

环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物的定量分析研究

李学红^{1,2} 金征宇¹

1(江南大学食品科学与工程学院,无锡,214036)

2(郑州轻工业学院食品与生物工程学院,郑州,450002)

摘要 建立了环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物的定量分析方法,即利用有机溶剂洗涤法测定包合物表面油,有机溶剂浸提-紫外分光光度法测定包合物中的包合油;该方法具有需要样品量少,操作简便,准确度高的优点。

关键词 环糊精,异硫氰酸烯丙酯,包埋,定量分析

异硫氰酸烯丙酯(AITC)是芥末油的主要成分,不仅是调味料,还是一种广受关注的食品防腐剂,对食品常见腐败菌、致病菌具有很强的杀灭作用。但异硫氰酸烯丙酯具有强烈的挥发性和刺激性气味,不仅影响其杀菌的效果,也会带给食品不良的感官品质。通过环糊精对异硫氰酸烯丙酯进行包埋,则可以实现其缓慢释放,达到减轻气味并延长杀菌时间的目的。

目前关于环糊精包埋挥发性风味物质的研究报道很多,但对包合物的定量分析还不深入,多是利用水蒸气蒸馏法测定包合物中总挥发油含量的报道。其实,环糊精包合物含油量包含2部分:表面吸附油和包合油。表面吸附油易挥发,无缓释效果,只有包合油才是衡量包埋工艺及包合物品质的真正指标。在制备过程中,依据干燥程度的不同,表面吸附油含量会有很大的差异,因此分别测定表面吸附油和包合油的含量十分必要。

但关于环糊精包合物表面吸附油的测定方法尚未见有报道,而目前应用较多的挥发油含量测定——水蒸气蒸馏法,虽然操作简单,但也存在需要样品量多,准确度不高的问题^[4,5]。文中结合环糊精的包埋机理,确定了环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物表面油和包合油的定量分析方法,为以后相关环糊精包合物的定量研究提供方法上的借鉴。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

85-2型恒温磁力搅拌器、WFZUV-2602型紫外可见分光光度计(上海精密仪器仪表公司),ZK-82真空干燥箱(上海实验仪器厂),FC104电子分析天平(上海精密科学仪器公司),磨口挥发油测定器等。

异硫氰酸烯丙酯(AITC,99%纯度,Fluka公司),

β -环糊精(β -CD,99%纯度,上海西宝生物公司),正己烷、无水乙醇,均为分析纯。

1.2 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物的制备^[2,3]

准确称取 β -CD 5.0 g,加水 200 mL 后置 60℃ 水浴中加热使之完全溶解,再冷却到 40℃。磁力搅拌下缓慢滴加用等量乙醇溶解的 AITC 溶液 2 mL,保持搅拌 3h,抽滤,70℃ 真空干燥 12h,得干燥的包合物粉末。

1.3 异硫氰酸烯丙酯标准曲线的制作

AITC 的正己烷溶液,在紫外 248 nm 处有最大吸收。因此,精确配制 0.01 ~ 0.07 $\mu\text{L/mL}$ 系列 AITC 的正己烷标准溶液,于 248 nm 处测定吸光值(每个浓度重复测定 3 次,取平均值),用 Excel 软件制作标准曲线。

1.4 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物中表面油的测定

由于 CD 与客体的包合与解包合反应均需要水分的参与^[6,7],因此 CD 包合物表面油的测定可直接通过有机溶剂洗涤法进行。具体操作如下:

准确称取 0.1g 左右包合物,置于干燥的具塞试管中,加入正己烷 10 mL,室温下分别振荡 10、20、35 和 50 min,倾出有机相。向残渣中再加入正己烷 5 mL,振荡 10 min,倾出有机相。准确量出 2 次正己烷有机相体积,并分别在紫外 248 nm 处测定吸光值,最终计算出包合物表面油的含量(每个样品重复测定 3 次,取平均值)。

$$\text{包合物表面油含量}/\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}=k\sum(A_n\times V_n)$$

其中, A_n ,第 n 次洗涤正己烷相的紫外吸光值; V_n ,第 n 次洗涤正己烷相的体积(mL); k ,紫外吸光值与 AITC 浓度的换算系数,由标准曲线得出。

1.5 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物中包合油的测定

首先测定包合物的总含油量,再扣除表面油含

第一作者:博士研究生,副教授。

收稿日期:2006-05-08,改回日期:2006-06-22

量,即得包合油含量。

考虑到水蒸气蒸馏法存在的不足,本论文设计通过水-有机溶剂共混体系热浸提结合紫外分光光度法来测定总油。具体操作如下:

准确称取 0.1 g 左右包合物,置于 25 mL 螺旋口试管中,加蒸馏水 10 mL,有机溶剂 7 mL,加盖密封,置 80℃ 水浴中加热浸提 20 min,间歇振荡,然后用玻管吸出有机相。向残渣中再加入有机溶剂 7 mL,同上操作,重复 3 次。

准确量出每次有机相体积,并分别在紫外 248 nm 处测定吸光值(由于前 2 次有机相中 AITC 含量较大,通常超出紫外测定范围,可先稀释后再进行测定),最终计算出包合物总含油量(每个样品重复测定 3 次,取平均值)。

包合物含油量/ $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}=k\sum(m_n\times A_n\times V_n)$ 其中, A_n ,第 n 次浸提有机相的紫外吸光值; V_n ,第 n 次浸提有机相的体积(mL); m_n ,第 n 次浸提有机相的稀释倍数; k ,紫外吸光值与 AITC 浓度的换算系数,由标准曲线得出。

进一步,还可通过下式计算包合物中 CD 的包埋率:

包埋率/% = $\frac{\text{包合物中 CD 包埋油量}}{\text{CD 最大包埋量}} \times 100$

表 1 第一次洗涤时间对所测包合物表面油含量的影响

第一次洗涤时间/min	10		20		35		50	
正己烷相中含油量 ¹⁾ / $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂
	2.9±0.6	1.0±0.3	4.1±0.3	0.3±0.2	4.4±0.3	0.3±0.2	4.4±0.2	0.2±0.1
表面油含量/ $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$	3.9±0.6		4.4±0.3		4.7±0.3		4.6±0.2	

1) P₁: 第 1 次洗涤正己烷相;P₂: 第 2 次洗涤正己烷相。

如表 1 所示,第 1 次洗涤时间为 10 min 时,第 2 次正己烷洗涤相中仍含有较多的油量,说明洗涤不充分;第 1 次洗涤 20 min 时,第 2 次正己烷洗涤相中含油量已经很少,测得表面油含量为 4.4 $\mu\text{L/g}$;延长第 1 次洗涤时间至 35 min 和 50 min,则测得表面油含量基本保持在 4.6 $\mu\text{L/g}$ 左右。

根据以上的实验结果,采用正己烷 2 次震荡洗涤 20 min 和 10 min,大约 96% 的表面油可以被洗下,基本上可以满足表面油测定要求。

2.4 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物中包合油的测定

2.4.1 有机溶剂的选择

包合油从包合物中的彻底释放,需要在有水-机溶剂环境中加热进行。本实验分别选用正己烷、乙醚和 CHCl_3 为浸提用有机溶剂,结果发现,由于 3 种有机溶剂的密度及在水中的溶解度不同,其在共热混合

实验中分别选用正己烷、氯 CHCl_3 和乙醚作为浸提溶剂,比较其浸提性能;同时,通过跟踪每次浸出液的含油量,来确定测定包合物总含油量所需的浸提次数。

2 结果与讨论

2.1 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物的制备

AITC 属于亲脂性化合物,很容易被 CD 疏水性内腔所包埋。本实验利用溶液共沉淀法制备了 β -CD-AITC 包合物,产品为疏松的白色粉末,具有轻微 AITC 的气味。

2.2 异硫氰酸烯丙酯标准曲线的制作

以正己烷为参比,测定 AITC-正己烷系列标准溶液在 248 nm 的吸光值,标准曲线回归方程为:,回归系数 $R^2=1$ 。在 0~0.08 $\mu\text{L/mL}$ 浓度范围内,吸光度与 AITC 含量呈很好的线性关系。

2.3 β -环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物中表面油的测定

通过间歇震荡,包合物表面吸附的 AITC 可被洗入正己烷相中,再经紫外比色进行定量。为减少测定程序的繁琐,选用 2 次震荡洗涤法,重点考察第 1 次震荡洗涤的时间对表面油含量测定的影响。

体系中与水的界面情况存在很大差异。正己烷相处于水相的上层,两相界面清晰,通过吸管可以很容易地将正己烷相完全移出; CHCl_3 相位于水相下层,虽界面分明,但未溶解的包合物存留于 CHCl_3 层中;乙醚相则与水相形成中间乳化层,界面模糊,这后 2 种情况均不利于有机相的完全移出。由于有机相体积的误差直接影响包合油的测定,因此在包合物总油的测定中使用以正己烷作浸提剂。

2.4.2 热浸提的次数

要使包合物中包合油全部进入正己烷中,需要进行多次热浸提。表 3 显示了每次浸提有机相中的含油量。

第 1 次 80℃ 浸提 20 min,浸提出 81.4% 的包埋油,第 2 次处理浸提出 15.6% 的包合油,第 3 次浸提液中含油量已经很少,第 4 次则基本可以忽略。由此认为,包合物中总油的测定可以使用 3 次浸提、每次

表 2 各次热浸提有机相中的含油量

次 数	第 1 次浸提	第 2 次浸提	第 3 次浸提	第 4 次浸提	总 计
有机相中含油量/ $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$	60.4 ± 1.8	11.6 ± 0.5	1.5 ± 0.4	0.7 ± 0.2	74.2 ± 1.8
占总油量的百分比/%	81.4 ± 2.4	15.6 ± 0.6	2.0 ± 0.5	0.9 ± 0.2	100 ± 2.4

80℃浸提 20 min 的方法。

进一步改进上述方法,即先合并浸提液,再进行紫外测定。。

2.4.3 回收率实验

取包合物样品,加入 AITC 标样,按改进后的方法对样品进行总含油量的测定,同时以未加标样品为对照,结果见表 3。

表 3 回收率试验结果

样品号	1	2	3	4	5
加入 AITC 量/ $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$	60	60	60	60	60
回收率/%	95.8	94.7	95.5	96.8	95.0
RSD/%	0.20	0.94	0.10	1.26	0.63

水-有机溶剂浸提法测定包合物含油量,平均回收率为 95.6%, $\text{RSD}\leq 1.26\%$,影响回收率的因素主要有操作过程中异硫氰酸烯丙酯的挥发损失,少量异硫氰酸烯丙酯溶于水导致的损失以及操作误差等。

2.4.4 与水蒸气蒸馏法的比较

准确称取 10 g 环糊精包合物样品于挥发油测定器中,加水 250 mL 进行水蒸气蒸馏测定(3 h),从刻度支管中直接读数,所得结果与浸提法进行比较。

表 4 有机溶剂热浸提法和水蒸气蒸馏

测定法所测得的含油量		$\mu\text{L/g}$	
样品号	1	2	3
有机溶剂热浸提法	74.3	74.6	73.8
水蒸气测定法	71.8	70.5	71.2

水蒸气测定法需要样品量大,而且测定结果平均比有机溶剂浸提法低 4.5% 左右(见表 3)。导致这一结果的主要原因可能是水蒸气蒸馏的不完全性以及较多异硫氰酸烯丙酯在水中的残留。相比而言,有机

溶剂浸提法的准确度就较高。

根据所得数据,本实验所制备的 CD-AITC 包合物含油量约为 $74.2\ \mu\text{L/g}$,其中表面吸附油为 $4.6\ \mu\text{L/g}$,包合油为 $69.6\ \mu\text{L/g}$ 。根据 CD 分子包埋机理以及 AITC 的分子大小,AITC 与 β -CD 是按 1:1 的摩尔比形成包合物,即每克包合物的最大理论包埋量为 $79.5\ \mu\text{L/g}$ 。由此可以算出本实验所得包合物中 β -CD 的包埋率为 87.5%。

3 结 论

建立了环糊精-异硫氰酸烯丙酯包合物表面油和包合油的测定方法。所需样品量少,操作相对简便,准确度较高,可作为相关环糊精包合物的定量分析方法。

参 考 文 献

1 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2000
2 Allan R H. Industrial application of cyclodextrins[J]. Chem Rev, 1998, 98: 2 035
3 张 玲,单卫华,时延增,等. 肉桂挥发油 β -环糊精包合工艺的研究[J]. 中成药,1999, 21(11):561
4 刘书堂,郑国和,阎亚强. β -环糊精挥发油粉末化技术在中药制剂中的研究和应用[J]. 中草药,1997,28(12):749
5 李芳荣,何风雷,贾本真. 山苍子油- β -环糊精包合物的制备工艺研究[J]. 中成药,1998, 20(1): 4
6 Yoshii H, Furuta T, Yasunishi A, et al. & Hirano, H. Minimum number of water molecules required for inclusion of d-limonene in the cyclodextrin cavity[J]. Journal of Biochemistry, 1994, 115: 1 035
7 Kant A, Linforth R S T, Hort J, et al. Effect of β -cyclodextrin on aroma release and flavor perception[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 2 028

Study on the Quantificative Analysis of Allgl Isothiocyanate from β -cyclodextrin Complex

Li Xuehong^{1,2} Jin Zhengyu¹

1(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

2(College of Food and Biotechnology, Zhengzhou Institute of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT The quantitative analysis method of allyl isothiocyanate from β -cyclodextrin complex was established. The organic solvent washing was used to determine the surface oil and the water-organic solvent extraction combined with UV Spectrophotometry was used for the measurement of the inneroil. The results showed that the methods are simple, accurate, and need only need a small amount of samples in the quantification of the complexed oil from cyclodextrin.

Key words cyclodextrin, allyl isothiocyanate, complexation, quantitative analysis