

HPLC 法测定红辣椒油树脂中辣椒素的含量

王 鑫, 王兴国*, 金青哲, 刘元法
(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 采用 HPLC 法对红辣椒油树脂中辣椒素的含量进行直接测定, 方法简便, 结果准确。辣椒素的平均回收率为 99.87%, 精密度 0.51%。色谱条件为: 色谱柱 ZORBAX SB-C₁₈ (Φ 4.6mm × 150mm), 流动相 V_{MeOH}: V_{H₂O} (65:35), 流速 1.0ml/min, 柱温 25℃, 检测波长 280nm。

关键词: 红辣椒油树脂; 辣椒素; HPLC

Determination of Capsaicinoids in Paprika Oleoresin by HPLC

WANG Xin, WANG Xing-guo*, JIN Qing-zhe, LIU Yuan-fa
(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: HPLC was used to determinate the capsaicinoids content of paprika oleoresin directly. The method was simple and accurate. The average recoveries and RSD were 99.87% and 0.51% respectively. The conditions of HPLC were taken as following: column ZORBAX SB-C₁₈ (Φ 4.6mm × 150mm), mobile phase V_{MeOH}:V_{H₂O} (65:35), flow rate 1.0ml/min, column temperature 25℃ and wave length 280nm.

Key words: paprika oleoresin; capsaicinoids; HPLC

中图分类号 S641.3

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0207-03

辣椒素(Capsaicinoids)是辣椒中的辛辣成分,属于酰胺类化合物,是辣椒碱类化合物的总称,其主要成分有三种:辣椒碱(Capsaicin, 结构见图1),二氢辣椒碱(Dihydrocapsaicin), 降二氢辣椒碱(Nordihydrocapsaicin), 占辣椒素含量的98%左右^[1]。辣椒素除了作为辣味调味料应用在食品工业中以外, 还因其具有抗氧化^[2]、清除自由基^[3]、镇痛^[4]消炎和抗菌等功能性质而广泛应用于医药工业、农业及其它领域中。

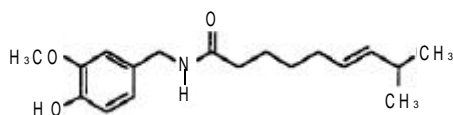


图1 辣椒碱的结构

Fig.1 Formula of capsaicin

红辣椒油树脂(Paprika Oleoresin)是用有机溶剂浸提红辣椒(Paprika)粉后的滤液经浓缩所得油状物, 是辣椒红色素和辣椒素的混合物。辣椒红色素属于含氧类胡萝卜素(叶黄素), 是兼具抗氧化、抑制肿瘤等生理活性的天然红色素。从辣椒油树脂中精制高纯辣椒红色素和辣椒素产品成为国内外研究的热点, 产品的商业价值非常

可观。辣椒素在红辣椒中的含量为0.03%~0.1%^[5], 在辣椒油树脂中含量更低, 建立灵敏度高、准确、快速的辣椒素定量方法是确定生产工艺和检测产品质量的前提。

已报道的辣椒素的定量分析方法很多, 有纸层析^[6,7], 紫外分光光度法^[8~10], 比色法^[11], TLC^[12], GC^[13,14], GC-MS^[15,16], GLC^[17,18]等。但这些方法大多灵敏度低, 预处理繁琐, 而且由于色素等杂质的干扰往往使测定结果偏高。文献报道的HPLC^{[16][19]}法虽能得到较精确的结果, 但回收率比较低, 且测定前也需要对样品进行一定的处理。本文用HPLC法直接测定辣椒油树脂中辣椒素的含量, 方法简便, 结果准确, 回收率高。

1 材料与方法

1.1 实验材料

自制辣椒油树脂; 辣椒素标样(纯度98%, 其中辣椒碱63.51%, 二氢辣椒碱29.52%, 降二氢辣椒碱6.97%)。

1.2 主要实验仪器

电子精密天平 PB3002-N; UV-1201 紫外可见分光光度计; 美国 Agilent 1100 系列高效液相色谱仪。

收稿日期 2004-11-16

*通讯作者

作者简介: 王鑫(1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然功能性物质。

1.3 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (Φ 4.6mm × 150mm, 填充物粒度 5 μm), 柱温: 25℃, 流动相: 甲醇: 水=65:35 (V/V), 流速: 1.0ml/min; 检测波长: 280nm, 进样量: 20 μl。

1.4 实验方法

1.4.1 标样溶液的配制 准确称取 0.0257g 辣椒素标样, 用甲醇定容于 50ml 容量瓶中, 摇匀, 分别移取 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 和 4.0ml 标样溶液于 10ml 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 溶液过 0.45 μm 微孔滤膜, 待用。

1.4.2 样品溶液的配制 精确称取经真空干燥的辣椒油树脂 0.05~0.10g, 并用丙酮溶解定容至 25ml, 摇匀, 准确移取 1.0ml 样品溶液于 10ml 容量瓶中, 用 N₂ 气吹干丙酮, 并用 1.0ml 甲醇溶解残余物, 溶液过 0.45 μm 微孔滤膜, 待用。

1.4.3 精密度实验 称取辣椒油树脂 5 份, 按 1.4.2 方法和 1.3 色谱条件处理和测定, 计算精密度 RSD%=S/X。

1.4.4 回收率实验 将已知浓度样品溶液与标样溶液(溶剂: 丙酮)混合并定容, 按照 1.4.2 方法和 1.3 色谱条件进行处理和测定, 按公式: (实测值-样品所含辣椒素)/加入的辣椒素 × 100% 计算回收率。

2 结果与讨论

2.1 辣椒素标样溶液最佳检测波长的测定

对辣椒素标样溶液在 200~400nm 进行波长扫描, 得到的图谱(见图 1)与文献[16]一致。在 HPLC 系统中, 辣椒素在紫外区的最大吸收值为 235nm, 其次为 280nm, 为避免其它物质在 235nm 处产生干扰, 影响测定结果的准确性, 选择 280nm 作为测定波长, 以提高分辨率和准确性。

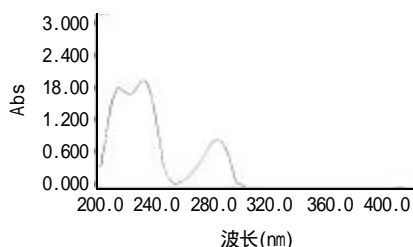


图2 辣椒素标样溶液紫外光谱扫描图

Fig.2 Ultraviolet scanning spectra of the standard capsaicinoids solution

2.2 标准曲线的绘制

将一系列浓度的标样溶液按照 1.3 色谱条件注入高效液相色谱仪进行测定, 以峰面积对浓度绘制标准曲

线, 得回归方程为 $A=10.369C-35.28$, $R^2=0.9998$, 线性范围为 5~257 μg/ml。

2.3 辣椒油树脂样品中辣椒素的测定

样品中辣椒素的 HPLC 图谱如图 3 所示, 在保留时间为 7~12min 出现三个峰, 与杂质获得很好的分离, 保留时间分别为 7.669、8.308、12.423min, 与标样色谱图(见图 4)中三个峰的保留时间 7.673、8.314、12.449min 很吻合, 出峰顺序也与文献[19]中一致。

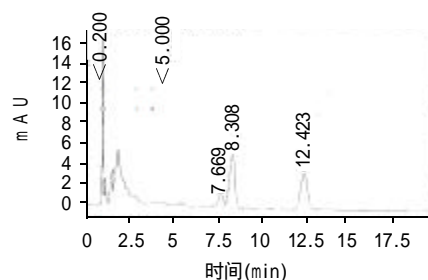


图3 样品中辣椒素的 HPLC 图谱

Fig.3 HPLC spectra of capsaicinoids of sample solution

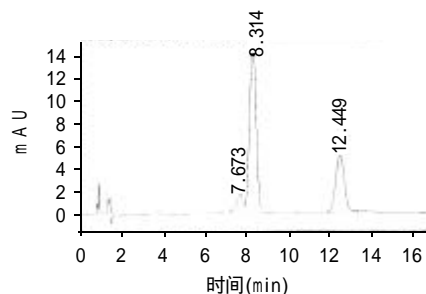


图4 辣椒素标样 HPLC 图谱

Fig.4 HPLC spectra of standard capsaicinoids solution

可以断定样品图谱中的三个峰分别代表降二氢辣椒碱、辣椒碱和二氢辣椒碱。辣椒素含量计算为三种物质含量的总和, 可以根据 2.2 中回归方程用图谱中三个峰面积之和计算得出样品中辣椒素的浓度, 再由公式辣椒油脂中辣椒素质量分数(%)=CV/10⁴W 计算得到辣椒素含量。

式中: C —— 辣椒素的浓度, μg/ml;

V —— 辣椒油树脂样品溶液的总体积, ml;

W —— 辣椒油树脂的质量, g。

图 3 中三个峰面积和为 247.49mAU·s, 经计算得辣椒素浓度为 27.27 μg/ml, 实验室自制辣椒油树脂中辣椒素含量为 0.845%。

2.4 精密度实验

对同一样品进行 5 次测定, 结果为 0.849%、0.851%、0.842%、0.841%、0.845%, 平均值为 0.846%, RSD=0.51%。

2.5 回收率实验

用外标法测定的回收率结果见表1。

表1 外标法测定回收率实验结果(n=5)
Table 1 Result of recovery ratio(n=5)

样品含量(μg)	加入量(μg)	实测值(μg)	回收率(%)	平均值(%)
143.42	160.96	308.16	102.35	99.87
		305.21	100.52	
		303.35	99.36	
		300.83	97.79	
		303.28	99.32	

3 结 论

本文采用HPLC法直接测定红辣椒油树脂中辣椒素含量,样品无须预处理,操作简单,结果准确,样品加标回收率达到99.87%,精密度0.51%。

参考文献:

- [1] Petra Kirschbaum-Titze, Constanze Hiepler, Erika Mueller-Seitz, et al. Pungency in paprika (*Capsicum annuum*) 1 Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 1260-1263.
- [2] David E Henderson, Adam M Slickman, Susan K Henderson. Quantitative HPLC determination of the antioxidant activity of capsaicin on the formation of lipid hydroperoxides of linoleic acid: A comparative study against BHT and melatonin [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47: 2563-2570.
- [3] Kentaro Kogure, Satoru Goto, Miki Nishimura, et al. Mechanism of potent antioxidant effect of capsaicin [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1573: 84-92.
- [4] M J Caterina, M A Schumacher, M Tominaga, et al. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway [J]. *Nature*, 1997, 389: 816-824.
- [5] Irena Perucka, Wiesław Oleszek. Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography [J]. *Food Chemistry*, 2000, 71: 287-291.
- [6] Augusto Trejo-Gonzalez, Carlos Wild-Altamirano. A new method for the determination of capsaicin in *Capsicum* fruits [J]. *J Food Sci*, 1973, 38: 342-344.
- [7] Nagin C Rajpoot, Venkatesa S Govindarajan. Paper chromatographic determination of total capsaicinoids in *Capsicum* and their role in resins with precision, reproducibility, and validation through correlation with pungency in scoville units [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1981, 64(2): 311-318.
- [8] GB10783-1996, 食品添加剂 辣椒红[S].
- [9] Joseph J Dicecco. Spectrophotometric difference method for determination of capsaicin [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1979, 62(5): 998-1000.
- [10] Jose Jorge Ramos Palacio. Further study of the spectrophotometric determination of capsaicin [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1979, 62(5): 1168-1170.
- [11] Crishan L Bajaj. Colorimetric determination of capsaicin in *Capsicum* Fruits [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1980, 63(6): 1314-1316.
- [12] By P Spanyar, Marta Blazovich. A thin-layer chromatographic method for the determination of capsaicin in ground paprika [J]. *Analyst*, 1969, 94 (12): 1084-1089.
- [13] Anna M Krajewska, John J Powers. Gas chromatography of methyl derivatives of naturally occurring capsaicinoids [J]. *J Chromatogr*, 1987, 409: 223-233.
- [14] Brett V Thomas, A Alan Schreiber, Carol P. Weisskopf. Simple method for quantitation of capsaicinoids in peppers using capillary gas chromatography [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 2655-2663.
- [15] Philemon Manirakiza, Adrian Covaci, Paul Schepens. Solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric determination of capsaicin and some of its analogues from chili peppers (*Capsicum* spp.) [J]. *JAOC International*, 1999, 82(6): 1399-1405.
- [16] Kazuo Iwai, Tetsuya Suzuki, Hideshi Fujiwaka. Simultaneous microdetermination of capsaicin and its four analogues by using high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr*, 1979, 172: 303-311.
- [17] Kenneth T Hartman. A rapid Gas-Liquid Chromatographic determination for capsaicin in *Capsicum* spices [J]. *J. Food Sci*, 1970, 35: 543-547.
- [18] Joseph J Dicecco. Gas-liquid chromatographic determination of capsaicin [J]. *JAOC*, 1976, 59(1): 1-4.
- [19] Thomas H Cooper, James A Guzinski, Carolyn Fisher. Improved high-performance liquid chromatography method for the determination of major capsaicinoids in *Capsicum* oleoresins [J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39: 2253-2256.

欢迎订阅 2006 年《食品科学》杂志