·创新思维与技术前沿·

基于熵权法优化温胆汤挥发油提取及包合工艺

许淑美，王婉怡，朱志军，李航飞

河南中医药大学，河南 郑州 450046

摘要：目的：优选温胆汤挥发油最佳提取工艺和包合物制备工艺，并对其挥发性成分进行分析。方法：以挥发油得率为指标，采用水蒸气蒸馏法结合单因素实验，优选最佳提取工艺参数，利用 GC－MS 技术对挥发性成分进行分析；以挥发油包合率、包合物收得率、包合物含油率为指标，采用饱和水溶液法制备包合物，正交试验设计结合熵权法确定实验方案及各指标权重系数，筛选最佳包合工艺。结果：最佳提取工艺：浸泡 1 h，加 8 倍量水，提取 7 h。运用 GC－MS 技术分离鉴定温胆汤中陈皮、枳实、生姜与混合挥发油中的化合物，分别得到 35、64、58、38 种成分，占挥发油总量的 98.60%、94.39%、95.93%、95.11%。最佳包合工艺：饱和水溶液法制备，挥发油与 β－环糊精的比例为 1∶8（mL∶g），包合温度为 40 ℃，包合时间为 4 h。结论：筛选出的制备工艺稳定可靠，重现性好，能有效提高温胆汤挥发油得率，可为进一步完善温胆汤质量标准提供依据。

关键词：温胆汤；挥发油；熵权法；提取工艺；包合工艺
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.02.047
中图分类号：R284.2　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999（2025）02－0288－09

Optimization of Volatile Oil Extraction and Encapsulation Process of Wendan Decoction Based on Entropy Weight Method

XU Shumei，WANG Wanyi，ZHU Zhijun，LI Hangfei

Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450046

Abstract：Objective：To optimize the optimal extraction process and inclusion preparation process of volatile oil from Wendan Decoction，and to analyze its volatile components. Methods：Taking the volatile oil yield as the index，the optimal extraction process parameters were selected by water vapor distillation method combined with one－way experiment，and the volatile components were analyzed by GC－MS technology；taking the volatile oil inclusion rate，inclusion yield，and oil content of inclusion as the indexes，the inclusion was prepared by the method of saturated aqueous solution，and the orthogonal experimental design was combined with entropy weighting to determine the experimental scheme and weighting coefficients of the indexes，and to filter the optimal Inclusion process. Results：The optimal extraction process：soak for 1 h，add 8 times the amount of water，and extract for 7 h. The compounds in the volatile oils of Chenpi，Citrus aurantium，ginger and mixed volatile oils in Wendan Decoction were separated and identified by GC－MS，and the compounds were obtained as 35，64，58，and 38 components respectively，which accounted for 98.60%，94.39%，95.93%，and 95.11% of the total volatile oils. The best encapsulation process：saturated aqueous solution method，the ratio of volatile oil to β－cyclodextrin was 1∶8（mL∶g），the encapsulation temperature was 40 ℃，and the encapsulation time was 4 h. Conclusion：The screened preparation process is stable and reliable，with good reproducibility，which can effectively improve the volatile oil yield of Wendan Decoction，and can provide a basis for the further improvement of the quality standard of Wendan Decoction.

Key words：Wendan Decoction；volatile oil；entropy weight method；extraction process；encapsulation process

古代经典名方是中医理论的重要组成部分，也是用于临床治疗的重要工具，汇集了历代医家的临床实践经验，在中医药传承创新发展中发挥重要作用。经典名方的复方制剂开发在现代中医药传承和

发展中占有举足轻重的地位。现代药理学研究表明,温胆汤常用于治疗“气机郁滞”“痰郁”所致的心脑血管疾病[1]、情志病[2]、脾胃系统疾病[3]、妇科疾病[4]、内分泌系统疾病[5]、呼吸系统疾病[6]等,尤其是与精神情志变化相关的疾病。作为历代医家治疗“痰郁内扰”等原因所致疾病的常用方,温胆汤一直广泛应用于临床。

温胆汤处方中,枳实、陈皮、生姜含有大量的挥发性成分,按照传统制法,将陈皮、枳实、生姜与其他药材煎煮后服用,大大减弱了挥发性成分的药理作用。传统汤剂主动保留了处方中药材的挥发性成分,在现代制剂的制备过程中,挥发性成分可能会通过蒸发、浓缩、干燥等工艺途径因高温而散失[7]。因此在质量标准的制定时,同样应重视挥发性成分的传递和追踪。

挥发油提取方法的选择及提取工艺的优化是挥发油质量控制的关键。据文献报道,挥发油的提取方法有水蒸气蒸馏法、超临界流体萃取法、压榨法等[8-10],其中,生产上最常用的是水蒸气蒸馏法。本研究采用水蒸气蒸馏法,以挥发油得率为指标,结合单因素实验,优选最佳提取工艺参数,利用 GC - MS 技术测定挥发性成分,并确定挥发油的指标性成分。在预实验的基础上,确定挥发油最佳包合方式为饱和水溶液法,通过正交试验设计方案,以挥发油包合率、包合物收得率、包合物含油率为指标,熵权法客观计算各指标权重系数,筛选并验证最佳包合工艺,为温胆汤科学合理的质量控制体系建立及进一步开发利用提供参考。

1　材料

1.1　仪器　Agilent 7890B 气相色谱质谱联用仪(美国 Agilent 公司);ME204E 万分之一天平(上海梅特勒 - 托利多仪器有限公司);PTHW 型调温电热套(巩义市英峪予华电热仪器厂);挥发油提取器(上海沪实实验设备有限公司);UVA - 1800APC 型紫外分光光度计(美国 Agilent 公司);DZF - 6020 真空干燥箱(嘉兴市中新医疗仪器有限公司);SHZ - D(Ⅲ)型循环水式多用真空泵(巩义市科瑞仪器有限公司);VPD - Ⅱ - 107 优普系列超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

1.2　试药　陈皮(产地:江西;厂家:桐君堂药业有限公司;批号:CP211010);枳实(产地:江西;厂家:桐君堂药业有限公司;批号:ZS210901);生姜(产地:山东;厂家:桐君堂药业有限公司;批号:SJ211124);无水乙醇(分析纯,天津致远化学试剂有限公司);无水硫酸钠(天津市致远化学试剂有限公司);β - 环糊精(淄博千汇生物科技有限公司);水为超纯水;对照品:β - 蒎烯(批号:PX20220603,纯度≥98%)、D - 柠檬烯(批号:NMX20220724,纯度≥98%)、γ - 萜品烯(批号:TPX20220915,纯度≥98%),对照品均购自上海源叶生物科技有限公司。

2　方法与结果

2.1　挥发油提取工艺

2.1.1　单因素实验

2.1.1.1　加水量的考察　按处方比例,称取陈皮、枳实、生姜共 5 份,适当粉碎混匀后,置于 2 L 圆底烧瓶中,分别加入 4 倍、6 倍、8 倍、10 倍、12 倍量的水,密闭浸泡 1 h,连接回流冷凝管和挥发油提取设备,保持沸腾状态约 5 h,记录不同加水量 3 味药材总挥发油的收得量。当加入 8 倍量水时,挥发油得率最高。

2.1.1.2　浸泡时间的考察　按处方比例,称取陈皮、枳实、生姜共 5 份,适当粉碎混匀后,置于 2 L 圆底烧瓶中,加水 8 倍量,分别浸泡 0.5 h、1 h、1.5 h、2 h、2.5 h,连接回流冷凝管和挥发油提取设备,保持沸腾状态约 5 h,记录不同浸泡时间 3 味药材总挥发油的收得量。当浸泡 2 h 时,挥发油得率最高。综合考虑药材挥发油收得量和实际生产状况,本研究选取浸泡时间为 1 h。

2.1.1.3　提取时间的考察　按处方比例,称取陈皮、枳实、生姜共 5 份,适当粉碎混匀后,置于 2 L 圆底烧瓶中,加入 8 倍量水,密闭浸泡 1 h,连接回流冷凝管和挥发油提取设备,加热至沸腾,记录不同提取时间 3 味药材总挥发油的收得量。当连续提取 7 h 时,挥发油收油量不再增加。

2.1.2　验证实验　为考察挥发油提取工艺的稳定性和重现性,按照上述筛选出的挥发油最佳提取工艺条件平行 3 组重复实验,结果见表 1。该工艺条件基本稳定可靠,结果重现性好,挥发油提取工艺确定为浸泡 1 h,提取 7 h,加水 8 倍量。

表 1　挥发油提取工艺验证实验

样品	加水量/倍	浸泡时间(t/h)	提取时间(t/h)	收油量(V/mL)	平均收油量(V/mL)
1	8	1	7	2.61	2.58
2	8	1	7	2.58	
3	8	1	7	2.55	

2.2　挥发性成分 GC－MS 分析

2.2.1　色谱条件　陈皮挥发油：Agilent HP－5MS 毛细管色谱柱（0.25 mm×30.00 m，0.25 μm），载气为氦气，流速 1.0 mL·min^{-1}，分流比 40∶1，进样量 1 μL。程序升温：初始温度 60 ℃，以 2 ℃·min^{-1}升至 80 ℃，保持 10 min，再以 25 ℃·min^{-1}升至 220 ℃。枳实挥发油：Agilent HP－5MS 毛细管色谱柱（0.25 mm×30.00 m，0.25 μm），载气为氦气，流速 1.0 mL·min^{-1}，分流比 40∶1，进样量 1 μL。程序升温：初始温度 60 ℃，保持 3 min，以 2 ℃·min^{-1}升温至 80 ℃，再以 5 ℃·min^{-1}升温至 120 ℃，再以 2 ℃·min^{-1}升温至 160 ℃，最后以 15 ℃·min^{-1}升温至 260 ℃，保持 10 min。生姜挥发油：Agilent HP－5MS 毛细管色谱柱（0.25 mm×30.00 m，0.25 μm），载气为氦气，流速 1.0 mL·min^{-1}，分流比 100∶1，进样量 1 μL。程序升温：初始温度 75 ℃，保持 5 min，以 8 ℃·min^{-1}升温至 170 ℃，保持 4 min，再以 10 ℃·min^{-1}升温至 190 ℃，保持 2 min，再以 10 ℃·min^{-1}升温至 250 ℃。

2.2.2　质谱条件　陈皮挥发油：EI 离子源，离子源温度 230 ℃，电子能量 70 eV，四极杆温度 150 ℃，接口温度 250 ℃，溶剂延迟 3 min，质量扫描范围 m/z 25～400。枳实挥发油：EI 离子源，离子源温度 230 ℃，电子能量 70 eV，四极杆温度 150 ℃，接口温度 250 ℃，溶剂延迟 3 min，质量扫描范围 m/z 50～400。生姜挥发油：EI 离子源，离子源温度 230 ℃，电子能量 70 eV，四极杆温度 150 ℃，接口温度 250 ℃，溶剂延迟 3 min，质量扫描范围 m/z 50～400。

2.2.3　GC－MS 分析结果　GC－MS 得到的总离子流图（图 1—图 4），比对标准质谱图库，结合相关文献资料，温胆汤中陈皮、枳实、生姜与混合挥发油各鉴定出 35、64、58、38 个化合物，占挥发油总量的 98.60%、94.39%、95.93%、95.11%，利用归一化法计算各成分在挥发油中的相对含量，含量排名前 15 位的成分见表 2。

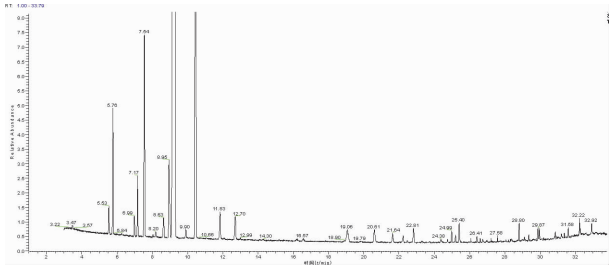


图 1　陈皮挥发油总离子流图

2.3　挥发油包合工艺

2.3.1　空白回收实验　按“2.1.2”项下工艺条件制备挥发油样品，量取 1 mL 挥发油，3 份，置于 250 mL 圆底烧瓶中，加入 200 mL 水混合均匀后置于加热套中加热至沸腾，保持沸腾状态直至提取器中挥发油的量不再增加，停止加热，冷却后准确读取挥发油的量，按公式计算空白回收率，测得 3 组挥发油空白回收率分别为 90%、96%、92%，平均空白回收率为 92.6%。

空白回收率 =（挥发油实际收油量/挥发油加入量）×100%

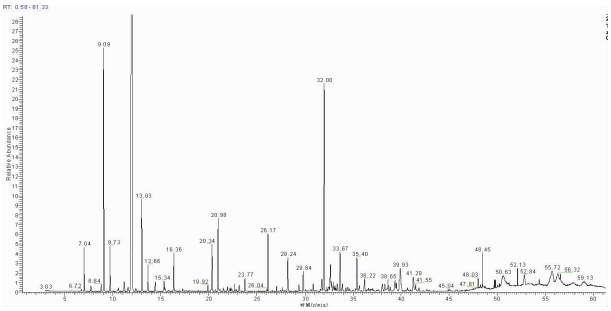


图 2　枳实挥发油总离子流图

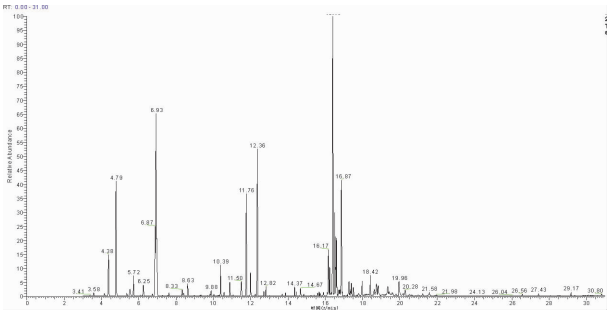


图 3　生姜挥发油总离子流图

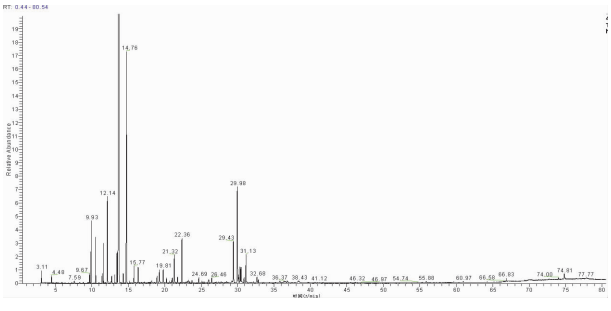


图 4　混合挥发油总离子流图

2.3.2　挥发油包合工艺优选　通过预实验考察，本研究选用饱和水溶液法制备包合物。称取适量 β－环糊精加入 20 倍量的纯化水中，50 ℃溶解形成过饱和溶液，缓缓加入混合挥发油的无水乙醇溶液（1∶1），保鲜膜封口以减少挥发油在加热搅拌时的损失，包合结束后放入 4 ℃环境冷藏 24 h，减压抽滤，用 30 mL 水和 30 mL 无水乙醇分别冲洗 3 次后

（每次 10 mL），40 ℃真空干燥 5 h，得粉末状包合物，测定挥发油含量和包合物质量。将所得干燥包合物置于圆底烧瓶中，加入 200 mL 纯化水混匀，加热至沸腾，保持沸腾状态直至提取器中挥发油的量不再增加，冷却后准确读取挥发油量。计算挥发油包合率、包合物收得率和包合物含油率。

挥发油包合率 = 包合物中挥发油质量/挥发油加入量 ×92.6% ×100%

包合物收得率 = 包合物质量/（β - 环糊精加入量 + 挥发油加入量）×100%

包合物含油率 = 包合物中挥发油质量/包合物质量 ×100%

表 2　温胆汤陈皮、枳实、生姜、混合挥发油成分分析表

化合物	分子式	分子量	陈皮挥发油相对含量/%	枳实挥发油相对含量/%	生姜挥发油相对含量/%	混合挥发油相对含量/%
α - 水芹烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.27	–	–	–
α - 蒎烯	$C_{10}H_{16}$	136	1.29	1.09	2.16	1.55
桧烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.23	–	16.43	–
β - 蒎烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.71	7.17	–	1.02
萜品油烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.28	–	–	–
邻 - 异丙基苯	$C_{10}H_{14}$	134	1.43	–	–	–
D - 柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	136	79.74	–	–	68.50
γ - 萜品烯	$C_{10}H_{16}$	136	8.00	–	–	–
萜品油烯、松油烯醇	$C_{10}H_{16}$	136	0.46	–	–	–
芳樟醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.42	–	–	–
（ - ）- 4 - 萜品醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.3	–	–	–
（ + ）- α - 松油醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.29	–	–	–
2 - 异丙基 - 5 - 甲基茴香醚	$C_{11}H_{16}O$	134	0.21	–	–	–
2 - 甲氧基 - 4 - 乙烯苯酚	$C_9H_{10}O_2$	150	0.19	–	–	–
月桂烯	$C_{10}H_{16}$	136	–	1.27	–	2.17
（E）- β - 罗勒烯	$C_{10}H_{16}$	136	–	2.89	–	–
4 - 萜烯醇	$C_{10}H_{18}O$	154	–	1.25	–	–
α - 松油醇	$C_{10}H_{18}O$	154	–	1.90	–	–
δ - 榄香烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	1.46	–	–
β - 榄香烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	0.93	–	–
D - 大根香叶烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	6.92	–	–
α - 柏木烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	0.96	–	–
β - 荜澄茄烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	1.26	–	–
（ + ）- 香橙烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	1.13	–	–
α - 荜澄茄醇	$C_{15}H_{26}O$	218	–	1.25	–	–
（E）- 3,7 - 二甲基 - 2,6 - 辛二烯醛	$C_{10}H_{16}O$	136	–	–	8.31	–
莰烯	$C_{10}H_{16}$	136	–	–	6.56	1.15
β - 倍半水芹烯	$C_{15}H_{24}$	136	–	–	6.15	1.08
柠檬醛	$C_{10}H_{16}O$	154	–	–	5.46	–
（ - ）- 三甲基亚甲基双环十一碳烯	$C_{15}H_{24}$	152	–	–	5.43	–
β - 红没药烯	$C_{15}H_{24}$	154	–	–	2.85	–
α - 姜黄烯	$C_{15}H_{22}$	152	–	–	2.47	–
α - 姜油烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	–	14.78	3.32
2 - 茨醇、龙脑	$C_{10}H_{18}O$	204	–	–	1.64	–
香叶醇	$C_{10}H_{18}O$	204	–	–	1.37	–
β - 荜澄茄油烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	–	1.33	–
姜黄醇	$C_{15}H_{26}O$	222	–	–	1.27	–
雪松醇	$C_{12}H_{26}O$	222	–	–	1.23	–
4 - 异丙基甲苯、伞花烃	$C_{10}H_{14}$	134	–	–	–	1.02
γ - 松油烯	$C_{10}H_{16}$	136	–	–	–	6.09
顺式柠檬醛	$C_{10}H_{16}O$	152	–	–	–	0.75
反式柠檬醛	$C_{10}H_{16}O$	152	–	–	–	1.21
大根香叶烯 D	$C_{15}H_{24}$	204	–	–	–	1.39
α - 法尼烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	–	–	0.53
β - 甜没药烯	$C_{15}H_{24}$	204	–	–	–	0.52

2.4　正交试验

2.4.1　正交试验结果分析　根据预实验结果，可以初步选取挥发油与 β－环糊精的比例、包合时间和包合温度 3 个影响包合效果因素的合适范围，各选取 3 个水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验，以挥发油包合率、包合物收得率和包合物含油率为指标，运用熵权法计算各指标权重系数并求取综合评分 M，筛选最佳包合工艺条件。结果见表 3—表 5。

由表 5 方差分析结果可知，3 个因素对综合评分影响主次顺序为包合时间＞挥发油与 β－环糊精的比例＞包合温度。因素 A、B、C 的 P 值均小于 0.05，说明 3 个因素对包合效果均具有显著影响。故温胆汤挥发油的最佳包合工艺为 $A_2B_2C_3$，即挥发油∶β－环糊精＝1∶8（mL∶g），40 ℃下包合 4 h。

表 3　因素水平表

水平	因素		
	挥发油∶β－环糊精 A/mL∶g	包合温度 B（T/ ℃）	包合时间 C（t/h）
1	1∶6	30	2
2	1∶8	40	3
3	1∶10	50	4

表 4　正交试验结果

序号	A	B	C	D（空白）	挥发油包合率/%	包合物收得率/%	包合物含油率/%	综合评分 M
1	1	1	1	1	39.87	58.66	10.49	0.307 6
2	1	2	2	2	51.98	65.42	12.26	0.368 5
3	1	3	3	3	65.44	55.21	18.29	0.413 3
4	2	1	2	3	40.12	68.17	6.81	0.313 8
5	2	2	3	1	66.08	72.46	10.56	0.420 2
6	2	3	1	2	38.99	55.96	8.06	0.287 4
7	3	1	3	2	66.11	73.58	8.32	0.412 6
8	3	2	1	1	53.04	70.24	6.99	0.358 8
9	3	3	2	3	53.28	73.55	6.71	0.366 0
K1	163.89	162.40	151.79	171.71				
K2	164.62	182.21	163.91	172.44				
K3	185.91	169.81	198.72	170.27				
R	22.02	19.81	46.93	2.17				

表 5　方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	P 值
A	104.30	2	128.31	＜0.05
B	66.79	2	82.17	＜0.05
C	395.67	2	486.79	＜0.05
D	0.81	2		

2.4.2　熵权法分析权重

2.4.2.1　建立原始数据矩阵 $X=(X_{ij})_{m\times n}$　设现有 m 个评价设备，n 个评价指标，将第 i 个设备在第 j 个指标上的原始数据记为 x_{ij}（其中 i＝1，2…m，j＝1，2…n），形成原始数据矩阵如下所示：

$$X=(x_{ij})_{m\times n}=\begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1n} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2n} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \\ x_{m1} & x_{m2} & \cdots & x_{mn} \end{bmatrix}_{m\times n}$$

2.4.2.2　建立比重矩阵 $P=(P_{ij})_{m\times n}$　利用极差变换法将原始数据标准化处理后，依据公式：

$$P_{ij}=\frac{X_{ij}}{\sum_{i=1}^{m}X_{ij}}(0\le X_{ij}\le 1)$$

计算第 j 个指标下第 i 个项目指标值的比重（先验概率）P_{ij}，并建立数据的比重矩阵 $P=(P_{ij})_{m\times n}$。

2.4.2.3　计算各指标的信息熵 e_j　计算第 j 个指标的熵权 e_j：

$$e_j=-k\sum_{i=1}^{m}p_{ij}\cdot lnp_{ij}$$

式中，常数 k 为：

$$k=\frac{1}{lnm}$$

信息效用值 d 为：

$$d_j=1-e_j$$

计算得：e_j＝（0.821 2，0.862 1，0.729 8），d_j＝（0.178 8，0.137 9，0.270 2）。

2.4.2.4　确定各指标权重 w_j　根据公式：

$$w_j=\frac{d_j}{\sum_{j=1}^{n}d_j}$$

计算第 j 个指标的熵权 w_j，3 个指标的权重为 w_j＝（0.304 6，0.235 0，0.460 4）。应用综合评分

M = 挥发油包合率 × W_1 + 包合物收得率 × W_2 + 包合物含油率 × W_3，计算得到综合得分（M）。

2.4.3　验证实验　按筛选出的挥发油最佳包合工艺平行实验 3 次，计算得挥发油平均包合率为 66.08%，包合物平均收得率为 73.04%，包合物平均含油率为 2.95%，RSD 值分别为 1.54%、1.92%、2.95%，表明优化后的包合工艺稳定可行。结果见表 6。

表 6　验证实验结果

序号	挥发油包合率/%	包合物收得率/%	包合物含油率/%
1	67.24	72.56	10.73
2	65.33	74.63	10.13
3	65.67	71.94	10.56
平均值	66.08	73.04	10.47
RSD	1.54	1.92	2.95

2.5　包合物的质量标准研究

2.5.1　包合物的表征

2.5.1.1　差示扫描热量法（DSC）　取适量 β－环糊精、挥发油包合物、挥发油与 β－环糊精的物理混合物于铝制坩埚中，将氮气流速设置为 40 mL · min^{-1}，初始温度 25 ℃，以 10 ℃ · min^{-1} 速度升至 400 ℃，检测曲线如图 5 所示。β－环糊精包合挥发油涉及焓变、熵变等过程，吸热峰的消失、转移及产生显示出 β－环糊精和挥发油沸点、升华点等的改变。吸热曲线表明，β－环糊精有两处明显的吸热峰，130 ℃为结晶水蒸发产生的吸热峰，215 ℃为 β－环糊精熔融产生的吸热峰。因为挥发油的沸点较低，使得物理混合物的吸热峰提前至 110 ℃左右，包合物吸热曲线在 215 ℃左右较为平缓，没有吸热峰，表明挥发油已经置换出 β－环糊精的结晶水，相比于 β－环糊精，包合物的吸热峰较小，这可能是由于分子间的相互作用，提高了包合物热稳定性。

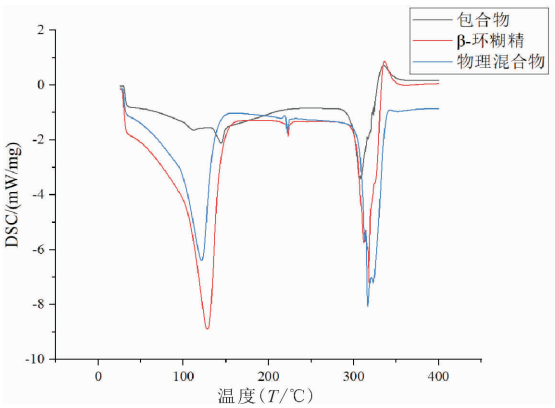
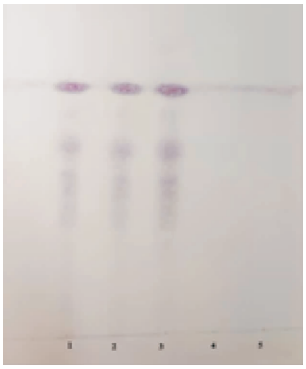


图 5　差示扫描热量法分析图

2.5.1.2　薄层色谱法　称取适量的挥发油、β－环糊精、包合物、挥发油与 β－环糊精的物理混合物及从包合物中提取的挥发油，加无水乙醇溶解配制成溶液。吸取上述 4 种溶液各 5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板，以石油醚：乙酸乙酯（18∶2）为展开剂，展开，晾干后喷以 5% 香草醛硫酸溶液，105 ℃烘箱加热至斑点显色清晰，结果见图 6，挥发油、物理混合物和从包合物中提取的挥发油斑点一致，β－环糊精、包合物无斑点，表明挥发油已被 β－环糊精包入空腔且性质保持不变。



注：1：挥发油；2：物理混合物；3：包合物中的挥发油；4：β－环糊精；5：包合物。

图 6　薄层色谱图

2.5.1.3　紫外扫描法　取挥发油、β－环糊精及包合物适量，加适量无水乙醇溶解作为样品溶液，在 200～900 nm 范围内进行全波长扫描，结果见图 7。β－环糊精在空白无水乙醇溶液中无紫外吸收；包合物对紫外线的吸收强度明显低于挥发油，表明包合物已形成。由于 β－环糊精外部亲水，内部疏水，分子囊内部具有密度较高的电子云，在包合过程中，挥发油分子进入包合腔中，两者的电子云相互作用，挥发油电子云的流动受到限制，从而导致其紫外吸收光谱发生了变化。

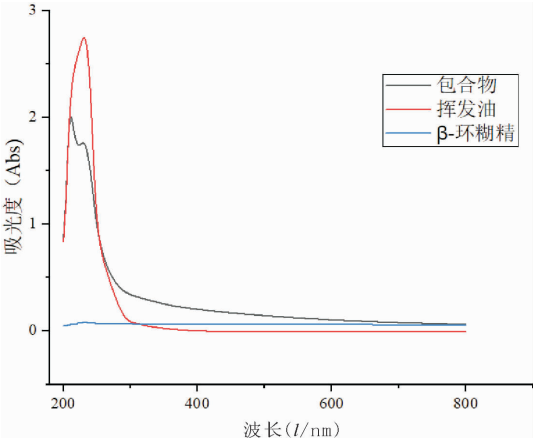


图 7　紫外吸收图谱

2.5.2　包合物中 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯的含量测定

2.5.2.1　含量测定条件　色谱条件：Agilent HP－5MS 毛细管色谱柱（0.25 mm×30.00 m，0.25 μm），载气为氮气，分流比 1∶10，进样量 1 μL。程序升温：初始温度 60 ℃，以 2 ℃·min^{-1}速率升至 80 ℃，再以 3 ℃·min^{-1}速率升至 100 ℃，保持 1 min，再以 5 ℃·min^{-1} 速率升至 180 ℃，保持 1 min，最后以 6 ℃·min^{-1} 速率升至 260 ℃。质谱条件：EI 离子源，离子源温度 230 ℃，电子能量 70 eV，四极杆温度 150 ℃，接口温度 280 ℃，质量扫描范围 m/z 45～550。

2.5.2.2　对照品溶液的制备　精密称取对照品 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯适量，加无水乙醇溶解，配制成质量浓度分别为 0.476 g·L^{-1}、0.326 g·L^{-1}、0.233 g·L^{-1} 的对照品溶液。

2.5.2.3　供试品溶液的制备　按照“2.3.2”项下方法制备挥发油包合物，精密称取挥发油包合物 2 g（相当于 1/4 个处方的药材量），置于烧瓶中，加水溶解，加热至沸腾并保持沸腾状态约 5 h，直至挥发油提取器中挥发油的量不再增多，停止加热，取油层，无水硫酸钠干燥，无水乙醇溶解，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得供试品溶液。

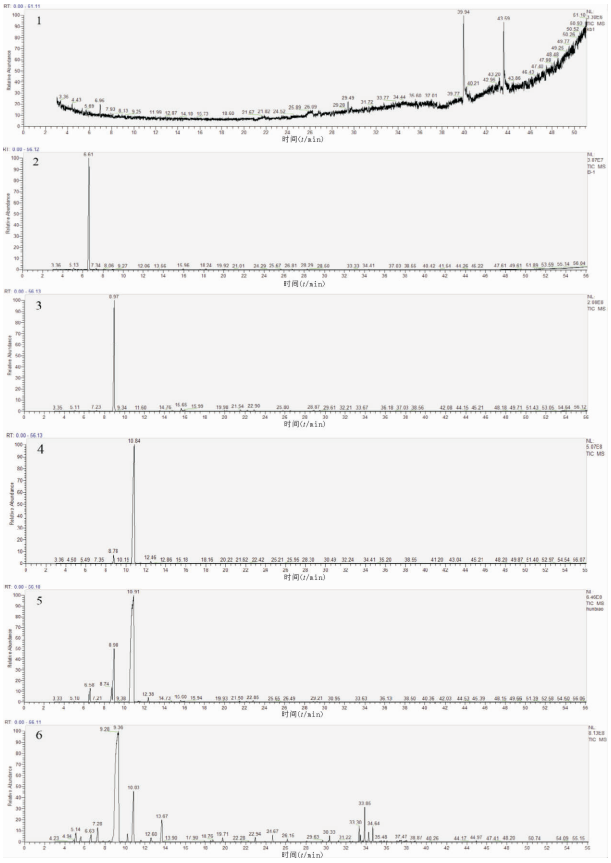
2.5.2.4　专属性考察　取供试品溶液、对照品溶液、空白对照品溶液按“2.5.2.1”项下条件分别进样测定，记录色谱图（图 8）。结果表明该制备方法准确可行，阴性无干扰。

2.5.2.5　线性关系考察　精密配制浓度为 52.41 mg·L^{-1}、102.25 mg·L^{-1}、211.57 mg·L^{-1}、424.11 mg·L^{-1}、800.46 mg·L^{-1}的 D－柠檬烯对照品溶液，浓度为 31.57 mg·L^{-1}、64.38 mg·L^{-1}、125.44 mg·L^{-1}、248.61 mg·L^{-1}、486.27 mg·L^{-1}的 γ－萜品烯对照品溶液，浓度为 25.16 mg·L^{-1}、60.27 mg·L^{-1}、125.34 mg·L^{-1}、249.88 mg·L^{-1}、511.26 mg·L^{-1}的 β－蒎烯对照品溶液，按“2.5.2.1”项下条件进样测定，以所得峰面积为纵坐标（Y），浓度为横坐标（X），得线性回归方程见表 7。

表 7　3 种成分的线性关系

成分	线性方程	R^2	范围（ρ/mg·L^{-1}）
D－柠檬烯	$y=1\times10^7x+1\times10^8$	0.999 4	52.41～800.46
γ－萜品烯	$y=2\times10^6x+3\times10^7$	0.999 4	31.57～486.27
β－蒎烯	$y=2\times10^6x+2\times10^7$	0.999 9	25.16～511.26

2.5.2.6　精密度实验　取 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯同一对照品溶液，按“2.5.2.1”项下条件连续进样 6 次，记录峰面积，求得 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯峰面积的 RSD 值分别为 0.63%、0.36%、0.58%，表明仪器的精密度良好。



注：1：空白对照品溶液；2：β－蒎烯对照品溶液；3：D－柠檬烯对照品溶液；4：γ－萜品烯对照品溶液；5：混合对照品溶液；6：供试品溶液。

图 8　专属性考察色谱图

2.5.2.7　重复性实验　取同一挥发油样品，按“2.5.2.3”项下方法制得 6 份供试品溶液，以“2.5.2.1”项下条件进样测定，记录峰面积，求各成分峰面积的 RSD 值，得 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯含量的 RSD 值分别为 2.09%、1.17%、1.04%，表明该方法重复性良好。

2.5.2.8　稳定性实验　取同一供试品溶液，按“2.5.2.1”项下条件分别于 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h 进样测定，记录峰面积，求得 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯峰面积的 RSD 值分别为 1.89%、1.08%、1.96%，表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

2.5.2.9　加样回收率实验　取“2.5.2.7”项下已知成分含量的包合物约 0.5 g，分别精密加入质量浓度为 2.847 g·L^{-1}的 D－柠檬烯对照品 2.56 mL，1.996 g·L^{-1} 的 γ－萜品烯对照品 3.57 mL，

3.457 g·L^{-1} 的 β－蒎烯对照品 1.87 mL，按“2.5.2.1”项下条件进样测定，并计算 3 种成分的加样回收率。结果表明 D－柠檬烯的平均加样回收率为 99.48%，RSD 值为 1.16%（n=6）；γ－萜品烯的平均加样回收率为 99.19%，RSD 值为 1.80%（n=6）；β－蒎烯的平均加样回收率为 99.33%，RSD 值为 1.37%（n=6）。见表 8。

表 8　加样回收率实验结果

成分	称样量（m/g）	含有量（m/mg）	加入量（m/mg）	测得量（m/mg）	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
β－蒎烯	0.5	4.129 8	6.464 5	10.538 3	99.47	99.33	1.37
	0.5	4.129 8	6.464 4	10.451 4	98.65		
	0.5	4.129 8	6.463 9	10.747 0	101.44		
	0.5	4.129 8	6.463 8	10.502 2	99.13		
	0.5	4.129 8	6.462 7	10.312 6	97.34		
	0.5	4.129 8	6.462 6	10.590 2	99.96		
D－柠檬烯	0.5	12.411 0	7.288 3	19.415 6	98.56	99.48	1.16
	0.5	12.411 0	7.288 2	19.535 8	99.17		
	0.5	12.411 0	7.287 4	19.301 3	97.98		
	0.5	12.411 0	7.287 3	19.772 2	100.37		
	0.5	12.411 0	7.286 5	19.914 0	101.09		
	0.5	12.411 0	7.286 4	19.636 2	99.68		
γ－萜品烯	0.5	7.041 3	7.125 7	14.332 7	101.17	99.19	1.80
	0.5	7.041 3	7.125 6	14.345 5	101.26		
	0.5	7.041 3	7.124 9	14.002 6	98.84		
	0.5	7.041 3	7.124 8	13.825 5	97.59		
	0.5	7.041 3	7.123 5	13.732 0	96.93		
	0.5	7.041 3	7.123 6	14.074 9	99.35		

2.5.2.10　β－蒎烯、D－柠檬烯、γ－萜品烯含量测定　精密称取挥发油包合物 2 g（相当于约 1/4 处方量的药材），按“2.5.2.3”项下方法制备供试品溶液，以“2.5.2.1”项下条件进样测定，记录峰面积，平行实验 3 次，计算各成分含量，结果见表 9，D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯平均含量分别为 0.128 6%、0.065 4%、0.041 9%，表明包合物的质量较为稳定。

表 9　包合物中 3 种成分含量

序号	γ－萜品烯/%	D－柠檬烯/%	β－蒎烯/%
1	0.066 1	0.126 3	0.041 5
2	0.065 8	0.127 7	0.042 3
3	0.064 8	0.131 9	0.041 9
平均值	0.065 4	0.128 6	0.041 9

3　讨论

陈皮、枳实、生姜挥发油密度接近，不分层，3 味药材挥发油可同时提取。在实验中发现外部传热效率对挥发油的提取有重要影响，加热温度或热的传递效率将直接影响挥发油的蒸发速度，充足的蒸发量是确保挥发油提取完全的关键[11]，对于加热温度，中医理论通常用“文火”“武火”表示，但现在更多地使用“微沸”“暴沸”来表示，实验过程中，保持 180 ℃暴沸状态，挥发油提取效率较高。

陈皮、枳实、生姜与混合挥发油各鉴定出 35、64、58、38 种成分，占挥发油总量的 98.60%、94.39%、95.93%、95.11%，其中，陈皮挥发油以单萜烯类、倍半萜烯类、含氧化合物为主，主要为 D－柠檬烯（79.74%）、γ－萜品烯（8.00%）、β－蒎烯（2.39%）。枳实与陈皮同属芸香科，挥发油与陈皮相似，以单萜类化合物为主，主要为 D－柠檬烯（49.77%）、D－大根香叶烯（6.92%）、β－罗勒烯（2.89%）。生姜挥发油的成分较复杂，以倍半萜烯类、倍半萜烯类氧化物、单萜烯类、单萜烯类氧化物为主，主要为桧烯（16.43%）、α－姜油烯（14.78%）、莰烯（6.56%）。

药材挥发油的质量受多种因素的影响，不同产地药材挥发油组分的种类及含量受温度、湿度等自然条件的影响均会有所不同[12]。本研究分析陈皮、枳实、生姜挥发油成分及相对含量时所用药材产地较单一，有一定的局限性，但测得各药材成分类别及含量与文献报道基本一致[13－15]，因此，本研究结果

可靠。

熵权法，即信息熵法，是一种通过对已知数据的处理而获得影响因子权重的方法，属于客观赋权法。其信息熵值越小，指标离散程度越大，指标对整体评价的影响（权重）就越大[16]。因此，熵权法是可为若干指标综合评价提供基础的新兴工具[17]。在考察包合工艺时将熵权法与正交试验结果相结合，可规避主观因素诱导的指标偏颇，使考察结果更具真实准确性。

考察挥发油是否与 β－环糊精形成包合物需进行方法验证。目前，常用的方法有核磁共振法、圆二色谱法、热分析法、X 射线衍射法、红外光谱法、紫外扫描法、薄层色谱法等[18]，结合实际条件，本研究选用差示扫描热量法（DSC）、薄层色谱法、紫外扫描法进行验证，利用 GC－MS 技术测定包合物中挥发油 D－柠檬烯、γ－萜品烯、β－蒎烯的含量，对包合物质量控制进行研究，可为进一步完善温胆汤质量标准提供依据。

参考文献：

[1]LI Y B, ZHANG W H, LIU H D, et al. Protective effects of Huanglian Wendan Decoction aganist cognitive deficits and neuronal damages in rats with diabetic encephalopathy by inhibiting the release of inflammatory cytokines and repairing insulin signaling pathway in hippocampus[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(11): 813－822.

[2]JIN Q, LI J, CHEN G Y, et al. Network and experimental pharmacology to decode the action of Wendan Decoction against generalized anxiety disorder[J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 3297－3314.

[3]徐雪怡，欧小凡，靳晓娟，等. 柴芩温胆汤加减对糖尿病性胃轻瘫患者血糖水平、胃肠功能障碍的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2020，26(18)：98－104.

[4]李堂莹，闫颖，哈虹. 哈荔田巧用温胆汤治疗妇科常见病病案赏析[J]. 湖南中医杂志，2018，34(11)：84－86.

[5]周雨禾，马宏博，李克明，等. 加味黄连温胆汤联合西药治疗 PCOS 伴 IR 痰湿证的疗效及对肠道菌群的影响研究[J]. 中药新药与临床药理，2021，32(10)：1543－1548.

[6]伍照楚，张立山，孙放，等. 温胆汤类方治疗呼吸系统疾病的临证应用[J]. 中华中医药杂志，2022，37(9)：5193－5196.

[7]庄欣雅，张倩，江悦，等. 古代经典名方含挥发性成分中药的提取工艺进展与生产策略分析[J]. 中华中医药杂志，2022，37(1)：363－367.

[8]王晓禹，吴国泰，杜丽东，等. 中药挥发油新型制剂及其质量控制的研究现状[J]. 中国药房，2021，32(20)：2551－2555.

[9]白昀川，马贝娜，宋萍，等. 连翘挥发油的生物酶辅助提取工艺优化、成分分析及体外抗氧化研究[J]. 华西药学杂志，2023，38(1)：70－74.

[10]晏婷，周祖英，骆弟元，等. GC－MS 分析三种不同方法提取大果木姜子鲜果、干果挥发油成分[J]. 中药材，2022，45(1)：123－129.

[11]侯富国，桂新景，王小鹏，等. 文火与武火煎煮中药时沸腾液体温度与蒸发率研究[J]. 医药导报，2021，40(11)：1534－1537.

[12]吴意，万娜，刘阳，等. 中药挥发油稳定性影响因素、变化机制及保护策略[J]. 中草药，2022，53(21)：6900－6908.

[13]朱丽云，柳小莉，郑琴，等. 陈皮挥发油质量标志物预测及 GC－MS 定量分析[J]. 中国中药杂志，2021，46(24)：6403－6409.

[14]王梁凤，柳小莉，李慧婷，等. 基于网络药理学的枳实挥发油治疗慢性传输型便秘的机制研究[J]. 中国中药杂志，2020，45(8)：1909－1917.

[15]陈雨然，罗黎明，刘志勇. 不同产地生姜挥发油化学成分比较与分析[J]. 江西中医药，2022，53(4)：67－70.

[16]梁志毅，黄贵发，陈仕妍，等. 基于熵权 TOPSIS 模型和灰色关联度分析的土茯苓质量评价[J]. 中国现代应用药学，2023，40(9)：1207－1213.

[17]张秀芳，张静宜，刘明松，等. 基于熵权法与响应面法优化香连和胃汤挥发油提取工艺[J]. 中国现代应用药学，2022，39(14)：1848－1855.

[18]郝佳旭，查丽春，范晓，等. 基于信息熵权法优选香果健消片挥发油羟丙基－β－环糊精包合工艺及其表征[J]. 中草药，2022，53(13)：3962－3971.

收稿日期：2024－10－12

作者简介：许淑美（1999－），女，安徽宿州人，硕士研究生，研究方向：中药药剂学新剂型、新技术与新药研究。

通信作者：朱志军（1963－），男，医学硕士，副教授，主要从事中药药剂学新剂型、新技术与新药研究。E－mail：zzjun63@126.com

编辑：纪彬