

大蒜素在正戊烷和乙醇中的分解动力学研究

周华, 李文清, 晏日安, 黄雪松, 欧仕益

(暨南大学理工学院食品科学与工程系, 广东广州 510632)

摘要: 研究了大蒜素在正戊烷、乙醇溶剂中的分解动力学过程, 拟合得到了动力学参数: 大蒜素在正戊烷、乙醇溶剂中的分解活化能分别为 56.0、72.0 kJ/mol, 指前因子分别为 9.2×10^5 、 1.5×10^6 。采用 B₃LYP 方法, 在 6-31+G(d, p) 基组下计算了大蒜素与正戊烷、乙醇的相互作用能分别为 1.12、31.18 kJ/mol, 说明大蒜素与乙醇分子间存在较强的相互作用; 采用自然键轨道理论分析了以乙醇为溶剂的体系中电子供体(Donor)轨道、电子受体(Acceptor)轨道以及它们之间相互作用的稳定化能, 结果表明大蒜素分子中的氧原子的孤对电子 O(13) 对乙醇分子的羟基 (O(21)-H(20)) 的反键轨道稳定化能为 45.45 kJ/mol, 说明大蒜素与乙醇分子产生较强的氢键作用, 分散了大蒜素分子中的氧原子上的负电荷, 导致分子内质子转移能量升高, 因而大蒜素在乙醇中具有更高热稳定性。

关键词: 大蒜素; 动力学; 大蒜; 活化能

文章编号: 1673-9078(2013)11-2591-2594

Decomposition Kinetics of Alicin in Pentane and Ethanol

ZHOU Hua, LI Wen-qing, YAN Ri-an, HUANG Xue-song, OU Shi-yi

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

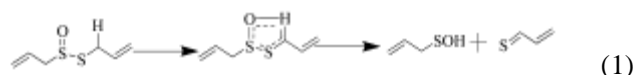
Abstract: The kinetic parameters for decomposition of alicin in pentane or ethanol were determined. The activation energies and pre-exponential factors were separately 56.0 kJ/mol and 9.2×10^5 in pentane as well as 72.0 kJ/mol and 1.5×10^6 in ethanol. The intermolecular interaction energy between alicin and solvent was calculated by density functional theory (DFT) at the B₃LYP/6-31+G(d+P) level. The results showed that the intermolecular interaction energy between alicin and ethanol (31.18 kJ/mol) was higher than that between alicin and pentane (1.12 kJ/mol). Natural orbital theory (NBO) analysis showed that the anti-bonding orbital stabilization energy between the lone pairs of O (13) in alicin and hydroxyl O(21)-H(20) in ethanol molecule was 45.45 kJ/mol, which illustrated that strong hydrogen bonding interaction between them dispersed the negative charges in O atom of alicin. Therefore it became more difficult in the intramolecular to transfer H atom during decomposition of alicin in ethanol.

Key words: alicin; kinetics; garlic; activity energy

大蒜素 (中文别名: 二烯丙基硫代亚磺酸酯; 英文名: Alicin) 是大蒜中最具代表性的一种含硫化合物。就其风味而言, 大蒜素比大蒜中其他含硫化合物更接近新鲜大蒜的味道^[1], 其生物活性特别是抗氧化活性均远远强于大蒜中的其他化学成分^[2-4]。

尽管大蒜素的生物活性突出, 却一直没有得到很好的实际利用, 原因在于大蒜素不稳定, 极易分解^[5-7]。在 80 °C 下, 大蒜素接近完全分解, 其过程只需 30 min^[8]; 而切开的新鲜大蒜, 其半衰期仅 2.5 d^[9]。大蒜素的分解机理, 2009 年加拿大学者 Vaidya 在 *Angew. Chem. Int. Ed.* 杂志上撰文发表其独到见解^[10], 提出大蒜素可能存在先常温下发生 Cope 消除反应, 而后生成次磺酸中间体的分解过程: 即大蒜素通过形成一个五元环的过渡态结构后, 分解生成两个主要产物 (见化学

反应方程式 1)。2010 年, Block E 等采用新的 DART-MS (实时直接分析-质谱)^[11-12] 技术, 第一次检测到中间体次磺酸的存在, 该机理得到了进一步的确认。



通过反应方程式, 我们不难看出, 大蒜素的分解特性是由其本身的结构所决定的, 除此以外, 还与存放的温度、溶剂等密切相关。温度越高, 越容易分解^[8]。溶剂的影响要复杂一些: 如大蒜素在乙醇 (或乙醇水溶液^[13]) 等溶剂中的稳定性明显好于其油脂溶液 (在油脂中的半衰期仅为 0.8 h^[13]), 其原因也一直未得到充分解释^[13-14]。本文针对大蒜素在溶剂中的稳定性, 研究大蒜素在正戊烷、乙醇溶剂中的动力学特性, 构建动力学方程, 结合理论计算, 探讨溶剂对大蒜素稳定性的影响机制, 为大蒜素提取工艺的优化提供理论支持, 亦可为大蒜素的储存 (或分散) 提供理论参考。

收稿日期: 2013-07-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31101323)

作者简介: 周华 (1976-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品化学

1 材料与方法

1.1 原料

二烯丙基二硫醚、双氧水、乙醇、正戊烷等试剂均购自阿拉丁试剂(上海)有限公司。

1.2 主要仪器设备

高效液相色谱,美国安捷伦公司;UV3600 紫外-可见分光光度计,日本 SHIMADZU 公司;电子天平 Acculab ALC210,德国 Sartorius 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 大蒜素的合成

大蒜素按参考文献合成^[8]。将 1.46 g 二烯丙基二硫醚溶于 30 mL 氯仿,间氯过氧苯甲酸溶于 5 mL 氯仿中。在 0 °C 下将间氯过氧苯甲酸溶液缓慢滴入到二烯丙基二硫醚溶液中,0 °C 下搅拌 1 h。然后在剧烈搅拌下分多次加入碳酸钠共 8 g,0 °C 下继续搅拌 1 h。滤去残渣,减压蒸发滤液,除去氯仿,得到粗制大蒜素。将其用柱层析法(洗脱液为石油醚和乙酸乙酯 20:1)纯化,纯化得到的大蒜素置于冰箱中保存。经核磁测定产物结构,其氢谱和碳谱数据为 ¹H NMR (400 MHz, CD₃COOD): δ 3.72~3.92 (m, 4H), 5.20~5.56 (m, 4H), 5.88~5.99 (m, 2H) ppm; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃COOD): δ 35.02、59.90、119.10、124.00、125.80、132.90 ppm。与文献数据一致^[10]。

1.3.2 大蒜素的含量检测与分析

大蒜素的含量分析见参考文献^[8,11]。样品中的大蒜素采用紫外分光光度法和 HPLC 分析(50% H₂O: MeOH, 0~15 min 流速为 0.3 mL/min, 16~50 min 流速为 1 mL/min, 柱子 C18, 3.9×150 mm column, UV detection at 254 nm)。

1.3.3 大蒜素分解动力学实验

将 1.3.1 制备的大蒜素分别溶于正戊烷、乙醇配成 100 mmol/mL 的溶液,各两份,每份 10 mL。而后将大蒜素正戊烷和乙醇溶液置于恒温水浴锅中。每隔一定时间,测试大蒜素的浓度及其含量,每个试验点作三次重复。建立时间-浓度曲线。

1.3.4 计算方法

采用 B₃LYP 方法,在 6-31+G(d, p)基组下,用能量梯度法分别对几何构型进行了全参数优化。所有单点能的计算在 6-311++G(d, p)基组下计算得到(加入零点能校正),单位为 kJ/mol。

1.4 数据分析

用 Excell 软件对数据进行统计、分析,所有数据取三次重复的平均值;用 Origin 8.0 软件对数据进行拟合以及图形化处理。

2 结果与讨论

2.1 大蒜素在溶剂中的分解动力学研究

大蒜素在正戊烷、乙醇溶剂中的分解曲线(时间-浓度)如图 1 中 a 所示。从图中可以得出,在温度为 303 K 时,以正戊烷为溶剂,其分解半衰期大约为 70 min;然而以乙醇为溶剂,大蒜素的分解速度则明显减慢,至完全分解大约需要 9 d 时间,可见大蒜素在乙醇中的稳定性要远远优于正戊烷。

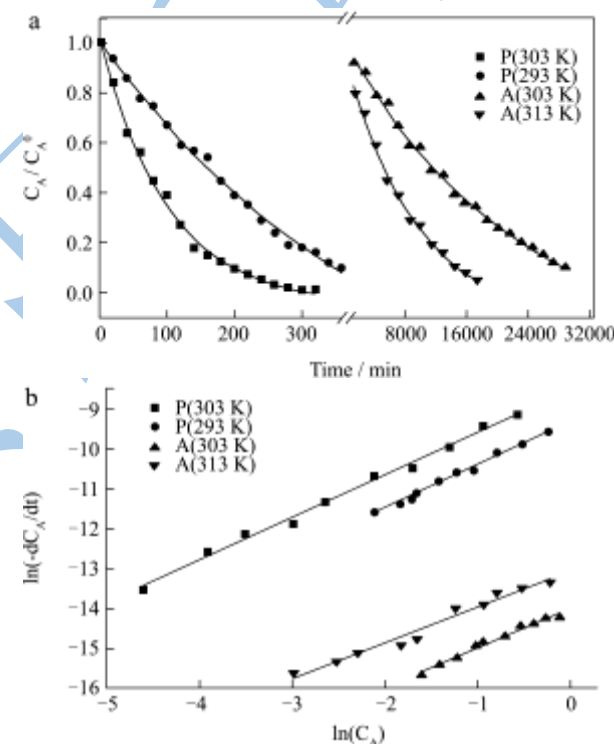


图 1 大蒜素的分解曲线(a)和大蒜素的动力学参数拟合(b)

Fig.1 The degradation curve of alliin in different solvent (a) and Determination of the kinetic parameters of alliin degradation in different solvents (b)

注: P:正戊烷, A:乙醇。

大蒜素的不稳定性是由于该分子容易发生分解生成两种产物^[10],是一个简单的基元反应。大蒜素的转化率可以用公式 2 表示:

$$\eta = \frac{C_0 - C_A}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

注: C₀ 为大蒜素的起始浓度; C_A 为大蒜素的即时浓度。

为了得到大蒜素在不同溶剂中的分解动力学参数, 使用动力学的最基本公式 (3):

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A^n \quad (3)$$

由公式 (3) 可以推导出公式 (4)

$$\ln\left(-\frac{dC_A}{dt}\right) = \ln\left(\frac{k}{C_{A0}^{n-1}}\right) + n \ln C_A \quad (4)$$

其中速率常数 k 可用公式 (4) 代入计算。

$$k = Ae^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (5)$$

对图 1 中 a 的数据, 根据公式 (3) 拟合, 可以得到图 1b。

根据图 1b 与公式 (4)、(5) 计算得到动力学参数, 结果见表 1。

表 1 大蒜素分解反应的动力学参数

Table 1 Kinetic parameters for alliin degradation reaction

溶剂	温度 /K	动力学参数 / (k/min)	n	活化能 / (kJ/mol)	指前因子 / min ⁻¹
戊烷	293	9.23×10 ⁻⁵	1.09	56.0	9.2×10 ⁵
	303	2.01×10 ⁻⁴	1.07		
乙醇	303	9.00×10 ⁻⁷	1.04	72.0	1.5×10 ⁶
	313	2.12×10 ⁻⁶	0.91		

表 1 为在不同溶剂 (正戊烷、乙醇) 中拟合得到的大蒜素分解动力学参数。从表 1 可以看出, 以正己烷为溶剂, 大蒜素的分解活化能为 56.0 kJ/mol, 而以乙醇为溶剂, 其分解活化能则达到 72.0 kJ/mol, 在同样温度下, 大蒜素在正戊烷中分解速率常数要大乙醇约三个数量级。显然以乙醇为溶剂, 大蒜素的转化更慢、稳定性更好。

2.2 溶剂与大蒜素的相互作用分析

分别以正戊烷、乙醇为溶剂, 考察大蒜素与溶剂的相互作用。采用 B₃LYP 方法, 在 6-31+G(d, p) 基组下对溶剂与大蒜素进行逐步优化, 获得大蒜素与正戊烷或乙醇共存时的优化结构如图 2 所示。对比图 2 中的 R1 (以正戊烷为溶剂) 与 R2 (以乙醇为溶剂), 两者最明显的区别在于大蒜素分子中 O(13) 与 H(5) 之间的距离, 分别为 2.206 Å (R1)、2.769 Å (R2), 另外乙醇分子上活泼氢与大蒜素分子中氧原子距离为 1.852 Å, 而在正己烷为溶剂的体系中, 大蒜素与正戊烷分子间的距离均较远。

采用 B3LYP 方法, 在 6-311+G(d, p) 基组下计算了溶剂与大蒜素经 BSSE 和 ZPEC 校正前后的分子间相互作用能, 在正戊烷、乙醇中, 溶剂与大蒜素的相互作用能分别为 1.12、31.18 kJ/mol, 说明大蒜素与乙

醇分子间具有较强的相互作用, 而正戊烷与大蒜素的作用则非常弱。采用自然键轨道分析以乙醇为溶剂的体系中电子供体(Donor)轨道、电子受体(Acceptor)轨道以及它们之间相互作用的稳定化能, 结果表明大蒜素分子中的氧原子的孤对电子 O(13) 对乙醇分子的羟基(O(21)-H(20)) 的反键轨道稳定化能为 45.45 kJ/mol, 说明大蒜素与乙醇分子产生较强的氢键作用, 结果与前文分析的键长以及相互作用得出的结论一致。

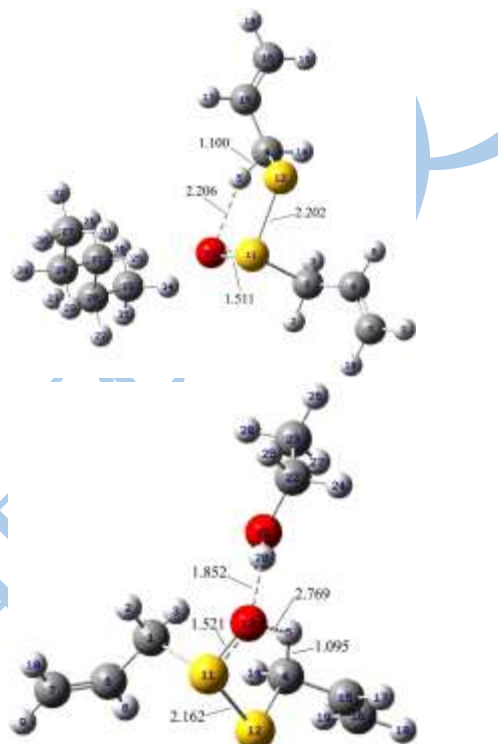


图2 大蒜素与溶剂共存时 (即反应物) 的优化构型、重要键长、原子编号

Fig.2 Optimized geometries, major bonds length and atomic numbering in alliin- solvent system

2.3 大蒜素在正戊烷、乙醇中的电荷分布与转移

表 2 大蒜素部分原子在不同溶剂中的自然电荷分布

Table 2 Natural atomic charge distribution of Alliin in different solvents

体系	原子编号				
	4/C	5/H	11/S	12/S	13/O
A	-0.640	0.239	0.509	0.046	-0.624
B	-0.475	0.110	0.356	0.087	-0.414

注: A: 溶剂为正戊烷, B: 溶剂为乙醇。

表 2 列入了大蒜素分子中部分原子上的净电荷变化。从表 2 中可以看出, 不同溶剂对大蒜素原子中的电荷转移存在差异。最明显的表现在: 在乙醇溶剂中,

大蒜素中 O (13) 因为有部分负电荷转移到与之形成氢键的乙醇分子中的活泼氢原子上, 所以, 相比在正戊烷中而言, O (13) 上的自然电荷大约减少了 34%。这也从另一侧面反映了氢键形成的作用和强度。

3 结论

3.1 绘制了大蒜素在正戊烷、乙醇溶剂中浓度-时间曲线图, 并拟合得到了对应的动力学方程, 获得其在正戊烷、乙醇溶剂中的活化能分别为 56.0、72.0 kJ/mol, 指前因子分别为 9.2×10^5 与 1.5×10^6 。

3.2 采用 B₃LYP 方法, 在 6-311+G(d, p) 基组下计算了大蒜素与正戊烷、乙醇的相互作用能分别 1.12、31.18 kJ/mol, 说明大蒜素与乙醇分子间存在强烈的相互作用; 采用自然键轨道分析法, 得出大蒜素分子中的氧原子 O(13) 的孤对电子对乙醇分子的羟基 (O(21)-H(20)) 的反键轨道稳定化能为 45.45 kJ/mol, 说明乙醇与大蒜素分子间存在强烈的氢键作用。

参考文献

- [1] 孙君社, 高孔荣. 大蒜和洋葱风味物及其萃取 [J]. 中国调味品, 1995, 10: 9-13
Sun J S, Gao K R. Garlic and onion flavors and extracts [J]. China Condiment, 1995, 10: 9-13
- [2] Hirsch K, Danilenko M, Giat J, et al. Effect of purified allicin, the major ingredient of freshly crushed garlic, on cancer cell proliferation [J]. Nutr. Cancer, 2000, 38 (2): 245-254
- [3] Okada Y, Tanaka K, Fujita I, et al. Antioxidant activity of thiosulfonates derived from garlic [J]. Redox Rep., 2005, 10 (2): 96-102
- [4] Okada Y, Tanaka K, Sato E, et al. Antioxidant activity of the new thiosulfonate derivative, S-benzyl phenylmethanethiosulfonate, from *Petiveria alliacea* L [J]. Org. Biomol. Chem, 2008, 6 (6): 1097-1102
- [5] Fujisawa H, Suma K, Origuchi K, et al. Thermostability of allicin determined by chemical and biological assays [J]. Biosci., Biotechnol., Biochem., 2008, 72 (11): 2877-2883
- [6] Lawson L D, Gardner C D. Composition, Stability, and Bioavailability of Garlic Products Used in a Clinical Trial [J]. J. Agric. Food Chem, 2005, 53 (16): 6254-6261
- [7] Nishimura H, Takahashi T, Wijaya C H, et al. Thermochemical transformation of sulfur compounds in Japanese domestic Allium, *Allium victorialis* L [J]. BioFactors, 2000, 13 (1-4): 257-263
- [8] Ilic D P, Nikolic V D, Nikolic L B, et al. Thermal degradation, antioxidant and antimicrobial activity of the synthesized allicin and allicin incorporated in gel [J]. Hem. Ind, 2010, 64 (2): 85-91
- [9] Lawson L D, Bauer R. Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds. In *Phytomedicines of Europe: Chemistry and Biological Activity*. Eds; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1998, 691: 176-209
- [10] Vaidya V, Ungold K U, Pratt D A. Garlic: source of the ultimate antioxidants-sulfenic acids [J]. Angew. Chem., Int. Ed., 2009, 48 (1): 157-160
- [11] Kubec R, Cody R B, Dane A J, et al. Applications of direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) in allium chemistry. (Z)-butanethial S-oxide and 1-butenyl thiosulfonates and their S-(E)-1-butenylcysteine S-oxide precursor from *Allium sicutum* [J]. J. Agric. Food Chem., 2010, 58 (2): 1121-1128
- [12] Block E, Dane A J, Thomas S, et al. Applications of Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS) in Allium Chemistry. 2-Propenesulfenic and 2-Propenesulfinic Acids, Diallyl Trisulfane S-Oxide, and Other Reactive Sulfur Compounds from Crushed Garlic and Other Alliums [J]. J. Agric. Food Chem., 2010, 58(8): 4617-4625
- [13] Fujisawa H, Suma K, Origuchi K, et al. Biological and chemical stability of garlic-derived allicin [J]. J. Agric. Food Chem, 2008, 56 (11): 4229-4235
- [14] 周爱梅, 李汴生. 大蒜素的稳定性研究 [J]. 食品工业科技, 1998, 6: 13-14
Zhou A M, Li B S. The studies on stability of allicin [J]. Science and Technology of Food Industry, 1998, 6: 13-14
- [15] Lawson L H, Han P A. Spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfonates [J]. Anal Biochem, 1995, 225(1): 157-160