

环糊精包合物的制备方法

(江南大学食品学院, 无锡 214036) 曹新志 金征宇

摘要: 环糊精是由 6~12 个葡萄糖基构成的环状化合物, 主要有 α 、 β 和 γ 环糊精(分别由 6、7 和 8 个葡萄糖基构成)。它们具有亲水的外围及疏水的内腔, 可与许多种物质形成包结物而改变物质的物理和化学特性, 因而被广泛应用于各个领域。为了更好地研究环糊精包结物, 本文总结出环糊精包合物的各种制备和检测方法。

关键词: 环糊精, 包结物, 制备方法, 检测方法

Abstract: Cyclodextrin (CD) is cyclic oligosaccharides consisting of 6~12 glucoses units, mostly α , β and γ -cyclodextrins (or 6, 7 and 8 glucose units respectively). They have unique characteristics and can include a variety of substances to form inclusion complexes. Properties of CD inclusion complexes may be changed, so they can be applied to a variety of fields. In order to study CD complexes further, in this article, we discussed various preparation and testing methods about CD inclusion complexes.

Key words: cyclodextrin; inclusion complex; preparation method; testing method

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)10-0158-03

环糊精(cyclodextrin, 简称 CD), 又称为环聚葡萄糖、Schardinger 糊精, 是由多个 D-吡喃葡萄糖单元环状排列而成的一组低聚糖的总称。环糊精可与多种客体包结, 采用恰当方法制备的包结物能使客体的某些性质得到改善。近年来, 对环糊精的研究愈来愈热门, 并已在医药、食品、环境保护、日用化工、超分子化学等领域取得相当的成就, 特别是作为食品

收稿日期: 2002-11-01

作者简介: 曹新志(1965-), 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向: 食品工程。

业科技, 2001(2).

- [9] 吴正奇. 果蔬汁澄清的方法与应用[J]. 软饮料工业, 1991.
[10] Doesburg JJ. The Pectic Substance[J]. Phytochemistry, 1972.1.
[11] 于绍津. 果胶类基本化学结构的探讨[J]. 中草药, 1989.
[12] 邹显章. 酶的工业生产技术[M]. 吉林科学技术出版社,

添加剂, 它具有无毒、无味、在人体内易水解为葡萄糖的特点, 在食品中得以广泛应用。为了更深入全面地了解环糊精, 本文总结了制备环糊精包结物和检测环糊精包结物形成的方法。

1 环糊精包结物的制备

1.1 环糊精与客体分子形成包合物的条件

由于环糊精分子具有“内疏水, 外亲水”的特性, 可与许多客体分子包括有机、无机、生物小分子等形成包合物, 但其形成过程及包合物的稳定性还受各种因素的影响。

1.1.1 主客体分子尺寸的匹配性 环糊精可以与其空腔内径相匹配的分子形成包合物。不是化学因素而是分子大小决定着渗入 CD 腔内客体分子的种类。 α 、 β 、 γ -CD 具有大小不同的内径, α -CD 为 4.7~5.2Å, β -CD 为 6.0~6.5Å, γ -CD 为 7.5~8.3Å, 可以包结不同大小的分子。对于萘, α -CD 的腔径太小; 对于葱, 仅与 γ -CD 相适应; 丙酸与 α -CD 相适合, β 、 γ -

表 1 三种 CD 与不同客体形成包合物的能力比较

	α -CD	β -CD	γ -CD
丙酸	+	-	-
丁酸	+	+	-
联苯	+	+	+
环己烷	+	+	+
葱	-	-	+
萘	-	+	+
氯	+	-	-
溴	+	+	-
碘	+	+	+

注: “+”代表形成包合物; “-”代表不能形成包合物。

1988.

- [13] 杜明, 孙伊萍. 山楂胡萝卜酶液化工工艺的研究[J]. 食品工业科技, 1993.
[14] 孙云. 酶法液化制取南瓜原汁工艺的研究[J]. 食品科学, 1994.

CD 由于腔径较大而不能包结丙酸分子。表 1 列出了一些客体分子与 CD 形成包结物的能力。

1.1.2 客体分子的几何形状 客体分子的立体效应对包结作用有很大影响,例如苯胺基萘磺酸(ANS)有九种结构,比较这几种不同的结构,它们属于取代基团空间位置不同的构型异构体,所以导致其包结行为有很大的差别。1,2-ANS,若包结采取 equatorial 方式(即分子的对称轴与 CD 的对称轴相平行),则受到苯胺基的阻碍;若采取 axial 方式(即分子的对称轴与 CD 的对称轴相垂直),从能量上讲不利,而且也受到磺酸基的阻碍,所以,1,2-ANS 与 β -CD 形不成包结物。磺酸基分别在萘环 6、7、8 位上的 2,6-ANS、2,7-ANS 和 2,8-ANS 均属于几何异构体。然而,由于磺酸基的位置不同却严重影响了包结,表现出不同的包结特性。2,6-ANS,磺酸基位于苯胺对位,呈直线形, β -CD 分子很容易滑过磺酸基而靠近萘环,将磺酸基留在溶液中,采取 equatorial 方式。2,7-ANS、2,8-ANS 中,磺酸基对 equatorial 方式有阻碍,只能采取 axial 方式,但 2,8-ANS 包结弱。2,6-TNS、2,6-MANS 是在 2,6-ANS 基础上,用甲基取代,但取代位置不同,2,6-TNS 的甲基位于苯胺对位,2,6-MANS 的甲基被 N 取代,二者均形成 2:1 包结物。2,6-MANS 更稳定,因为形成 2:1 包结物,受 N 上甲基阻碍,不易形成氢键。

1.1.3 极性和电荷 环糊精包结物形成的程度也依赖于客体分子的极性,即客体分子的疏水性。一般来说,强亲水性、强水合性使得离子化客体化合物与环糊精形成包结物的能力很弱,只有极性比水小的客体分子才能与环糊精包结。因为环糊精分子的空腔是疏水性的,客体分子在 CD 空腔中所处的位置总是有利于疏水基团并与疏水空腔有最大的接触,而客体的亲水基团尽量远离环糊精疏水空腔,这条规律在很多例子中都得到了证明。例如,奈普生(naproxen)的酸式与中性形式和 β -CD、 β -OH-CD、Me- β -CD 形成的包结物的平衡常数分别为: 1950M^{-1} , 620M^{-1} ; 2600M^{-1} , 540M^{-1} ; 6100M^{-1} , 700M^{-1} ,可见,酸式奈普生的稳定常数比其中性形式大得多,但也有例外。其次,Masson 指出,衍生的离子型 CD 与带有相反电荷客体形成的包结物比与带有相同电荷客体形成的包结物更稳定。当 CD 和客体带有相反电荷,客体分子不得不在 CD 的空腔中重排,以便于离子相互作用,但与此同时,客体分子与 CD 在空腔中的作用力减弱。在某些例子中,在正常条件下,客体分子的疏水部分位于 CD 腔中,但是为了主客体间的离子相互作用,客体分子的疏水部分向腔外伸展。

1.1.4 界质 原则上,包结物的形成不需要溶剂,对于易升华的物质,可将粉状晶体的 CD 与粉状客体混合,制备 CD 包结物。例如, β -CD 和水杨酸存放在一

个密闭容器中,几个月后,形成 1:1 的包结物,但是对于不易升华的物质,这种方法是很难形成包合物的,因为这种过程很缓慢,因此就需要水或其它溶剂。在水溶液中的包结是一个快速过程,但对易溶于水的物质,其包合物通常稳定性差,为了达到水溶液中的平衡,要么需要长的反应时间,要么需要将客体分子溶于有机溶剂中,溶剂的选择是有限制的。除了有些小分子的、强亲水的溶剂,如甲醇、乙二醇、2-甲氧基-乙醇、甘油等,大多数溶剂不能用,因为它们也能与 CD 形成稳定的包结物,与客体分子形成竞争或三组份体系。通常,有机溶剂的存在是不利的,但有时候又是必不可少的。溶解度非常低的客体分子,在无溶剂时不能与 CD 形成有效的包结物 例如,许多香料络合物的包结都需要将精油溶于 30%乙醇水溶液中,再加入 β -CD 的饱和水溶液进行包结。

1.1.5 氢键 一些客体分子与 CD 的羟基形成氢键,增加了包结物的稳定性。因 CD 空腔的疏水性,使得主客体间非极性-非极性结合在热力学上有较大的稳定性,这种相互作用必然使客体疏水性部分进入 CD 空腔,取代 CD 空腔内的高能水,以降低 CD 空腔与水分子的非极性-极性相互作用能量。

1.2 环糊精包结物的制备方法

尽管制备环糊精包结物的方法很简单,然而对不同的客体,应选择适合的条件和方法,没有一个通用的方法适合所有的包结客体,下面是在实验室和工业生产中最常用的制备方法。

1.2.1 在固相中制备环糊精包结物 环糊精与固体或液体客体在正常的湿度条件下 (RH=60%~75%)加热或不加热,进行简单的机械混合。一般包合物的生成,理论上讲不需要溶剂,并且在有些情况下也能做到。例如,混合 β -CD 粉末与水杨酸粉末置于密闭容器中,于室温存放几个月就能生成包合物, β -CD 与水杨酸呈 1:1 的比例,但是它们的反应速度太慢,不适于工业应用。水杨酸本身具有挥发性,客体分子升华为气体后与 CD 粉末充分混合,但这时要求客体的升华温度不能超过 CD 的分解温度。此法适用于易升华的物质。若是非挥发性的物质,包结速度更慢。因此,工业生产一般都是在水溶液中进行。

1.2.2 环糊精包结物在水溶液中的制备方法 当在溶液中制备 CD 包结物时,其包结反应一般在水溶液中速度快,但这只适于亲水性低、难溶于水的客体化合物,对亲水性高、水溶性好的客体化合物的包结能力却很弱,达到平衡需要很长的时间。因此,有时根据需要也可以使用含有有机溶剂的水体系,尤其是当客体分子是疏水的或其熔点高于 100°C 的,不能很好地分散在 CD 的水溶液中,就用有机溶剂来溶解客体分子。

1.2.2.1 共沉淀法 共沉淀法即搅拌或振荡含 CD

的溶液与客体分子或其溶液的混合物,这是比较常用的方法。CD的溶液可以是冷的、热的、中性的、碱性的、酸性的,根据客体分子的性质而定。将计算好配比的主客体加到一起,在升高温度下(60~80℃)强力搅拌,以达到对主客体均呈饱和溶液。然后将溶液冷却至室温,在室温下搅拌8~16h后,放至冰箱(3~5℃)存放一夜。因CD包结物在冷却过程中会从均相溶液中结晶析出,可用沉降法或用玻璃漏斗过滤,收集包结物晶体。晶体产物可以在空气中自然干燥或采用冷冻干燥、喷雾干燥等方法。

采用共沉淀法制作包结物时,包结物和被包结物的溶液浓度都不宜过高,否则,会造成环糊精或客体的单独析出,并且所选用的有机溶剂能与水相溶,不然的话,环糊精就会在水和有机溶剂之间的界面上析出。共沉淀法的优点是制得的环糊精包合物纯度高、质量好;不足之处是要消耗大量的有机溶剂,还有可能生成环糊精溶剂包合物。

1.2.2.2 逐步滴加法 此法与上述方法类似。将计算好配比的客体分子单独溶解于适当的溶剂中,逐步滴加到不断搅拌的、均匀的CD溶液中。由于在滴加客体物质的过程中,可能会引起客体物质的细小沉淀,需要更长时间和更剧烈的搅拌,至少搅拌20h左右。

1.2.3 环糊精包结物在非均相条件下的制备

1.2.3.1 浆状法 所谓浆状法,即CD和客体分子不需要溶解,只是在室温条件下通过剧烈搅拌,将它们悬浮于少量水中。若使用超声波,可促进固相的分散。通常CD:H₂O为1:2,在20℃左右搅拌悬浮液。客体物质溶于适当的溶剂中后,加入到搅拌好的CD悬浮液中;或将客体物质直接加入到CD悬浮液中。反应混合物在轻油中搅拌4~8h,在重油中搅拌1~3d。

1.2.3.2 揉捏法 此法的特点是所需的水比浆状法更少。CD先与少量的水揉捏混合,然后将计算好配比的客体分子直接加入,不需要任何溶剂。因为从能量上讲,含原始水的CD包结物不如CD与客体包结物有利,CD空腔内的水分子需要被客体取代,除此之外,包结物的晶体结构也发生了变化。由于晶体结构不同,在母体CD表面形成的包结物的分子层将从晶体中溶解,这样一来,CD的晶体迅速变得无序,转变成CD包结物,水则从糕状的产物中在气流中挥发或通过其它干燥方法除去。由于此法为手工操作,费时费力,适于实验室使用,不太适于工业化生产。现在已使用胶体磨来代替手工操作,上面的浆状法也可使用胶体磨来代替,这样就可进行工业化生产了。

2 包合物的检测方法

包合物的检测方法有很多,对于有不同性质的客体可采用不同的方法。

2.1 电化学方法

对于具有电活性的客体分子的包合物可用电化

学方法,如极谱法、电导法、计算机与循环伏安法结合等方法。这些方法都是通过测定包络物的解离常数来分析包络物的稳定性,从而来推知环糊精与客体的包络情况。

2.2 光谱法

对具有光谱特征的客体可用光谱的方法来测定,常见的有紫外光谱、荧光光谱、红外光谱、圆二色谱等方法。客体分子被包络后,一般在图谱上表现为峰强度的减弱或消失。根据峰强度的变化,用Scott或Bensesi-Hildebrand公式就可得到包结物的包结常数K。例如CD加入到甲基橙溶液中吸收峰会下降,甲基橙颜色消失。当向其中加入乙醇时,指示剂的颜色又重现。这是由于乙醇和甲基橙与CD间存在竞争,最终乙醇将甲基橙从CD腔中置换出来,说明乙醇与CD形成更稳定的包合结构。圆二色谱法的应用是因为环糊精分子具有手性,大多数客体分子是非手性的,形成包络物后就带有手性,因而能诱导出圆二色,它是推测溶液中包合物结构及其组成的很有用的方法。

2.3 热分析法

对于大多数物质,一般都可以用热分析法,其中差示扫描量热分析法(DSC)、热重分析法(TG)应用较多。对比环糊精、客体分子、客体分子与环糊精混合物、环糊精包络物的吸热峰变化的情况和失重情况,就可推知包络物这种新物相的生成。例如,比较glisentide、 α -、 β -、 γ -CD、glisentide-CD及其二者物理混合物的DSC图谱,glisentide在160℃熔化,表现为吸热峰,物理混合峰也出现在此位置。而它们包合物的DSC图上,此峰消失,这说明包合物是不同于glisentide的新物相。

此外,还有较简单的检出方法,如溶解度法,它根据包络前后溶解度的变化来判断包络物的生成。

环糊精包络物检出和鉴定结构最强有力的手段是核磁共振(NMR)法,CD腔内的H-3、H-5由于受到客体的屏蔽、苯环环电流的各相异性、范德华力等影响,其化学位移会有变化,外层的H-2、H-4、H-6不受影响,由此可以推断出客体在CD空腔发生了包结。在客体存在下,如果只有CD的H-3化学位移改变,说明客体在CD空腔中插入较浅,而同时CD的H-5也发生了位移,说明客体在CD空腔中插入较深。利用CD的H-3、H-5化学位移变化值,可计算出客体在CD腔体内的构象,从而了解水溶液中客体渗入CD疏水腔中的平衡位置。因此,NMR不仅适用于液态、固态,粉末也同样适用。随着高分辨率的NMR及NMR二维技术的出现,对包结现象的研究起了巨大的推动作用。利用高磁场及特定技术,可以提供溶液中客体分子相对于主体分子位置的大量可利用的信息。

参考文献:略