

异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋理化特性研究

李文钊¹, 杜依登¹, 史宗义¹, 时瀛洲¹, 阮美娟¹, 朱华平²

(1. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

(2. 天津科技大学食品营养与安全教育部重点实验室 天津 300457)

摘要: 以羟丙基- β -环糊精为壁材, 对异硫氰酸苄酯进行了包埋, 以增加异硫氰酸苄酯的溶解度和提高热稳定性。研究了包埋物的相溶解曲线, 并通过红外光谱、热重分析、扫描电镜观察, 对包埋物进行特性研究。相溶解曲线显示羟丙基- β -环糊精对异硫氰酸苄酯的增溶效果显著, 相溶解曲线属于 AL 型, 羟丙基- β -环糊精和异硫氰酸苄酯按 1:1 的比例形成包埋物, 包埋常数为 408.8 L/mol; 红外图谱显示包埋物中异硫氰酸苄酯的特征吸收峰减弱, 说明异硫氰酸苄酯的 -N=C=S 基团进入羟丙基- β -环糊精空腔中; 热重分析显示包埋后异硫氰酸苄酯的热稳定得到了一定程度的提高; 通过扫描电镜观察可以看出, 包埋物为不规则的结晶体。通过对异硫氰酸苄酯的包埋, 一方面增加了异硫氰酸苄酯的溶解度, 扩大了异硫氰酸苄酯的应用范围, 另一方面也提高了其热稳定性, 减少了异硫氰酸苄酯在加工过程中的热损失。

关键词: 异硫氰酸苄酯; 羟丙基- β -环糊精; 包埋; 溶解度; 热稳定性

文章编号: 1673-9078(2014)12-74-78

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.013

Study on the Properties of an Inclusion Complex of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Benzyl Isothiocyanates

LI Wen-zhao¹, DU Yi-deng¹, SHI Zong-yi¹, SHI Ying-zhou¹, RUAN Mei-juan¹, ZHU Hua-ping²

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

(2. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety of Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In order to increase the solubility and improve the heat stability of benzyl isothiocyanates, an inclusion complex of hydroxypropyl- β -cyclodextrin and benzyl isothiocyanates was prepared using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and benzyl isothiocyanates as the host and guest, respectively. The phase solubility curve for hydroxypropyl- β -cyclodextrin-benzyl isothiocyanates was investigated, and the properties of the inclusion complex were studied using infrared spectroscopy (IR), thermogravimetric analysis (TGA), and scanning electron microscopy (SEM). The phase solubility curve, which was found to be of the AL type, indicated that hydroxypropyl- β -cyclodextrin could significantly increase the solubility of benzyl isothiocyanates. The inclusion complex of hydroxypropyl- β -cyclodextrin and benzyl isothiocyanates formed with a 1:1 ratio had an inclusion constant of 408.8 L/mol. In the IR spectrum, the intensity of the characteristic absorption peak of benzyl isothiocyanates decreased, indicating that the -N=C=S group of benzyl isothiocyanate entered into the hydroxypropyl- β -cyclodextrin cavity. TGA results showed that the heat stability of benzyl isothiocyanates improved to some extent. SEM observations revealed that the inclusion complex consisted of irregular crystals. The inclusion of benzyl isothiocyanate increased its solubility, and expand the scope of its application. In addition, the heat stability of benzyl isothiocyanate also improved, which reduced heat loss during the process.

Key words: benzyl isothiocyanates; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion; solubility; heat stability

收稿日期: 2014-06-21

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目(2012BAD33B09); 国家科技支撑计划项目(2012BAD31B06)

作者简介: 李文钊(1970-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为食品加工与保鲜

通讯作者: 朱华平(1980-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为食品营养与安全

异硫氰酸酯是一类具有-N=C=S 结构的小分子化合物, 它是十字花科植物中广泛存在的硫代葡萄糖苷的酶解产物, 作为天然的抗癌活性物质而备受关注^[1], 异硫氰酸苄酯(BITC)便是其中一种。异硫氰酸苄酯对细菌^[2]、真菌^[3]的抑制作用已经得到证实, 是一种很有开发潜力的天然防腐抑菌剂。

异硫氰酸苄酯是一种淡黄色的油状液体, 易挥发、

水溶性差, 并且带有强烈的刺激性气味, 极大的限制了其在食品中的应用。利用包埋技术将异硫氰酸苄酯制成溶解性好的固体粉末, 再添加到食品包材中, 通过异硫氰酸苄酯的缓慢释放, 可以达到延长抑菌效果的目的。目前, 在保鲜膜等包装材料加工过程中一般都要经过热处理过程, 如果抑菌剂不耐热, 在热加工过程中就会损失, 甚至失去抑菌活性, 因此确保抑菌剂的热稳定性是抑菌包装材料加工中的关键。李学红等^[4]以 β 环糊精为壁材, 对异硫氰酸苄酯进行了包埋, 发现经包埋后异硫氰酸苄酯的抑菌作用得到明显强化, 抑菌时间明显延长; 美国宝洁公司^[5]将异硫氰酸苄酯和吸湿性载体相结合, 开发了用于低温下储藏固体食品的防腐抑菌剂, 由于热稳定性差, 还没有开发出相应的抑菌包装产品。

羟丙基- β -环糊精是 β 环糊精的衍生物, 其水溶性较好, 其主体结构是两端不封闭的圆筒状, 分子内部为疏水的空腔, 外部为亲水的表面, 适合于小分子物质的包埋^[6]。本研究选用羟丙基- β -环糊精为壁材, 对异硫氰酸苄酯进行包埋, 以达到增加异硫氰酸苄酯的溶解度, 提高其热稳定性, 减缓释放速率, 从而达到延长其防腐抑菌的效果的目的, 以期对异硫氰酸苄酯抑菌包装材料的开发提供数据支撑和理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

异硫氰酸苄酯 (98%), 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司; 羟丙基- β -环糊精, 取代度 5.0, 溶解度 $>90 \text{ g}/100\text{mL}$, 郁南县永光环糊精有限公司; 乙醇、溴化钾均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

S22-2 恒温磁力搅拌器, 上海司乐仪器有限公司; HHS11-2B 电热恒温水浴锅, 上海医疗器械五厂; XW-80A 漩涡混合器, 江苏海门市其林贝尔仪器制造有限公司; TDZ5-WS 台式低速离心机, 湘仪离心机仪器有限公司; 752PC 紫外可见分光光度计, 天津市冠泽科技有限公司; ModulyoD-230 真空冷冻干燥机, 美国赛默飞科技公司; 傅立叶变换红外光谱仪, 美国赛默飞科技公司; Q50 热重分析仪, 美国 TA 仪器公司; SU1510 扫描电子显微镜, 日本日立高新技术公司。

1.3 试验方法

1.3.1 异硫氰酸苄酯的定量分析

配制 $0.05 \mu\text{L}/\text{mL}$ 异硫氰酸苄酯乙醇溶液, 在

$200\sim 400 \text{ nm}$ 范围内测定其吸收曲线, 测定其最大吸收波长; 精确配制浓度为 0.01 、 0.02 、 0.03 、 0.04 、 0.05 、 0.06 、 $0.07 \mu\text{L}/\text{mL}$ 的异硫氰酸苄酯标准溶液, 分别测定其在最大吸收波长处的吸光值, 并绘制异硫氰酸苄酯的标准曲线。

1.3.2 相溶解曲线的绘制

Higuchi 和 Connors^[7]指出, 根据包埋物的溶解性, 可以将包埋物相溶解曲线分为 AP、AL、AN、BS、BI 五种类型。AP 型指客体溶解度随着壁材浓度的增加呈指数增加趋势; AL 型指客体溶解度随着壁材浓度增加呈线性增加趋势, 说明生成了 1:1 的包埋物; AN 型指客体溶解度随着壁材浓度的增加呈对数增加趋势; BS 型是指生成的包埋物溶解度有限, 客体溶解度先随着壁材浓度增大而增大, 然后维持在一个固定值, 之后随着壁材浓度增大而减小, 最后维持在一个固定值; BI 型指生成了不溶的包埋物, 客体的溶解度保持不变, 直到客体全部被包埋, 溶解度开始下降。不同类型相溶解曲线见图 1, 图中 S_0 为客体的初始溶解度。

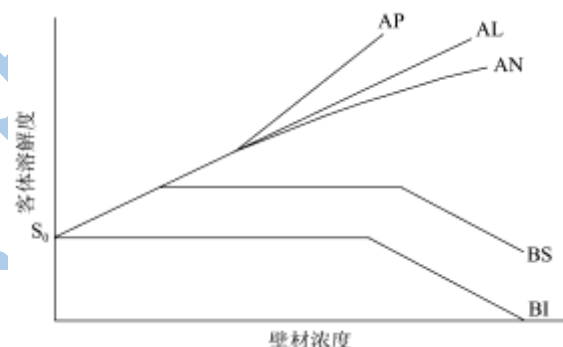


图 1 不同类型的相溶解曲线

Fig.1 Different types of phase solubility curves

配制浓度为 0 、 1.0 、 2.0 、 3.0 、 4.0 、 5.0 、 6.0 、 7.0 、 8.0 、 $9.0 \text{ mmol}/\text{L}$ 的羟丙基- β -环糊精溶液, 各取 10 mL 于 15 mL 螺口试管中, 加入过量的异硫氰酸苄酯乙醇溶液 (2 mL , BITC:乙醇 (V:V)=1:1)^[1], 震荡摇匀, 于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 超声处理 5 h , 结束后于室温下暗处稳定 24 h (由于异硫氰酸苄酯密度 ($1.125 \text{ g}/\text{mL}$) 大于水, 混合溶液在暗处稳定 24 h 后, 过量的异硫氰酸苄酯会聚成小液体沉降在试管底部), 取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 测定最大吸收波长下的吸光度值, 根据标准曲线计算出不同浓度羟丙基- β -环糊精溶液中异硫氰酸苄酯的浓度, 以羟丙基- β -环糊精浓度为横坐标, 异硫氰酸苄酯浓度为纵坐标, 绘制相溶解曲线。将实验得到的相溶解曲线与五种类型的相溶解曲线对比, 即可得到异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物相溶解曲线类型。

利用相溶解曲线的最初直线部分, 根据公式 (1) 可以计算包埋物组成为 1:1 时的包埋常数^[8]:

$$K_a = \frac{k}{S_0(1-k)} \quad (1)$$

式中, K_a 为包埋常数 (L/mol), k 为相溶解曲线的斜率, S_0 为异硫氰酸苄酯的初始溶解度 (mol/L)。

1.3.3 异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物的制备

准确称取羟丙基- β -环糊精 4.0 g, 加入到 100 mL 蒸馏水中, 搅拌使之充分溶解; 按体积比 1:1 配制异硫氰酸苄酯的无水乙醇溶液 2 mL, 缓慢滴加到配制好的羟丙基- β -环糊精饱和溶液中, 于恒温磁力搅拌器搅拌 5 h, 于 -80 °C 真空冷冻干燥 24 h, 得到干燥的包埋物粉末^[9]。

1.3.4 异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物的特性研究

1.3.4.1 红外光谱特性分析

称取羟丙基- β -环糊精和包埋物各 1 mg, 分别加 150 mg 溴化钾研磨均匀, 使用压片机将混合研磨后的样品压制成透明的薄片, 进行 400~4000 cm^{-1} 的红外光谱扫描。

称取 150mg 溴化钾研磨均匀, 使用压片机将其压制成透明的薄片, 用毛细管吸取少量的异硫氰酸苄酯涂抹到溴化钾压片上, 进行 400~4000 cm^{-1} 的红外光谱扫描。

1.3.4.2 热重分析

称取羟丙基- β -环糊精、异硫氰酸苄酯和包埋物各 8~10 mg, 分别置于石墨坩埚, 使用 Q50 热重分析仪分析样品在加热升温过程中的重量变化, 温度范围为室温至 300 °C, 升温速率为 10 °C/min, 氮气流速为 40 mL/min。

1.3.4.3 扫描电镜观察

在样品台上粘上一层双面胶, 分别将羟丙基- β -环糊精和包埋物粉末在双面胶上铺薄薄的一层, 喷金后在扫描电子显微镜下观察, 扫描电压 15 kV。

2 结果与讨论

2.1 异硫氰酸苄酯的标准曲线

根据异硫氰酸苄酯乙醇溶液在 200~400 nm 范围内的吸收曲线, 得到异硫氰酸苄酯乙醇溶液的最大吸收峰出现在 247 nm 处, 分别测定异硫氰酸苄酯标准溶液在 247 nm 处的吸光值, 以异硫氰酸苄酯浓度和对应吸光值作图 (见图 2), 获得异硫氰酸苄酯的标准曲线, 标准曲线回归方程为 $A=12.869C+0.003$,

$R^2=0.9991$, 在异硫氰酸苄酯浓度为 0.01~0.07 $\mu\text{L/mL}$ 范围内, 溶液吸光度与异硫氰酸苄酯的含量线性关系良好, 因此, 该标准曲线可用于异硫氰酸苄酯的定量分析。

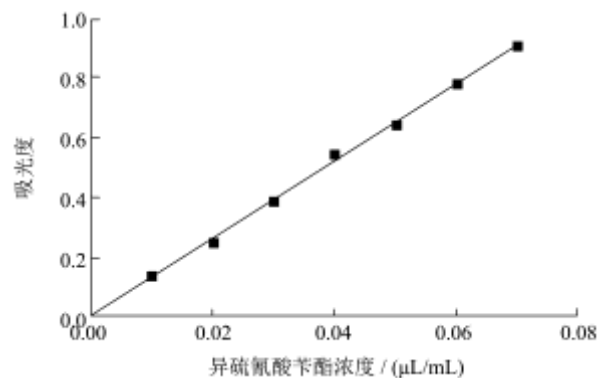


图 2 异硫氰酸苄酯标准曲线

Fig.2 Standard curve of benzyl isothiocyanates

2.2 相溶解度曲线

相溶解度法常用于环糊精及其衍生物包埋物的研究^[10], 通过相溶解曲线可以直观地看到包埋物溶解行为的变化, 推断主客体物质的包结比, 同时也可以计算出包埋常数, 进而评价壁材对芯材的包埋能力^[11]。异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物相溶解曲线见图 3。

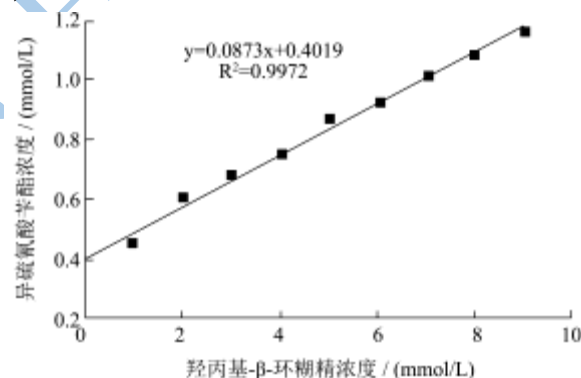


图 3 异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物相溶解曲线

Fig.3 Phase solubility curve of the inclusion complex of hydroxypropyl- β -cyclodextrin-benzyl isothiocyanates

从图 3 中可以看出, 在羟丙基- β -环糊精浓度为 0~10 mmol/L 的范围内, 异硫氰酸苄酯浓度与羟丙基- β -环糊精浓度线性关系良好, 通过与不同类型相溶解曲线对比可以得出, 异硫氰酸苄酯羟丙基- β -环糊精包埋物相溶解曲线属于 AL 型, 说明羟丙基- β -环糊精和异硫氰酸苄酯形成的是 1:1 的包埋物。图 3 还显示出, 异硫氰酸苄酯浓度随着羟丙基- β -环糊精浓度增大而增加, 因为异硫氰酸苄酯被包埋到羟丙基- β -环糊精空腔后, 随着羟丙基- β -环糊精溶解到水溶液中, 在羟丙基- β -环糊精浓度为 10 mmol/L 时异硫氰酸苄酯的溶解

度是初始溶解度的 2.9 倍,这对于扩大异硫氰酸苄酯的应用范围十分重要。根据公式(1)计算,可以计算出羟丙基-β-环糊精和异硫氰酸苄酯的包埋常数为 408.8 L/mol,说明羟丙基-β-环糊精对异硫氰酸苄酯有较强的包埋能力。

2.3 异硫氰酸苄酯羟丙基-β-环糊精包埋物的特性研究

2.3.1 红外光谱特性分析

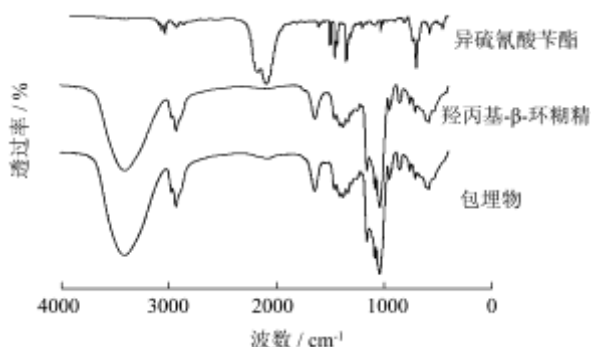


图 4 异硫氰酸苄酯、羟丙基-β-环糊精和包埋物的红外图谱

Fig.4 FT-IR spectra of benzyl isothiocyanates, hydroxypropyl-β-cyclodextrin, and their inclusion complex

红外光谱可以用于包埋物的特性研究,图 4 中 2300~2000 cm⁻¹ 处的吸收峰为-N=C=S 的特征吸收峰,对比异硫氰酸苄酯、羟丙基-β-环糊精、包埋物三者的红外吸收图谱可以发现,在包埋物图谱中 2300~2000 cm⁻¹ 处异硫氰酸苄酯的特征吸收峰隐没,可能是因为异硫氰酸苄酯的-N=C=S 基团进入到羟丙基-β-环糊精的空腔中,其伸缩振动受到抑制,因此红外吸收隐没,由此可以证明异硫氰酸苄酯的-N=C=S 基团被羟丙基-β-环糊精包埋。

2.3.2 热重分析

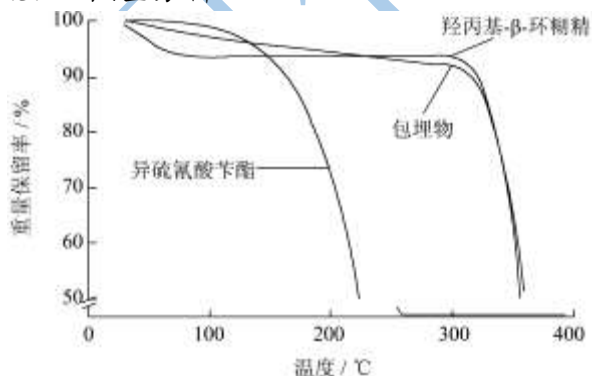


图 5 异硫氰酸苄酯、羟丙基-β-环糊精和包埋物的热重分析曲线

Fig.5 TGA curve of benzyl isothiocyanates, hydroxypropyl-β-cyclodextrin, and their inclusion complex

热重分析常用于包埋物是否形成及包埋前后热稳定性的变化^[12]。图 5 为异硫氰酸苄酯、羟丙基-β-环糊精和包埋物三者的热重分析曲线,从图中可以看出随着温度升高,异硫氰酸苄酯失重速率逐渐增加,从 150 °C 开始,异硫氰酸苄酯重量急剧下降,直至 260 °C 时,质量接近为零,说明异硫氰酸苄酯在升温过程中挥发较快;羟丙基-β-环糊精在加热开始时质量便迅速下降,此阶段主要是水分的散失导致质量下降,从 100 °C 到 300 °C,羟丙基-β-环糊精的质量几乎保持不变,羟丙基-β-环糊精从 300 °C 开始降解,质量迅速下降;包埋物质量从室温至 300 °C 一直在缓慢减小,从 300 °C 开始降解,可以明显地看出,相对于未包埋的异硫氰酸苄酯,经过包埋后异硫氰酸苄酯的热稳定得到了极大地提高,同时也验证了包埋物的形成。通过包埋,一方面提高了异硫氰酸苄酯的热稳定性,减少在热加工过程中的损失;另一方面也实现了异硫氰酸苄酯的缓释,延长了异硫氰酸苄酯发挥作用的时间。

2.3.3 扫描电镜观察

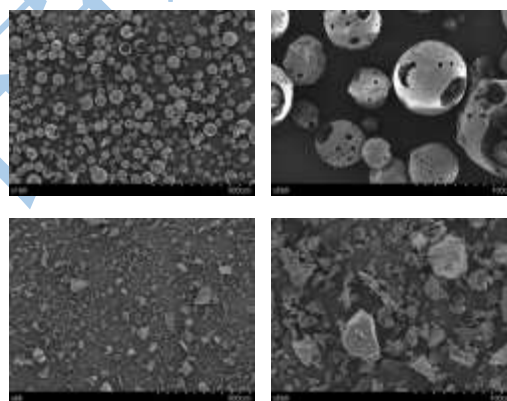


图 6 羟丙基-β-环糊精和包埋物的扫描电镜图

Fig.6 SEM images of hydroxypropyl-β-cyclodextrin and the inclusion complex

注: a.羟丙基-β-环糊精×100; b.羟丙基-β-环糊精×500; c.包埋物×100; d.包埋物×500。

扫描电镜常用于物质表面形态的观察^[13],图 6 为羟丙基-β-环糊精和包埋物的扫描电镜图,从图中可以看出,羟丙基-β-环糊精为规则的球状,表面有不规则的小孔,而羟丙基-β-环糊精和异硫氰酸苄酯的包埋物则是形状不规则的结晶体,二者表面形态明显不同,这一方面是由于包埋过程中的持续搅拌,使羟丙基-β-环糊精结构遭到破坏导致,另一方面根据文献报道^[14],包埋物形成后,其表面形态会发生明显的变化,这也可以作为包埋物形成的证明。

3 结论

3.1 相溶解曲线显示,羟丙基- β -环糊精对异硫氰酸苄酯的增溶效果显著,相溶解曲线属于AL型,羟丙基- β -环糊精和异硫氰酸苄酯按1:1的比例形成包埋物时,包埋常数为408.8 L/mol;红外图谱显示包埋物中异硫氰酸苄酯的特征吸收峰隐没,说明异硫氰酸苄酯的-N=C=S基团进入到了羟丙基- β -环糊精空腔中;热重分析曲线表明包埋后异硫氰酸苄酯的热稳定得到了极大的提高,同时也进一步确认了包埋物的产生;通过扫描电镜观察可以看出,包埋物为不规则的结晶体。

3.2 通过对异硫氰酸苄酯的包埋,一方面增加了异硫氰酸苄酯的溶解度,扩大了异硫氰酸苄酯的应用范围,另一方面也提高了其热稳定性,减少了异硫氰酸苄酯在加工过程中的热损失,同时也实现了异硫氰酸苄酯的缓释,延长了异硫氰酸苄酯发挥作用的时间,为异硫氰酸苄酯抑菌包装材料的开发提供数据支撑和理论依据。

参考文献

- [1] 袁海娜.异硫氰酸酯的制备、功效分析及包合技术研究[D].杭州:浙江大学,2010
YUAN Hai-na. Preparation, Hygienical Efficacy and Inclusion Technique of Isothiocyanate [D]. Hangzhou Zhejiang University, 2010
- [2] 邓群,许晓曦,卓志国,等.异硫氰酸苄酯对产气荚膜梭菌抑菌作用的研究[J].食品工业科技,2011,32(04):125-128
DENG Qun, XU Xiao-xi, ZHUO Zhi-guo, et al. Study on antimicrobial action of benzyl isothiocyanates against clostridium perfringens [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(04): 125-128
- [3] I Azaiez, G Meca, L Manyes, et al. Antifungal activity of gaseous allyl, benzyl and phenyl isothiocyanate in vitro and their use for fumonisins reduction in bread [J]. Food Control, 2013, 32(2): 428-434
- [4] 李学红,金征宇.环糊精包埋强化异硫氰酸烯丙酯抑菌效果的研究[J].食品科学,2006,27(4):164-166
LI Xue-hong, JIN Zheng-yu. Enhancement of the antimicrobial effect of allyl isothiocyanate by complexation with β -cyclodextrin [J]. Food Science, 2006, 27(4): 164-166
- [5] 宝洁公司.异硫氰酸酯防腐剂及其使用方法: 中华人民共和国, CN 1863466A [P] 2006-11-15
Procter & Gamble. Isothiocyanate antiseptic and its application method: China, CN 1863466A [P]. 2006-11-15
- [6] Jing Wang, Yanping Cao, Baoguo Sun, et al. Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl β -cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 1069-1075
- [7] Higuchi T, Connors KA. Phase-solubility techniques [J]. Advances in analytical Chemistry and Instrumentation, 1965, (04): 117-212
- [8] Dawei Wang, Canbin Ouyang, Qi Liu, et al. Inclusion of quinnestrol and 2,6-di-o-methylated- β -cyclodextrin preparation, characterization, and inclusion mode [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 93(2): 753-760
- [9] Chao Yuan, Zhifang Lu, Zhengyu Jin. Characterisation of an inclusion complex of ethyl benzoate with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2014, 152: 140-145
- [10] Renu Chadha, Madhu Bala, Poonam Arora, et al. Valsartan Inclusion by methyl- β -cyclodextrin: thermodynamics, molecular modeling tween 80 effect and evaluation [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 103: 300-309
- [11] 金征宇,徐学明,陈寒青,等.环糊精化学[M].北京:化学工业出版社,2009
JIN Zheng-yu. XU Xue-ming, CHEN Han-qing, et al. Cyclodextrin Chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009
- [12] Tze Loon Neoh, Chisho Yamamoto, Shuichi, et al. Heat stability of allyl isothiocyanate and phenyl isothiocyanate complexed with randomly methylated β -cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1123-1131
- [13] 李欣荣,唐传核.大豆分离蛋白包埋特性的研究[J].现代食品科技,2012,28(6):617-646
LI Xin-rong, TANG Chuan-he. Research of encapsulation properties of soy protein isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(6): 617-646
- [14] Wieslawa Misiuk, Emilia Jasiuk. Study of the inclusion interaction of HP- γ -cyclodextrin with bupropion and its analytical application [J]. Journal of Molecular Structure, 2014, 1060: 272-279