

胶体磨法包合连翘、薄荷混合挥发油的工艺优化研究

米慧娟^{1,2}, 王永香^{1,2}, 罗勇¹, 张传力^{1,2}, 孟瑾^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 优选胶体磨法制备连翘薄荷油-β-环糊精(β-CD)包合物的最佳工艺。方法 以包合物得率和包合率为评价指标, 采用单因素试验结合 Box-Behnken 响应面法, 考察 β-CD 与水的比例、连翘薄荷油与 β-CD 的投料比和包合时间对包合工艺的影响; 通过薄层色谱法、红外光谱法和显微影像初步验证连翘薄荷油-β-CD 包合物是否形成。结果 β-CD 包合连翘薄荷油的最佳工艺为 β-CD 与水的比例为 1:3, 连翘薄荷油与 β-CD 的比例为 1:9, 包合时间为 25 min。通过薄层色谱法、红外光谱法和显微影像初步证明了连翘薄荷油包合物的生成。结论 胶体磨法包合连翘薄荷油合理可行。

关键词: 连翘、薄荷混合挥发油; 包合工艺; 胶体磨; 响应面优化

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)04-0520-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.011

Optimization of inclusion process of mixed volatile oil of forsythia oil and peppermint oil by colloid mill method

MI Hui-juan^{1,2}, WANG Yong-xiang^{1,2}, LUO Yong¹, ZHANG Chuan-li^{1,2}, MENG Jin^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-Tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To optimize the preparation of β-cyclodextrin (β-CD) inclusion compound of forsythia oil and peppermint oil using the colloid mill method. **Methods** With recovery ratio and inclusion rate of volatile oil-β-CD as evaluation indexes, the single factor test combining Box-Behnken response surface methodology was used to study the effects of β-CD-pure water ratio, β-CD-volatile oil ratio, and inclusion time on the inclusion process of volatile oil. Using TLC, IR spectrum, and microscopic image, the inclusion complexes were confirmed. **Results** The optimum preparation conditions of inclusion compound were as follows: β-CD-pure water ratio was 1:3, mixture of forsythia oil and peppermint oil-β-CD ratio was 1:9, and the inclusion time was 25 min. The formation of inclusion complex was preliminary proved by TLC, IR spectrum, and microscopic image. **Conclusion** The method is reasonable and feasible.

Key words: mixed volatile oil of forsythia oil and peppermint oil; inclusion process; colloid mill; response surface optimization

连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实, 含有丰富的挥发油, 平均达 3.8%^[1], 药理研究表明连翘油具有抑菌、抗炎、解热等药理作用^[1-2]。薄荷油是薄荷的主要药效成分, 是从唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的新鲜茎叶中经蒸馏等方法得到的芳香油, 具有清凉止痒、提神、解痉、祛风、抗炎镇痛等药理作用^[3-4]。多种清热解毒药(如银翘合剂等)中均含有

连翘油和薄荷油^[5]。由于挥发油具有易挥发、水溶性差和对胃肠道黏膜的刺激性, 为了降低其挥发性、增大水溶性、提高稳定性, 多将其制备成 β-环状糊精(β-CD)包合物。有关连翘油和薄荷油的包合工艺, 文献报道较多, 但连翘薄荷混合挥发油的包合工艺研究未见报道。由于胶体磨包合挥发油具有包合温度低、时间短、包合率高、产量高、适合工业化生产等优点^[6], 为了提高包合物得率和包合率,

收稿日期: 2014-08-05

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

作者简介: 米慧娟(1987—), 女, 江苏连云港人, 硕士, 主要从事中药新药研究及制药新技术研究。

Tel: 15161301151 E-mail: mihuijuan87@163.com

*通信作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)81152337 E-mail: wzzh-nj@163.net

本实验选用胶体磨法，以包含率和包合物得率为评价指标，采用单因素试验结合 Box-Behnken 响应面法，对影响包合的主要因素进行考察，以期得到包含率高且包合物得率高的最佳包含工艺。

1 仪器与材料

AWS (SA) 型电子称，上海英展机电企业有限公司；TQ 直筒式多能提取罐，温州市森博轻工机械有限公司；EMS-9F 型加热磁力搅拌器，天津市欧诺仪器仪表有限公司；J4W-L60 型多功能胶体磨，温州昊星机械设备制造有限公司；CT-C-I 型热风循环烘箱，江阴市苏新干燥设备有限公司；PTHW 型调温电热套，上海耀裕仪器设备有限公司；YP-2 型压片机，上海山岳科学仪器有限公司；傅里叶变换红外分光光度计，美国 Thermo 公司。

连翘，产于山西省，经江苏康缘药业股份有限公司吴舟主管药师鉴定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实；薄荷，产于江苏省，经江苏康缘药业股份有限公司吴舟主管药师鉴定为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分；连翘薄荷油，江苏康缘药业股份有限公司，批号 110501；β-CD，曲阜天利药用辅料有限公司，批号 F1205021；其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 连翘薄荷油的制备

根据连翘薄荷油提取工艺考察结果，取连翘 90 kg，薄荷 54 kg，投入多能提取罐中，加入 10 倍量纯化水，蒸汽加热，回流提取 3 h，得连翘薄荷油 2.475 L，连翘薄荷油得率为 1.72%。连翘薄荷油置于 4 °C 中贮存，备用。

2.2 包合物的制备方法和包含工艺评价指标测定

按试验设计，取实验量纯化水和 β-CD，于 1 000 r/min 下搅拌 10 min 使其混匀，继续搅拌同时缓慢滴加连翘薄荷油，搅拌 5 min 使其混匀后倒入胶体磨（功率 11 kW，乳化细度 2~50 μm）中进行挤压包含，一定时间后，放出包合物，40 °C 常压干燥 16 h，粉碎，称定质量，得连翘薄荷油-β-CD 包合物。按下式计算包合物得率。

包合物得率 = 包合物质量 / (β-CD 投入量 + 挥发油投入量)

取连翘薄荷油-β-CD 包合物，用适量石油醚淋洗包合物表面未包含挥发油，于常压下干燥，称定质量，得淋洗后包合物。取 100 g 淋洗后包合物置

于圆底烧瓶中，加适量纯化水，连接挥发油提取器，按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法项下甲法读取挥发油提取量。另精密量取连翘薄荷油 4 mL，同法操作读取连翘薄荷油回收量。按下式计算空白回收率和挥发油包含率。

空白回收率 = 回收油体积 / 加入挥发油体积

包含率 = 包合物实际收油量 / (挥发油投入量 × 空白回收率)

2.3 单因素试验设计和结果

2.3.1 β-CD 与水的比例对包含工艺的影响 按“2.2”项下包合物的制备方法，固定连翘薄荷油与 β-CD 的比例 (mL : g) 为 1 : 8，包含时间为 30 min，考察 β-CD 与水的比例 (1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5 和 1 : 6，g : mL) 对挥发油包含率 (Y₁) 和包合物得率 (Y₂) 的影响。投料量和试验结果见表 1。随着 β-CD 与水的比例的减小，Y₁ 和 Y₂ 均呈先增后减的趋势，但 Y₂ 的变化不明显。当 β-CD 与水的比例为 1 : 3 时，Y₁ 和 Y₂ 均高于其他 4 个水平。因此，选择 β-CD 与水的比例在 1 : 2~1 : 4 进行 Box-Behnken 响应面优化，以确定最优的 β-CD 与水的比例。

表 1 β-CD 与水的比例对包含工艺的影响

Table 1 Effects of β-CD-water ratio on inclusion process

β-CD-水	挥发油/mL	β-CD/g	水/L	Y ₁ /%	Y ₂ /%
1 : 2	94	750	1.5	77.85	84.04
1 : 3	63	500	1.5	80.49	85.20
1 : 4	47	375	1.5	69.96	83.60
1 : 5	38	300	1.5	62.31	82.58
1 : 6	31	250	1.5	57.03	79.92

2.3.2 连翘薄荷油与 β-CD 的投料比对包含工艺的影响 按“2.2”项下包合物的制备方法，固定 β-CD 与水的比例为 1 : 3 (g : mL)，包含时间为 30 min，考察连翘薄荷油与 β-CD 的投料比 (1 : 2、1 : 4、1 : 6、1 : 8 和 1 : 10，mL : g) 对 Y₁ 和 Y₂ 的影响。投料量和试验结果见表 2。连翘薄荷油与 β-CD 的投料比在 1 : 4~1 : 8 时，随着 β-CD 投料量的增加，Y₁ 和 Y₂ 均增加，但 Y₂ 增加幅度较小；连翘薄荷油与 β-CD 的投料比为 1 : 10 时，Y₁ 和 Y₂ 趋于平稳。因此，选择连翘薄荷油与 β-CD 的投料比为 1 : 6~1 : 10 进行 Box-Behnken 响应面优化，以确定最优的连翘薄荷油与 β-CD 的比例。

2.3.3 包含时间对包含工艺的影响 按“2.2”项下

表 2 连翘薄荷油与 β -CD 的投料比对包合工艺的影响

Table 2 Effects of peppermint oil- β -CD feed ratio on inclusion process

挥发油- β -CD	挥发油/mL	β -CD/g	水/L	Y_1 /%	Y_2 /%
1 : 2	250	500	1.5	15.62	68.23
1 : 4	125	500	1.5	35.58	75.45
1 : 6	83	500	1.5	50.99	85.34
1 : 8	62	500	1.5	82.76	89.72
1 : 10	50	500	1.5	81.03	89.43

包合物的制备方法,固定 β -CD 与水的比例为 1 : 3,连翘薄荷油与 β -CD 的比例为 1 : 8,考察包合时间(10、20、30、40、50 min)对 Y_1 和 Y_2 的影响。投料量和试验结果见表 3。随着包合时间的增加, Y_1 和 Y_2 均呈现先增加后降低的趋势;包合时间为 30 min 时,二者均高于其他 4 个试验水平。因此,选择包合时间为 20~40 min 进行 Box-Behnken 响应面优化,以确定最优的包合时间。

表 4 Box-Behnken 响应面试验设计及结果

Table 4 Design and results of Box-Behnken test design

试验号	A	B	C/min	Y_1 /%	Y_2 /%	试验号	A	B	C/min	Y_1 /%	Y_2 /%
1	1 : 3 (0)	1 : 6 (-1)	40 (1)	45.72	71.23	10	1 : 4 (1)	1 : 10 (1)	30 (0)	76.31	90.11
2	1 : 3 (0)	1 : 8 (0)	30 (0)	84.82	92.18	11	1 : 4 (1)	1 : 6 (-1)	30 (0)	39.64	74.56
3	1 : 3 (0)	1 : 10 (1)	40 (1)	65.64	89.07	12	1 : 2 (-1)	1 : 10 (1)	30 (0)	76.53	83.41
4	1 : 2 (-1)	1 : 8 (0)	20 (-1)	78.79	91.06	13	1 : 3 (0)	1 : 8 (0)	30 (0)	82.13	94.09
5	1 : 4 (1)	1 : 8 (0)	20 (-1)	78.48	90.25	14	1 : 3 (0)	1 : 8 (0)	30 (0)	85.62	96.86
6	1 : 3 (0)	1 : 10 (1)	20 (-1)	80.83	92.57	15	1 : 3 (0)	1 : 8 (0)	30 (0)	82.56	96.42
7	1 : 2 (-1)	1 : 8 (0)	40 (1)	72.84	89.55	16	1 : 2 (-1)	1 : 6 (-1)	30 (0)	37.36	76.52
8	1 : 3 (0)	1 : 8 (0)	30 (0)	84.93	95.74	17	1 : 3 (0)	1 : 6 (-1)	20 (-1)	41.23	80.26
9	1 : 4 (1)	1 : 8 (0)	40 (1)	74.54	88.24						

为了考察各影响因素及其交互作用对连翘薄荷油包合工艺的影响,利用 Design-Expert 8.0.5b 软件对表 4 的试验结果进行二次多元回归拟合, Y_1 对因素 A、B、C 的二次多项回归模型方程 $Y_1=84.01+0.43 A+16.92 B-2.57 C-0.63 AB+0.5 AC-0.492 BC-4.37 A^2-22.18 B^2-3.48 C^2$, $R^2=0.991 0$; Y_2 对因素 A、B、C 的二次多项回归模型方程 $Y_2=95.06+0.33 A+6.57 B-2.01 C+2.16 AB-0.13 AC+1.38 BC-3.71 A^2-10.20 B^2-1.58 C^2$, $R^2=0.961 0$; 这 2 个模型的 R^2 值分别为 0.991 0、0.961 0,接近 1,说明通过二次回归得到 Y_1 和 Y_2 模型与试验拟合较好。同时,响应面二次回归方程方差分析结果见表 5,结果显示 Y_1 和 Y_2 建立的回归整体模型均

表 3 包合时间对包合工艺的影响

Table 3 Effects of inclusion time on inclusion process

包合时间/min	挥发油/mL	β -CD/g	水/L	Y_1 /%	Y_2 /%
10	62	500	1.5	45.32	68.34
20	62	500	1.5	73.62	88.79
30	62	500	1.5	81.21	90.74
40	62	500	1.5	65.76	88.56
50	62	500	1.5	61.54	80.42

2.4 响应面优化 Box-Behnken 试验设计和结果

在单因素试验基础上,根据 Box-Behnken 设计原理,设计 17 个试验点(5 个零点)的响应面分析试验,分别以 β -CD 与水的比例(A)、连翘薄荷油与 β -CD 的投料比(B)、包合时间(C)为考察因素, Y_1 和 Y_2 为响应值,优化连翘薄荷油- β -CD 的包合工艺。Box-Behnken 响应面的因素水平设计见表 4,各试验水平所用水量均为 1.5 L,其他物质投料量按表 4 的配比折算,结果见表 4。

达到极显著性水平 ($P<0.01$),失拟项不显著 ($P>0.05$),因此 Y_1 和 Y_2 2 个二次模型均成立。

2.4.1 影响 Y_1 的主要因素分析 表 5 的结果显示 Y_1 回归方程的方差分析表明,B、BC、 A^2 、 B^2 项达到极显著水平 ($P<0.01$),C、 C^2 项达显著性水平 ($P<0.05$)。同时由 F 值大小可以推断,在所选择的试验范围内,3 个因素对 Y_1 影响的排序为 $B>C>A$ 。

利用 Design-Expert 8.0.5b 软件,根据拟合模型绘制不同影响因素对 Y_1 的三维曲线图(图 1),了解各因素的交互作用对 Y_1 的影响。图 1-a 显示, Y_1 随水与 β -CD 比例的增加先缓慢增加后缓慢减少,随 β -CD 投料量的增加先迅速增加后缓慢减少。图 1-b 显示, Y_1 随水与 β -CD 的比例的增加先缓慢增加

表 5 响应面二次回归方程方差分析结果

Table 5 Variance analysis of response surface quadratic regression equation

差异来源	自由度	Y ₁			Y ₂		
		平方和	F 值	P 值	平方和	F 值	P 值
模型	9	4 748.95	85.58	<0.000 1	942.73	19.17	0.000 4
A	1	1.49	0.24	0.638 3	0.86	0.16	0.703 7
B	1	2 290.29	371.44	<0.000 1	345.71	63.27	<0.000 1
C	1	52.99	8.59	0.022 0	32.20	5.89	0.045 6
AB	1	1.56	0.25	0.630 1	18.75	3.43	0.106 4
AC	1	1.01	0.16	0.697 8	0.06	0.01	0.917 8
BC	1	96.83	15.70	0.005 4	7.65	1.40	0.275 5
A ²	1	80.49	13.05	0.008 6	57.88	10.59	0.014 0
B ²	1	2 071.33	335.92	<0.000 1	438.08	80.18	<0.000 1
C ²	1	50.91	8.26	0.023 9	10.45	1.91	0.209 2
残差	7	43.16			38.25		
失拟项	3	33.43	4.58	0.087 8	23.46	2.12	0.241 0
纯误差	4	9.73			14.79		
总差	16	4 792.11			980.98		

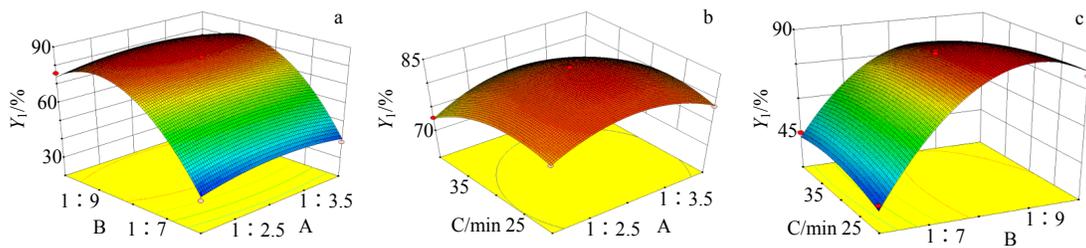


图 1 因素 A、B、C 对 Y₁ 的响应面

Fig. 1 Effect of factors A, B, and C on response value of Y₁

后缓慢减少, 随包合时间的增加先缓慢增加后缓慢减少。图 1-c 显示, Y₁ 随 β-CD 投料量的增加先迅速增加后缓慢减少, 随包合时间的增加先缓慢增加后缓慢减少。

2.4.2 影响 Y₂ 的主要因素分析 表 5 的结果显示, Y₂ 回归方程的方差分析表明, B、B² 项达极显著水平 (P<0.000 1), C、A² 项达显著性水平 (P<0.05)。同时由 F 值大小可以推断, 在所选择的试验范围内,

3 个因素对 Y₂ 影响的排序为 B>C>A。

利用 Design-Expert 8.0.5b 软件, 根据拟合模型绘制不同影响因素对 Y₂ 的三维曲线图 (图 2), 了解各因素的交互作用对 Y₂ 的影响。图 2-a 显示, Y₂ 随水与 β-CD 比例的增加先缓慢增加后缓慢减少, 随 β-CD 投料量的增加先迅速增加后迅速减少。图 2-b 显示, Y₂ 随水与 β-CD 的比例的增加先缓慢增加后缓慢减少, 随包合时间的增加呈降低趋势。图 2-c

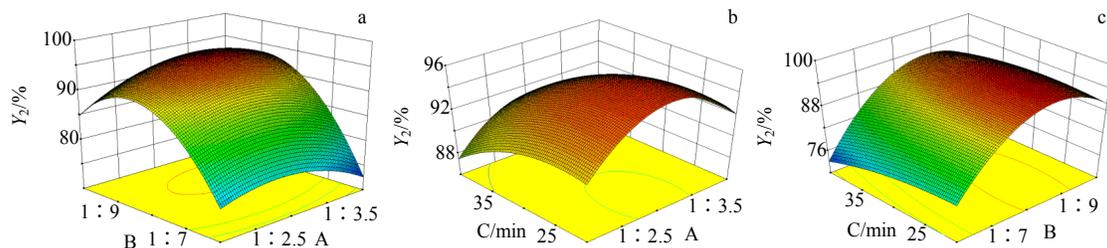


图 2 因素 A、B、C 对 Y₂ 的响应面

Fig. 2 Effect of factors A, B, and C on response value of Y₂

显示, Y_2 随 β -CD 投料量的增加先迅速增加后缓慢减少, 随包合时间的增加呈降低趋势。

2.4.3 连翘薄荷油包合工艺优化和验证 理想的连翘薄荷油- β -CD 包合工艺应在具有较高的 Y_1 的同时, 还应具有较高的 Y_2 , 同时还要考虑能耗等因素。对于多参数的优化过程应在相应的影响因素等高线图(图 1、2 底部平面图)重合区域进行考察。在上述响应面模型分析的基础上, 利用 Design-Expert 8.0.5b 软件对 Y_1 和 Y_2 2 个二次回归方程求解, 得最佳工艺条件为 β -CD 与水的比例为 1:3.10, 连翘薄荷油与 β -CD 的比例为 1:8.74, 包合时间为 24.46 min, Y_1 达 88.6%, Y_2 可达 96.5%。

为检验预测的结果, 需对预测的最佳工艺条件进行验证。为方便实际操作, 将验证条件修正为 β -CD 与水的比例为 1:3, 连翘薄荷油与 β -CD 的比例为 1:9, 包合时间为 25 min。按此工艺条件进行连翘薄荷油包合, 平行操作 3 次, 得到包合物得率依次为 91.87%、95.23%、90.36% (均值为 92.49%, RSD 为 2.7%), 包合率依次为 86.04%、88.07% 和 82.97% (均值为 85.69%, RSD 为 3.0%), 二者的实验值与与预测值比较, 偏差为 4.2% 和 3.2%。

偏差 = (实测值 - 预测值) / 预测值^[7]

2.5 连翘薄荷油包合物的 TLC 鉴别

未用石油醚洗涤的包合物作为样品 1; β -CD 的水溶液作为样品 2; 连翘薄荷油的乙醇溶液作为样品 3; 用适量石油醚 (60~90 °C) 洗涤包合物, 干燥, 取过量包合物, 加水超声溶解 20 min, 取上清液作为样品 4; 包合物 (洗涤) 中提取挥发油的乙醇溶液作为样品 5。分别取 2 μ L 上述 5 种样品液, 按从左到右的顺序点于同一硅胶 G 板上, 以石油醚 (60~90 °C) - 醋酸乙酯 (17:3) 为展开剂, 上行展开 12 cm, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛-硫酸乙醇溶液, 在 105 °C 加热至斑点清晰可见。结果如图 3 所示, 样品 1 有斑点, 说明尚有挥发油未被包合; 样品 2 和样品 4 无斑点, 说明连翘薄荷油 β -CD 包合物制备完成; 样品 3 和样品 5 在相同位置上有相同颜色的斑点, 说明包合过程未改变连翘薄荷油的化学成分。

2.6 连翘薄荷油包合物的 IR 鉴别

将 β -CD、连翘薄荷挥发油和连翘薄荷挥发油- β -CD 包合物 (经石油醚洗涤) 样品分别采用 KBr 压片法制备供试品。3 个供试品分别进行 IR 扫描, 其测定条件: 扫描范围 4 000~400 cm^{-1} , 分辨率 4

cm^{-1} , 扫描次数 30 次。测定结果见图 4。由图 4 可知, 在 3 000~2 800 cm^{-1} , β -CD 有 1 个吸收峰, 挥发油有 3 个吸收峰, 包合物 (经石油醚洗涤) 有 3 个吸收峰, 但分裂程度弱于挥发油; 在 1 800~1 600 cm^{-1} , β -CD 和挥发油均出现 1 个吸收峰, 而包合物 (经石油醚洗涤) 出现 2 个吸收峰, 强度较弱, 说明连翘薄荷挥发油- β -CD 包合物制备完成。



1 2 3 4 5

1-包合物 (未洗涤) 2- β -CD 的水溶液 3-连翘薄荷油 4-包合物 (洗涤) 5-包合物 (洗涤) 中提取的挥发油
1-inclusion (not washing) 2- β -CD aqueous solution 3-forsythia peppermint oil 4-inclusion (washing) 5-volatile oil extracted from inclusion (washing)

图 3 薄层色谱图

Fig. 3 TLC

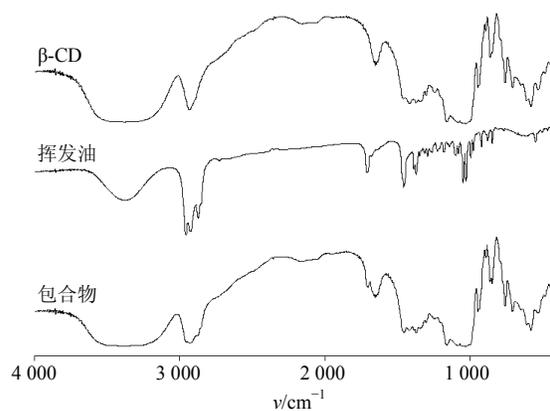


图 4 IR 扫描图

Fig. 4 IR scanning spectra

2.7 连翘薄荷油包合物的显微鉴别

将 β -CD、连翘薄荷油- β -CD 包合物、连翘薄荷油与 β -CD 的混合物用水溶解后, 取少量溶液滴到载玻片上, 盖上盖玻片于显微镜下观察其影像结果。由图 5 显微影像图观察得, β -CD 的形状为半透明条状结晶; 而连翘薄荷油和 β -CD 的混合物的影像图显示挥发油吸附于 β -CD 的表面, 粘成一团; 连翘

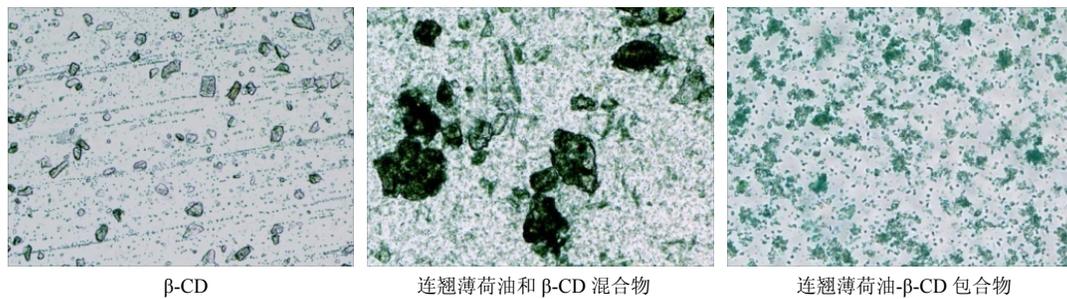


图5 显微影像图 (10×10)

Fig. 5 Microscopic images (10 × 10)

薄荷油-β-CD 包合物则为细小晶粒，呈不透明、相对分散的微细晶粒，没有明显的条块状结晶或油状物。在形成的包合物中，原来的 β-CD 半透明柱状晶体被挥发油充填，说明包合成功。三者的显微影像图显示 β-CD 与 β-CD 包合物的晶型明显不同，连翘薄荷油被 β-CD 包合成与物理混合物物相不同的包合物。

3 讨论

响应面法^[8]是采用多元非线性拟合、二项式回归分析，囊括试验设计、建模、检验模型的合适性、寻求最佳组合条件等试验和统计技术，实验精确度优于正交设计和均匀设计。本实验在单因素试验的基础上，选用 Box-Behnken 响应面法，考察 β-CD 与水的比例、连翘薄荷油与 β-CD 的投料比和包合时间对连翘薄荷油包合率的影响，结果得到，连翘、薄荷混合挥发油胶体磨包合的最佳工艺为 β-CD 与水的比例为 1 : 3，连翘薄荷油与 β-CD 的比例为 1 : 9，包合时间为 25 min。另外，本实验按响应面优化的工艺参数进行连翘薄荷油的包合，得包合物得率和包合率分别为 92.49%和 85.69%，与包合物得率的预测值 (96.5%) 和包合率的预测值 (88.6%) 的偏差较小，分别为 4.2%和 3.2%，证明响应面法拟合预测能力优异可靠，优化连翘薄荷油的包合工艺合理、可行。

包合物制备完成后需对其进行鉴别研究，目前包合物的鉴别方法有 TLC 法、IR 法、显微影像、差热分析法、X 射线衍射法等，本实验通过 TLC 法、IR 法和显微影像初步验证了连翘薄荷油包合物已形成。

胶体磨法制备挥发油包合物一方面产品得率

高、包合时间短，另一方面包合过程无需加热、占用空间小、设备投入少，适合企业工业化大量生产。此外，有文献报道^[9]，用一些有机溶剂（如乙醇）对挥发油稀释后再进行包合，可提高包合率，这些有机溶剂被称为分散剂。分散剂种类和量的不同对连翘薄荷油包合工艺有无影响以及影响程度如何有待进一步研究。

参考文献

- [1] 肖会敏, 王四旺, 王剑波, 等. 连翘挥发油的成分分析及其药理作用的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 2047-2048.
- [2] 魏希颖, 周晓霞, 马海波. 连翘种子挥发油抑真菌及在猪油脂肪酸败过程中的作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 625-627.
- [3] 王 晖, 吴 铁. 薄荷及其有效成分药理作用的研究概况 [J]. 中草药, 1998, 29(6): 422-424.
- [4] 陈光亮, 姚道云, 汪远金, 等. 薄荷油药理作用和急性毒性的研究 [J]. 中药药理与临床, 2001, 17(1): 10-12.
- [5] 陈最鹏, 刘志辉, 钱 芳. 银翘合剂提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2599-2600.
- [6] 熊耀坤, 张国松, 魏惠珍. 胶体磨制备冰片-β-环糊精包合物工艺研究 [J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(1): 30-33.
- [7] 王 博, 任晓文, 李洪起, 等. 星点设计-效应面法优化银杏酮酯包合物的制备工艺 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 262-265.
- [8] 张泽志, 韩春亮, 李成未. 响应面法在试验设计与优化中的应用 [J]. 河南教育学院学报: 自然科学版, 2011, 20(4): 34-37.
- [9] 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.