

肉桂油纳米微乳的制备

章辉¹, 肖小年¹, 李莉², 易醒^{2*}

¹南昌大学中德联合研究院; ²南昌大学中德食品工程中心, 南昌 330047

摘要: 本研究采用转相乳化法, 结合伪三元相图制备肉桂油纳米微乳, 对其外观、类型、理化性质、粒径及微观形态进行考察。最终得到肉桂油纳米微乳由 EL-40/Tween80/无水乙醇/IPP/肉桂油/水组成, 所制备的肉桂油微乳为 O/W 型微乳, 淡黄色、澄清透明、流动性好, 透射电镜下微乳颗粒大小均匀, 平均粒径 32 nm, 电导率 111.0 $\mu\text{s}/\text{cm}$, 折光率 1.415, 黏度 105 mpa. s, pH 值 5.24。

关键词: 转相乳化; 肉桂油; 纳米微乳; 伪三元相图

中图分类号: R283.6

文献标识码: A

Preparation of Cinnamon Oil Nanomicroemulsion

ZHANG Hui¹, XIAO Xiao-nian¹, LI Li², YI Xing^{2*}

¹Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University; ²Sino-German Food Engineering Center, Nanchang University, Jiangxi Nanchang 330047, China

Abstract: In this study, phase inversion method, combined with pseudo-ternary phase diagram analysis was applied for the preparation of Cinnamon oil nanomicroemulsion (CONE). The appearance, types, physical and chemical properties, particle size and microstructure of CONE were explored. The final formulation was that the CONE was composed of EL-40/Tween 80/anhydrous ethanol/IPP/cinnamon oil/water. The CONE was O/W microemulsion with light yellow color. It was clear transparent and had good liquidity. The particle size of microemulsion was uniform under the transmission electron microscope. The mean grain size, conductivity, refractive index, viscosity, pH value of CONE was determined to be 32 nm, 111.0 $\mu\text{s}/\text{cm}$, 1.415, 105 mpa. s, and 5.24, respectively.

Key words: phase inversion method; cinnamon oil; nanomicroemulsion; pseudo-ternary phase diagram

肉桂油是肉桂 (*Cinnamomum cassia Presl*) 的干燥皮、叶经水蒸气蒸馏得到的挥发油, 为黄色或棕黄色的澄清液体, 有肉桂的特异香味, 其主要成分为肉桂醛, 具有驱风健胃、抑菌^[1]、降血压^[2]、抗肿瘤、调节体温等作用, 可作为医药工业的主要原料, 如: “苯丙砜”、“清凉油”、“代温灸膏”等^[3]。据 2010 年世界香料精油类产品市场报告称, 很多业内产品价格大幅上涨, 且常常供应短缺, 中国肉桂油价格已跳升至 100.00 美元/kg 以上。面对这一功能较多而资源较为紧缺物质, 如何更好地开发利用, 更大限度的发挥其作用, 成为研究者所要思考的一大问题。

微乳是一个由水、油和双亲性物质组成的、光学上各相同性、热力学上稳定的分散体系, 在结构方面分 O/W 型、W/O 型和双连续型。将肉桂油制成微

乳^[4,5], 具有以下优点: ①能提高肉桂油在水中的溶解性; ②减少肉桂油的氧化反应, 提高肉桂油的稳定性, 延长其贮藏期; ③因微乳均一, 粒径处纳米级, 可大大提高肉桂油的生物利用度。④作为外用药物涂抹, 更易被人接受。迄今为止, 关于肉桂油研究较多, 然多集中在肉桂油的提取、功效作用、主要成分鉴定等方面, 对肉桂油的制剂研究较少, 本研究旨在制备一种纳米微乳, 为肉桂油的开发利用提供一种新思路。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

肉桂油(购于淮安新华香辛料有限公司); 聚氧乙烯氢化蓖麻油 (RH-40)、聚氧乙烯蓖麻油 (EL-40)、氢化蓖麻油 (CO-40)、Tween80、聚乙二醇硬脂酸酯 15 (HS15)、无水乙醇、聚乙二醇 400 (PEG400)、丙三醇、肉豆蔻酸异丙酯 (IPM)、辛酸/癸酸甘油三辛癸酸酯 (GTCC)、十六酸异丙酯 (IPP)

等。

1.2 仪器与设备

TGL-12C 型台式高速离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司);DDS-307 型电导率仪(上海精密科学仪器有限公司);WAY-2W 阿贝折射仪(上海精密科学仪器有限公司);pH 计(赛多利斯科学仪器有限公司);NDJ-1 型旋转式粘度计(上海昌吉地质仪器有限公司);NICOMP 380/ZLS 激光纳米粒度测定仪(美国 PSS 粒度分析仪公司);HYQ-2121A 涡旋混匀器(上海精密科学仪器有限公司);透射电子显微镜(日本 JEOL 公司);电子天平(MP500B);JB-3 型恒温磁力搅拌器(上海雷磁新泾仪器有限公司);B-260 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 微乳配方的初步筛选

实验中采用转相乳化法^[6]制备微乳,即水相加入至油相中,先制得油包水型(W/O)反相微乳;再进一步加水相制备水包油(O/W)型微乳。

微乳评判标准:外观澄清透明或半透明;100 g 下离心分离 5 min 而不发生相分离;激光粒度仪检测粒径在 10~100 nm 之间;利用油性染料苏丹红和水溶性染料亚甲基兰在微乳中红色和蓝色的扩散快慢来判断微乳的类型,若蓝色扩散快于红色则为 O/W 型微乳,反之,为 W/O 型微乳。

1.3.1.1 表面活性剂的初选

一般 HLB 值范围在 8~18 之间易形成 O/W 型微乳。本实验选用 RH-40、EL-40、CO-40、HS15、Tween80 作表面活性剂,观察其对微乳形成的影响。

1.3.1.2 助表面活性剂的初选

常用的助乳化剂为中链的醇类和 HLB 值适宜的表面活性剂。本实验选择无水乙醇、PEG400、丙三醇作助表面活性剂,观察其对微乳形成的影响。

1.3.1.3 油相的初选

考虑油相溶解性及其渗透到界面膜深处能力,本实验选择 IPM、IPP、GTCC 与肉桂油以一定质量比混溶作为混合油相,观察其对微乳形成的影响。

1.3.1.4 伪三元相图的绘制^[7]

常温常压下,将混合表面活性剂(表面活性剂和助表面活性剂)和混合油相(肉桂油与油相)按质量比为 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 的比例,精确称量混合于 50 mL 烧杯中,并详细记录各种相态变化时的耗水量。根据耗水量,计算混和表面活性剂、混合油相、水相在体系中所占的质量百分

含量。分别以混合表面活性剂(S)、油相(O)、水相(W)作为相图的三个顶点,利用 origin7.5 软件绘制伪三元相图。

1.3.1.5 温度对微乳形成的影响

通过单一的表面活性剂较难获得微乳形成所需的瞬变负界面张力和流体界面膜^[8],尝试采用两种表面活性剂进行复配。以 EL-40 与 Tween80 复配作表面活性剂,无水乙醇为助表面活性剂,IPP 为油相,Km = 2:1,分别在常温、40、60 °C 下,制备微乳。绘制伪三元相图。观察温度对微乳形成的影响,选择合适的制备温度。

1.3.1.6 Km 值对微乳形成的影响

Km 值是表面活性剂与助表面活性剂用量的比值。本实验分别考察 Km 值为 1:1、2:1、3:1 时,对微乳形成的影响。

1.3.2 微乳配方优化

分析以上微乳配方初步筛选的实验结果,在确定的表面活性剂中选择两两复配,拟定复配比,制备微乳。绘制相应的伪三元相图,选取相图区域面积较大的配方,并以此制备一定量微乳,于 60 °C 下放置 10 d,高温考察每种微乳稳定性,记录微乳外观变化,确定复配比。

1.3.3 肉桂油微乳外观及类型鉴别

将制备的肉桂油微乳置于试管中,观察其外观。

取相同体积的肉桂油微乳,分别滴加苏丹红 III(苏丹红 III 加无水乙醇配制)和亚甲基蓝溶液(亚甲基蓝加蒸馏水配制)各两滴,静止放置,观察红色与蓝色的相对扩散速度。

1.3.4 肉桂油微乳理化性质及其粒径测定

分别用阿贝折光仪、黏度计、电导率仪、pH 计测定肉桂油微乳的折光率、黏度、电导率、pH 值。

粒径及粒度分布研究:取肉桂油微乳适量,用蒸馏水稀释至计数速率在 50~200 kcp 范围内,用激光纳米粒度测定仪测定粒径和粒度分布。

1.3.5 肉桂油微乳的形态观察

取肉桂油微乳适量,稀释,滴在覆有支持膜的铜网上,晾干,滴加 pH 为 7.4 的 2% 磷钨酸溶液于铜网上负染 3 min,自然挥干,然后用透射电子显微镜观察并拍摄照片。

2 结果与分析

2.1 微乳配方初步筛选结果

2.1.1 表面活性剂筛选结果

RH-40、CO-40、EL-40 能在较大比例范围内形成微乳,其形成微乳能力较好,而 HS15 和 Tween80 较差。初步选前三种为微乳制备中的表面活性剂。进一步实验中以前三种为表面活性剂,无水乙醇为助表面活性剂,绘制相应的伪三元相图,对表面活性剂

进一步筛选,结果见图 1,三者微乳区域面积相差不多,需进一步考察其稳定性。将制得的肉桂油微乳,密封,常温下放置,20 d 后,以 RH-40 为表面活性剂制备的微乳出现分层,故 RH-40 不适合作为制备肉桂油微乳的表面活性剂,因此确定 CO-40 和 EL-40 为表面活性剂。

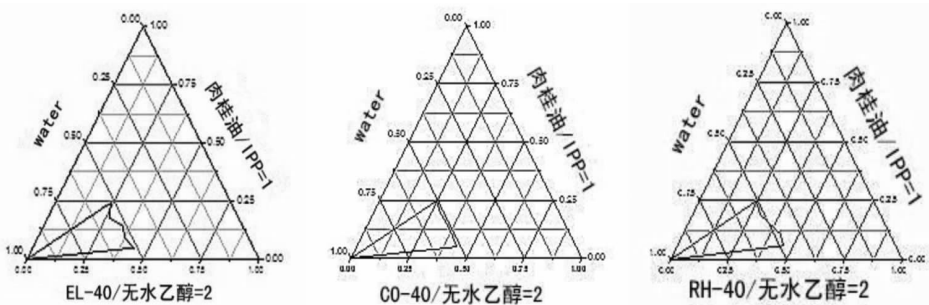


图 1 不同表面活性剂时伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagrams of different surfactants

2.1.2 助表面活性剂筛选结果

由表 1 可知,以 EL-40 为表面活性剂,无水乙醇为助表面活性剂时,混合表面活性剂与混合油相的

比值处在较大范围内,其微乳形成能力最佳。因此后续实验以无水乙醇作助表面活性剂。

表 1 表面活性剂为 EL-40 时助表面活性剂对微乳形成的影响

Table 1 Effect of different cosurfactants (EL-40 as surfactant) on microemulsion formation

助表面活性剂 Cosurfactant	表面活性剂 Surfactant	Km 值 Km value	混合表面活性剂 /混合油相 Ratio of mixed surfactants to mixed oil phases	肉桂油/IPP Ratio of Cinnamon oil to IPP	外观 Appearance
无水乙醇 Anhydrous ethanol	EL-40	2:1	9:1 ~ 6:4	1:1	透明、均一
聚乙二醇 400 PEG400	EL-40	2:1	9:1	1:1	透明、均一
甘油 Glycerin	EL-40	2:1	9:1	1:1	透明、均一

2.1.3 油相的筛选结果

相图中微乳区范围越大,微乳体系对水相容纳能力越强,对水相含量波动的耐受性也越强,即微乳体系相对稳定程度越高。由图 2 可知,分别以 IPP、IPM、GTCC 为油相时,后者微乳区域面积明显小于前两者,其形成微乳的能力及相对稳定性不如 IPP

与 IPM。而以 IPP 为油相时,微乳区域面积最大,因此后续实验以 IPP 为油相。

2.1.4 温度对微乳形成的影响

温度对微乳形成影响结果见图 3。40 °C 下形成的微乳区域大于常温,而与 60 °C 下大小相近。考虑无水乙醇和肉桂油的挥发性,故选 40 °C 作为制备微乳时的温度。

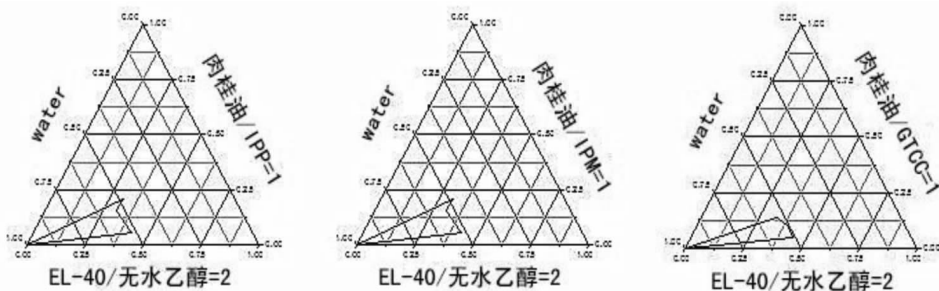


图 2 不同油相时伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams of different oil types

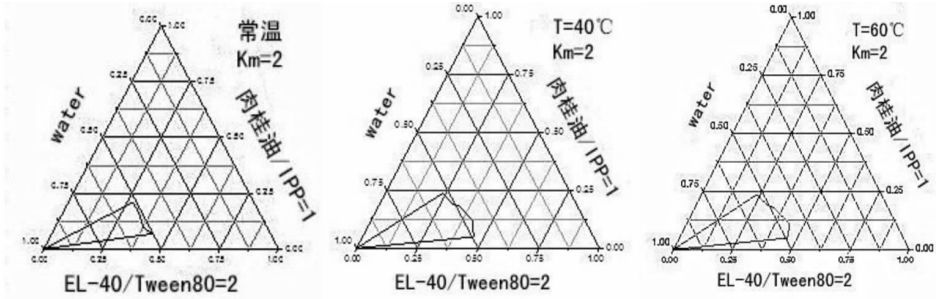


图3 不同温度时伪三元相图

Fig. 3 Pseudo-ternary phase diagrams of different temperatures

2.1.5 Km 值对微乳形成的影响

由图4可知,最佳Km为2:1。Km为1:1时,表面活性剂用量较少,乳化能力较弱,微乳区域很小;随Km增大,微乳区域先增大后减小,这可能与微乳体系内部结构有关。在最佳Km值处,助表面活性

剂正好完全镶嵌到表面活性剂中,形成的纳米微乳结构中增溶空间最大,载油量最大。

2.2 微乳配方的确定

根据表面活性剂筛选实验结果,CO-40和EL-40形成微乳能力较强,而稳定性和安全性较Tween-

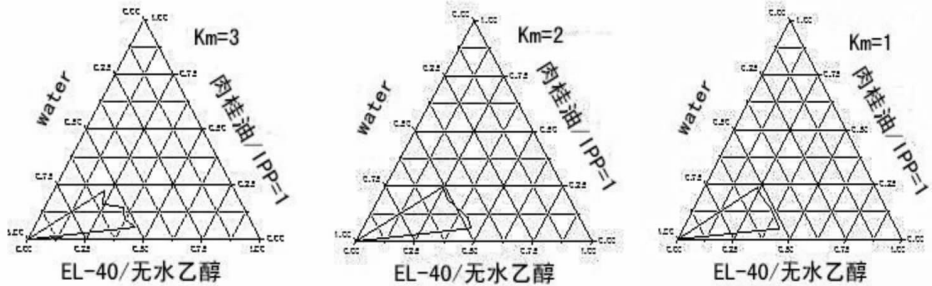


图4 不同 Km 时伪三元相图

Fig. 4 Pseudo-ternary phase diagrams of different Km value

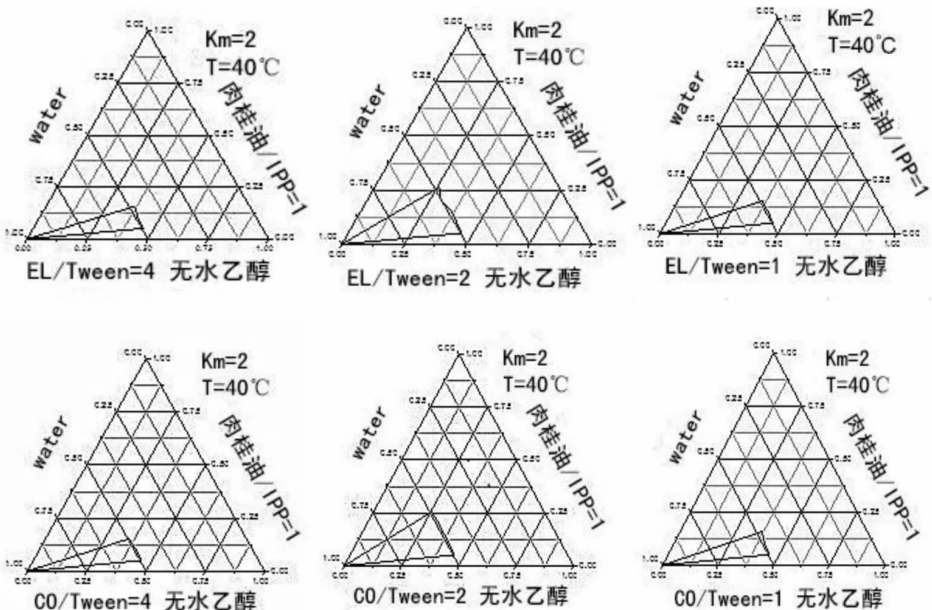


图5 微乳配方伪三元相图

Fig. 5 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsion formulations

80 差,因此以 CO-40/Tween80(1:1、2:1、4:1)、EL-40/Tween80(1:1、2:1、4:1)复配,无水乙醇为助表面活性剂, $K_m = 2:1$;肉桂油与 IPP 为混合油相,质量比为 1:1,于 40 °C 下制备微乳,分别绘制伪三元相图。由图 5 可知,表面活性剂 EL-40、CO-40 与 Tween80 复配比为 2:1 时,所得相图面积最大。60 °C 高温实验中 CO-40 与 Tween-80 复配所制备的微乳出现浑浊,而 EL-40 与 Tween80 复配所制备的微乳澄清透明。故确定表面活性剂 EL-40 与 Tween-80 复配比 2:1, $K_m = 2$,助表面活性剂无水乙醇,油相 IPP 为肉桂油纳米微乳配方。

2.3 微乳外观及类型鉴别

微乳澄清透明,呈淡黄色;水溶性亚甲基蓝在肉桂油微乳中扩散速度很快,而油溶性苏丹红 III 几乎不扩散,因此所制肉桂油微乳为水包油(O/W)型微乳。

2.4 肉桂油微乳理化性质及其粒径测定

肉桂油微乳粒径分布均匀(图 6),平均粒径为 32.0 nm。其电导率、折光率、黏度,pH 值分别为 111.0 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 、1.415、105 mpa. s、5.24。

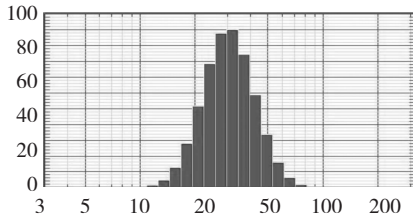


图 6 肉桂油纳米微乳粒径测定结果

Fig. 6 Result of CONE particle size measurement

2.5 肉桂油微乳的微观形态观察

肉桂油微乳大小均匀,形态呈圆形(图 7)。

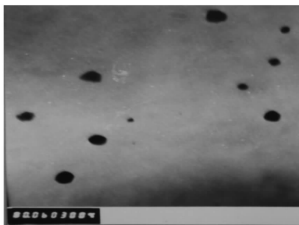


图 7 透射电镜下的肉桂油微乳(80000 倍,75KV)

Fig. 7 Image of cinnamon oil microemulsion under transmission electron microscopy(80000 times,75KV)

3 结论与讨论

实验最终确定的肉桂油纳米微乳配方为:EL-

40/Tween80/无水乙醇/IPP/肉桂油/水,EL-40 与 Tween80 复配(质量比为 2:1);无水乙醇为助表面活性剂, $K_m = 2:1$;IPP 为油相,与肉桂油质量比为 1:1,制备温度为 40 °C。EL-40 和 Tween80 均为非离子表面活性剂,助表面活性剂无水乙醇,油相 IPP 安全性均较好,所得的肉桂油纳米微乳理论上安全性高,制剂的实际安全性还有待于进一步的实验来确定。

实验采用表面活性剂 EL-40 和 Tween80 复配,两者的性质、复配比以及复配后 HLB 值对纳米微乳的形成及稳定性起着关键性作用;助表面活性剂无水乙醇为两亲性物质,能改善表面活性剂的 HLB 值,使油水间界面膜曲率增大,更易镶嵌到油水界面表面活性剂的亲水和疏水链中,形成混合吸附层,促使界面膜的流动性和柔韧性增强,使液晶相转变为微乳液^[9]; K_m 值为表面活性剂与助表面活性剂用量比值,其对微乳的形成有一定影响,一般情况下, K_m 值介于 1:2 ~ 2:1 之间时微乳相图区域面积最大,实验所得最佳 K_m 值为 2:1,这可能是由于此 K_m 值下,无水乙醇正好镶嵌到表面活性剂中,形成的纳米乳结构中增溶空间最大,载油量最大。温度对非离子表面活性剂形成的微乳影响较大,随温度上升,表面活性剂亲水性降低,亲油性提高,而超过一定温度,非离子表面活性剂氢键断裂,发生相分离,即浊点现象,本实验选择 40 °C 作为制备温度,在此温度下,既保证微乳区域有较大面积,油增容量较大,又可避免无水乙醇与肉桂油的挥发。

实验所制备的肉桂油纳米微乳为 O/W 型微乳,淡黄色、澄清透明、流动性好,透射电镜下微乳颗粒大小均匀,平均粒径为 32 nm,其电导率、折光率、黏度,pH 值分别为 111.0 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 、1.415、105 mpa. s、5.24。

参考文献

- 1 Tang YF(唐裕芳),Zhang ML(张妙玲),Huang BF(黄白飞). The extraction and anti-microbial activity of cinnamon oil. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2006,3: 432-434.
- 2 Xu M(徐明),Yu L(余璐),Ding YY(丁媛媛),et al. Experimental study on hypotensive effects of cinnamaldehyde in anesthetized rats. *Chin Heart J*(心脏杂志),2006,18:272-275.
- 3 Liu BM(刘布鸣),Lai MX(赖茂祥). Resources and application of Guangxi medical essential oil plant. *J Guangxi Tra-*

- dit Chin Med Univ*(广西中医学院学报),2005,8(2):83-88.
- 4 Yun J(恽杰). The preparations and applications of microemulsion. *J North Pharm*(北方药学),2011,8(8):40-41.
 - 5 Liu YM(刘亚明). Application situation of microemulsion in Chinese medicine research field. *J Shanxi Tradit Chin Med Univ*(山西中医学院学报),2012,13:163-164.
 - 6 Wang JL(王金铃),Sun J(孙进),He ZG(何仲贵). Microemulsions and its applications in pharmacy. *J Chin Pharm*(中国药剂学杂志),2009,4:356-357.
 - 7 Xie YW, Ye RQ, LiuHL. Microstructure studies on biosurfactant-rhamnolipid/n-butanol/water/n-heptane microemulsion system. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*,2007,92:189-195.
 - 8 DeyTK, GhoshS, Ghosh M, *et al.* Comparative study of gastrointestinal absorption of EPA & DHA rich fish oil from nano and conventional emulsion formulation in rats. *Food Res Int*,2012,49:72-79.
 - 9 Cui ZG(崔正刚), Yin FS(殷福珊). *Microemulsion Technology and Application*(微乳化技术及应用). Beijing: China Light Industry Press, 1999. 83-90.

(上接第 1266 页)

- 9 Brandstatter I, Kieber JJ. Two genes with similarity to bacterial response regulators are rapidly and specifically induced by cytokinin in *Arabidopsis*. *Plant Cell*,1988,10:1009-1019.
- 10 Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plantarum*,1962,15:473-497.
- 11 Theologis A, Huynh TV, Davis RW. Rapid induction of specific mRNAs by auxin in pea epicotyl tissue. *J Mol Biol*,1985,183:53-68.
- 12 Zhao Y, Christensen SK, Fankhauser C, *et al.* A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*,2001,291:306-309.
- 13 Nakamura A, Higuchi K, Goda H, *et al.* Brassinolide induces IAA5, IAA19, and DR5, a synthetic auxin response element in *Arabidopsis*, implying a cross talk point of brassinosteroid and auxin signaling. *Plant Physiol*,2003,133:1843-1853
- 14 Okushima Y, Fukaki H, Onoda M, *et al.* ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell*,2007,19:118-130.
- 15 Grunewald W, De Smet I, Lewis DR, *et al.* Transcription factor WRKY23 assists auxin distribution patterns during *Arabidopsis* root development through local control on flavonol biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*,2012,109:1154-1159.

(上接第 1280 页)

- 5 Ren YL(任艳玲). Studies on chemical composition and quality control of antidepressant fractions from Xiaoyaosan. Taiyuan: Shanxi University(山西大学), MSc. 2012.
- 6 Cui J(崔杰). Preliminary study on pharmacokinetics of antidepressant effective fraction from xiaoyaosan based on serum pharmacokinetics. Taiyuan: Shanxi University(山西大学), MSc. 2012.
- 7 Chen YY(陈欲云), Yu Y(余彦), Chen C(陈维), *et al.* Pharmacokinetic profile of Z-ligustilide in rat plasma and brain following oral administration. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2010,22:126-131.
- 8 Liu Y(刘洋), Hu LD(胡连栋), Tang X(唐星), *et al.* Pharmacokinetics of ligustilide in *Ligusticum chuanxiong* essential oil in rats *in vivo*. *Chin Tradit Herbal Drugs*(中草药),2009,40:228-230.
- 9 Ru Y. Pharmacokinetics and metabolism of ligustilide. *Drug Metab Dispos*,2007,36:400-408.