

功能材料

迷迭香精油与 β -环糊精包合物缓释性能研究

袁思珩, 姜雪峰*

(华东师范大学 化学与分子工程学院 上海市绿色化学与化工过程绿色化重点实验室, 上海 200062)

摘要:迷迭香精油有提神、抗氧化、抗炎、抗菌的功效,但其强挥发性限制了其在化妆品、医药、食品等领域的长效使用。将迷迭香精油与 β -环糊精包合可以显著增强稳定性,并达到缓释效果,延长迷迭香精油的保留时间。采用冷冻干燥法制备了 β -环糊精包合物,并通过单因素试验发现: $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=7:1$,温度为 $50\text{ }^\circ\text{C}$,时间为 2.5 h 时,所得缓释物的包合率最高。核磁共振氢谱的特征峰迁移,进一步证明了包合物的生成;扫描电镜观察,阐释了包合物的微观形貌变化;薄层色谱检测,验证了迷迭香精油的化学组分在包合过程中并未改变。挥发量/时间曲线观察到储存 35 d 之后,纯精油挥发量为 79% ,而 β -环糊精包合物挥发量为 36% ,明确阐释了 β -环糊精包合物的缓释性能。

关键词:迷迭香精油; β -环糊精;冷冻干燥法; β -环糊精包合物;缓释

中图分类号:TQ655 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2024)11-0036-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0283

Study on the Sustained-Release Performance of Rosemary Essential Oil and β -Cyclodextrin Inclusion Complex YUAN Si-heng, JIANG Xue-feng* (Shanghai Key Laboratory of Green Chemistry and Chemical Progress, School of Chemistry and Molecular Engineering, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: Rosemary essential oil is known for its stimulating, antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial effects, but its strong volatility limits its long-term use in cosmetics, pharmaceuticals, and food industries. Complexing rosemary essential oil with β -cyclodextrin significantly enhances its stability and achieves a sustained-release effect, thereby prolonging the retention time of rosemary essential oil. This study used the freeze-drying method to prepare the β -cyclodextrin inclusion complex and found through a single-factor experiment that the optimal mass ratio of β -cyclodextrin to rosemary essential oil is $7:1$, at a temperature of $50\text{ }^\circ\text{C}$ and a duration of 2.5 h , resulting in the highest inclusion rate. Further evidence of complex formation is provided by shifts in characteristic peaks in the proton nuclear magnetic resonance spectra. Scanning electron microscopy observations elucidate the microscopic morphology changes of the inclusion complex, while thin-layer chromatography confirms that the chemical composition of rosemary essential oil remained unchanged during the complexation process. Volatility/time curves observed after 35 d of storage demonstrated that while the pure essential oil had a volatility of 79% , the β -cyclodextrin inclusion complex showed significantly reduced volatility at 36% , illustrating its effective sustained-release properties.

Key words: rosemary essential oil; β -cyclodextrin; freeze-drying method; β -cyclodextrin inclusion; sustainable release

迷迭香,是一种名贵的天然香料植物,在生长季节会散发清香气味,从其花和嫩枝中提取的精油,可用于调配空气清洁剂、香水、香皂等化妆品原料。目前提取迷迭香精油的主要方法有超临界流体萃取(SFE)、加压液体萃取(PLE)、超声辅助萃取(UAE)和微波辅助萃取(MAE)^[1]。人工提取的迷迭香精油是迷迭香酸、桉木酸、熊果酸、卡诺醇、鼠尾草酸等挥发性物质的混合物,其中迷迭香酸可以刺激人的神经系统,有促进认知、稳定情绪、预防痴呆的作用^[2];桉木酸和熊果酸具有抗炎功效^[3];卡诺醇、鼠尾草酸具有抗菌和抗氧化

作用。此外,迷迭香精油还有减轻皮肤和肌肉疼痛^[4]、缓解压力和焦虑^[5]、治疗呼吸道疾病^[6],以及抗抑郁^[7]等作用,这些功能使迷迭香精油广泛

收稿日期:2024-05-03;网络首发日期:2024-06-03

基金项目:2023年度国家大学生创新创业训练计划项目(202310269046G)。

作者简介:袁思珩(2003-),女,上海人,本科生,主要研究方向为环糊精修饰与包合物制备。

通讯作者:姜雪峰, E-mail:xfjiang@chem.ecnu.edu.cn。

引用本文:袁思珩,姜雪峰.迷迭香精油与 β -环糊精包合物缓释性能研究[J].化学试剂,2024,46(11):36-41。

应用于化妆品、医药、食品等领域。然而,迷迭香精油中多组分的强挥发性导致了其留香时间较短,大幅影响了其在各个领域的推广使用。因此,发展一种提高迷迭香精油稳定性,降低其挥发速率,从而提高迷迭香精油留香时间的方法,显得尤为重要。

具有挥发性的精油可以通过范德华力、氢键、偶极-偶极作用与大分子物质的空腔形成包合物,来降低其挥发速度,从而达到缓释的目的,常见的具有空腔的大分子物质有壳聚糖^[8]、明胶^[9]、海藻酸盐^[10]、卵磷脂^[11]、麦芽糊精^[12]、环糊精^[13]等。其中环糊精由 D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1,4糖苷键首尾连接而成,具有良好的空腔结构,可用来包合卤素、脂肪酸、药物分子、核酸及其衍生物^[14]。 β -环糊精安全无毒,具有良好的热稳定性、溶解性和生物相容性^[15],此外,还具有大小适中的空腔结构,可以被用来包合精油中的挥发组分,有效减少精油的挥发。

目前, β -环糊精包合物的制备方法主要有研磨法、溶剂蒸发法、冷冻干燥法、喷雾干燥法^[16]。本研究采用操作简便、产率高的冷冻干燥法制备迷迭香精油与 β -环糊精包合物,通过单因素试验优化其制备条件,并对包合率最高的包合物进行核磁共振氢谱、扫描电镜及薄层色谱分析,表征了其优秀的缓释性能。

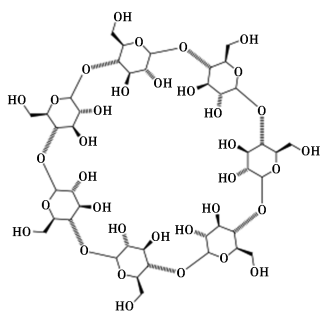


图 1 β -环糊精结构

Fig.1 Structure schematic of β -cyclodextrin

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

BSA124S 型电子天平(北京塞多利斯科学仪器有限公司);GmbH & Co.KG 型恒温加热磁力搅拌器、SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);Hei-VAP 型旋转蒸发器(上海海道夫仪器设备有限公司);KQ-400DE 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);HYC-

310S 型医用冷藏箱(青岛海尔生物医疗股份有限公司);Phenom G2 Pro 型扫描电子显微镜(荷兰 Phenom-World BV 公司);M18G 型高速离心机(上海迈皋科学仪器有限公司);AVANCE IIIHD500 型全数字化核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司)。

β -环糊精(孟州市华兴生物化工有限责任公司);迷迭香精油(德国奥莎迪公司);石油醚、无水乙醇、乙酸乙酯(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 包合物的制备

称取预设测量范围内的一定质量 β -环糊精于 100 mL 圆底烧瓶中,按 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{水})=1:10$ 加水溶解,在 80 °C、转速 300 r/min 条件下搅拌 1 h,制得粘稠状环糊精饱和溶液。随后使用注射器精密量取一定比例迷迭香精油,将其用等体积的无水乙醇稀释,加入到搅拌状态下的环糊精饱和溶液中,根据预设测量范围选择反应温度与时间,在选定的温度、转速 500 r/min 下搅拌一定时间后,将反应体系置于 4 °C 环境中 24 h。之后将溶液取出,减压过滤移除滤液,将滤饼收集并放入 70 °C 烘箱中干燥 24 h,获得白色粉末状环糊精包合物^[17,18]。最后计算反应收率,收率(%) = (产物质量/投料质量)×100%。其中,产物质量即粉末状环糊精包合物的质量,投料质量为初始环糊精质量与精油质量的加和,流程见图 2。

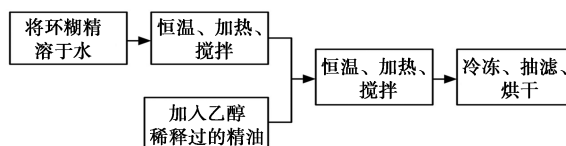


图 2 包合物制备流程示意图

Fig.2 Schematic diagram of the inclusion complex preparation procedure

1.2.2 包合率的测定

使用索氏提取法,取上述方法制得的迷迭香精油分子包合物 m_0 ,装入无纺布袋中,称量布袋和包合物的质量 m_1 ,将其置于索氏提取器中。在 150 mL 容量的烧瓶中加入磁子和 100 mL 石油醚,并依次与索氏提取器和球形冷凝管连接后,通入冷凝水。迅速加热到 100 °C 后,恒温加热。待液体回流 3 次后停止加热,将无纺布袋取出,在 70 °C 烘箱中干燥 2 h,直至质量不再下降,称量质量 m_2 ,包合率计算公式如下:

$$E = [(m_1 - m_2)/m_0] \times 100\%$$

1.2.3 单因素实验

选取投料比、包合温度、包合时间为考察因素,在包合温度 70 °C、包合时间 2 h 的条件下制备 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=9:1,8:1,7:1,6:1,5:1$ 的 5 组包合物,分别测定相应包合率后,选取包合率最高的 1 组,再在不同温度(40、50、60、70、80 °C)下制取包合物,分别测定包合率,得最佳包合温度,最后测定不同包合时间(1、1.5、2、2.5、3 h)下制得包合物的包合率,从而确定最佳制备条件。

表 1 因素水平表

Tab.1 Factors and levels

水平	因素		
	投料比	温度/°C	包合时间/h
1	9:1	80	1
2	8:1	70	1.5
3	7:1	60	2
4	6:1	50	2.5
5	5:1	40	3

1.2.4 包合物的表征

取少量 β -环糊精和迷迭香精油,按 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=7:1$ 混匀,得环糊精物理混合物。

通过核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)观察 β -环糊精、 β -环糊精与迷迭香精油物理混合物以及 β -环糊精包合物的特征峰,取适量样品分别溶于氘代二甲基亚砜,用 400 MHz 的核磁共振仪测试,观察对比包合前后特征峰的变化。

通过扫描电子显微镜(SEM)观察 β -环糊精、 β -环糊精与迷迭香精油物理混合物以及 β -环糊精包合物三者的形态。先将样品固定在硅片上,吹干,用导电胶将硅片固定于样品台上,通电处理样品,在 5 000~10 000 倍下观察对比包合前后结构形态的变化。

通过薄层色谱(TLC)鉴定包合物的生成。称取两份包合物各 100 mg,置于离心管中,分别加入 8 mL 乙酸乙酯和 8 mL 无水乙醇,超声处理 15 min,2 060 r/min 离心 10 min,得乙酸乙酯提取液和无水乙醇提取液。2 种提取液分别用旋转蒸发器于 60 °C 浓缩,再将 20 mg 迷迭香精油加入 8 mL 无水乙醇溶解,作为对照品溶液,用毛细管分别取上述 3 种溶液,点于同一硅胶 G 薄层板上,预先饱和 15 min,上行展开 5 cm 左右,以 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=10:1$ 为展开剂展开,

烘干。显色剂选用香草醛乙醇硫酸溶液,这是因为迷迭香精油中的蒎烯有碳碳双键,可以与香草醛的羰基发生加成反应,在酸的作用下显色,显色后再次烘干。

1.2.5 包合物缓释性能的测定

称取 5 g 迷迭香精油和 5 g 环糊精包合物,在室温环境下每隔 5 d 分别称量质量,并用 1.2.2 的方法测定包合率,从而测定包合物中精油的释放率。

$$\text{精油释放率} = (\text{第 } n \text{ 天的精油质量} / \text{初始精油质量}) \times 100\%$$

$$\text{包合物中的精油释放率} = (\text{第 } n \text{ 天包合物中的精油质量} / \text{初始包合物中的精油质量}) \times 100\%$$

冷冻干燥法制得的包合物缓释模型符合一级模型^[19]:

$$\ln Q = a + bt$$

式中, Q 表示释放率, t 为包合物的存放时间。

以 t 为横坐标, $\ln Q$ 为纵坐标作图,进行线性回归分析,得出释放动力学模型。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 投料比的优化

研究 β -环糊精与迷迭香精油质量比对包合效果的影响,每组进行 3 个平行实验,结果见图 3。随着环糊精的比例增大,可用的空腔数量增多,包合率上升,但再继续增加环糊精的用量,会导致其空腔利用率降低,包合率不再上升。故选择 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=7:1$ 为 β -环糊精与迷迭香精油的最佳比例。

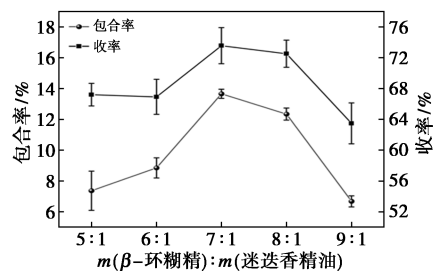


图 3 β -环糊精与迷迭香精油质量比对包合率的影响

Fig.3 Effect of the mass ratio of β -cyclodextrin to rosemary essential oil on the inclusion rate

2.1.2 反应温度的优化

选取 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=7:1$ 为投料比,进行对温度的试验,结果见图 4。在 50 °C 以下温度区间,随温度升高,精油分子运动加快,向环糊精空腔的扩散速率也提高,因此包合率和收率都有所提升。而在 50 °C 以上温度区间,

包合率和收率均随温度升高而下降。这是因为温度超过 50 $^{\circ}\text{C}$, β -环糊精分子也被活化,运动剧烈,难以与精油分子稳定包裹。

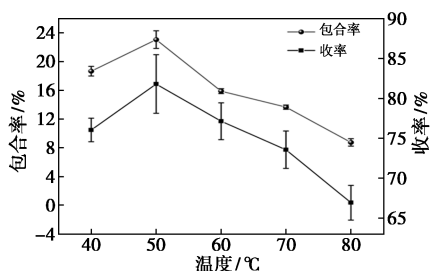


图 4 温度对包合率的影响

Fig.4 Effect of temperature on the inclusion rate

2.1.3 包合时间的优化

在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下进行包合时间的试验,由图 5 可知,随着包合时间延长,包合率和收率都呈提高趋势,且在 1.5~2.5 h 时间段提高速率最大。这是因为随着时间延长,进入环糊精空腔的精油分子数目逐渐增多。但在 2.5 h 后,环糊精的空腔趋于饱和,包合率不再随着包合时间的增加而大幅上升,为了提升效率,选择 2.5 h 为最佳包合时间,在此条件下的包合率可达 39.72%。

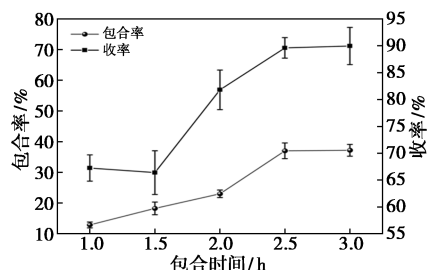


图 5 包合时间对包合率的影响

Fig.5 Effect of inclusion time on the inclusion rate

由以上实验确定制备 β -环糊精与迷迭香精油包合物的优选条件为 $m(\beta\text{-环糊精}):m(\text{迷迭香精油})=7:1$,包合温度 50 $^{\circ}\text{C}$,包合时间 2.5 h。在优选组合条件下,经过 3 次重复验证,包合物的包合率分别为 38.15%、35.52%、34.33%,进一步验证了最佳反应条件结论的准确性。

2.2 包合物的缓释性能测定

由 1.2.5 所述方法评估迷迭香精油与 β -环糊精的缓释情况,结果如图 6 所示。35 d 后,未经过 β -环糊精包合的迷迭香精油释放率达到 79%,仅剩 21% 挥发性的残余物;而经过 β -环糊精包合后的迷迭香精油 35 d 后释放率仅为 36%。对比可知,若迷迭香精油不经过包合,挥发速度快,无法实现缓释功效;而当前方案可有效实现缓

释长效。

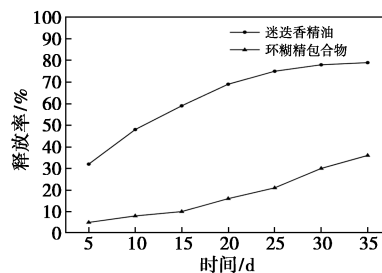


图 6 精油和包合物在室温下的释放速率

Fig.6 Release rate of the essential oil and inclusion complex at room temperature

本研究通过回归分析确定 β -环糊精包合物中精油释放过程符合一级模型,具体分析结果如图 7 所示,其中 R^2 值达到 0.9894,表明该模型的线性关系良好。

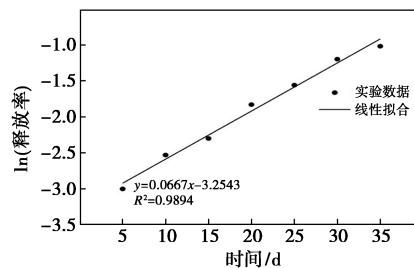


图 7 包合物中精油释放过程回归分析

Fig.7 Regression analysis of the release of essential oil in the inclusion complex

2.3 包合物的表征

2.3.1 核磁共振氢谱

迷迭香精油、 β -环糊精、 β -环糊精与迷迭香精油物理混合物以及 β -环糊精包合物的特征峰如图 8 所示,由图可以看出,包合后迷迭香精油在低场的峰消失了,这是因为精油作为芯材物质进入 β -环糊精的空腔后,信号峰被屏蔽了,由此可以证明迷迭香精油与 β -环糊精形成了分子包合物。

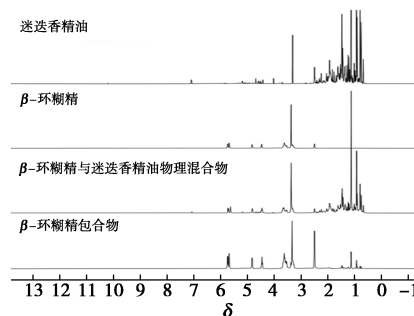
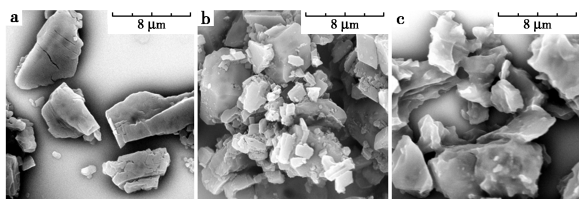


图 8 β -环糊精及包合物的核磁共振图谱

Fig.8 ^1H NMR spectra of β -cyclodextrin and its inclusion complex

2.3.2 扫描电镜

在扫描电子显微镜下,放大 10 000 倍观察 β -环糊精、 β -环糊精与迷迭香精油物理混合物以及 β -环糊精包合物,结果如图 9 所示。



a. β -环糊精; b. 物理混合物; c. 分子包合物

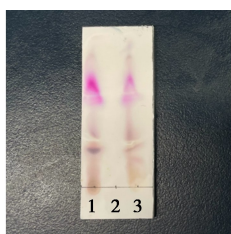
图 9 β -环糊精及包合物的扫描电镜成像图谱

Fig.9 Scanning electron micrographs of β -cyclodextrin and its inclusion complex

由图 9a 可知, β -环糊精为不规则的块状物, 表面有裂纹。而图 9b 中可以看出, β -环糊精与迷迭香精油物理混合物则是在 β -环糊精的基础上多了一层细碎的颗粒物。图 9c 中观察到, β -环糊精包合物表面光滑, 无颗粒物沾粘, 说明环糊精已将迷迭香精油包合入空腔, 从而证明迷迭香精油和 β -环糊精形成了包合物。

2.3.3 薄层色谱

如图 10 所示, 包合物无水乙醇提取液与迷迭香精油对照品在薄层相应的位置上显示相同颜色的斑点; 而在乙酸乙酯提取液中则无上述斑点。迷迭香精油在乙醇与乙酸乙酯中均可溶解, 由于乙醇具有较强的极性, 会破坏包合物的结构^[20], 令迷迭香精油发生解包合过程, 对包合物具有破坏作用, 而乙酸乙酯则无此作用, 故乙醇提取液显示了与迷迭香精油乙醇溶液相似的性质。由此可见, 包合物确已形成, 且包合物表面基本无精油附着, 并且包合前后迷迭香精油主成分没有发生变化。



1. 精油对照品; 2. 包合物乙酸乙酯提取液; 3. 包合物乙醇提取液

图 10 包合物提取液的薄层色谱图

Fig.10 TLC spectra of inclusion complex extract

3 结论

本研究成功制备了迷迭香精油与 β -环糊精

的分子包合物, 并通过单因素实验确定了最佳制备条件工艺: $m(\beta\text{-环糊精}) : m(\text{迷迭香精油}) = 7 : 1$ 、包合温度 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、包合时间 2.5 h , 在此条件下包合率最高为 39.72% 。通过挥发量/时间曲线观察到, 在储存 35 d 以后, 纯精油挥发量为 79% , 而 β -环糊精包合物仅挥发量仅为 36% , 验证了 β -环糊精包合物的缓释性能。且精油的释放规律符合一级模型。通过核磁共振氢谱、电镜扫描和薄层色谱表征实验, 发现迷迭香精油 β -环糊精包合物的性质与 β -环糊精、 β -环糊精和迷迭香精油物理混合物显著不同, 证实了分子包合物的形成。本研究有效地延长了迷迭香精油的停留时间, 未来的研究将重点关注迷迭香精油 β -环糊精的包合物膏体在不同温度下的缓释表现, 并进一步将迷迭香精油 β -环糊精的包合物粉末制成的膏体与加热元件结合, 突破缓释香薰。

参考文献:

- [1] LEŠNIK S, FURLAN V, BREN U. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects [J]. *Phytochem. Rev.*, 2021, **20**: 1 273-1 328.
- [2] SHINIYO N, GREEN J. Are sage, rosemary and lemon balm effective interventions in dementia? A narrative review of the clinical evidence [J]. *Eur. J. Integr. Med.*, 2017, **15**: 83-96.
- [3] BENINCÁ J P, DALMARCO J B, PIZZOLATTI M G, et al. Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice [J]. *Food Chem.*, 2011, **124**(2): 468-475.
- [4] GONZÁLEZ-TRUJANO M E, PEÑA E I, MARTÍNEZ A L, et al. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents [J]. *J. Ethnopharmacology*, 2007, **111**(3): 476-482.
- [5] RAHBARBAR M G, HOSSEINZADEH H. Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders [J]. *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 2020, **23**(9): 1 100-1 112.
- [6] FARHADI F, BARADARAN R V, MOHAMADI N, et al. Effects of rosmarinic acid, carnosic acid, rosmanol, carnosol, and ursolic acid on the pathogenesis of respiratory diseases [J]. *Bio. Factors*, 2023, **49**(3): 478-501.
- [7] 佟琴琴, 姚雷. 迷迭香和柠檬草的精油以及活体香气的抗抑郁作用的研究 [J]. 上海交通大学学报 (农业科学版), 2009, **27**(1): 82-85.

- [8] VEJAN P, KHADIRAN T, ABDULLAH R, et al. Controlled release fertilizer: A review on developments, applications and potential in agriculture [J]. *J. Control Release*, 2021, **339**: 321-334.
- [9] TAMJIDI F, NASIRPOUR A, SHAHEDI M. Mixture design approach for evaluation of fish oil microencapsulation in gelatin-acacia gum coacervates [J]. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomat.*, 2013, **62**: 444-449.
- [10] CAÑAS-SARAZÚA R, BRIONES-LABARCA V, GIOVAGNOLI-VICUÑA C. Encapsulation of papaya seed oil in casein-alginate-based shell materials [J]. *Future Foods*, 2024, **9**: 100-301.
- [11] 王萍萍, 李弘, 谭森, 等. 直链淀粉/大豆卵磷脂包合物的制备及其性质研究 [J]. *食品工业科技*, 2016, **37(22)**: 254-258; 263.
- [12] LEWANDOWSKI A, CZYZEWSKI M, ZBICINSKI I. Morphology and microencapsulation efficiency of foamed spray-dried sunflower oil [J]. *Chem. Process Eng.*, 2012, **33**: 95-102.
- [13] 唐良健, 黄绍德, 王繁盛, 等. 基于环糊精的刺激响应性药物递送系统 [J]. *化学试剂*, 2023, **45(4)**: 63-73.
- [14] 环糊精自组装. 一种新型超分子材料的制备与应用 [M]. 北京: 北京理工大学出版社, 2013.
- [15] 任小玲, 岳淑丽, 向红, 等. 桉叶精油微胶囊工艺优化及缓释性能研究 [J]. *包装工程*, 2017, **38(9)**: 107-112.
- [16] BAKRY A M, ABBAS S, ALI B, et al. Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications [J]. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2016, **15**: 143-182.
- [17] GONG L, LI T T, CHEN F, et al. An inclusion complex combined eugenol into β -cyclodextrin: Preparation, physicochemical and antifungal characterization [J]. *Food Chem.*, 2016, **196**: 324-330.
- [18] BALMAS V, DELOGU G, SPOSITO S, et al. Use of a complexation of tebuconazole with beta-cyclodextrin for controlling foot and crown rot of durum wheat incited by *Fusarium culmorum* [J]. *J. Agri. Food Chem.*, 2006, **54**: 480-484.
- [19] 杨艳红, 李湘洲, 周军, 等. 山苍子油微胶囊的制备技术比较及其释放动力学 [J]. *中国粮油学报*, 2018, **33(7)**: 78-84.
- [20] FURUTA T, YOSHII H, MIYAMOTO A, et al. Effects of water and alcohol on the formation of inclusion complexes of d-limonene and cyclodextrins [J]. *Supramol. Chem.*, 1993, **1(3/4)**: 321-325.