

桉叶精油微胶囊包埋油含量测定方法的比较

岳淑丽¹, 任小玲¹, 向红¹, 孙京超², 张淑静², 孙远明¹, 陈霞¹

(1.华南农业大学, 广州 510642;

2.中国航天员科研训练中心航天营养与食品工程重点实验室, 北京 100094)

摘要:目的 比较 3 种测定桉叶精油微胶囊包埋油含量的方法,为包埋油含量的测定提供科学依据。方法 采用干燥失重法、挥发油测定法和紫外分光光度法对桉叶精油微胶囊包埋油含量进行测定,并对这 3 种方法进行对比分析。结果 3 种方法的 RSD 值均不超过 5%,加标回收率均在 90%~120%之间,均具有良好的精密度和准确度。干燥失重法测定结果偏高。紫外分光光度法操作复杂,相对成本较高,但检测速度快。挥发油测定法操作简便、成本低,但耗时较长。结论 3 种方法均适合包埋油含量的测定,但挥发油测定法和紫外分光光度法精密度和准确度更高。

关键词:微胶囊;包埋油;测定方法;精密度;准确度

中图分类号:TS225.3 文献标识码:A 文章编号:1001-3563(2016)15-0067-05

Comparative Study on Determination Methods of Oil Encapsulated in Eucalyptus Essential Oil Microcapsules

YUE Shu-li¹, REN Xiao-ling¹, XIANG Hong¹, SUN Jing-chao², ZHANG Shu-jing²,
SUN Yuan-ming¹, CHEN Xia¹

(1.South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2.Key Laboratory of Space Nutrition and Food Engineering, China Astronauts Research and Training Center, Beijing, 100094, China)

ABSTRACT: It aims to provide a scientific basis in determining amount of oil encapsulated in essential oil microcapsules by comparing three determination methods. Amount of the encapsulated oil was determined by weight loss method, distillation method and ultraviolet spectrophotometry. Then the three methods were compared and analyzed. The three methods all had good precision and accuracy with RSDs no more than 5% and indexed recovery at 90%-120%. The values determined by weight loss method were higher than the others. Ultraviolet spectrophotometry method was complex and had high cost, but had high detection speed. Distillation method was easy to operate and had low cost, but time-consuming was more. In conclusion, the three methods are all suitable for the amount determination of the oil encapsulated in essential oil microcapsules, but distillation method and ultraviolet spectrophotometry method have better precision and accuracy.

KEY WORDS: microcapsule; encapsulated oil; determination method; precision; accuracy

桉树是桃金娘科桉树属植物,是世界上著名的速生树种,在我国广东、广西、海南、云南等地种

植广泛^[1-2]。从桉树枝叶中提取的桉叶精油对食品中常见的致腐菌如大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄

收稿日期: 2016-03-04

基金项目: 航天营养与食品工程重点实验室开放基金(h2015631); 载人航天预先研究项目(FTKY201506)

作者简介: 岳淑丽(1979—),女,河南人,硕士,华南农业大学讲师,主要研究方向为食品包装、包装设计、功能性包装材料。

通讯作者: 孙远明(1956—),男,湖南人,博士,华南农业大学教授,主要研究方向为食品质量与安全。

色葡萄球菌、黄曲霉、黑曲霉等均具有一定的抑制性^[3-4], 可将其作为天然安全的抑菌剂添加到食品包装材料中以延长食品的保鲜期和货架期。

桉叶精油易挥发, 直接添加到包装材料中起不到长效抑菌功能^[5]。对桉叶精油进行微胶囊化可使液态的精油转变为固态, 便于添加到包装材料中, 且利用微胶囊壁材的控释性, 可发挥桉叶精油长效缓释抑菌功能^[6]。在众多微胶囊壁材中, β -环糊精因其具有“外亲水, 内亲油”的特殊结构, 可与多种客体形成包合物, 提高客体的化学稳定性, 并实现对客体的可控释放^[5, 7], 因此采用 β -环糊精包埋桉叶精油制备桉叶精油微胶囊是目前较为常用的方法。

在精油微胶囊的制备中, 包埋率是评价其包埋效果的一个重要指标。包埋率是指微胶囊中被包埋的精油与投入精油的质量分数或体积分数^[6]。包埋率越高则精油被包埋的量越大, 效果越好。在制备精油微胶囊时, 投入精油的量是确定的, 因此在计算包埋率时, 关键是要准确测定微胶囊中被包埋的精油的量。微胶囊中包埋油的测定方法有热重分析法^[8]、紫外分光光度法^[6]、挥发油测定法^[9-10]、干燥失重法^[11]等。其中热重分析法因测试费用昂贵, 应用较少, 其他 3 种测试方法应用均较多。这里选取干燥失重法、挥发油测定法和紫外分光光度法进行对比分析, 旨在为桉叶精油微胶囊包埋油含量的测定提供科学的依据, 也为其他精油微胶囊包埋油含量的测定提供参考。

1 实验

1.1 材料与试剂

材料与试剂: 无水乙醇, 分析纯, 南京化学试剂股份有限公司; 桉叶精油 (桉叶素含量为 85%~90%, 批号 20150620), 广州市帕塞佳香精香料有限公司; β -环糊精, 生化试剂, 上海博奥生物科技有限公司; 去离子水, 华南农业大学食品学院自制。

1.2 仪器与设备

仪器与设备: T6 新世纪紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; SHZ-DⅢ型循环水真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; BS223S 电子天平, 奥多利斯科学仪器(北京)有限公司; H/T16MM 台式高速离心机,

湖南赫西仪器装备有限公司; SB-100DT 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; DZF-6050 型真空干燥箱, 宁波江南仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 桉叶精油微胶囊样品的制备

采用饱和水溶液法制备桉叶精油微胶囊^[12-14]。称取 20 g β -环糊精, 用 200 mL 去离子水搅拌溶解形成 β -环糊精过饱和溶液。70 °C 下搅拌加热, 使 β -环糊精溶解, 30 min 后, 将温度降为 40 °C, 准确量取 2 mL 桉叶精油, 用 50 mL 无水乙醇溶解, 将桉叶精油的乙醇溶液匀速逐滴加入 β -环糊精水溶液中。40 °C 下搅拌包埋 2 h 后取出, 待溶液冷却至室温后将其放于 3 °C 冰箱中静置 24 h, 真空抽滤, 滤渣用无水乙醇和蒸馏水各洗涤抽滤 1 次。后将滤渣转移至玻璃培养皿中, 铺平, 于 50 °C 真空干燥箱中干燥至恒重, 得白色桉叶精油微胶囊。

1.3.2 干燥失重法

准确称取一定量干燥的桉叶精油微胶囊, 其质量记为 m_1 , 置于干燥的锥形瓶中, 加入一定量的无水乙醇, 加盖密封, 在超声波清洗机中于 80 °C 超声震荡 40 min, 真空抽滤, 将滤渣在 50 °C 真空干燥箱中干燥至恒重, 记其质量为 m_2 , 则桉叶精油微胶囊包埋油质量为 $(m_1 - m_2)$ 。

1.3.3 挥发油测定法

参考 2010 版《中国药典》附录 XD 挥发油测定法 (甲法)^[9-10], 但对桉叶精油微胶囊蒸馏前进行超声震荡处理以便加快包埋油的析出, 缩短测定时间。具体方法如下: 精密称取适量桉叶精油微胶囊 (约含 0.5~1.0 mL 桉叶精油), 置于锥形瓶中, 在锥形瓶中加入适量去离子水, 加盖密封, 在超声波清洗机中于 40 °C 超声震荡 20 min。再将其转移至装有 10 粒左右玻璃珠的 500 mL 圆底烧瓶中, 并在圆底烧瓶中加入约 300 mL 去离子水, 连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加去离子水使充满挥发油测定器的刻度部分, 并溢流入烧瓶时为止。用调温电热器加热至微沸, 并保持微沸约 1 h, 至挥发油测定器中油量不再增加时停止加热, 放置约 2 h 后, 从挥发油测定器中读取蒸馏出的桉叶精油体积量, 即为桉叶精油微胶囊中包埋油的含量。

1.3.4 紫外分光光度法

1) 最大吸收波长的测定。配置每毫升中含有

17.5 nL 桉叶精油的桉叶精油-乙醇标准溶液,以无水乙醇为空白组,用紫外可见分光光度计在 190 ~ 400 nm 波长之间进行扫描,间隔 1 nm,从扫描图谱中确定最大吸收波长。

2) 标准曲线的绘制。用移液管精密量取 1 mL 桉叶精油,置于 100 mL 容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度线,摇匀,得到标准储备溶液备用。在此基础上,分别配置每毫升溶液里含有 2.5, 7.5, 12.5, 17.5, 20 nL 桉叶精油的标准溶液。以无水乙醇为空白组,在最大吸收波长处测量不同桉叶精油-乙醇溶液的吸光值,以桉叶精油体积为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。

3) 包埋油的测定。精密称取 50 °C 真空干燥恒重的桉叶精油微胶囊,溶于 50 mL 的无水乙醇中,在超声波清洗机中于 80 °C 超声震荡 40 min,真空抽滤,用无水乙醇充分洗涤滤渣。将所得滤液在高速离心机上离心 20 min,倾出上清液,准确计量上清液体积。取 1 mL 上清液,配置桉叶精油-无水乙醇溶液,以无水乙醇为空白组,在波长 206 nm 处测量所配溶液的吸光值。根据回归方程计算桉叶精油-乙醇溶液中桉叶精油的体积分数,再乘以上清液的体积,即可计算出桉叶精油微胶囊中包埋油的含量。

1.4 分析方法

1.4.1 精密度实验

精密度指用该法测定同一匀质样品的一组测量值彼此符合的程度,它们越接近就越精密,常用相对标准偏差(RSD)来表示分析测试结果的精密度,相对标准偏差是指标准偏差与计算结果的算术平均值的比例^[15]。

用前述 3 种方法分别测定经相同工艺参数制备的 2 批不同质量的微胶囊样品 1 和样品 2,重复 6 次,得出平均值,计算标准偏差 RSD,以考察方法的精密度。

1.4.2 准确度实验

准确度指用该法测定的结果与真实值之间接近的程度,由于其值无法准确知道,通常采用加标回收率来表示^[15]。

采用标准样品加入法,取已知包埋油含量的微胶囊样品若干份,分成 3 组,每组样品中分别加入已知包埋油量的 80%, 100%, 120% 的桉叶精油标准品,分别采用前述 3 种方法测试加标样品中包埋油

含量,加标测试值减去未加标样品的测试值,其差值与加标量之比即为样品的加标回收率,重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 紫外分光光度法检测波长的选择

将每毫升中含有 17.5 nL 桉叶精油的桉叶精油-乙醇溶液经过 190 ~ 400 nm 波长扫描,扫描图谱见图 1。扫描图谱显示出在 206 nm 处桉叶精油-乙醇溶液有最大吸收峰,因此确定 206 nm 桉叶精油为紫外分光光度法的测定波长。

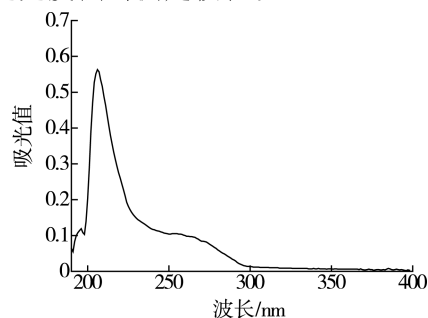


图 1 桉叶精油-乙醇溶液扫描图谱

Fig.1 Absorption spectra of eucalyptus essential oil-ethanol solution

2.2 紫外分光光度法标准曲线的建立

以桉叶精油-乙醇溶液中桉叶精油的体积分数为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制的标准曲线见图 2。将吸光值对桉叶精油的体积分数作回归处理,得桉叶精油-乙醇溶液标准曲线的回归方程为: $y=0.0317x+0.0074$, 其中 y 是溶液在 206 nm 波长处的吸光值, x 是每毫升标准溶液中桉叶精油的体积。 $R^2=0.9954$, 在桉叶精油的体积为 2.5 ~ 20 nL 的每毫升标准溶液中有良好的线性关系。

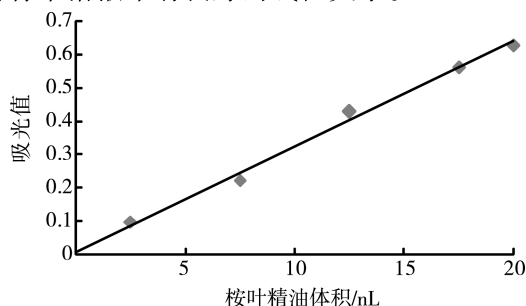


图 2 桉叶精油-乙醇溶液标准曲线

Fig.2 Standard curve for eucalyptus essential oil-ethanol solutions

2.3 精密度实验结果

重复测量 6 次的精密度实验结果见表 1。

表 1 精密度实验结果
Tab.1 Results of precision experiment

测试方法		包埋油测试值/mL						均值/mL	RSD/%
干燥失重法	试样 1	1.17	1.20	1.15	1.10	1.25	1.12	1.17	4.69
	试样 2	0.65	0.62	0.60	0.64	0.62	0.69	0.64	4.93
挥发油测定法	试样 1	0.95	0.99	1.00	1.00	0.95	0.98	0.98	2.37
	试样 2	0.52	0.50	0.53	0.50	0.51	0.53	0.52	2.68
紫外分光光度法	试样 1	1.08	1.05	1.06	1.05	1.02	0.98	1.04	3.39
	试样 2	0.55	0.54	0.49	0.55	0.52	0.52	0.53	4.38

3 种方法的 RSD 值均不超过 5%，表明 3 种方法均具有良好的精密度。其中挥发油测定法的 RSD 值不超过 3%，表明用挥发油测定法测定桉叶精油微胶囊中包埋油含量的方法具有很好的精密度。干燥失重法的 RSD 值虽小于 5%，但对同一样品的测定结果明显高于其他 2 种方法，原因可能是该法在抽滤过程中有一定的滤渣粘附在漏斗及滤纸上，造成滤渣的损失，进而使得干燥后差值变大，由此计

算出来的包埋油含量也偏大。

对挥发油测定法和紫外分光光度法的精密度进行 F 检验，在 95% 的置信水平下 $F_{0.975}(5,5) < F < F_{0.025}(5,5)$ ，表明这 2 种方法的精密度无显著性差异。

2.4 准确度实验结果

重复测量 3 次的准确度实验即加标回收率实验结果见表 2。

表 2 加标回收率实验结果
Tab.2 Results of indexed recovery experiment

测试方法	测试值	加标量	加标测试值/mL				RSD/%	加标回收率/%	
干燥失重法	0.53	0.40	0.95	1.01	0.92	4.77	105.00	120.00	97.50
		0.50	1.05	1.00	1.12	5.70	104.00	94.00	118.00
		0.60	1.15	1.20	1.12	3.49	103.33	111.67	98.33
挥发油测定法	0.50	0.40	0.92	0.88	0.89	2.32	105.00	95.00	97.50
		0.50	0.97	1.00	1.02	2.53	94.00	100.00	104.00
		0.60	1.12	1.08	1.10	1.82	103.33	96.67	100.00
紫外分光光度法	0.52	0.40	0.90	0.96	0.93	3.23	95.00	110.00	102.50
		0.50	1.04	1.06	1.01	2.43	104.00	108.00	98.00
		0.60	1.08	1.11	1.15	3.15	93.33	98.33	105.00

由表 2 可知，干燥失重法的回收率范围为 94%~120%，RSD 为 3.49%~5.70%；挥发油测定法的回收率范围为 94%~105%，RSD 为 1.82%~2.53%；紫外分光光度法的回收率范围为 93.33%~110%，RSD 为 2.43%~3.23%。根据《中国药典》要求，回收率为 80%~120%之间是可接受的。从数据比较，挥发油测定法回收率最好，准确度最高。紫外分光光度法会产生人为操作误差，且受仪器自身稳定性和精密度的影响，因此回收率和准确度稍低于挥发油测定法。干燥失重法在抽滤及干燥过程中易造成粘附损失，使得回收率及准确度较低。

2.5 3 种方法的比较分析

3 种方法的 RSD 值均不超过 5%，加标回收率均在 90%~120%之间，均具有良好的精密度和准

确度。比较 3 种方法所测得的桉叶精油微胶囊包埋油含量，干燥失重法测定结果偏高。挥发油测定法和紫外分光光度法测定结果比较吻合，精密度无显著性差异，加标回收率均在 95%~105%之间，准确度均较高。

干燥失重法在抽滤过程中有一定的滤渣粘附在漏斗及滤纸上，造成滤渣的损失，进而使得干燥后差值变大，由此计算出来的包埋油含量也偏大。

紫外分光光度法前处理复杂，操作步骤繁琐，在震荡、抽滤、配置标准溶液、绘制标准曲线及稀释待测溶液等诸多环节均易产生人为操作误差，还受紫外分光光度计稳定性及精密度的影响，且需耗费大量无水乙醇，成本较高，但紫外分光光度法检测速度快。

挥发油测定法在徐宁^[9]等所采用方法的基础

上作了改进,使蒸馏时间缩短在1 h左右,且操作简单,无需添加其他试剂,成本低,干扰少,准确性和重现性好,但在读取蒸馏出的精油数时需使其静置较长时间,以便精油与水完全分层,才能精确读数,因此耗时较长。

3 结语

干燥失重法由于滤渣的损失,实验误差较大,测定结果偏高。紫外分光光度法和挥发油测定法精密度及准确度均较高,均适合测定桉叶精油微胶囊中包埋油含量,每种方法各有优缺点。紫外分光光度法操作复杂,测试结果受诸多因素的影响,对操作者及仪器的要求均较高,需耗费较多乙醇,相对成本较高,但检测速度快。挥发油测定法操作简便、成本低,但耗时较长。在选择测定方法时,需根据实际情况进行选取。

文中的研究为桉叶精油微胶囊包埋油含量测定提供了科学的依据,也为其他精油微胶囊包埋油含量的测定提供了很好的参考。

参考文献:

- [1] 王俊亮,肖苏尧,陈运娇,等. 广林9号桉叶多酚抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(1): 20—24.
WANG Jun-liang, XIAO Su-yao, CHEN Yun-jiao, et al. Study on Antioxidant Activity of Eucalyptus Leaf 9[J]. Food Science, 2012, 33(1): 20—24.
- [2] HILL K D, JOHNSON L S. Systematic Studies in the Eucalypts 7 A Revision of the Bloodwoods, Genus *Corymbia* (Myrtaceae)[J]. Telopea, 1995, 6(2): 185—204.
- [3] 蓝亮美,马丽,郭占京,等. 三种桂产桉叶油对常见致病菌的抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 155—158.
LAN Liang-mei, MA Li, GUO Zhan-jing, et al. Study on Major Components and Antimicrobial Activities of Volatile Oil Extracted from Three Kinds of Eucalyptus Leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(22): 155—158.
- [4] TYAGI A K, MALIK A. Antimicrobial Potential and Chemical Composition of Eucalyptus Globulus Oil in Liquid and Vapour Phase against Food Spoilage Microorganisms[J]. Food Chemistry, 2011, 126(1): 228—235.
- [5] 周春禾,王建清,金政伟. 尤加利精油制备微胶囊抗菌纤维素薄膜[J]. 包装工程, 2011, 32(1): 40—42.
ZHOU Chun-he, WANG Jian-qing, JIN Zheng-wei. Preparation of Microcapsule Antibacterial Cellulose Film from Eucalyptus Oil[J]. Packaging Engineering, 2011, 32(1): 40—42.
- [6] SUTAPHANIT P, CHITPRASERT P. Optimisation of Microencapsulation of Holy Basil Essential Oil in Gelatin by Response Surface Methodology[J]. Food Chemistry, 2014, 150(2): 313—320.
- [7] MARCOLINO V, ZANIN G, DURRANT L, et al. Interaction of Curcumin and Bixin with β -Cyclodextrin: Complexation Methods, Stability, and Applications in Food[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(7): 3348—3357.
- [8] 邓靖,谭兴和,薛琼. 丁香精油 β -环糊精微胶囊制备工艺条件的优化[J]. 包装工程, 2010, 31(11): 19—22.
DENG Jing, TAN Xing-he, XUE Qiong. Optimization of Microcapsule Preparation Technology Condition of Clove Oil- β -Cyclodextrin[J]. Packaging Engineering, 2010, 31(11): 19—22.
- [9] 徐宁,谭兴和,王锋,等. 椴柑皮精油微胶囊的制备方法研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(14): 321—325.
XU Ning, TAN Xing-he, WANG Feng, et al. Study on the Preparation Method of Citrus Peels Essential Oil Microcapsules[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(14): 321—325.
- [10] HUYNH V, CAFFIN N, DYKES G, et al. Optimization of the Microencapsulation of Lemon Myrtle Oil Using Response Surface Methodology[J]. Drying Technology, 2008, 26(3): 357—368.
- [11] SHAIKH J, BHOSALE R, SINGHAL R. Microencapsulation of Black Pepper Oleoresin[J]. Food Chemistry, 2006, 94(1): 105—110.
- [12] 王芳,谈小艳,邓刚,等. 橘皮精油微胶囊的制备及其稳定性研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(12): 78—82.
WANG Fang, DAN Xiao-yan, DENG Gang, et al. Study on the Preparation and Stability of Orange Peel Essence Oil Microcapsule[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012, 27(12): 78—82.
- [13] 俞露,谭书明,王贝贝,等. 复合精油微胶囊化及释放动力学研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(6): 275—279.
YU Lu, TAN Shu-ming, WANG Bei-bei, et al. Microencapsulation and Release Kinetic Equation of Compound Oil[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(6): 275—279.
- [14] 邓靖,谭兴和,刘婷婷,等. 肉桂精油- β -环糊精微胶囊的制备[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(2): 89—91.
DENG Jing, TAN Xing-he, LIU Ting-ting, et al. Preparation of Cinnamon Essence Oil/ β -Cyclodextrin Microcapsule[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2011, 26(2): 89—91.
- [15] 周波林. 导数紫外光谱法测定人血浆中三唑仑的血药浓度[J]. 中国医药导报, 2014, 11(23): 22—25.
ZHOU Bo-lin. Determination of Triazolam in Human Plasma by Derivative Spectrophotometry[J]. China Medical Herald, 2014, 11(23): 22—25.