

· 药剂与炮制 ·

# 加速氧化环境中小茴香挥发油的稳定性考察 及其抗氧化剂筛选

邵佳<sup>1</sup>, 邹俊波<sup>1</sup>, 史亚军<sup>1\*</sup>, 郭东艳<sup>1</sup>, 张小飞<sup>1\*</sup>, 王瑜<sup>1</sup>, 梁玉琳<sup>1</sup>,  
李婧琳<sup>1</sup>, 程江雪<sup>1</sup>, 杨明<sup>2</sup>, 王芳<sup>2</sup>

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046;  
2. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

**[摘要]** 目的: 筛选小茴香挥发油成分变化最剧烈的加速氧化环境, 并筛选其最佳抗氧化剂种类及浓度, 为小茴香挥发油稳定性研究及应用提供参考。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取小茴香挥发油, 以硫代巴比妥酸反应物(TBARS)值和过氧化值(POV)为评价指标, 运用响应面法考察偶氮胂类引发剂V50(AAPH)和亚铁离子( $Fe^{2+}$ )的质量浓度、温度对小茴香挥发油成分及氧化产物的影响, 筛选挥发油成分变化最剧烈的氧化环境, 利用单因素试验优选抗氧化剂种类及浓度。结果: 小茴香挥发油成分变化最剧烈的氧化条件为温度42.5℃, AAPH质量浓度 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $Fe^{2+}$ 质量浓度 $20.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 浓度为 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.8\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗坏血酸棕榈酸酯均可有效改善小茴香挥发油的稳定性。结论: 在加速氧化环境下, 小茴香挥发油萜类成分发生显著变化, 但抗坏血酸棕榈酸酯可有效改善其稳定性。

**[关键词]** 小茴香; 挥发油; 稳定性; 抗氧化剂; 抗坏血酸棕榈酸酯; 硫代巴比妥酸反应物值; 过氧化值

**[中图分类号]** R22;R94;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)18-0108-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191348

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190316.1600.002.html>

**[网络出版时间]** 2019-03-19 10:04

## Study on Stability of Volatile Oil in Foeniculi Fructus and Screening Its Antioxidants in Accelerated Oxidation Environment

TAI Jia<sup>1</sup>, ZOU Jun-bo<sup>1</sup>, SHI Ya-jun<sup>1\*</sup>, GUO Dong-yan<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-fei<sup>1\*</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>,  
LIANG Yu-lin<sup>1</sup>, LI Jing-lin<sup>1</sup>, CHENG Jiang-xue<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>2</sup>

(1. Shaanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Foundation and New Drugs Research,  
College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;  
2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of  
Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen the accelerated oxidation environment with the most drastic changes in the volatile oil composition of Foeniculi Fructus, and to optimize the type and concentration of antioxidants. **Method:** The volatile oil of Foeniculi Fructus was extracted by steam distillation. Taking thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value and peroxide value (POV) as evaluation indexes, response surface method was used to investigate the effects of temperature, concentrations of ferrous ion ( $Fe^{2+}$ ) and azoamidine initiator

**[收稿日期]** 20181031(010)

**[基金项目]** 陕西省教育厅项目(18JK0208);国家自然科学基金项目(81703720);陕西省重点研发计划项目(2018SF-314);陕西省中药制药重点学科项目(303061107);陕西中医药大学2017年度科学研究计划项目(2017PY29);陕西省中医药管理局中药制药工程重点学科项目(20170103)

**[第一作者]** 邵佳,在读硕士,从事中药新剂型与新技术研究,E-mail:1453887672@qq.com

**[通信作者]** \*史亚军,博士,教授,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:029-38183689,E-mail:328573751@qq.com;

\*张小飞,博士,副教授,从事中药新剂型与新技术研究,E-mail:zhangxiaofei830@163.com

V50 (AAPH) on volatile oil components of *Foeniculi Fructus* and its oxidation products. TBARS and POV were detected by ultraviolet chromatography. The oxidative environment with the most drastic changes of volatile oil composition of *Foeniculi Fructus* was screened. The type and concentration of antioxidants were selected by single factor experiments. The change discipline of volatile oil in *Foeniculi Fructus* after added different concentrations of antioxidants were analyzed by GC-MS. **Result:** The worst oxidizing environment for volatile oil of *Foeniculi Fructus* was as follows: temperature at 42.5 °C, AAPH concentration of 1 g·L<sup>-1</sup>, Fe<sup>2+</sup> concentration of 20.85 mg·L<sup>-1</sup>. Ascorbyl palmitate with concentrations of 0.2 mol·L<sup>-1</sup> and 0.8 mol·L<sup>-1</sup> could effectively improve the stability of volatile oil from *Foeniculi Fructus*. **Conclusion:** Under the accelerated oxidation environment, the terpenes in volatile oil from *Foeniculi Fructus* are significantly changed, but its stability can be improved by ascorbyl palmitate.

[**Key words**] *Foeniculi Fructus*; volatile oil; stability; antioxidants; ascorbyl palmitate; thiobarbituric acid reactive substances value; peroxide value

小茴香可药食两用,是健胃祛风、散寒止痛、清热化痰的临床常用药<sup>[1-2]</sup>。现代药理研究表明,小茴香具有显著的抑菌、利尿、调节胃肠机能等作用<sup>[3-4]</sup>。挥发油是小茴香的主要活性部位,质量分数达 3%~6%<sup>[5]</sup>。研究表明,在高温氧化过程中,小茴香挥发油中反式茴香脑的含量会发生显著变化,且随着温度的升高,其含量降低越明显<sup>[6]</sup>。硫代巴比妥酸反应物(TBARS)值<sup>[7-8]</sup>和过氧化值(POV)<sup>[9]</sup>是近年测定油脂氧化程度的常用方法指标,反应过程中丙二醛(MDA)和过氧化物含量越低,代表油脂品质越好。

中药挥发油不稳定,易氧化,难贮存。目前,很多中药制剂都选择将挥发油直接加入或喷入半成品颗粒中,分装或压片,这种处理方法使挥发油在贮存中极易氧化散失<sup>[10]</sup>。近年来,虽然很多制剂选择用 $\beta$ -环糊精包合挥发油,但挥发油包合物的溶出度及稳定性、包合技术规律等存在诸多问题<sup>[11]</sup>。张建林等<sup>[12]</sup>指出,尽管环糊精包合可增加挥发油的稳定性,但这会对挥发油的透皮性能造成一定影响,延迟了挥发油的释放。吴叶鸣等<sup>[13]</sup>研究发现,在溶液或凝胶剂中,制成环糊精包合物不利于当归挥发油的透皮吸收。刘晓芬等<sup>[14]</sup>研究发现,高温环境下川芎挥发油中烯萜类成分变化最为明显,种类先增加后减少。李希等<sup>[15]</sup>也指出,虽然越来越多的中药制剂采用 $\beta$ -环糊精包合等方法增加挥发油的稳定性,取得了较好的效果,但目前中药制剂成品的质量标准中却很少检查挥发油的含量,稳定性试验中也很少考察挥发油的稳定性。因此,在不影响挥发油的释放及透皮吸收、提高其在制剂中的稳定性、确保药物的疗效等的前提下,研究挥发油的氧化规律并寻找一种稳定有效的方法对挥发油的使用有着至关重要的意义。

目前,关于挥发油稳定性的研究大多关注挥发油对其他物质的稳定作用,对挥发油本身的稳定性研究较少。本实验以小茴香为研究对象,以加速氧化环境中小茴香挥发油的 TBARS 值和 POV 的总评“归一值”为响应值,筛选小茴香挥发油成分变化最剧烈的氧化环境,并以加速氧化环境为条件筛选对挥发油稳定性改善明显的抗氧化剂种类及其浓度,旨在寻找一种更加安全有效的提高挥发油稳定性的方法,为提高挥发油稳定性并扩大其用药范围提供参考。

## 1 材料

MH-3000 型调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司),AL204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],7890B/5977B 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),UV-2100 型紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器有限公司)。

乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na,天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号 20171023,纯度 $\geq 99\%$ ),三氯乙酸(上海山浦化工有限公司,批号 20170418),硫酸亚铁(天津市天力化学试剂有限公司,批号 20180208),2-硫代巴比妥酸(TBA,上海科丰实业有限公司,批号 20170921),1,1,3,3-四乙氧基丙烷(上海麦克林生化科技有限公司,批号 C10050555,纯度 $\geq 97\%$ ),2,6-二叔丁基对甲酚(BHT,国药集团化学试剂有限公司,批号 20140918);偶氮脒类引发剂 V50(AAPH),没食子酸丙酯,没食子酸辛酯,麝香草酚,维生素 E,丁香酚和抗坏血酸棕榈酸酯(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 D05J8Y28107, C2608C46538, J19M7R14871, B20J9C53345, J11N8R47903, B19M9C56191, J09F6R1, 纯度依次为 $\geq 98\%$ ,  $\geq 98\%$ ,  $\geq 98\%$ ,  $\geq 99\%$ ,  $\geq 98\%$ ,  $\geq 98.5\%$ ,  $\geq 95\%$ ),

水为蒸馏水,其余试剂均为分析纯。小茴香市售药材购自陕西兴盛德药业有限责任公司,经陕西中医药大学颜永刚教授鉴定为伞形科植物茴香 *Foeniculum vulgare* 的干燥成熟果实。

## 2 方法

采用水蒸气蒸馏法提取小茴香挥发油,利用 GC-MS 分析小茴香挥发油成分。以温度, AAPH 和  $Fe^{2+}$  的质量浓度为考察因素,设置高、中、低3个水平(水平值分别为 -1, 0, 1),以氧化干预后小茴香挥发油中硫代巴比妥酸反应物(TBARS)值和过氧化值(POV)的总评“归一值”(OD)为响应值,利用响应面法筛选氧化环境。小茴香挥发油经筛选得到的氧化环境干预后,测定其 TBARS 值和 POV 变化情况,并通过 GC-MS 考察挥发油成分变化规律,进一步筛选抗氧化剂种类及浓度。

### 2.1 响应面法筛选氧化环境

**2.1.1 小茴香挥发油的提取**<sup>[16]</sup> 称取小茴香药材 280.05 g,适当粉碎(过一号筛),置于 3 L 圆底烧瓶中,加 10 倍量水提取 6 h,收集挥发油,于 4 °C 避光保存备用。

**2.1.2 试验设计** 根据 Box-Behnken 响应面法设计原理<sup>[17]</sup>,以 TBARS 值和 POV 的 OD 为响应值,对温度, AAPH 和  $Fe^{2+}$  的质量浓度进行考察,设计 17 个试验点的响应面分析试验,筛选小茴香挥发油成分变化最剧烈的氧化环境。为验证试验结果与模型符合与否,通过 3 个平行试验对筛选出的氧化环境模型进行验证。

**2.1.3 TBARS 值的测定**<sup>[18]</sup> 精密称取 1,1,3,3-四乙氧基丙烷 0.315 g,置于 1 L 量瓶中,加水稀释并定容至刻度,得  $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  丙二醛母液,备用。分别精密移取该母液 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3 mL 至 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,得质量浓度分别为 0, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0, 2.0, 3.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的系列溶液。吸取上述溶液各 5.0 mL,加入  $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  TBA 溶液 5 mL,混匀,于 90 °C 水浴加热 40 min,取出,冷却 1 h,加入三氯甲烷 5 mL,摇匀,静置 1 h,取上清液于 532 nm 处测定吸光度  $A$ ,以质量浓度为横坐标,  $A$  为纵坐标,得回归方程  $Y = 0.094X - 0.0045 (R^2 = 0.9938)$ 。按试验设计的方案制备样品,分别取挥发油样品各 200  $\mu\text{L}$  于 10 mL 量瓶中,用三氯乙酸(TCA)溶液(取 TCA 75 g 及 EDTA-2Na 1 g,加水溶解并稀释至 1 L)稀释并定容至刻度,超声 10 min,过滤,取续滤液 5.0 mL 于锥形瓶中,加入  $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  TBA 溶液 5 mL,于 90 °C 水

浴加热 40 min,取出冷却 1 h,加入三氯甲烷 5 mL,充分振摇,静置 1 h,取上清液,于 532 nm 处测定  $A$ 。

**2.1.4 POV 的测定**<sup>[19-20]</sup> 精密称取硫酸亚铁 18.3 mg,置于 1 L 量瓶中,加水定容至刻度线,得  $0.01\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  标准铁溶液,备用。精密移取该标准铁溶液 0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL,分别置于干燥的 10 mL 量瓶中,用三氯甲烷-甲醇(7:3)混合液定容至刻度,混匀。加入氯化亚铁和和硫氰酸铵试液各 1 滴,室温下静置 10 min,于 500 nm 处测定  $A$ ,以质量浓度为横坐标,  $A$  为纵坐标,得回归方程  $Y = 48.254X - 1.3085 (R^2 = 0.9998)$ 。精密移取挥发油样品各 200  $\mu\text{L}$ ,置于干燥的 10 mL 量瓶中,加三氯甲烷-甲醇(7:3)混合液稀释并定容。精密量取 1 mL 至试管中,加入氯化亚铁和和硫氰酸铵试液各 1 滴,放置反应 2 h,于 500 nm 处测定  $A$ 。

**2.2 抗氧化剂对氧化环境中挥发油 TBARS 值和 POV 的影响** 分别精密移取小茴香挥发油 200  $\mu\text{L}$  于 9 个离心管中,编号 1~9(1 号为空白挥发油组,2 号为不加抗氧剂的氧化组,3~9 号为加不同抗氧剂的氧化组),于 2~9 号离心管中加入  $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  AAPH 和  $20.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $Fe^{2+}$  溶液各 200  $\mu\text{L}$ ,于 3~9 号离心管中分别加入麝香草酚、没食子酸辛酯、没食子酸丙酯和 2,6-二叔丁基对甲酚、抗坏血酸棕榈酸酯、丁香酚、维生素 E 各 0.4 mol,用甲醇将 1~9 号离心管液体补足至 1.4 mL,混匀,将 2~9 号离心管置于 42.5 °C 水浴加热 4 h。分别按 2.1.3 和 2.1.4 项下方法测定样品中 TBARS 值和 POV。

### 2.3 不同抗氧化剂浓度对挥发油成分的影响

**2.3.1 GC-MS 条件** HP-5 毛细管色谱柱(0.25 mm  $\times$  30 m, 0.1  $\mu\text{m}$ , 弱极性),载气 99.999% 氦气,初始温度 50 °C(保持时间 3 min),以  $3\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  的速率升温至 100 °C,保持 2 min;以  $4\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  的速率升温至 140 °C,保持 2 min;以  $3\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  的速率升温至 185 °C,保持 3 min;以  $30\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  的速率升温至 230 °C,保持 2 min。分流比 5:1,流速  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。离子源为电子轰击离子源(EI),离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,扫描范围  $m/z$  35~500,溶剂延迟 3 min。

**2.3.2 供试品溶液的制备** 分别精密移取小茴香挥发油 200  $\mu\text{L}$  于 7 个离心管中,编号 1~7(1 号为空白挥发油组,2 号为不加抗氧剂的氧化组,3~7 号为加不同浓度抗氧剂的氧化组),于 2~7 号离心管中加入  $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  AAPH 和  $20.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $Fe^{2+}$  溶液各 200  $\mu\text{L}$ ,于 3~7 号离心管中分别加入浓度为 0.1,

0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mol · L<sup>-1</sup> 抗坏血酸棕榈酸酯 800 μL, 各离心管分别加甲醇补足至 1.4 mL, 混匀, 并将 2~7 号离心管置于 42.5 °C 水浴加热 4 h。分别按 2.1.3 和 2.1.4 项下方法测定 TBARS 值和 POV。

**2.3.3 小茴香挥发油的成分分析** 按 2.3.1 项下色谱条件测定 2.3.2 项下各供试品溶液中挥发油成分, 记录并分析数据。

### 3 结果

**3.1 模型拟合** 按照 Box-Behnken 设计要求, 实验模型通过最小二乘法拟合, 得二次多项式方程  $OD = 0.378 + 0.122 5A - 0.188 8B - 0.056 3C - 0.007 5AB - 0.052 5AC + 0.015BC + 0.111A^2 - 0.016 5B^2 - 0.171 5C^2$  ( $R^2 = 0.929 1, P = 0.002 9$ , 失拟度  $P = 0.576 3 > 0.05$ ), 结果发现该模型预测值与实测值之间具有较高的相关性, 且模型失拟度没有显著性差异, 说明该方程能够反映实际情况。

**3.2 数据处理** 采用 Design-Expert 11 软件对数据进行分析, 利用 Hassan 方法<sup>[21-22]</sup> 对 TBARS 值 ( $Y_1$ ) 和 POV ( $Y_2$ ) 进行数学转换, 以 OD 作为最终的评价指标。“归一值”计算公式为  $d_i = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min})$ , OD 计算公式为  $OD = (d_1 d_2 \dots d_k)^{1/k}$  ( $k$  为指标数), 试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。结果显示模型  $F = 10.19, P = 0.002 9$ , 表明该模型影响显著, 对数据能很好的拟合, 实验方法可靠。模型失拟 ( $P = 0.576 3$ ) 不显著, 说明模型可以用于实际值的预测。

**3.3 效应曲面分析** 根据二次多项式模型方程拟合结果, 绘制 OD 的效应曲面图, 见图 1。根据效应面预测因素  $A, B, C$  较佳范围分别为 40~45 °C, 0~2 g · L<sup>-1</sup>, 0~0.417 g · L<sup>-1</sup>。以 OD 对最佳氧化环境进行预测, 结果  $A = 42.5$  °C,  $B = 1$  g · L<sup>-1</sup>,  $C = 20.85$  mg · L<sup>-1</sup>, 计算  $OD = 0.44$ 。精密量取小茴香挥发油 200 μL, 按优选的工艺条件进行 3 次验证试验, 结果计算 TBARS 值和 POV 的平均值分别为 0.06, 18.67 mg · L<sup>-1</sup>, 与模型预测值较为接近, 说明该模型较为稳定可靠。

**3.4 不同抗氧化剂对小茴香挥发油中 POV 及 TBARS 值的影响** 与空白挥发油组及氧化组样品比较, 结果发现抗坏血酸棕榈酸酯对小茴香挥发油的 TBARS 值及 POV 降低效果最明显, 可初步判断其对小茴香挥发油稳定性有改善效果, 见表 3。

**3.5 小茴香挥发油成分分析** 小茴香挥发油成分的 GC-MS 总离子流图见图 2。结果表明在该色谱

表 1 小茴香挥发油加速氧化环境筛选的 Box-Behnken 试验分析  
Table 1 Box-Behnken experimental analysis on screening accelerated oxidation environment for volatile oil in Foeniculi Fructus

No.	A 温度 /°C	B AAPH 质量浓度 /g · L <sup>-1</sup>	C Fe <sup>2+</sup> 质量浓度 /g · L <sup>-1</sup>	TBARS 值 (Y <sub>1</sub> ) /mg · L <sup>-1</sup>	POV (Y <sub>2</sub> ) /mg · L <sup>-1</sup>	OD
1	35	5	0.278	0.030 3	23.049 2	0.25
2	45	5	0.556	0.050 5	9.416 6	0.31
3	45	10	0.278	0.043 5	13.964 0	0.38
4	45	0	0.278	0.075 7	16.907 6	0.77
5	35	5	0.278	0.035 1	23.918 4	0.40
6	35	10	0.556	0.053 2	5.709 5	0
7	25	5	0.556	0.052 4	6.285 7	0.13
8	25	10	0.278	0.032 0	12.629 1	0.19
9	35	0	0.556	0.037 3	16.571 4	0.35
10	25	5	0	0.032 5	13.834 3	0.22
11	25	0	0.278	0.041 9	24.821 1	0.55
12	35	5	0.278	0.037 9	16.869 2	0.36
13	35	5	0.278	0.051 3	14.833 1	0.49
14	35	5	0.278	0.042 4	15.150 1	0.39
15	45	5	0	0.046 7	23.395 0	0.61
16	35	0	0	0.037 5	20.633 9	0.41
17	35	10	0	0.027 1	14.074 4	0

表 2 回归方程的方差分析  
Table 2 Analysis of variance of regression equation

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	0.611 9	9	0.068 0	10.190 0	0.002 9
A	0.120 0	1	0.120 0	17.990 0	0.003 8
B	0.285 0	1	0.285 0	42.720 0	0.000 3
C	0.025 3	1	0.025 3	3.790 0	0.092 5
AB	0.000 2	1	0.000 2	0.033 7	0.859 5
AC	0.011 0	1	0.011 0	1.650 0	0.239 5
BC	0.000 9	1	0.000 9	0.134 9	0.724 3
A <sup>2</sup>	0.051 9	1	0.051 9	7.780 0	0.027 0
B <sup>2</sup>	0.001 1	1	0.001 1	0.171 8	0.690 9
C <sup>2</sup>	0.123 8	1	0.123 8	18.560 0	0.003 5
残差	0.046 7	7	0.006 7		
失拟项	0.016 8	3	0.005 6	0.750 8	0.576 3
绝对误差	0.029 9	4	0.007 5		
总和	0.658 6	16			

条件下, 各成分可得到基本分离, 可满足后续定性及定量研究的要求。调用 NIST 14. L 数据库, 解析

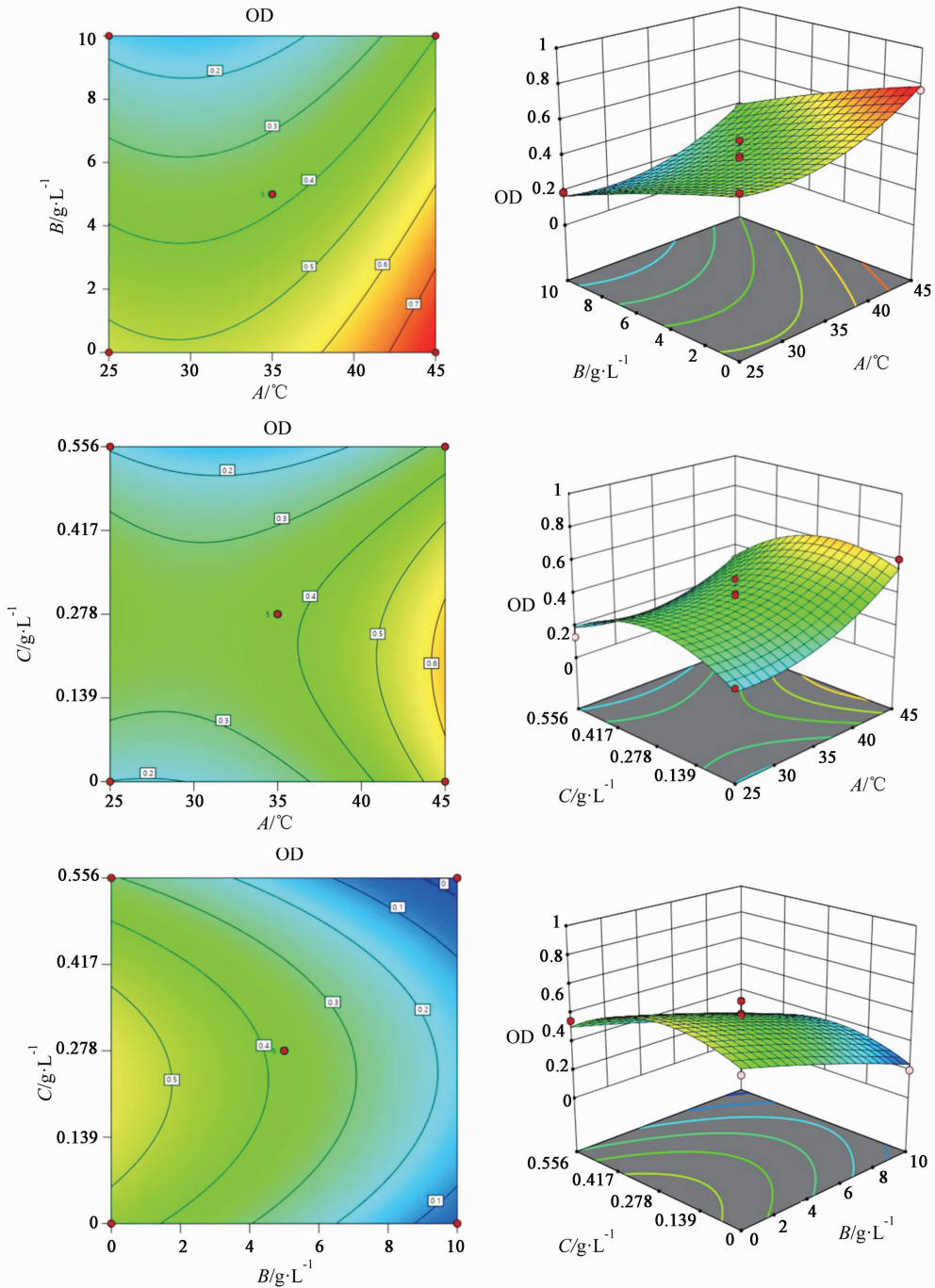


图 1 各因素对小茴香挥发油氧化干预后 OD 影响的等高线和响应面

Fig.1 Response surfaces and contours of effect of each factor on OD after oxidative intervention of volatile oil in Foeniculi Fructus

总离子流图, 整理后共得到小茴香芳香性成分 12 个, 见表 4。

**3.6 不同浓度抗氧化剂对小茴香挥发油稳定性的影响** 绘制不同干预条件下小茴香挥发油成分特征图谱, 见图 3, 结果发现特征成分分为五类: ①茴香脑; ②草蒿脑; ③(*R*)-(+)-柠檬烯; ④顺式茴香醚; ⑤其他类成分。以干预因素聚类分析结果可知, A, B, C 组各成分峰面积相似度较高, 被聚为一类, 提

示浓度为 0.2, 0.8 mol·L<sup>-1</sup> 的抗坏血酸棕榈酸酯对小茴香挥发油稳定性改善效果最佳。图 3 中每个格子表示 1 个成分, 其颜色由红到黄依次渐变表示成分峰面积由小到大, 对比 A 组和 E 组可知, 挥发性成分经氧化干预后, 除蒎烯和 1,3,3-三甲基-二环[2.2.1]庚-2-酮含量有明显的上升趋势之外, 其余成分均呈降低趋势。对比氧化后的挥发油经不同浓度抗坏血酸棕榈酸酯干预后特征成分变化率, 结果

表 3 不同抗氧化剂对小茴香挥发油 TBARS 值和 POV 的影响

Table 3 Effect of different antioxidants on TBARS value and POV of volatile oil in Foeniculi Fructus

样品	TBARS 值	POV
空白挥发油	0.004 9	36.215 2
氧化组(未加抗氧化剂)	0.029 4	17.074 1
麝香草酚	0.086 9	13.002 9
没食子酸辛酯	0.053 6	29.168 7
没食子酸丙酯	0.999 6	95.235 6
2,6-二叔丁基对甲酚	0.061 3	11.996 1
抗坏血酸棕榈酸酯	0.023 4	11.213 2
丁香酚	0.027 8	15.905 2
维生素 E	0.069 8	12.746 2

表 4 小茴香挥发性成分的鉴定

Table 4 Identification of volatile compounds in Foeniculi Fructus

No.	成分名称	分子式	相对分子质量/Da	CAS 号
1	左旋- $\alpha$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	007785-26-4
2	桉烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	003387-41-5
3	月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	000123-35-3
4	$\alpha$ -水芹烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	000099-83-2
5	4-萹烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	029050-33-7
6	(R)-(+) -柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	005989-27-5
7	(E)-罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	003779-61-1
8	萹品烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.125	000099-85-4
9	$\beta$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.230	000127-91-3
10	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.230	007785-70-8
11	草蒿脑	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148.089	000140-67-0
12	茴香脑	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148.089	000104-46-1
13	顺式茴香醚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148.220	025679-28-1
14	1,3,3-三甲基-二 环[2.2.1]庚-2-酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.120	001195-79-5

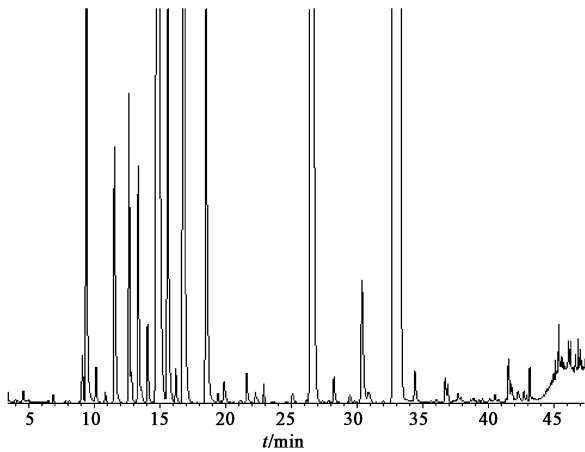


图 2 小茴香挥发油的 GC-MS 总离子流

Fig. 2 Total ions chromatogram of volatile oil in Foeniculi Fructus by GC-MS

表明与 A 组相比, B 组和 C 组经氧化干预后特征成分的降低趋势均得到了有效抑制, 进一步提示 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 和 0.8 mol·L<sup>-1</sup> 的抗坏血酸棕榈酸酯均能有效抑制茴香脑、草蒿脑和 (R)-(+) -柠檬烯 3 种主要成分经氧化环境干预后的降低趋势, 见表 5。

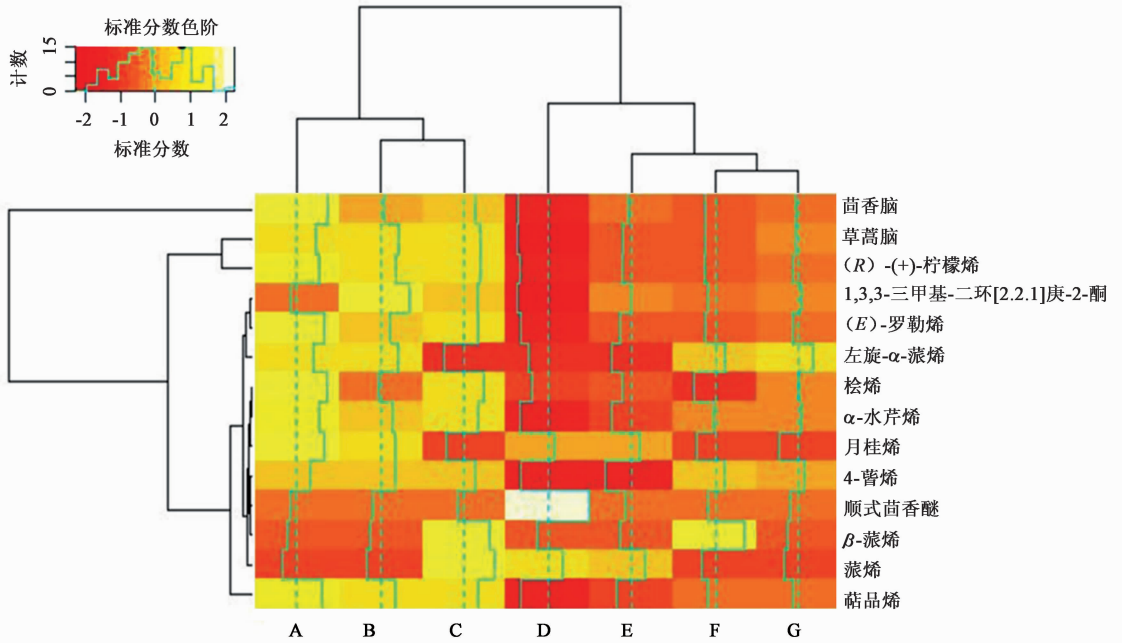
#### 4 讨论

芳香性药物在我国使用已有几千年, 早在殷商甲骨文中就有熏燎、艾蒸和酿制香酒的记载<sup>[23]</sup>。中药挥发油是芳香性药物的特色表现性形式, 具有较强的抗菌、抗病毒、抗炎等生理活性。含有中药挥发油的经典方剂广泛用于各种疼痛(头、背、肩、腰等)和安神、醒脑等方面<sup>[24]</sup>。焦姣姣等<sup>[25]</sup>以 2015 年版《中国药典》(一部)为资料来源, 统计了含挥发油类中药品种, 多达 196 种。王赛君等<sup>[26]</sup>以《国家新编中成药》第 2 版数据库为资料来源, 统计了以挥发油入药的中成药, 多达 266 种, 其中片剂、液体制剂、

贴膏剂占比高达 43.61%。

中药挥发油在高温、氧气、光照等条件下化学性质不稳定, 活性组分会快速挥发、降解和氧化<sup>[27]</sup>。很多研究都报道了中药挥发油的不稳定现象, 朱林等<sup>[28]</sup>研究发现温度对川芎挥发油中藁本内酯的降解起主要催化作用。曾家豫等<sup>[29]</sup>在考察 Na<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup> 对孜然挥发油稳定性影响时发现, Fe<sup>3+</sup> 对挥发油的稳定性影响最大。邹俊波等<sup>[30]</sup>通过考察水蒸气蒸馏法提取挥发油的动力学过程, 从化学角度探讨了挥发油乳化的形成机制, 旨在解决挥发油提取过程中“乳化”这一不稳定现象。本实验进一步就挥发油贮藏和使用过程中的不稳定性进行研究, 旨在寻找一种可有效提高挥发油稳定性的方法。

本文运用水蒸气蒸馏法提取小茴香挥发油, 是工业大生产中挥发油的常用提取方法, 提取效率高且方法简便经济<sup>[31-32]</sup>。利用 Box-Behnken 设计实验, 结合 GC-MS 分析, 充分考虑温度, Fe<sup>2+</sup> 和 AAPH 的质量浓度等氧化因素对小茴香挥发油氧化程度 (TBARS 值及 POV 的 OD) 的影响, 模型拟合显示拟合情况良好 (P = 0.002 9, 失拟项 P = 0.576 3), 能较好地解释不同氧化条件下挥发油中氧化产物的变化, 为后续的抗氧化剂筛选提供了研究基础。验证实验结果与模型值非常接近, 表明响应面法用于筛选小茴香加速氧化环境具有一定的可行性。GC-MS



A. 空白挥发油组; B.  $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸棕榈酸酯组; C.  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸棕榈酸酯组; D.  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸棕榈酸酯组; E. 验证试验组 (取平均值); F.  $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸棕榈酸酯组; G.  $0.4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸棕榈酸酯组 (表 5 同)

图 3 不同干预条件下小茴香挥发性成分特征图谱的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of specific chromatogram of volatile compounds in Foeniculi Fructus under different intervention conditions

表 5 不同浓度抗坏血酸棕榈酸酯干预后小茴香挥发性特征成分的变化率

Table 5 Change rates of volatile characteristic components in Foeniculi Fructus after intervention with different concentrations of ascorbyl palmitate %

组别	成分		
	(R)-(+)-柠檬烯	草蒿脑	茴香脑
A	0	0	0
B	-2.96	-0.20	-7.87
C	-2.63	-0.74	-5.74
D	-20.89	-13.52	-17.70
E	-13.32	-7.42	-10.10
F	-13.51	-7.78	-11.77
G	-11.29	-5.69	-9.89

分析结果显示,本实验测得的小茴香挥发性成分均属于萜类化合物,在氧化环境中其含量发生明显变化。实验进一步筛选了抗氧化剂种类和浓度,结果表明浓度为  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的抗坏血酸棕榈酸酯均能有效抑制小茴香挥发油主要特征成分含量降低的趋势,这也与文献报道的抗坏血酸棕榈酸酯对脂质等具有良好的抗氧化效果一致<sup>[33]</sup>。但考虑到不同浓度抗坏血酸棕榈酸酯对不同特征成分含量减少的抑制趋势有所不同,因此在选择加入时

应该根据药物的起效物质基础不同而选择不同的浓度。

目前,很多研究都选择以包合方式来增加挥发油的稳定性,但包合作用多在于保证挥发油“量”的不散失,挥发油在包合物内部是否也会发生较剧烈的氧化降解反应,关于挥发油在包合物内部的“质”的研究很少。很多中药制剂都选择以添加辅料的方式来提高制剂的稳定性,例如注射剂中为了防止主药氧化产生不稳定现象所添加的 BHT 和维生素 E 等。本研究选择为挥发油添加辅料这种思路,探寻一种可避免挥发油因被包合而产生的影响其释放、透皮吸收等方法,可为挥发油的稳定性研究及其应用提供借鉴,但挥发油加入抗氧化剂后,是否会对其药理活性等产生影响还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:47-48.  
 [2] 王婷,苗明三,苗艳艳. 小茴香的化学、药理及临床应用[J]. 中医学报,2015,30(6):856-858.  
 [3] 高莉,斯拉甫·艾白,韩阳花. 小茴香挥发油化学成分及抑菌作用的研究[J]. 中国民族医药杂志,2007,13(12):67-68.  
 [4] 谢敏华,陈丽. 小茴香抗菌与抗氧化作用研究进展

- [J]. 中国调味品, 2012, 37(10): 15-17.
- [5] 张禄捷, 刘韬, 李荣, 等. 天然调味香料小茴香挥发油的研究进展[J]. 中国调味品, 2015, 40(3): 117-120.
- [6] 陈雯雯, 云琦, 陶亮, 等. 小茴香挥发油贴剂的处方前研究[J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(2): 189-192.
- [7] Kanatt S R, Chander R, Sharma A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat[J]. Food Chem, 2007, 100(3): 451-458.
- [8] 易志, 吴雪辉, 沈冰, 等. 温度及光照对亚麻籽油贮藏稳定性影响研究[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(6): 17-21.
- [9] 秦亚南, 王玲, 谢远东, 等. 葡萄籽油的氧化稳定性[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(11): 95-100.
- [10] 孙光文. 中药挥发油 $\beta$ -CD包合物的研究近况[C]//中国药学会. 第七届全国中药和天然药物学术研讨会论文集: 2003年卷. 北京: 出版社不详, 2003: 240-241.
- [11] 郝晶晶, 李海亮, 龚慕辛. 挥发油环糊精包合技术的研究进展及存在问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 352-356.
- [12] 张建林, 陶玲, 管咏梅, 等. 中药挥发油的促透皮吸收作用及在外用制剂研究中的问题分析[J]. 中草药, 2017, 48(24): 5263-5269.
- [13] 吴叶鸣, 陈军, 刘培, 等. 羟丙基- $\beta$ -环糊精包合对当归挥发油透皮吸收的影响[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2636-2641.
- [14] 刘晓芬, 胡明勋, 张颖, 等. 高温环境对川芎挥发油化学成分的影响研究[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(17): 30-34.
- [15] 李希, 谢守德, 吕琳, 等. 中药挥发油提取中存在的问题及解决办法[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(3): 179-180.
- [16] 夏必帮, 鲁韦韦, 李蕤. 桂花精油提取工艺及其抗氧化性的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(1): 49-52.
- [17] Agnes D F T, Grassmann R G, Alves C I. The use of factorial design to evaluate the oxidation of oils containing different types of omega-3 fatty acids[J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(7): 2518-2529.
- [18] 盖庆岩. 香鳞毛蕨精油的高效提取及其对油脂氧化稳定性的作用[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014.
- [19] 周德红, 郑为完, 吴娇, 等. 月见草油粉末油脂及月见草油的过氧化值在贮存期间的变化[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(12): 19-21.
- [20] 王青, 孙金月, 郭淑, 等. 7种特种油脂的脂肪酸组成及抗氧化性能[J]. 中国油脂, 2017, 42(6): 125-128.
- [21] 杨秀梅, 黄勤挽, 欧小群, 等. 星点设计-效应面法优化加味圣愈凝胶膏剂的基质处方[J]. 中药与临床, 2015, 6(3): 18-21.
- [22] 叶玉杰, 舒翔, 刘敏, 等. 星点设计-效应面法优选贝马喷膜剂的制剂处方[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(11): 878-880, 902.
- [23] 杜建. 芳香疗法源流与发展[J]. 中国医药学报, 2003, 18(8): 454-456, 512.
- [24] 王雅琪, 杨园珍, 伍振峰, 等. 中药挥发油传统功效与现代研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(2): 455-461.
- [25] 焦姣姣, 王雅琪, 熊优, 等. 2015年版《中国药典》一部含挥发油类中药的分类及其质量影响因素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(9): 197-206.
- [26] 王赛君, 伍振峰, 杨明, 等. 挥发油在中成药数据库中的应用特点与现状分析[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3379-3383.
- [27] 杨波, 周阳, 王福玲, 等. 纳米载药系统在中药挥发油中的研究进展[J]. 药学研究, 2018, 37(1): 46-49.
- [28] 朱林, 彭国平, 李存玉, 等. 川芎挥发油中内酯类成分的稳定性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20): 14-17.
- [29] 曾家豫, 高亚娟, 张继, 等. 孜然挥发油稳定性的研究[J]. 食品科技, 2008, 33(3): 104-107.
- [30] 邹俊波, 张小飞, 邵佳, 等. 水蒸气蒸馏法提取小茴香挥发油类成分的提取动力学研究[J]. 中草药, 2018, 49(12): 2855-2865.
- [31] 曾照亿, 刘佳, 肖芳, 等. 挥发油3种加入方式对止痛凝胶贴膏剂基质及体外释放度的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15): 20-25.
- [32] 姚俊宏, 蒋秋冬, 陈军, 等. 21种辛味中药挥发油透皮促渗效果的药性规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 1-7.
- [33] Let M B, Jacobsen C, Meyer A S. Ascorbyl palmitate, gamma-tocopherol, and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(6): 2369-2375.

[责任编辑 刘德文]