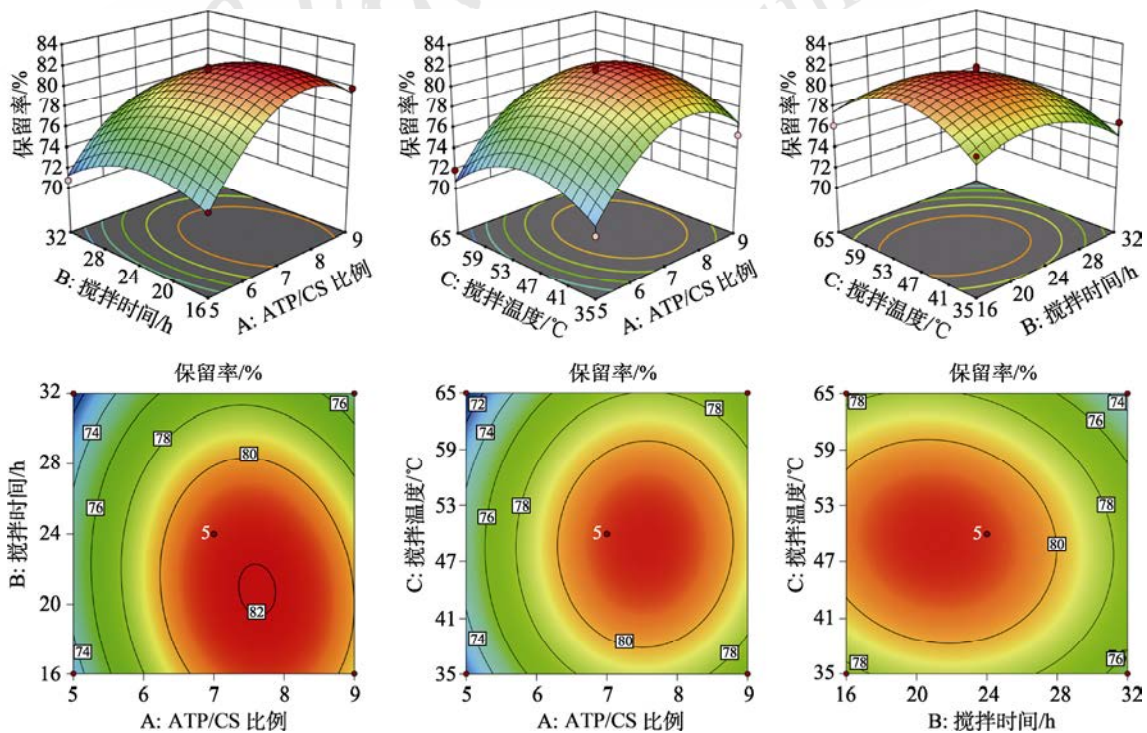


图 2 CS/ATP 比例、搅拌时间与搅拌温度对薄荷油保留率交互影响的响应面图

Fig. 2 Response diagram of the interactive effects of CS/ATP ratio, stirring time and stirring temperature on the retention rate of peppermint oil

由该模型优化得到的响应面结果预测最佳工艺：改性比例 1 : 8.880(CS/ATP)，改性时间 16.006 h，改性温度为 55.185 °C。考虑实际操作，设定改性比例 1 : 9，改性时间为 16 h，改性温度为 55 °C，薄荷油保留率为 78.321%。接下来按优化条件进行 3 组平行试验进行验证。验证结果显示，薄荷油平均保留率为 78.02%，实际值与预测值接近，表明通过响应面法优化后得出的回归方程具有实际意义。同等条件下，与纯薄荷挥发油保留率相比，CS/ATP 固化油后的保留率提高了 90.45%。

2.6 固化物物相粉末表征

2.6.1 SEM 按“2.5”项下的最佳制备工艺制备改性 CS/ATP 复合辅料。按 CS 与 ATP 比例为 1 : 9 混合均匀并研磨过 50 目筛即得 CS/ATP 物理混合物。将 CS、ATP、CS/ATP 物理混合物、改性 CS/ATP 借助 SEM 观察表面结构，结果见图 3。CS 与 ATP 分别呈现不同形态，CS 表面光滑平整，ATP 为纤维状晶体形态，比表面积较大，经过物理混合后，CS 表面覆盖有纤维状晶体的 ATP，对其进行改性后，改性物表面粗糙褶皱，孔洞数量增多，比表面积增大。

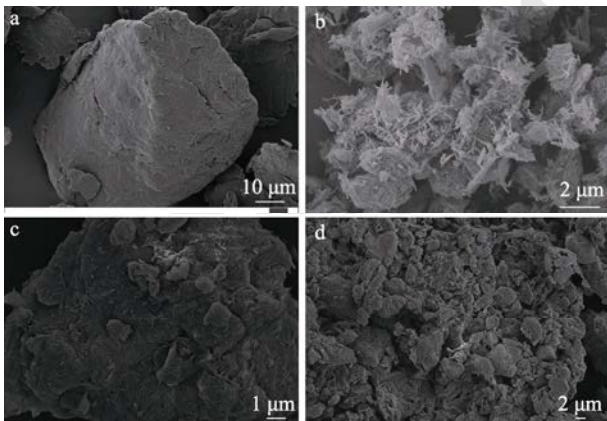


图 3 不同粉末 SEM 图
a-CS; b-ATP; c-CS/ATP 物理混合物; d-改性 CS/ATP。

Fig. 3 SEM of different powders
a-CS; b-ATP; c-CS/ATP physical mixture; d-modified CS/ATP.

2.6.2 FT-IR 取适量不同粉末，分别与干燥 KBr 混合压片，在波长范围为 400~4 000 cm^{-1} 进行红外扫描，结果见图 4。波长在 3 200~3 700 cm^{-1} 时，粉末均有不同程度的吸收峰，可能因为粉末中存在 OH 官能团，由于 OH 官能团的伸缩振动，引起了吸收峰。在 1 080 cm^{-1} 处为 CS 糖苷链中 C-O-C 的伸缩振动峰。在 545 cm^{-1} 处出现甲基、亚甲基的 C-H 伸缩振动峰。改性后的固化物粉末中存在 CS、ATP 的特征峰，峰位置大体上没有发生变化，

说明 CS 与 ATP 通过改性形成固化物。与单一 CS、ATP、物理混合物相比，固化薄荷挥发油后的 CS/ATP 粉末在 3 460, 1 633, 1 039 cm^{-1} 处特征吸收峰明显减弱，可能是分子间非共价键产生了弱作用力，使得振动峰减弱，证明薄荷油已被吸附在 CS/ATP 粉末的孔隙结构中。

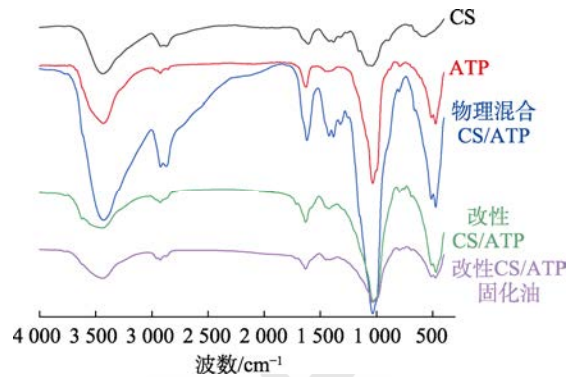


图 4 FT-IR 图

Fig. 4 Diagrams of FT-IR

2.6.3 XRD 取适量不同粉末，对其进行 XRD，测试条件为 Cu 靶(40 kV, 100 mA); 步进扫描为每步 0.02°; 扫描范围 3°~90°; 扫描速度 3°·min⁻¹，结果见图 5。ATP 在 6°~9°，33°~36°，60°~62° 时有衍射峰，但相对应位置 CS 没有此衍射峰，CS 与 ATP 经过物理混合后，衍射峰出现叠加的特征；改性后的固化物在 23°~25° 出现新的衍射峰，在 12°~17° 的衍射峰增强；吸附油的固化物衍射峰均有不同程度的降低，12°~17° 衍射峰消失，可能原因是改性后固化物的比表面积增大，其粒径减小，吸附油后导致微小晶粒聚集在一起发生团聚现象，影响了晶面取向的随机性，31°~32°，60°~61° 出现新的吸收峰，表明薄荷挥发油与固化物形成了新的物相。

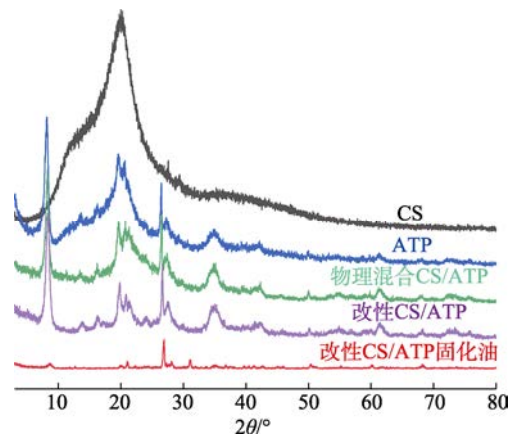


图 5 XRD 图

Fig. 5 Diagrams of XRD

2.7 粉体学性质考察

2.7.1 休止角(α)^[21] 采用固定圆锥底法,对休止角进行测定,将2只玻璃漏斗上下交错重叠,固定在铁架台上,以直径6 cm的培养皿作为底盘,下部漏斗出口与底盘的距离为4 cm,取适量待测粉末,从上部漏斗中慢慢加入,使粉末经过2只漏斗逐渐缓慢地堆积在底盘上,形成锥体,直至得到最高的锥体为止,测定锥体的高(h),每种样品各测定3次。取平均值,计算休止角,休止角公式为 $\alpha=\arctan\frac{h}{r}$ 。休止角结果见表4。

2.7.2 松密度(ρ_b)^[22] 采用量筒法,将适量待测粉末沿着漏斗壁缓慢、匀速地倒入干燥的量筒中,称定质量,计算松密度[松密度(ρ_b)=质量/粉末所占体积]。结果见表4。

2.7.3 振实密度(ρ_{bt})^[23] 采用轻敲法,将“2.7.2”项下装有待测粉末的量筒以一定频率振荡数次,使粉体处于最紧实状态后称定质量,计算振实密度[振实密度(ρ_{bt})=质量/振实后粉末所占体积]。结果见表4。

2.7.4 卡尔指数(CI)^[24] 根据松密度及振实密度计算卡尔指数,卡尔指数(CI)=(1- ρ_b/ρ_{bt}) \times 100%,通常情况下,卡尔指数大,粉末可压性较好,流动性较差;卡尔指数小,粉末流动性较好,可压性较差。结果见表4。

2.7.5 豪斯纳比(IH)^[25] 豪斯纳比大小反映粉体的聚集和松软状态,计算公式为豪斯纳比(IH)= ρ_{bt}/ρ_b 。

与ATP相比,改性后CS/ATP复合辅料的休止角稍有增大,但小于CS的休止角;当豪斯纳比率>1.25时,粉体流动性较差,与CS及ATP相比,改性后的CS/ATP流动性变差。可能原因是ATP

本身比表面积较大,对CS进行改性后也会增加其比表面积,比表面积越大,则粉体粒度越小,随着粒度的减小,粉体间分子引力、静电引力作用逐渐增大,会降低粉体的流动性,粒子间更容易吸附、聚集成团,黏结性增大,致休止角增大;热处理可使粉体的松密度与振实密度增加,结果表明改性CS/ATP的松密度与振实密度均高于CS及ATP,因为实验前期对搅拌温度进行了考察,温度升高后粉末颗粒的致密度会提高,但当温度升高到一定程度后,粉体的黏附性明显增加,粉粒与粉体间发生黏附,使粉体流动性降低。结果见表4。

2.7.6 吸湿性^[26-28] 取干燥至恒重的扁形称量瓶在相对湿度为75%的环境中饱和24 h后,精密称取适量粉末平铺至扁形称量瓶,置于相对湿度为75%的环境中,在一定温度下恒温保存,分别于2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 h定时称量计算吸湿率。吸湿率(%)=(吸湿后粉末质量-吸湿前粉末质量)/吸湿前粉末质量 \times 100%。绘制吸湿曲线,并对吸湿数据进行二项回归分析拟合,得到吸湿方程及 R^2 值,对二项式方程 $F=ar^2+br+c$ 进行求导,可得吸湿速率方程以及初速度、加速度。结果见图6及表5。

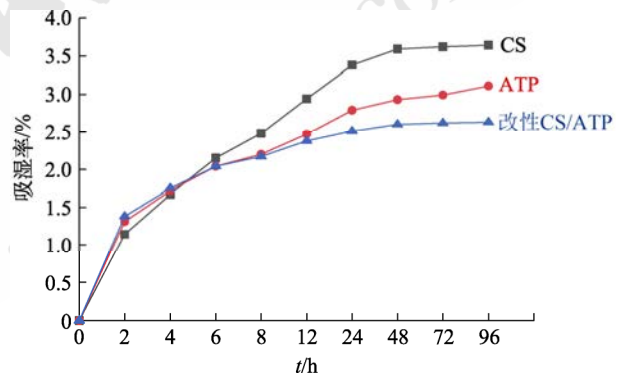


图6 不同粉末的吸湿曲线
Fig. 6 Moisture absorption curves of different powders

表4 不同粉末的粉体学性质考察($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab. 4 Investigation of powder properties of different powders($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

样品	松密度(ρ_b)/g·mL ⁻¹	振实密度(ρ_{bt})/g·mL ⁻¹	卡尔指数(CI)/%	豪斯纳比(IH)/%	休止角(α)/°
CS	0.341±0.040	0.503±0.003	32.21±7.85	1.47	40.64±0.21
ATP	0.375±0.022	0.603±0.032	37.76±1.89	1.61	40.23±0.15
改性 CS/ATP	0.458±0.013	0.750±0.022	38.94±1.33	1.64	40.36±0.03

表5 不同粉末吸湿数据二项回归分析

Tab. 5 Two regression analysis of moisture absorption data of different powders

样品	吸湿方程	R^2	吸湿速率方程	吸湿初速度/%·h ⁻¹	吸湿加速度/%·h ⁻²
CS	$F=-0.046 1t^2+0.894 2t-0.682 2$	0.991 0	$v=-0.092 2t+0.894 2$	0.894 2	-0.092 2
ATP	$F=-0.040 0t^2+0.732 8t-0.334 7$	0.957 1	$v=-0.080 0t+0.732 8$	0.732 8	-0.080 0
改性 CS/ATP	$F=-0.047 0t^2+0.749 1t-0.3010$	0.929 0	$v=-0.094 0t+0.741 9$	0.741 9	-0.094 0

3种粉末在0~24 h曲线均较陡,吸湿速率较快,在24 h后曲线较平缓,吸湿速率较慢,CS及改性CA/ATP吸湿曲线与时间轴平行,但ATP仍有缓慢上升趋势,整个过程中,CS吸湿变化最为明显,吸湿率次序由大到小依次为CS>ATP>改性CS/ATP。

CS的吸湿初速度最大,依次为CS、改性CS/ATP、ATP,吸湿加速度次序为ATP>CS>改性CS/ATP,对吸湿方程求导得吸湿速率方程,令吸湿速率方程为0,即令 $v=2at+b=0$,可得各粉末(CS、ATP、改性CS/ATP)吸湿达到平衡时的时间,平衡时间分别为9.698, 9.160, 7.893 h。

2.8 薄荷挥发油稳定性考察

2.8.1 薄荷油中指标性成分含量测定

2.8.1.1 气相色谱条件 HP-5MS(30 m×250 μm, 0.25 μm)弹性石英毛细管柱;进样口温度250℃;柱初始温度60℃,保持3 min,以8℃·min⁻¹升至220℃,保持10 min;进样量:1 μL;流速:1 mL·min⁻¹;载气:氦气。

2.8.1.2 质谱条件 接口温度280℃;离子源(EI)温度230℃;四级杆温度150℃;电离电压70 eV;溶剂延迟时间3 min,扫描方式为全扫描,扫描范围50~550 aum。

2.8.1.3 对照品溶液的配制 精密称取薄荷脑对照品12.00 mg至25 mL量瓶中,用乙酸乙酯溶解并定容,摇匀,制成0.48 mg·mL⁻¹的溶液,作为对照品储备液,按“2.8.1.1”项下条件进样测定,色谱图见图7A。

2.8.1.4 供试品溶液的配制 精密量取0.2 mL薄荷挥发油,滴入0.3 g CS/ATP复合辅料中,快速充分研磨后用乙酸乙酯溶解并定容至10 mL量瓶中,即得供试品溶液,按“2.8.1.1”项下条件进样测定,色谱图见图7B。

2.8.1.5 线性关系的考察 精密吸取对照品储备液1, 2, 3, 4, 5, 6 mL至10 mL量瓶中,用乙酸乙酯溶解并定容,制成系列浓度对照品溶液。按“2.8.1.1”项下色谱条件测定,记录进样溶液的峰面积,以进样浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制薄荷脑标准曲线 $Y=2 \times 10^8 X + 10^7$,线性范围为0.048~0.288 mg·mL⁻¹,相关系数 $R^2=0.9992$,表明薄荷脑在此线性范围内线性关系良好。

2.8.1.6 仪器精密度试验 精密吸取对照品溶液1 μL,按“2.8.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,结果表明薄荷脑的峰面积的RSD值为1.58%,表明仪器精密度良好。

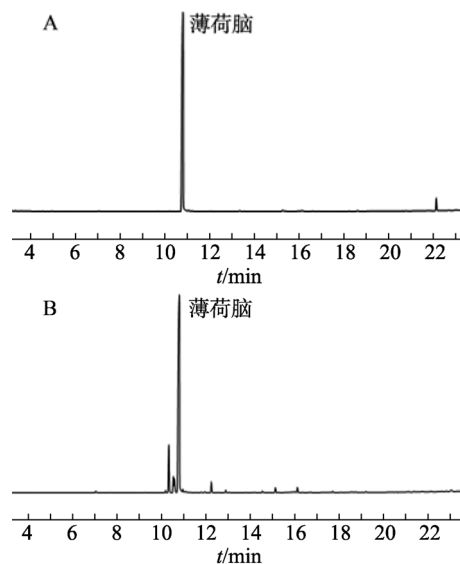


图7 薄荷对照品(A)及薄荷挥发油(B)样品GC图

Fig. 7 GC diagram of mint reference substance(A) and essential oil sample(B)

2.8.1.7 稳定性试验 精密吸取对照品溶液1 μL,按“2.8.1.1”项下色谱条件,分别在0, 2, 4, 6, 12, 24 h进样测定峰面积,结果表明薄荷脑的峰面积RSD值为1.82%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.8.1.8 重复性试验 按“2.8.1.4”项下方法平行制备6份样品,按“2.8.1.1”项下色谱条件测定,记录峰面积,结果表明薄荷脑的峰面积RSD值为2.95%。

2.8.2 高温试验^[29-30] 精密称取薄荷挥发油、CS/ATP固化油粉末各5份,平铺于扁形称量瓶中,分别置35, 50℃恒温干燥箱内放置7 d,于第0, 1, 3, 5, 7天取样,测定薄荷脑含量。在35℃条件下,固化薄荷油的粉末中薄荷脑的含量随着时间的延长,下降趋势小于薄荷油,到第5天时两者的含量几乎不再下降,但总体固化油的CS/ATP粉末中薄荷脑含量高于薄荷油。在50℃时,第1天两者含量均有大幅下降,从第3天开始,两者下降速度缓慢呈平缓趋势,对比可得,CS/ATP固化物能提高挥发油的热稳定性。结果见图8。

2.8.3 高湿试验^[31] 精密称取薄荷挥发油、CS/ATP固化油粉末各5份,平铺于扁形称量瓶中,分别置湿度为75%, 92.5%下放置7 d,于第0, 1, 3, 5, 7天取样,测定薄荷脑含量。固化油后的粉末中薄荷脑含量在第1天时下降速度均比薄荷油快,但在第3天后下降速度缓慢,且含量均高于薄荷油中含量。未固化的薄荷油中薄荷脑含量下降明显,说明CS/ATP固化物能提高挥发油的湿稳定性。结果见图9。

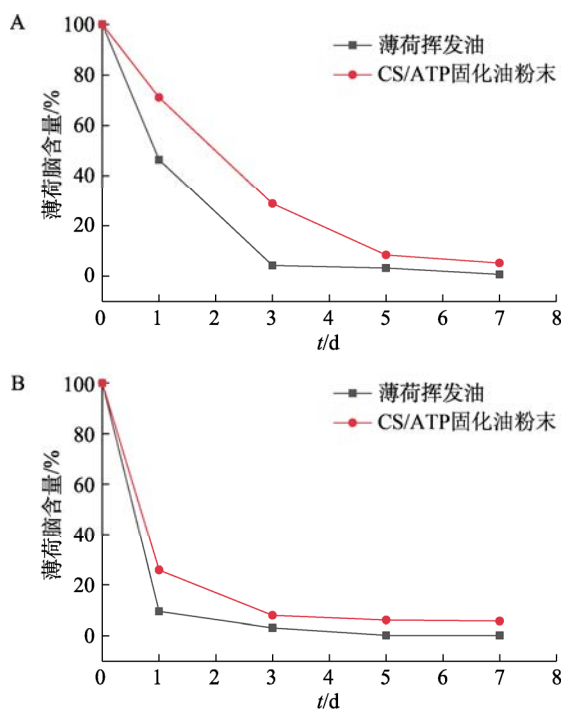


图 8 35, 50 °C 时 CS/ATP 固化油粉末和薄荷挥发油热稳定性结果

A-35 °C; B-50 °C。

Fig. 8 Thermal stability result of CS/ATP cured powder and peppermint volatile oil at 35, 50 °C

A-35 °C; B-50 °C.

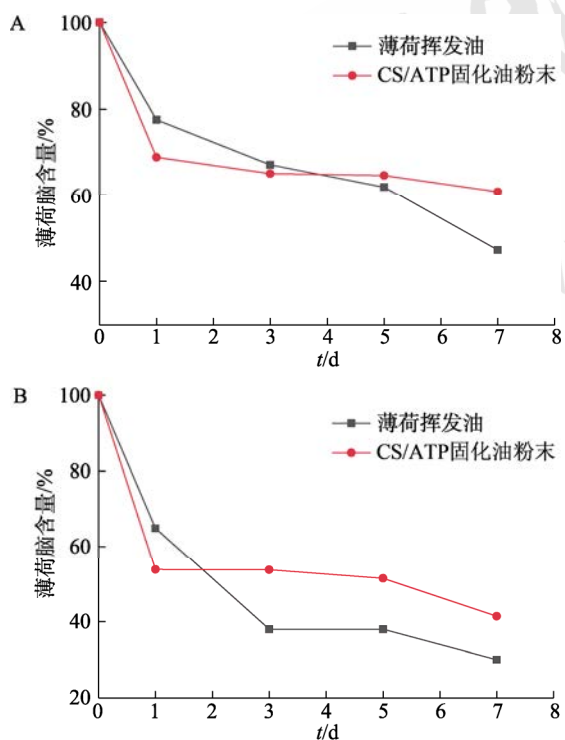


图 9 湿度为 75%, 92.5% 时 CS/ATP 固化油粉末和薄荷挥发油湿稳定性结果

A-75% 湿度; B-92.5% 湿度。

Fig. 9 Moisture stability result of CS/ATP cured powder and essential oil of mint at humidity of 75% and 92.5%

A-humidity of 75%; B-humidity of 92.5%.

3 讨论

本试验选用 CS 和 ATP 为原料, 以薄荷挥发油保留率为指标, 通过响应面试验得到 CS/ATP 复合辅料固化薄荷挥发油的最佳工艺参数为 CS 与 ATP 比例为 1 : 9, 搅拌时间为 16 h, 搅拌温度为 55 °C, 验证试验表明, CS/ATP 复合制备工艺稳定可行; SEM 图中对 CS/ATP 复合辅料进行改性后表面粗糙褶皱, 孔洞数量增多(不涉及薄荷油); FT-IR、XRD 图物相表征显示, 薄荷油可通过空隙容存、分子间弱作用力吸附分散在 CS/ATP 复合辅料中; 粉体性能测试表明, CS 与 ATP 复合固化后, 流动性良好, 阻湿性较好, 达到吸湿平衡所用时间最少, 能明显提高薄荷挥发油的湿、热稳定性。相比于环糊精包合、微囊化、微球化、脂质体等固化挥发油存在辅料用量大、工艺复杂、载药量低、安全性不高等问题, CS/ATP 复合辅料固化挥发油工艺简单、成本低廉、可操作性强, 将其用于挥发油的固化有良好的应用前景, 可为挥发油相关产品及制剂开发提供理论依据。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 377-378.
- [2] YU H, XIN H X, CHEN H, et al. GC-MS analysis of *Mentha haplocalyx* oil and its anti-aging effects[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2021, 32(1): 73-78.
- [3] YANG C Y, AN X, WAN J Q, et al. Antibacterial and antioxidant activities of different chemotypes of essential oils from *Mentha haplocalyx* Briq.[J]. Food Sci Technol(食品科技), 2021, 46(1): 185-192.
- [4] ZHEN Y Q, TIAN W, ZHI Y J, et al. Correlation study on non-volatile ingredients of *Menthae Haplocalycis* Herba formula granules and traditional herbal pieces by UPLC-MS/MS[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2021, 46(5): 1134-1140.
- [5] WU G T, ZHANG X H, LI F Q. Advances in pharmaceutical studies on improvement of stability of volatile oils of Chinese materia medica[J]. Pharma Care Res(药学服务与研究), 2008(3): 197-200.
- [6] WU C H, ZHONG R X, WEI T S, et al. Preparation and characterizations of pennyroyal-SBE- β -CD inclusion complexes[J]. China Food Additiv(中国食品添加剂), 2020, 31(9): 14-18.
- [7] LI H Y, WANG H B, FU J J, et al. Optimization of preparation technology of peppermint oil microcapsules in gelatin-sodium alginate[J]. Polym Mater Sci Engineer(高分子材料科学与工程), 2019, 35(9): 142-149.
- [8] WANG R Y, XU L L, ZHAO F P, et al. Preparation and in vitro evaluation of volatile oil from *Zanthoxylum schinifolium*-loaded solid lipid nanoparticles[J]. Food Industry(食品工业), 2021, 42(2): 216-220.

- [9] 张瑛, 冯怡, 徐德生. 中草药挥发油微囊化技术研究进展[J]. 中成药, 2006(3): 412-415.
- [10] YANG B, ZHOU Y, WANG F L, et al. Research progress of nano drug delivery systems in volatile oil of traditional Chinese medicine[J]. J Pharm Res(药学研究), 2018, 37(1): 46-49.
- [11] CHEN T, ZHAO J Y, LIU Y M. Release behavior of incorporated hop extract from gelatin-chitosan antibacterial film[J]. Food Sci(食品科学), 2020, 41(3): 151-158.
- [12] ZHANG Z H, ZHONG S R, PENG F, et al. Progress in microcapsule wall materials and preparation techniques[J]. Food Sci(食品科学), 2020, 41(9): 246-253.
- [13] HU S, ZHOU H Y, KE Y, et al. Preparation and adsorption performance of attapulgite/chitosan composite[J]. Plastics(塑料), 2020, 49(6): 103-107.
- [14] XU Y Q, WU X P, LIU C, et al. Organic modification of palygorskite with biomass by hydrothermal carbonization and characterization on its adsorption property[J]. Chem React Eng Technol(化学反应工程与工艺), 2013, 29(2): 119-124, 133.
- [15] QIAO Z Y, DING C M, LIU S, et al. Study on the structure and properties of PVA/chitosan composite membrane modified by attapulgite hybrid particles[J]. China Plast Indust(塑料工业), 2021, 49(2): 53-57.
- [16] LI H Y, DONG L L, LI D K, et al. Adsorption behavior of sulfamethoxazole in aqueous solution on CTMAB modified attapulgite[J]. Environ Sci Technol(环境科学与技术), 2021, 44(S1): 51-55.
- [17] HU S, YUAN C, ZHOU H Y, et al. Preparation and adsorption performance of attapulgite/sodium carboxymethyl cellulose composites[J]. Bull Chin Ceram Soc(硅酸盐通报), 2019, 38(6): 1700-1706.
- [18] RAN F, ZHANG D K, CI Z M, et al. Research status of high functional co-processed excipients[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2020, 55(10): 794-798.
- [19] JIN Y B, WANG S M, LU Y, et al. Preparation and quality evaluation of mannitol-crospovidone co-processed excipient[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2017, 37(4): 724-731.
- [20] LIAO X F, ZHONG J P, CHEN Y N, et al. Preparation of functional attapulgite composite and its adsorption behaviors for congo red[J]. Environ Sci(环境科学), 2022, 43(1): 387-389.
- [21] WANG S S, SHI C J, LIU X M, et al. Investigation of powder properties of Qingdu Xiaoyu granules and optimization of its granulating process[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(6): 16-21.
- [22] 李兴欢, 王赟泽, 任丽, 等. 膜精制工艺及干燥方法对中药提取物粉体学性质的影响[J]. 中药材, 2019, 42(6): 1360-1363.
- [23] TONG M, YU X Y, LI S K, et al. Influence of micronization of curcumin on micromeritic properties and dissolution[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报), 2021, 37(2): 231-236.
- [24] TIAN J J, YU Y T, ZHAO L J, et al. Mesoporous silica solidifying volatile oil from Bupleuri Radix and Forsythiae Fructus and its micromeritic properties[J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2019, 54(8): 1493-1501.
- [25] GAO D, ZHAO H N, WANG Y W, et al. Powder properties of nano-SiO₂ coated traditional Chinese medicine extract[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2021, 43(2): 297-301.
- [26] LI Y N, WU Z F, SHANG Y, et al. Effect on different drying methods on powder properties of extraction paste based on physical fingerprint of extract[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49(10): 2372-2377.
- [27] DU Y, YI Q Z, XIONG Y K, et al. Effect of fluidized bed technology on micromeritics properties of Leonurus Herba extract[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42(15): 2977-2983.
- [28] LI S K, WANG J, TONG M, et al. Properties and dissolution of curcumin-PVP co-grinding powder[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(23): 5949-5955.
- [29] ZHANG H H, WANG Y, ZHANG Z H, et al. Including preparation of cinnamon oil by vinyl pyrrolidone/vinyl acetate copolymer VA64-Soluplus spray-dried microspheres[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(22): 5723-5729.
- [30] ZHENG P, LI J J, DUN J Y, et al. Study on the stability of volatile oil in Tinglishengmai[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2018, 29(11): 2656-2658.
- [31] 高波, 袁如文, 金元宝, 等. “药辅合一”制备工艺对挥发油稳定性的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(3): 609-610.

收稿日期: 2021-06-16
(本文责编: 蔡珊珊)