

丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的制备及表征

Preparation and characterization of clove essential oil-loaded chitosan nanoparticles

何 鹏 张慧芸 康怀彬 赵梦月

HE Peng ZHANG Hui-yun KANG Huai-bin ZHAO Meng-yue

李银辉 李森杰 张海艳 曹笑菲

LI Yin-hui LI Sen-jie ZHANG Hai-yan CAO Xiao-fei

(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003)

(Food and Bioengineering Department, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

摘要:为提高丁香精油在生产加工过程中的稳定性,降低其对食品感官品质的不良影响,采用离子凝胶法,以壳聚糖为壁材制备丁香精油—壳聚糖纳米胶囊,研究制备条件对纳米胶囊包埋率及粒径的影响并优化工艺,采用多种方法对所制备纳米胶囊的性能进行检测分析。结果表明:在最优制备条件下,即壳聚糖溶液 pH 值 4.5、丁香精油与壳聚糖质量比 0.8 : 1.0、壳聚糖与三聚磷酸钠质量比 5 : 1,所制备纳米胶囊包埋率为 40.2%,平均粒径为 175 nm。利用纳米胶囊技术对丁香精油进行包埋可有效提高丁香精油在食品加工中的稳定性,扩大其在食品工业中的应用范围。

关键词:丁香精油;壳聚糖;纳米胶囊;制备;表征

Abstract: In order to maintain the physico-chemical stability of clove essential oil (CEO) during food processing and storage, and to decrease the adverse effects of CEO on food sensory qualities, prepared chitosan-TPP nanoparticles loaded with CEO by ionic gelation. The preparation process and the physicochemical characteristics of CEO-loaded chitosan nanoparticles were investigated. The results showed that the optimized encapsulation process were as followed: the pH of chitosan solution of 4.5, the mass ratio of clove essential oil to chitosan 0.8 : 1.0, mass ratio of chitosan to sodium tripolyphosphate 5 : 1. The encapsulation efficiency of CEO in chitosan nanoparticles was 40.2%, and the average parti-

cle size was 175 nm. Encapsulation of clove essential oil by nanocapsule technology can effectively improve the stability of clove essential oil in food processing and expand its application in food industry.

Keywords: clove essential oil; chitosan; nanocapsules; preparation; characterization

微胶囊技术是指利用高分子聚合物薄膜,将气体、液体和固体进行包埋的微型封装技术^[1]。由于纳米胶囊特有的纳米尺寸效应,与传统微胶囊相比,其具有更好的生物相容性、靶向性和缓释性,能够有效降低生物活性物质的敏感性大大提高活性物质的生物利用率^[2],近年来对纳米级微胶囊的开发利用已成为研究热点。在食品工业中,纳米胶囊作为功能性活性物质的新型载体,增加了这些物质的可利用范围,尤其对难溶性物质可起到良好的增溶效果,增强其作用^[3],更好地被利用。

在食品中添加抗菌剂和抗氧化剂可以控制酸败的发展,延缓有毒产物的形成,保持营养质量,延长产品的保质期^[4]。由于某些合成抗菌剂和抗氧化剂对健康有负面影响^[5],所以食品工业要求用天然抗氧化剂来取代合成抗菌剂^[6]和抗氧化剂^[7],特别是肉类行业^[8]。丁香一直是最有价值的香料之一^[9],数百年来被世界各地广泛应用。丁香精油是由丁香花蕾、茎、叶中提取而来,其主要成分为丁香酚、 β -石竹烯、蛇麻烯(α -石竹烯)、乙酸丁香酚酯^[10-11]。丁香精油具有防腐^[12]、抗氧化^[13]、镇痛^[14]和神经保护^[15]等多种药用价值,因此在医药^[16]、食品^[17]和化妆品行业中备受关注。但由于丁香精油具有较强烈的特殊风味、易挥发、不溶于水,且对光、氧和温度较为敏感等

基金项目:河南省重大科技专项(编号:161100110800-06);河南科技大学大学生研究训练计划项目(编号:2018161)

作者简介:何鹏,男,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:张慧芸(1977—),女,河南科技大学副教授,博士。

E-mail: zhanghuiyun21@163.com

收稿日期:2019-01-19

原因,极大地限制了其在食品防腐方向的利用。

壳聚糖作为一种具有生物相容性、可降解性以及良好成膜性的天然高分子物质^[18]被作为增稠剂和被膜剂列入中国食品添加剂使用标准。壳聚糖是由甲壳素脱乙酰得到的,也是自然界中唯一存在的碱性多糖,成本低廉、来源较广,因此将其作为包埋蛋白质、多肽、维生素、功能油脂等物质的壁材^[19]。壳聚糖纳米胶囊常用制备方法有离子凝胶法、共价偶联法、大分子复合法和自组装法等。其中离子凝胶法制备工艺简单便捷,反应条件温和,纳米粒粒径均匀、性质稳定^[20],近年来国内外对微胶囊化植物油方面研究较多^[21],但对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的研究却鲜有报道。传统微胶囊粒径一般在 5~200 μm 不等,较大粒径导致传统微胶囊分散性不好、对芯材保护能力有限且与细胞接触面积较小,对于生物活性物质的释放速率和利用率不能够起到很好的控制效果;与传统微胶囊相比,将生物活性物质进行纳米级封装可大大减小胶囊粒径、增加胶囊比表面积,同时提高了包埋率和芯材物质的释放面积^[22]。在亚细胞尺寸下的纳米胶囊拥有更好的分散性和稳定性,以及较高的细胞吸收和特异性,大大提高了生物活性物质的生物利用率。

本试验拟以壳聚糖为壁材,以三聚磷酸钠为交联剂,采用离子凝胶法制备丁香精油—壳聚糖纳米胶囊,研究制备条件对纳米胶囊包埋率及粒径的影响,并对所制备纳米胶囊进行表征分析,为缩小与国外天然活性保鲜剂方面的研究差距,扩大精油在食品工业中的应用范围,开发新型精油保鲜剂提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

丁香精油:丁香酚含量 85.0%,上海国药集团化学试剂有限公司;

壳聚糖:脱乙酰化 $\geq 95.0\%$,北京酷尔化学科技有限公司;

吐温-80:分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司;

多聚磷酸钠:分析纯,天津市津北精细化工有限公司;

丁香酚标准品:上海源叶生物科技有限公司;

冰醋酸:分析纯,江苏强盛功能化学股份有限公司;

溴化钾:光谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

傅里叶红外仪:Vertex 70 型,德国布鲁克科技有限公司;

扫描电镜:TM3030Plus 型,日本日立公司;

差示扫描量热仪:DSC3 型,瑞士梅特勒—托利多集团;

紫外可见分光光度计:UV2800 型,上海尤尼柯仪

器有限公司;

激光粒度仪:MS2000 型,英国马尔文仪器有限公司;

微量高速台式离心机:TG16-W 型,长沙湘仪离心机仪器有限公司;

恒温磁力搅拌器:85-2 型,常州越新仪器制造有限公司;

台式 pH 计:雷磁 PHS-3E 型,上海仪电科学仪器股份有限公司;

真空冷冻干燥机:LGJ-10D 型,北京四环科学仪器厂有限公司;

超声清洗机:KQ-500DE 型,昆山市超声仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的制备 参照 Woranuch 等^[23]的方法,稍加改进,采用离子凝胶法制备丁香精油—壳聚糖纳米胶囊。将壳聚糖溶于 1%冰醋酸中,制成 5 mg/mL 的壳聚糖溶液,60 $^{\circ}\text{C}$ 磁力搅拌 60 min 后采用 0.45 μm 微孔滤纸过滤,用 2 mol/L 氢氧化钠调节滤液 pH 值。取 50 mL 上述壳聚糖溶液加入与丁香精油相同质量的吐温-80,60 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 30 min 得到均匀混合物冷却至常温备用。丁香精油溶于无水乙醇,将精油溶液加入壳聚糖溶液中,常温搅拌 30 min。将多聚磷酸钠溶液(调节 pH 值使其与壳聚糖溶液一致)逐滴加入到精油—壳聚糖乳化液中,常温搅拌 60 min,形成丁香精油—壳聚糖纳米胶囊分散液,经 12 000 r/min 离心 20 min,纳米胶囊悬浮于蒸馏水中,经 15 Pa 冻干 24 h 用于进一步分析。

1.3.2 单因素试验

(1) 壳聚糖溶液 pH 值对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响:采用 1.3.1 的制备方法,分别将壳聚糖溶液 pH 值调节为 4.0,4.5,5.0,5.5,6.0,壳聚糖与三聚磷酸钠质量比为 3:1,丁香精油与壳聚糖质量比为 0.8:1.0。

(2) 壳聚糖与三聚磷酸钠质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响:采用 1.3.1 的制备方法,壳聚糖溶液 pH 值为 4.5,壳聚糖与三聚磷酸钠质量比分别为 3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,丁香精油与壳聚糖质量比为 0.8:1.0。

(3) 丁香精油与壳聚糖质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响:采用 1.3.1 的制备方法,壳聚糖溶液 pH 值为 4.5,壳聚糖与三聚磷酸钠质量比为 5:1,丁香精油与壳聚糖质量比分别为 0.4:1.0,0.6:1.0,0.8:1.0,1.0:1.0,1.2:1.0。

1.3.3 正交试验 根据单因素试验结果,选取壳聚糖溶液 pH 值、壳聚糖与三聚磷酸钠质量比、丁香精油与壳聚糖质量比为主要影响因素,利用 DPS 7.05 软件,以胶囊粒

径和包埋率为考察指标,设计三因素三水平正交试验,确定最佳制备工艺。

1.3.4 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊包埋率的测定 参照文献[24—25]方法,稍加改进,纳米胶囊分散液经过 12 000 r/min 离心 20 min 后除去上清液,经去离子水冲洗后将其分散于 50 mL 无水乙醇中,经 25 ℃、500 W 超声 30 min 使纳米胶囊壁材破碎,其中所包埋的丁香精油溶于无水乙醇中,测定 282 nm 波长处的吸光度,根据丁香酚紫外标准曲线方程计算出纳米胶囊中包埋丁香精油的质量,由丁香酚质量算出纳米胶囊中包埋丁香精油的总质量,按式(1)计算包埋率。

$$E = \frac{M_L}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E ——包埋率, %;

M_L ——包埋丁香精油总质量, mg;

M ——加入丁香精油总质量, mg。

1.3.5 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的粒径分布检测 使用纯净水作为背景,测定背景后加入胶囊分散液使溶液充分混合,控制其浓度在可测试范围内,通过激光粒度分析仪测定胶囊粒径大小和分布状况^[26]。

1.3.6 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的扫描电镜观察 将制备好的胶囊样品溶液均匀滴在黑色导电胶上晾干,放入仪器样品台上,通过扫描电镜对胶囊的形态进行观察^[27]。

1.3.7 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的傅里叶红外光谱分析 使用溴化钾作为背景,样品研磨后压制成透明薄片,放入傅里叶红外仪中进行红外扫描。仪器参数:光谱扫描范围 4 000 ~ 400 cm^{-1} ,扫描次数 32,分辨率 4 cm^{-1} ^[28]。

1.3.8 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的差示扫描量热仪分析 以壳聚糖、丁香精油、空白胶囊冻干粉和胶囊冻干粉为样品,放入样品台检测。仪器参数:升温速率 15 ℃/min,测定温度区间 30~450 ℃,保护气选择氮气,氮气流速为 100 mL/min^[29]。

1.4 数据分析

所得数据取 3 次平行试验的平均值,用 Excel 2010 以及 DPS 7.05 对试验数据进行处理(显著水平 $P < 0.05$),用 Origin pro 9.0 作图。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖溶液 pH 值对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

由图 1 可知,当壳聚糖溶液 pH 值由 4.0 上升到 6.0 时,纳米胶囊粒径和包埋率都是先下降后上升;且在 pH 值为 4.5 时,纳米胶囊粒径和包埋率均为最小。由于壳聚

糖是一种碱性多糖,其分子链上存在大量氨基(NH_2),只能溶于酸性溶液,溶液 pH 值对胶囊的形成有着重要影响^[30]。在酸性环境中,氢离子(H^+)与壳聚糖分子中的一 NH_2 结合使其质子化为一 NH_3^+ 与三聚磷酸钠中带有负电荷的磷酸基团交联形成胶囊,当 pH 值在 4.5 以下时溶液中 H^+ 浓度过高壳聚糖分子受到强质子化作用导致大量胺基变为带有正电荷的一 NH_3^+ ,同一分子链上大量一 NH_3^+ 相互排斥使得分子链充分延展,分子间斥力增强,导致胶囊粒径变大包埋率随之上升。当 pH 值 > 4.5 时,随着 pH 值的增大, H^+ 浓度减低氨基质子化作用变弱产生的一 NH_3^+ 减少,使得交联作用变小壳聚糖分子间间隙变大形成膨松结构的颗粒,且壳聚糖发生凝聚容易形成大颗粒絮状沉淀,导致胶囊粒径变大包埋率也随之上升。陈文彬等^[31]研究了 α -生育酚壳聚糖纳米粒的制备,结果表明 pH 值对纳米粒粒径有很大影响,与本研究结果相似。

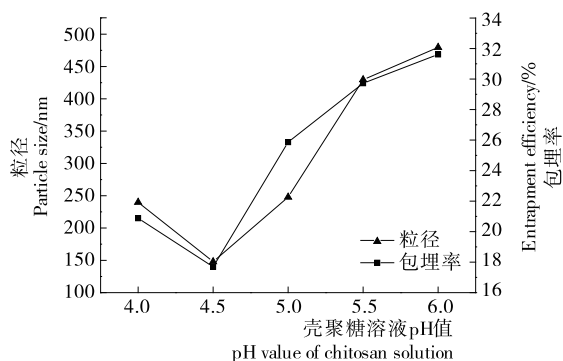


图 1 壳聚糖溶液 pH 值对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

Figure 1 Effect of pH value of chitosan solution on particle size and entrapment efficiency of chitosan-clove essential oil-loaded nanocapsules

2.2 壳聚糖与三聚磷酸钠质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

由图 2 可知,随着壳聚糖与三聚磷酸钠质量比的增大,纳米胶囊粒径逐渐增大,包埋率先升高到一定程度后趋于平缓。这是由于当壳聚糖与三聚磷酸钠质量比为 3:1 时,磷酸基团密度较大可以与壳聚糖分子链上的一 NH_3^+ 充分交联,交联作用产生的引力使分子链紧密联结使得胶囊粒径较小,包埋率也较低;但随着壳聚糖与三聚磷酸钠质量比的增大,壳聚糖分子链上的一 NH_3^+ 与磷酸基团不能充分交联,较多的壳聚糖分子与少量磷酸基团结合交联作用力较弱,多个壳聚糖分子共用磷酸基团导致壳聚糖分子凝聚在一起使得胶囊粒径逐渐增大,包埋率也随之升高。随着壳聚糖与三聚磷酸钠质量比的继续增大,胶囊粒径增加包埋率却不再升高,可能是磷酸基

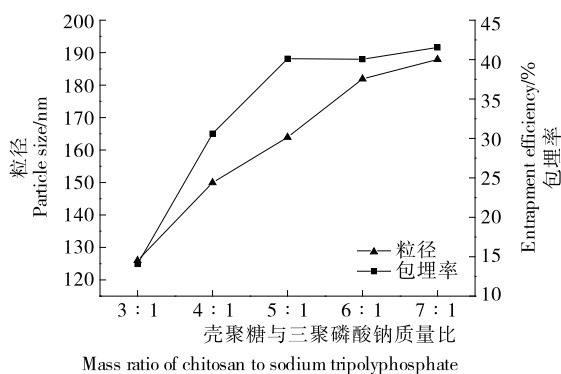


图2 壳聚糖与三聚磷酸钠质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

Figure 2 Effects of mass ratio of chitosan to sodium tripolyphosphate on particle size and entrapment efficiency of chitosan-clove essential oil-loaded nanocapsules

团的量不足以使壳聚糖形成囊壁,壳聚糖松散的结合在一起,芯材不能被充分包裹,导致包埋效果不好的情况。王旭歌^[32]²⁴⁻²⁶采用离子凝胶法制备壳聚糖纳米胶囊,结果表明三聚磷酸钠添加量减少会导致壳聚糖纳米粒粒径增大;吴立明^[33]采用离子凝胶法制备灯盏花素壳聚糖纳米粒,结果表明三聚磷酸钠添加量减少导致包埋率升高到一定程度后趋于平缓,与本研究结果相似。

2.3 壳聚糖与丁香精油质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

由图3可知,随着丁香精油添加量的增加,纳米胶囊粒径逐渐增大,包埋率先升高后略有下降。这是因为当精油含量较少时,丁香精油形成极为细小的液滴分散于溶液中,壳聚糖与三聚磷酸钠交联形成囊壁时包裹精油量较少,导致胶囊粒径较小^[34];随着精油添加量的增加,精油液滴之间相互碰撞发生凝聚致使精油液滴粒径增

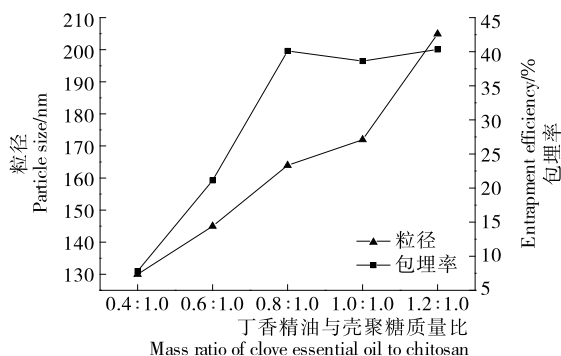


图3 丁香精油与壳聚糖质量比对丁香精油—壳聚糖纳米胶囊粒径以及包埋率的影响

Figure 3 Effect of mass ratio of clove essential oil to chitosan on particle size and entrapment efficiency of chitosan-clove essential oil-loaded nanocapsules

大,壳聚糖对大粒径精油液滴表面进行包裹使得胶囊粒径增大^[32]³⁶。当丁香精油与壳聚糖质量比高于0.8:1.0时,纳米胶囊粒径继续增大,但包埋率却出现下降趋势,这主要是由于精油浓度增加,单位体积内大粒径精油液滴相应增多,但形成囊壁的壳聚糖却相对减少,囊壁也会越来越薄,甚至出现破裂致使精油渗出^[35],胶囊之间出现严重黏连^[36],导致胶囊粒径增大包埋量却有所降低。

2.4 正交试验结果

在单因素试验基础上,采用三因素三水平正交试验对纳米胶囊制备工艺进行优化,其试验设计方案及考察因素水平见表1。

表1 正交试验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels used in orthogonal array design

水平	A 壳聚糖溶液 pH 值	B 壳聚糖与三聚 磷酸钠质量比	C 丁香精油与 壳聚糖质量比
1	4.0	3:1	0.4:1.0
2	4.5	4:1	0.6:1.0
3	5.0	5:1	0.8:1.0

由表2可知,各因素对胶囊粒径影响的主次顺序为A>C>B,由胶囊粒径越小越好得到粒径最优组合为A₂B₁C₁;各因素对胶囊包埋率影响的主次顺序为C>B>A,由包埋率越大越好得到包埋率最优组合A₁B₃C₃。由表3可知,壳聚糖溶液pH值对胶囊粒径影响显著(P<0.05),丁香精油与壳聚糖质量比对胶囊粒径影响最小,为得到较小粒径应选择A₂为最佳制备水平之一。由表4可知,丁香精油与壳聚糖质量比对胶囊包埋率影响显著(P<0.05),壳聚糖溶液pH值对胶囊包埋率影响最小,为得到较大包埋率应选择C₃为最佳制备水平之一。壳聚糖与三聚磷酸钠质量比对粒径及包埋率影响皆不显著,为得到较大包埋率应选择B₃为最佳制备水平之一。综上所述,为了得到粒径较小包埋率较大的精油胶囊,选择最佳组合A₂B₃C₃,即壳聚糖溶液pH值4.5、壳聚糖与三聚磷酸钠质量比5:1、丁香精油与壳聚糖质量比0.8:1.0,此条件下制得胶囊粒径为175 nm,包埋率为40.2%,用于下一步表征分析。

2.5 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的粒径分布及形态观察

由图4可以看出,空白胶囊和丁香精油—壳聚糖纳米胶囊均呈现双峰分布,其平均粒径分别为128 nm和175 nm;空白胶囊和丁香精油—壳聚糖纳米胶囊都在448 nm处出现第二峰,这是由于部分胶囊相互凝聚导致较大颗粒的粒径分布增强,且丁香精油—壳聚糖纳米胶囊在448 nm处的粒径分布强度强于空白壳聚糖纳米胶囊,可能是胶囊表面残留的游离芯材加重了胶囊间的凝

表 2 粒径正交试验设计与结果

Table 2 Orthogonal array design with response variables of particle size

试验号	A	B	C	D (空列)	粒径/ nm	包埋率/ %
1	1	1	1	1	190	4.05
2	1	2	2	2	224	17.45
3	1	3	3	3	266	47.18
4	2	1	3	2	131	9.31
5	2	2	1	3	150	30.01
6	2	3	2	1	130	5.84
7	3	1	2	3	148	25.86
8	3	2	3	1	231	8.59
9	3	3	1	2	243	30.89
K_1	226.67	156.33	194.33	183.67		
K_2	137.00	201.67	167.33	199.33		
K_3	207.33	213.00	209.33	188.00		
R	89.67	56.67	42.00	15.67		
K_1'	22.89	13.07	6.16	21.65		
K_2'	15.05	18.68	19.22	16.38		
K_3'	21.78	27.97	34.35	21.69		
R'	7.84	14.90	28.19	5.31		

表 3 粒径方差分析

Table 3 Variance analysis of orthogonal tests of particle size

因素	偏差平方和	自由度	方差	F 值	P
A	13 360.666 7	2	6 680.333 3	34.025 5	0.028 6
B	5 394.666 7	2	2 697.333 3	13.738 5	0.067 8
C	2 718.000 0	2	1 359.000 0	6.921 9	0.126 2
误差	392.666 7	2	196.333 3		
总和	21 866.000 0				

表 4 包埋率方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal tests of entrapment efficiency

因素	偏差平方和	自由度	方差	F 值	P
A	107.953 2	2	53.976 6	1.929 9	0.341 3
B	339.625 0	2	169.812 5	6.071 7	0.141 4
C	1 194.170 4	2	597.085 2	21.349 0	0.044 7
误差	55.935 8	2	27.967 9		
总和	1 697.684 3				

聚。图 5 表明,丁香精油—壳聚糖纳米胶囊为球形颗粒,形态饱满,颗粒之间相互接触紧密,部分胶囊相互黏连,与粒径分析结果一致。徐俊等^[37]研究缓释型驱蚊纳米胶

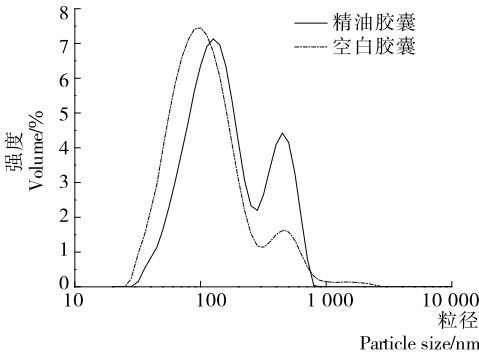


图 4 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊与空白壳聚糖纳米胶囊的粒径分布

Figure 4 Particle size distribution of chitosan nanoparticles and chitosan-clove essential oil-loaded nanocapsules

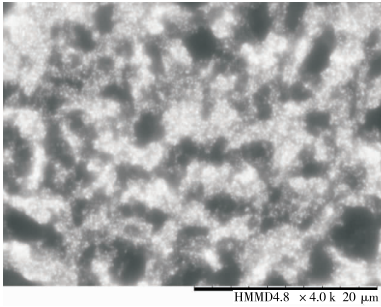


图 5 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的扫描电镜图

Figure 5 SEM image of chitosan-clove essential oil-loaded nanocapsules

囊的制备,经电镜扫描后观察到球状纳米颗粒有团聚现象,与本研究结果一致。

2.6 丁香精油—壳聚糖纳米胶囊的傅里叶红外光谱分析

由图 6 可知,壳聚糖在 $2\,876\text{ cm}^{-1}$ 出现 C—H 伸缩振动吸收峰, $1\,657\text{ cm}^{-1}$ 出现酰胺 I 带的 C=O 伸缩振动吸收峰, $1\,598\text{ cm}^{-1}$ 出现 N—H 弯曲振动吸收峰, $1\,424\text{ cm}^{-1}$ 出现 C—N 对称伸缩振动吸收峰, $1\,093\text{ cm}^{-1}$ 出现—CH₃ 对称变形振动以及 C—O 骨架振动吸收峰。空白胶囊中伯胺基与仲胺基的吸收峰发生蓝移向短波移动至 $1\,642\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,547\text{ cm}^{-1}$,这是由于三聚磷酸钠中的磷酸基团与壳聚糖中的氨基在静电作用下结合。陶武等^[38]采用傅里叶红外光谱研究壳聚糖包埋山梨酸钠微胶囊的结构变化,结果也出现伯、仲胺基蓝移的情况。丁香精油的红外图谱出现大量吸收峰,表明其中存在多种挥发性化合物,在 $2\,930\text{ cm}^{-1}$ 出现 C—H 不对称伸缩振动吸收峰, $2\,855\text{ cm}^{-1}$ 出现 C—H 对称伸缩振动吸收峰; $1\,742\text{ cm}^{-1}$ 出现酰胺 I 带的 C=O 伸缩振动吸收峰^[39], $1\,513\text{ cm}^{-1}$ 出现芳香族 C=C 伸缩振动吸收峰。与空白胶囊相比,丁香精油—壳聚糖纳米胶囊在 $2\,925\text{ cm}^{-1}$ 与

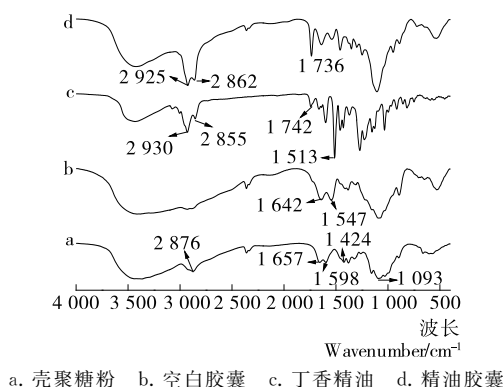


图6 傅里叶红外光谱检测结果

Figure 6 FTIR spectra

2862 cm^{-1} 处出现明显增强的 C—H 伸缩振动吸收峰,并在 1736 cm^{-1} 处出现一个新峰,为酰胺 I 带的 C=O 伸缩振动吸收峰,表明丁香精油已被成功包埋到壳聚糖与三聚磷酸钠形成的纳米胶囊中。

2.7 丁香精油-壳聚糖纳米胶囊的差示扫描量热仪分析

由图 7 可知,随着温度的升高,丁香精油挥发速度快速增加,温度到达 252 $^{\circ}\text{C}$ 出现吸热峰,是由于精油沸腾汽化。纯壳聚糖粉在 99 $^{\circ}\text{C}$ 出现较宽吸热峰,是由于壳聚糖亲水基团吸附水的蒸发,在 315 $^{\circ}\text{C}$ 出现尖锐放热峰,是由于壳聚糖发生降解。空白胶囊在 252 $^{\circ}\text{C}$ 出现尖锐放热峰,可能是由于壳聚糖与三聚磷酸钠交联反应过程中发生能量变化导致降解放热峰改变。廖霞等^[36]对壳聚糖与海藻酸钠复合物进行热分析,结果表明壳聚糖与海藻酸钠复合后峰位也出现向低温偏移的情况。与空白胶囊相比,精油胶囊在 252 $^{\circ}\text{C}$ 放热峰减弱,可能是纳米胶囊外层部分精油吸收了空白胶囊降解的部分热量;与空白胶囊相比,精油胶囊在 413 $^{\circ}\text{C}$ 出现吸热峰,是由于中间产物进一步裂解碳化^[40],胶囊壁完全破裂精油发生汽化;与丁香精油相比,精油胶囊吸热峰由 252 $^{\circ}\text{C}$ 提高到 413 $^{\circ}\text{C}$,说明壳聚糖对精油进行了包埋并对精油起到了一定的保护作用。

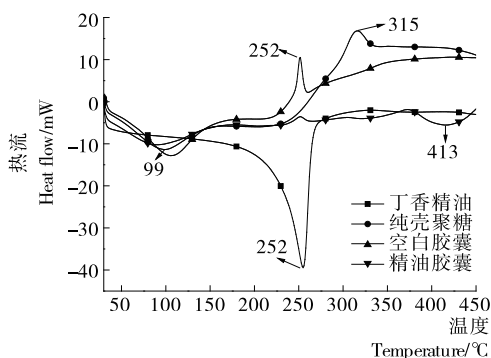


图7 差示扫描量热分析图

Figure 7 DSC curves

3 结论

本研究采用离子凝胶法制备丁香精油-壳聚糖纳米胶囊,通过正交试验进行工艺优化,得到最佳工艺条件为:壳聚糖溶液 pH 值 4.5、壳聚糖与三聚磷酸钠质量比 5:1、丁香精油与壳聚糖质量比 0.8:1.0,此条件下制得纳米胶囊包埋率达到 40.2%,胶囊平均粒径为 175 nm。丁香精油-壳聚糖纳米胶囊外观呈球形,形态饱满,且具有良好的热稳定性。将所制备纳米胶囊应用于食品保鲜中,研究其对食品贮藏期间品质的影响仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] 刘景艳, 原现瑞, 李巧玲. 微胶囊技术在食品工业中的应用[J]. 食品工程, 2005(4): 26-28.
- [2] STARK W J, STOESSEL P R, WOHLLEBEN W, et al. Industrial applications of nanoparticles[J]. Chemical Society Reviews, 2015, 44(16): 5793-5805.
- [3] 李苗苗. 天然活性成分的包埋及稳定性研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2015: 27-30.
- [4] AKBARIRAD H, ARDABILI A G, KAZEMEINI S M, et al. An overview on some of important sources of natural antioxidants[J]. International Food Research Journal, 2016, 23: 928-933.
- [5] AVIS T J, LAI E P, IQBAL Z. Combating antimicrobial resistance in foodborne microorganisms[J]. Journal of Food Protection, 2016, 79(2): 321-336.
- [6] LOPES N A, BRANDELLI A. Nanostructures for delivery of natural antimicrobials in food[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(13): 2202-2212.
- [7] TOMOVIC V, JOKANOVIC M, ŠOJIC, B, et al. Plants as natural antioxidants for meat products[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2017, 85(1): 12-30.
- [8] LORENZO J M, MUNEKATA P E S, SANT'ANA A S, et al. Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 77: 1-10.
- [9] CORTÉS-ROJAS D F, FEMANDES C R, OLIVEIRA W P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2014, 4(2): 90-96.
- [10] JIROVETZ L, BUCHBAUER G, STOILLOVA I, et al. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54(17): 303-307.
- [11] 陈志雄, 李友霞, 赵世兴, 等. 丁香花蕾油的分子蒸馏分离及 GC-MS 分析[J]. 香料香精化妆品, 2016(2): 21-25.
- [12] CHEN Chu-ying, ZHENG Jia-peng, WAN Chun-peng, et al. Effect of carboxymethyl cellulose coating enriched with clove oil on postharvest quality of 'Xinyu' mandarin

- oranges[J]. *Fruits*, 2016, 71(5): 319-327.
- [13] BAG A, CHATTOPADHYAY R R. Evaluation of antioxidant potential of essential oils of some commonly used Indian spices in *in vitro* models and in food supplements enriched with omega-6 and omega-3 fatty acids[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2017, 25(4): 1-11.
- [14] SAHIN S, EULENBURG V, HEINLEIN A, et al. Identification of eugenol as the major determinant of GABA A-receptor activation by aqueous *Syzygium aromaticum* L. (clove buds) extract[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 37: 641-649.
- [15] DALAI M K, BHADRA S, CHAUDHARY S K, et al. Anti-cholinesterase activity of the standardized extract of *Syzygium aromaticum* L [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2014, 10(2): 276-282.
- [16] TEKIN K, AKALIN M K, ŞEKER M G. Ultrasound bath-assisted extraction of essential oils from clove using central composite design[J]. *Industrial Crops & Products*, 2015, 77: 954-960.
- [17] AGUILAR-GONZÁLEZ A E, PALOU E, LÓPEZ-MALO A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2015, 32: 181-185.
- [18] ISLAM N, FERRO V. Recent advances in chitosan-based nanoparticulate pulmonary drug delivery [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(30): 14 341-14 358.
- [19] AHMED T A, ALJAEID B M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery [J]. *Drug DesDevel Ther*, 2016, 10 (1): 483-507.
- [20] 张从芬. 离子凝胶法制备壳聚糖纳米粒的研究进展[J]. *中国中医药咨讯*, 2011, 3(18): 97-98.
- [21] 王慧, 杨子明, 周闯, 等. 纳米微胶囊技术及其在植物精油中的应用[J]. *高分子通报*, 2018(9): 41-46.
- [22] DURÁN N, MARCATO P D. Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: A review[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2013, 48(6): 1 127-1 134.
- [23] WORANUCH S, YOKSAN R. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles I : Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 96(2): 578-585.
- [24] 张智敏, 朱倩倩. 紫外分光光度法测定丁香油和风油精中丁香酚的含量[J]. *安徽工业大学学报: 自然科学版*, 2006, 23(3): 272-274.
- [25] 黄晶, 申莉莉, 白友菊, 等. 层层自组装法制备百里香精油微胶囊条件优化[J]. *食品科学*, 2016, 37(2): 51-57.
- [26] SOTELO-BOYÁS M E, CORREA-PACHECO Z N, BAUTISTA-BANOS S, et al. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 77: 15-20.
- [27] JIANG Ping, LI Du-xin, XIAO Ya, et al. Preparation and characterization of chitosan-based core-shell microcapsules containing clove oil[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2015, 15 (1): 600-605.
- [28] HOSSEINI SF, ZANDI M, REZAEI M, et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and *in vitro* release study [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 95 (1): 50-56.
- [29] FEYZIOGLU G C, TORNUK F. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 70: 104-110.
- [30] WEN Fan, WEI Yan, ZU Shun-xu, et al. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012, 90(1): 21-27.
- [31] 陈文彬, 严文静, 徐幸莲, 等. α -生育酚壳聚糖纳米粒的制备、表征及体外缓释抗氧化性能[J]. *食品科学*, 2017, 38 (22): 216-223.
- [32] 王旭歌. 壳聚糖包覆精油纳米胶囊的制备及在冷鲜肉中的应用研究[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2015.
- [33] 吴立明. 灯盏花素壳聚糖纳米粒的研究[D]. 济南: 山东大学, 2008: 27-31.
- [34] 陶缘. 复合凝聚法制备肉味香精微胶囊及其性质研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015: 41-44.
- [35] 夏书芹. 叶黄素微胶囊的制备及稳定性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2010(10): 59-63.
- [36] 廖霞, 杨小兰, 李瑶, 等. 响应面试验优化复凝聚法制备槲皮素微胶囊工艺及其理化性质[J]. *食品科学*, 2016, 37 (22): 20-27.
- [37] 徐俊, 沈勇, 张惠芳, 等. 缓释型驱蚊纳米胶囊的制备及性能研究[J]. *应用化工*, 2017, 46(7): 1 325-1 330.
- [38] 武陶, 丁武. 山梨酸纳米防腐颗粒的制备、表征及其缓释性能[J]. *食品科学*, 2014, 35(10): 57-61.
- [39] JOSEPH JJ, SANGEETHA D, GOMATHI T. Sunitinib loaded chitosan nanoparticles formulation and its evaluation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 82: 952-958.
- [40] 王大为, 任华华, 杨嘉丹, 等. 功能性油脂微胶囊的制备及其稳定性[J]. *食品科学*, 2018, 39(6): 264-269.