

QuEChERS结合HPLC检测辣椒及其制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素

成璐瑶¹, 温雅君², 石文婷³, 周子莹^{1,3}, 马丽艳^{1,3,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 北京市农产品质量安全中心, 北京 100029;

3. 农业农村部农产品质量检验检测中心(北京), 北京 100083)

摘要: 建立一种QuEChERS结合高效液相色谱快速检测辣椒及其制品中的天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的方法。样品用乙腈提取, 无水硫酸镁、十八烷基硅烷(C₁₈)、乙二胺-*N*-丙基硅烷化硅胶、石墨化炭黑复合吸附剂净化。采用Agilent Eclipse Plus C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 分离, 以0.4%磷酸水溶液和90%乙腈溶液为流动相进行梯度洗脱, 荧光检测器进行检测。结果表明: 天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素在0.20~100 mg/L范围内线性关系良好, 决定系数(R^2)均大于0.999。天然辣椒素的方法检出限为0.014~0.069 mg/kg, 定量限为0.046~0.23 mg/kg; 二氢辣椒素的方法检出限为0.023~0.12 mg/kg, 定量限为0.077~0.39 mg/kg; 合成辣椒素的方法检出限为0.018~0.088 mg/kg, 定量限为0.059~0.30 mg/kg。在干辣椒、鲜辣椒、香菇酱、辣椒油4种基质中, 3个不同添加水平下的加标回收率为91.6%~117.2%, 相对标准偏差为0.2%~6.1%。该方法简便、准确, 不仅适用于干、鲜辣椒, 而且适用于高油、高蛋白等辣椒制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素含量的检测。

关键词: QuEChERS; 高效液相色谱; 辣椒; 辣椒素; 合成辣椒素

Determination of Natural Capsaicin, Dihydrocapsaicin and Synthetic Capsaicin in Hot Pepper and Its Products by QuEChERS Combined with HPLC

CHENG Luyao¹, WEN Yajun², SHI Wenting³, ZHOU Ziyang^{1,3}, MA Liyan^{1,3,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Beijing Agricultural Products Quality and Safety Center, Beijing 100029, China;

3. Quality Inspection and Testing Center for Agri-products (Beijing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100083, China)

Abstract: A QuEChERS combined with high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for the rapid determination of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin in hot pepper and its products. The samples were extracted with acetonitrile and purified by sequential use of anhydrous magnesium sulfate, octadecylsilane (C₁₈), ethylenediamine-*N*-propylsilane silica gel (PSA) and graphitized carbon black (GCB). An Agilent Eclipse Plus C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used for separation, gradient elution was performed with a mobile phase comprising 0.4% phosphoric acid aqueous solution and 90% acetonitrile in water, and a fluorescence detector was used for detection. The results showed that natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin had a good linear relationship in the range of 0.20–100 mg/L, with determination coefficients (R^2) greater than 0.999. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of natural capsaicin were 0.014–0.069 mg/kg and 0.046–0.23 mg/kg, respectively. The LOD and LOQ of dihydrocapsaicin were 0.023–0.12 mg/kg and 0.077–0.39 mg/kg, respectively. The LOD and LOQ of synthetic capsaicin were 0.018–0.088 mg/kg and 0.059–0.30 mg/kg, respectively. The recovery rates were 91.6%–117.2% and the relative standard deviation (RSD) were 0.2%–6.1% for dry hot pepper, fresh hot pepper, shiitake mushroom paste with hot pepper and chili oil

收稿日期: 2024-06-02

基金项目: 科技创新2030——重大项目(2023ZD0406309-01)

第一作者简介: 成璐瑶(2001—)(ORCID: 0009-0005-5139-6900), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。

E-mail: chyao828@163.com

*通信作者简介: 马丽艳(1970—)(ORCID: 0000-0002-5458-0018), 女, 教授级高级实验师, 博士, 研究方向为食品安全及其检测技术。E-mail: lyma1203@163.com

at three different spiked levels. The developed method is simple, accurate and suitable for the determination of not only dried and fresh hot peppers, but also natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin in high oil and high protein hot pepper products.

Keywords: QuEChERS; high performance liquid chromatography; hot pepper; capsaicin; synthetic capsaicin

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240602-001

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2025) 02-0240-08

引文格式:

成璐瑶, 温雅君, 石文婷, 等. QuEChERS结合HPLC检测辣椒及其制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 240-247. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240602-001. <http://www.spkx.net.cn>

CHENG Luyao, WEN Yajun, SHI Wenting, et al. Determination of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin in hot pepper and its products by QuEChERS combined with HPLC[J]. Food Science, 2025, 46(2): 240-247. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240602-001. <http://www.spkx.net.cn>

辣椒是我国种植面积最大的蔬菜, 近年来其种植面积稳定在210万 hm^2 以上^[1]。同时, 辣椒作为调味品, 其消费量占中国调味品的30%以上, 是中国乃至世界消费量最大的调味品^[2]。辣椒具有酚类化合物、辣椒素和类胡萝卜素等多种生物活性物质, 可应用于食品^[3]、医疗^[4]、防腐^[5]等多个领域。

食品的辛辣味觉主要来于辣椒^[6], 辣椒中的辣味成分主要是辣椒素类物质, 这类物质不仅能够提供独特的辛辣风味, 增加食欲、开胃消食^[7], 还具有多种生物学活性, 如抗癌^[8-9]、抗疲劳^[10]、改善高血压和心肌损伤^[11-12]、消炎镇痛^[13-14]等。其中, 天然辣椒素和二氢辣椒素约占辣椒中辣椒素类物质总含量的90%以上^[15], 除此之外, 还有少量的去甲二氢辣椒素、高二氢辣椒素和高辣素等19种同系物^[16-17]。因此, 天然辣椒素和二氢辣椒素含量的高低能够直接影响辣椒及其制品的辣度。

合成辣椒素化合物名称为壬酸香草酰胺, 在天然辣椒中含量很低^[18], 可通过化学合成, 其与天然辣椒素有相似结构和生理活性^[19], 结构如图1所示。合成辣椒素在辣度和成本上相比于天然辣椒素拥有绝对的优势, 因此, 很多生产加工企业为追求低生产成本, 在辣椒制品的生产中用合成辣椒素代替天然辣椒素^[20]。合成辣椒素常用于制作防爆剂和个人防护用具等^[21], 尚未列入食品添加剂使用标准中。在辣椒制品使用合成辣椒素属于非法添加, 具有很大的风险和安全隐患。

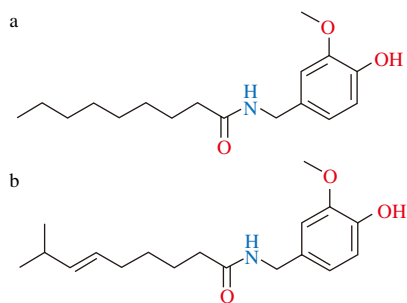


图1 合成辣椒素(a)和天然辣椒素(b)结构式

Fig. 1 Structural formulae of synthetic capsaicin (a) and natural capsaicin (b)

常见的辣椒素类物质检测方法主要有分光光度法^[22]、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法^[23]和液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)法^[24-25]。分光光度法测定辣椒素类物质的总量, 但不能对其中的单一组分进行定量; 合成辣椒素和天然辣椒素结构相似, 在液相色谱中经常重合为一个峰而导致定性、定量出现误差, 目前合成辣椒素的检测多采用LC-MS/MS法进行分析, 两种化合物虽然保留时间相同, 但可根据质核比不同, 进行定性、定量, 此方法仪器精密、昂贵, 需要专业技术人员进行操作和定期维护; 而HPLC方便快捷、准确性高、适用范围广, 因此在天然辣椒素和二氢辣椒素的检测中应用最为广泛, NY/T 1381—2007《辣椒素的测定 高效液相色谱法》和GB/T 21266—2007《辣椒及辣椒制品中辣椒素类物质测定及辣度表示方法》中辣椒素的检测也是采用的HPLC法, 利用HPLC法同时分离辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的报道较少。

目前, 辣椒及辣椒制品中的辣椒素大多采用甲醇或甲醇-四氢呋喃混合溶液为提取溶剂, 水分含量高的样品需要烘干到水分质量分数小于15%后提取, 提取方式多为超声提取或加热提取等方式, 这些前处理方法溶剂消耗量大, 而且为保证提取完全需要进行多次提取, 对油脂含量高的样品还需固相萃取柱净化后再进行色谱分析。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)因其快速简便、高效安全、便宜, 近年来在农药残留^[26]、兽药残留^[27]、真菌毒素^[28]等检测中得到了广泛的应用, 能够提高样品的提取和净化效率^[29]。

本研究采用QuEChERS结合HPLC技术, 建立检测辣椒及其制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素含量的新方法, 该方法快速、简便、准确, 为控制辣椒及其制品的质量、指导生产及食品安全监管提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青椒、朝天椒、线椒干辣椒、腌制小米椒、辣椒油、彩椒酱、香菇酱，购自北京物美超市。

天然辣椒素标准品（CAS 404-86-4，批号FS1648689，纯度>99.7%）、二氢辣椒素标准品（CAS 19408-84-5，批号FS1645949，纯度>99.9%）、合成辣椒素标准品（CAS 2444-46-4，批号FS1614200，纯度>99.2%）天津阿尔塔科技有限公司；乙腈、甲酸（色谱纯）北京百灵威科技有限公司；无水硫酸镁（分析纯）上海麦克林生化科技有限公司；无水硫酸钠、氯化钠（分析纯）北京蓝弋化工产品有限责任公司；乙二胺-*N*-丙基硅烷化硅胶（ethylenediamine-*N*-propylsilane silica gel, PSA）（40~60 μm、60 Å）、十八烷基硅烷键合硅胶（C₁₈）（50 μm、60 Å）、石墨化炭黑（graphitized carbon black, GCB）（120~400目）天津诚轴生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

1260 HPLC仪（配有荧光检测器）美国安捷伦科技有限公司；BSA224S-CW电子天平、1-14离心机德国Sigma公司；KQ-600DA数控超声波清洗仪昆山市超声仪器有限公司；Milli-Q超纯水机美国Millipore公司；YP5002电子天平上海越平科学仪器有限公司；Vortex-Genie 2涡旋振荡仪美国Scientific Industries公司；SiO-6512 QuEChERS自动样品制备系统浙江本立科技有限公司；0.22 μm微孔滤膜天津博纳艾杰尔科技有限公司；FW100高速万能粉碎机天津市泰斯特仪器有限公司；JYL-C051料理机九阳股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

分别准确称取天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素标准品各0.1 g（精确到0.000 1 g），用甲醇溶解并定容至10 mL，配制成10 mg/mL的标准储备液。用甲醇将标准储备液逐级稀释为0.20、0.50、2.00、5.00、10.0、25.0、50.0、100 mg/L的系列混合标准工作液。

1.3.2 提取

新鲜样品、辣椒酱等非液体样品用组织捣碎机捣碎，液体样品混合均匀，干样用粉碎机粉碎，过40目筛。

鲜辣椒：称取10 g（精确到0.000 1 g）样品于50 mL离心管中，加入10 mL乙腈、1 g氯化钠、4 g无水硫酸钠和8颗陶瓷均质子。

干辣椒：称取2 g（精确到0.000 1 g）样品于50 mL离心管中，加入10 mL水充分浸润样品30 min后，加入10 mL乙腈、1 g氯化钠、4 g无水硫酸钠和8颗陶瓷均质子。

辣椒制品（辣椒油、辣椒酱、腌制辣椒类）：称取5 g（精确到0.000 1 g）样品于50 mL离心管中，加入5 mL水、混匀，加入10 mL乙腈、1 g氯化钠、4 g无水硫酸钠和8颗陶瓷均质子。

将离心管置于QuEChERS自动样品制备系统中600 r/min振荡5 min，4 000 r/min离心5 min后取出，取上清液备用。

1.3.3 净化

取上清液1 mL转移至净化管（含PSA 100 mg、C₁₈ 100 mg、GCB 30 mg和无水硫酸镁150 mg）中，涡旋振荡1 min后，8 500 r/min离心5 min，取上清液过0.22 μm微孔滤膜，待测。

1.3.4 色谱条件

Agilent Eclipse Plus C₁₈（150 mm×4.6 mm，5 μm）；进样量10 μL；流速1.0 mL/min；检测器：荧光检测器，激发波长229 nm，发射波长320 nm；流动相A：90%乙腈水溶液；流动相B：0.4%磷酸水溶液；梯度洗脱，洗脱程序如表1所示。

表 1 流动相梯度洗脱		
Table 1 Gradient elution of mobile phase		
时间/min	流动相体积分数/%	
	A 90%乙腈水溶液	B 0.4%磷酸水溶液
0	40	60
3	40	60
45	48	52
48	70	30
49	40	60
56	40	60

1.4 数据处理

使用SPSS进行差异显著性分析（*P*<0.05表示差异显著）；使用Origin 2024进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

实验比较Agilent Zorbax SB C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Agilent Hypersil ODS C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）、Agilent 5 TC-C₁₈(2)（250 mm×4.6 mm，5 μm）和Agilent Eclipse Plus C₁₈（150 mm×4.6 mm，5 μm）4款色谱柱对天然辣椒素、二氢辣椒素、合成辣椒素分离效果的影响。如表2所示，Hypersil ODS C₁₈色谱柱中合成辣椒素与天然辣椒素的分离度仅为0.49，对称因子分别为1.58和0.57，不能很好分离；Zorbax SB C₁₈、5 TC-C₁₈(2)和Eclipse Plus C₁₈3款色谱柱天然辣椒素和合成辣椒素的分离度分别为0.83、0.96和0.93，均能将目标化合物分离，但保留时间差异较大。5 TC-C₁₈(2)和Zorbax SB C₁₈

色谱柱较长,天然辣椒素和合成辣椒素的保留时间在40 min左右,二氢辣椒素的保留时间在50 min以上;Eclipse Plus C₁₈色谱柱3种辣椒素保留时间均在40 min以内,分析速度快、效率高,且色谱峰对称因子在1.01~1.04之间,峰形较好,因此实验选择Agilent Eclipse Plus C₁₈进行分析。

表2 4种色谱柱对天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素分离效果的影响
Table 2 Effects of four chromatographic columns on separation efficiency of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin

色谱柱	化合物	保留时间/min	柱效	分离度	对称因子
Agilent Hypersil ODS C ₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	合成辣椒素	26.855	30 055	—	1.58
	天然辣椒素	27.170	26 218	0.49	0.57
	二氢辣椒素	38.749	33 704	15.26	0.87
Agilent 5 TC-C ₁₈ (2) (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	合成辣椒素	42.908	39 974	—	1.02
	天然辣椒素	43.734	39 999	0.96	0.99
	二氢辣椒素	53.459	577 272	16.66	0.91
Agilent Zorbax SB C ₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	合成辣椒素	37.856	30 396	—	1.02
	天然辣椒素	38.597	29 098	0.83	0.94
	二氢辣椒素	51.616	261 539	19.86	0.91
Agilent Eclipse Plus C ₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm)	合成辣椒素	26.674	14 942	—	1.04
	天然辣椒素	27.491	15 794	0.93	1.03
	二氢辣椒素	39.107	39 107	12.11	1.01

注:分离度数据为合成辣椒素的色谱峰与天然辣椒素的色谱峰以及天然辣椒素的色谱峰与二氢辣椒素的色谱峰的分离度,一.合成辣椒素单一峰无分离度数据。

流动相组成对天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素分离效果的影响较大。在辣椒素类物质检测时大多以甲醇-水为流动相进行梯度洗脱^[17,30],实验发现,采用梯度洗脱时辣椒素能与二氢辣椒素分开,但合成辣椒素和天然辣椒素完全重合。为将天然辣椒素和合成辣椒素进行分离,实验比较了以水、0.2%~0.4%的甲酸水溶液、0.2%~0.4%磷酸水溶液为水相,甲醇、乙腈、90%乙腈溶液为有机相的分离效果,结果表明,以甲醇、乙腈为有机相进行梯度洗脱时,增加水相的比例也未能将天然辣椒素和合成辣椒素在60 min内分开,同时导致二氢辣椒素的保留时间过长。与乙腈相比,甲醇为有机相时保留时间更长。考虑乙腈比甲醇有更强的洗脱能力,实验将有机相调整为90%乙腈溶液以改变有机相的洗脱能力。通过调整梯度洗脱比例,天然辣椒素和合成辣椒素得以分离,同时发现,水相中加入一定的酸能改善色谱分离效果和色谱峰形。因此,实验最终确定水相为0.4%磷酸水溶液,有机相为90%乙腈溶液。

实验参考GB/T 21266—2007方法,二极管阵列检测器的波长设置为280 nm,参考NY/T 1381—2007方法,荧光检测器的激发波长229 nm、发射波长320 nm。在相同色谱条件下,分别对样品进行了检测,结果如图2所示。使用荧光检测器(图2a)比二极管阵列检测器

(图2b)的干扰物少,且响应强度更高,3种辣椒素都有较高的灵敏度。因此实验选择荧光检测器进行分析,检测激发波长229 nm、发射波长320 nm。

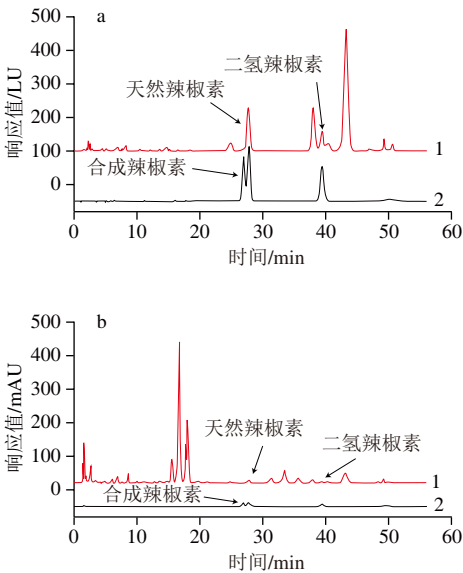
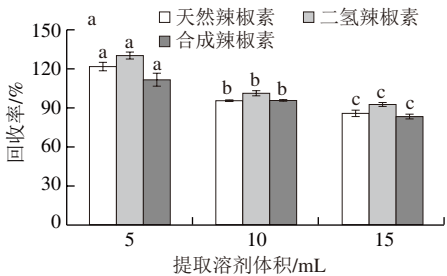


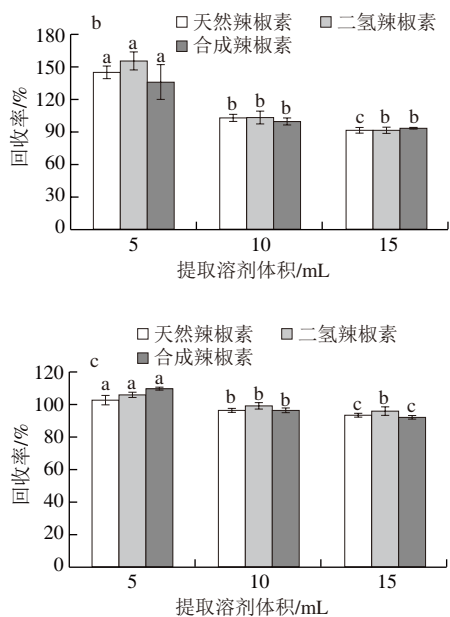
图2 荧光检测器(a)和二极管阵列检测器(b)下标准溶液和辣椒油样品色谱图

Fig. 2 Chromatograms of standard solution and chili oil sample detected with fluorescence detector (a) and diode array detector (b)

2.2 提取溶剂体积优化

乙腈极性较强,挥发性低,因此乙腈是QuEChERS方法中最常用的提取溶剂^[31]。香菇酱含有色素、油脂,与辣椒酱基质相似,可以作为辣椒酱基质的空白样品。本研究以干辣椒、鲜辣椒、香菇酱3种不同的样品基质为研究对象,采用加标回收的方式,考察不同体积的乙腈及净化条件对天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素提取效果的影响。不同样品基质中辣椒素和二氢辣椒素的加标水平为50 mg/kg,合成辣椒素的加标水平为20 mg/kg。如图3所示,当提取溶剂体积为5 mL时,干辣椒和新鲜辣椒中的3种辣椒素的回收率均大于100%,回收率偏高;当乙腈体积为10 mL和15 mL时,3种不同基质的天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的回收率均在85%~105%之间。从经济环保的角度考虑,实验选择10 mL乙腈进行提取。





同一辣椒素不同条件下字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)，图4同。

图3 乙腈体积对干辣椒 (a)、新鲜辣椒 (b) 与香菇酱 (c) 中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素提取效果的影响

Fig. 3 Effect of acetonitrile volume on extraction efficiency of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin from dried hot pepper (a), fresh hot pepper (b) and shiitake mushroom paste with hot pepper (c)

2.3 净化条件优化

因辣椒制品基质复杂，可能含有有机酸、色素、油脂等，实验采用QuEChERS方法对提取液进行净化处理。目前，QuEChERS法常用的吸附剂有PSA、C₁₈、GCB、氨基硅胶 (NH₂)、无水硫酸镁等^[32]。其中，PSA和NH₂都能通过形成氢键去除基质中的脂肪酸、糖类、有机酸等极性杂质^[33]，但等量的PSA较NH₂吸附杂质的能力更强，因此选用PSA作为固体吸附剂之一^[34]；C₁₈是一种适用范围广的反向非极性吸附材料，能够吸附脂质等亲脂性化合物^[35]；GCB能够通过疏水作用、负离子交换去除样品基质中的色素、甾醇类等杂质^[36]。

因此，本研究选用PSA、C₁₈、GCB和无水硫酸镁复合吸附剂作为净化材料，分别考察单独加入不同用量的GCB、PSA、C₁₈时对鲜辣椒、香菇酱和辣椒油3种不同基质中辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素回收率的影响，辣椒素和二氢辣椒素的加标水平为50 mg/kg，合成辣椒素的加标水平为20 mg/kg，结果见表3。PSA和C₁₈的用量对3种辣椒素的回收率并无显著影响，但随着GCB用量的增加，天然辣椒素和二氢辣椒素的回收率显著降低。

实验同时考察100 mg PSA、100 mg C₁₈、150 mg无水硫酸镁条件下，GCB用量分别为30、40、50 mg时不同基质中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的回收率，结果见图4。当GCB的用量为30 mg时，鲜辣椒、香菇酱和辣椒油基质中的3种辣椒素的回收率都在90%以上，因此，实验选择30 mg GCB、100 mg PSA、100 mg C₁₈、150 mg无水硫酸镁作为复合净化剂。

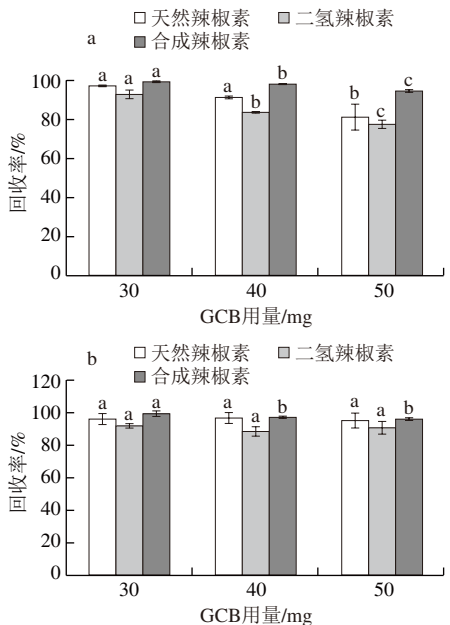


表3 不同净化条件下天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的回收率 (n=3)

Table 3 Recovery rates of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin under different purification conditions (n = 3)

净化材料	用量/mg	回收率/%								
		鲜辣椒			香菇酱			辣椒油		
		天然辣椒素	二氢辣椒素	合成辣椒素	天然辣椒素	二氢辣椒素	合成辣椒素	天然辣椒素	二氢辣椒素	合成辣椒素
GCB	25	108.2 ± 1.2 ^a	106.3 ± 1.6 ^a	106.0 ± 0.8 ^a	104.5 ± 0.5 ^a	99.9 ± 0.6 ^a	101.5 ± 1.4 ^a	100.4 ± 0.6 ^a	102.3 ± 1.3 ^a	102.2 ± 1.0 ^a
	50	94.2 ± 1.0 ^b	87.3 ± 0.9 ^b	101.6 ± 3.3 ^a	99.1 ± 0.8 ^b	95.6 ± 1.2 ^b	101.7 ± 2.7 ^a	99.4 ± 0.6 ^a	100.9 ± 0.4 ^a	101.5 ± 0.8 ^a
	75	81.6 ± 0.9 ^c	69.8 ± 0.9 ^c	88.6 ± 6.0 ^b	88.9 ± 0.5 ^c	80.1 ± 1.2 ^c	92.3 ± 0.6 ^b	99.8 ± 0.3 ^a	100.3 ± 1.9 ^a	102.6 ± 1.3 ^a
PSA	50	114.1 ± 1.2 ^a	112.7 ± 1.5 ^a	110.8 ± 4.0 ^a	108.0 ± 0.1 ^a	105.3 ± 1.2 ^a	109.2 ± 1.2 ^a	99.9 ± 0.4 ^a	100.6 ± 0.6 ^a	100.1 ± 0.3 ^a
	100	112.5 ± 1.3 ^a	110.9 ± 2.4 ^a	112.3 ± 3.9 ^a	108.4 ± 0.5 ^a	107.2 ± 1.3 ^a	103.3 ± 3.1 ^a	100.2 ± 0.3 ^a	102.1 ± 0.3 ^a	101.4 ± 0.3 ^a
	150	111.8 ± 1.4 ^a	112.3 ± 1.3 ^a	107.8 ± 1.0 ^a	107.9 ± 1.5 ^a	106.3 ± 1.2 ^a	106.6 ± 3.8 ^a	99.7 ± 0.9 ^a	102.0 ± 0.5 ^a	101.4 ± 0.6 ^a
C ₁₈	50	114.1 ± 1.7 ^a	107.9 ± 1.3 ^a	109.1 ± 3.6 ^a	106.8 ± 1.1 ^a	109.6 ± 1.7 ^a	103.4 ± 2.3 ^a	100.0 ± 0.5 ^a	100.3 ± 1.7 ^a	102.4 ± 1.5 ^a
	100	112.8 ± 2.6 ^a	107.4 ± 0.7 ^a	107.5 ± 1.0 ^a	106.6 ± 1.9 ^a	109.9 ± 0.9 ^a	105.8 ± 0.8 ^a	99.2 ± 0.8 ^a	99.4 ± 0.8 ^a	100.6 ± 1.1 ^a
	150	113.2 ± 0.9 ^a	110.3 ± 1.5 ^a	109.5 ± 8.5 ^a	106.4 ± 1.0 ^a	109.8 ± 1.4 ^a	100.1 ± 2.8 ^a	98.4 ± 2.4 ^a	97.8 ± 2.6 ^a	100.5 ± 3.3 ^a

注：同一净化材料同列小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

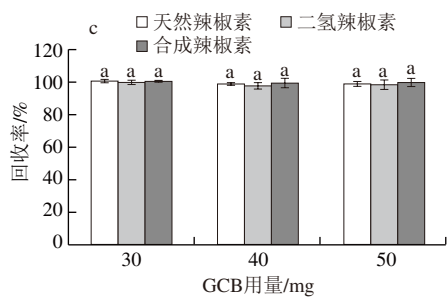


图4 不同GCB用量的复合净化剂对鲜辣椒(a)、香菇酱(b)与辣椒油(c)中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素回收率的影响
Fig. 4 Effects of different GCB dosages on recovery rates of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin from fresh hot pepper (a), shiitake mushroom paste with hot pepper (b) and chili oil (c)

2.4 回归方程、线性范围

用甲醇将天然辣椒素、二氢辣椒素、合成辣椒素标准储备液逐级稀释为质量浓度0.20、0.50、2.00、5.00、10.0、25.0、50.0、100 mg/L的系列混合标准工作液,采用1.3.4节的色谱条件进行分析,以质量浓度为横坐标(x),不同标准溶液对应的峰面积为纵坐标(y),绘制标准曲线,计算回归方程。结果表明,在0.20~100 mg/L质量浓度范围内,天然辣椒素的回归方程为 $y=115.06x+39.87$,决定系数(R^2)为0.999 5,线性关系良好;二氢辣椒素的回归方程为 $y=75.142x+25.303$, R^2 为0.999 5,线性关系良好;合成辣椒素的回归方程为 $y=78.649x+25.787$, R^2 为0.999 5,线性关系良好。

2.5 加标回收实验、检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantification, LOQ)

采用加标回收的方法确定方法的回收率和精密度。在干辣椒、鲜辣椒、香菇酱和辣椒油4种不同的基质中添加5、50、100 mg/kg 3个含量水平的天然辣椒素、二氢辣椒素标准溶液,2、20、40 mg/kg 3个含量水平的合成辣椒素标准溶液。按1.3节的方法进行样品提取、净化和测定,每个添加水平测定6次,计算回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD),结果见表4。

表4 不同基质的加标回收率、RSD、LOD和LOQ (n=6)							
Table 4 Recovery rates, RSD, LODs and LOQs for different matrices (n = 6)							
样品基质	组分名称	本底值/(mg/kg)	加标含量/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%	LOD/(mg/kg)	LOQ/(mg/kg)
干辣椒	天然辣椒素	33.81±0.90	5	100.8	3.3	0.069	0.23
			50	117.2	1.5		
			100	114.9	5.2		
	二氢辣椒素	17.62±0.42	5	91.6	3.2	0.12	0.39
			50	110.5	1.6		
			100	108.7	4.7		
	合成辣椒素	2.91±0.13	2	99.3	2.6	0.088	0.30
			20	99.4	3.4		
			40	99.7	0.7		

续表4							
样品基质	组分名称	本底值/(mg/kg)	加标含量/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%	LOD/(mg/kg)	LOQ/(mg/kg)
鲜辣椒	天然辣椒素	ND	5	99.9	2.4	0.014	0.046
			50	104.8	2.0		
			100	107.1	1.1		
	二氢辣椒素	ND	5	102.1	2.7	0.023	0.077
			50	100.2	2.2		
			100	98.9	1.3		
	合成辣椒素	ND	2	103.8	2.4	0.018	0.059
			20	95.7	1.9		
			40	105.7	1.6		
香菇酱	天然辣椒素	4.66±0.15	5	99.3	2.2	0.028	0.092
			50	102.8	0.3		
			100	97.6	0.5		
	二氢辣椒素	0.75±0.09	5	100.8	4.8	0.046	0.16
			50	97.7	1.5		
			100	107.5	0.2		
	合成辣椒素	ND	2	102.5	3.7	0.035	0.12
			20	95.6	0.7		
			40	99.8	1.0		
辣椒油	天然辣椒素	70.49±0.75	5	100.2	2.1	0.028	0.092
			50	105.3	2.8		
			100	102.5	3.2		
	二氢辣椒素	32.28±0.30	5	93.3	6.1	0.046	0.16
			50	100.3	2.9		
			100	99.5	1.2		
	合成辣椒素	3.06±0.02	2	107.5	1.5	0.035	0.12
			20	96.2	2.3		
			40	96.1	2.9		

注: ND.未检出,下同。

从表4可以看出,天然辣椒素、二氢辣椒素添加水平在5、50、100 mg/kg,合成辣椒素添加水平在2、20、40 mg/kg时,干辣椒、鲜辣椒、香菇酱、辣椒油4种基质的回收率为91.6%~117.2%,RSD为0.2%~6.1%,满足GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》对检测方法回收率和精密度的要求。

按3 倍信噪比计算方法的LOD,10 倍信噪比计算方法的LOQ。天然辣椒素的方法LOD为0.014~0.069 mg/kg,LOQ为0.046~0.23 mg/kg;二氢辣椒素的方法LOD为0.023~0.12 mg/kg,LOQ为0.077~0.39 mg/kg;合成辣椒素的方法LOD为0.018~0.088 mg/kg,LOQ为0.059~0.30 mg/kg,可以满足实际样品的分析需求。

2.6 实际样品检测

应用本研究建立的方法对市售的朝天椒、小米椒等多种不同类型的辣椒及辣椒制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素的含量进行分析,结果见表5。在鲜辣椒和辣度较低的辣椒制品中均未检出合成辣椒素;在干辣椒和部分辣椒制品中检出少量合成辣椒素,这与黄慧学^[18]和Kozukue^[37]等的研究结果相同。天然辣椒中含有少量的合成辣椒素,但占辣椒素类物质的比例不大,本实验中样品的合成辣椒素占天然辣椒素和二氢辣椒素的0%~5.7%,黄慧学等^[18]的研究表明合成辣椒素占辣椒类物质的0%~1.47%。因此,对样品进行判定时应充分考虑本底的影响,当合成辣椒含量占比过高时需要引起重视。

表 5 市售产品中天然辣椒素、二氢辣椒素、合成辣椒素含量
Table 5 Contents of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin in commercially available products

样品	含量/ (mg/kg)		
	天然辣椒素	二氢辣椒素	合成辣椒素
干辣椒	33.82±0.90	17.62±0.42	2.91±0.13
青椒	ND	ND	ND
朝天椒	65.18±0.90	41.74±0.10	ND
线椒	51.27±0.55	14.36±0.16	ND
腌制小米椒	122.42±3.55	69.08±2.50	6.06±0.23
辣椒油	70.49±0.75	32.28±0.30	3.06±0.02
彩椒酱	186.03±2.75	83.63±0.51	4.53±0.06

3 结 论

本研究建立了一种QuEChERS结合HPLC快速检测辣椒及其制品中的天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素含量的分析方法。采用QuEChERS方法进行样品前处理，并针对不同的样品基质，优化了提取、净化工艺。结果表明，该方法具有良好的灵敏度、准确度，且方便快捷、实用性强。为辣椒及其制品中天然辣椒素、二氢辣椒素和合成辣椒素含量的检测提供了新方法。同时，以此衡量产品的辣度、定量检测非法添加的合成辣椒素，对企业生产、质量监管和消费者选购都具有一定的指导意义。

参考文献：

[1] 邹学校, 胡博文, 熊程, 等. 中国辣椒育种60 年回顾与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2099-2118. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2022-0677.

[2] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(9): 1715-1726. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2020-0103.

[3] KOVSARI E, SHAVALI GILANI P, SHOKRI S, et al. Influence of green pepper extract on the physicochemical, antioxidant, and sensory properties of stirred yogurt[J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101070. DOI:10.1016/j.fochx.2023.101070.

[4] FATIMA H, GUL A, JADOON L, et al. Alkaloid rich hydroponic chili for AgNPs synthesis against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* infected burn wounds[J]. Process Biochemistry, 2024, 141: 170-178. DOI:10.1016/j.procbio.2024.03.014.

[5] IVANE N M A, WANG W X, MA Q Y, et al. RETRACTED: inhibitory effect of dehydrated Chinese red pepper and Chinese prickly ash on fresh beef quality assessment during refrigerated storage[J]. Food and Humanity, 2024, 2: 100236. DOI:10.1016/j.foohum.2024.100236.

[6] 阙小峰, 黄超群, 方志成, 等. 天然辣椒碱提取方法及在食品中应用的研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(9): 188-192. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2021.09.037.

[7] 蔡永艳, 郝会娟, 关振亚, 等. 辣风味研究及其常见辣椒品种品质分析[J]. 中国调味品, 2021, 46(9): 193-196. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2021.09.038.

[8] 周欣悦, 刘夏阳, 李壮, 等. 辣椒素的抗肿瘤作用及分子机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(16): 4277-4283. DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20220421.601.

[9] HAN T H, PARK M K, NAKAMURA H, et al. Capsaicin inhibits HIF-1 α accumulation through suppression of mitochondrial respiration in lung cancer cells[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 146: 112500. DOI:10.1016/j.biopha.2021.112500.

[10] 贾为华. 辣椒素的抗疲劳作用及其作用机理研究进展[J]. 中国调味品, 2020, 45(8): 187-190. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2020.08.042.

[11] JIA X Y, JIANG D L, JIA X T, et al. Capsaicin improves hypertension and cardiac hypertrophy via SIRT1/NF- κ B/MAPKs pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. Phytomedicine, 2023, 118: 154951. DOI:10.1016/j.phymed.2023.154951.

[12] MANSOURI R A, AHMED A M, ALSHAIBI H F, et al. Capsaicin ameliorates myocardial injury in diabetic rats via upregulating Nrf-2, HO-1 and iNOS tissue concentrations besides normalizing the distribution of structural proteins desmin and α -SMA[J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103130. DOI:10.1016/j.fbio.2023.103130.

[13] ZHANG Q, LUO P, XIA F, et al. Capsaicin ameliorates inflammation in a TRPV1-independent mechanism by inhibiting PKM2-LDHA-mediated Warburg effect in sepsis[J]. Cell Chemical Biology, 2022, 29(8): 1248-1259.e6. DOI:10.1016/j.chembiol.2022.06.011.

[14] 王玲燕, 夏桂阳, 夏欢, 等. 天然生物碱类镇痛成分的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 5829-5839. DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20200909.201.

[15] 封雪, 马海潇, 张美玲, 等. 辣椒中生物活性成分分析方法现状研究[J]. 农产品质量与安全, 2024(1): 66-74. DOI:10.3969/j.issn.1674-8255.2024.01.013.

[16] WU Y X, LIU J, YU J Z, et al. A monoclonal antibody for identifying capsaicin congeners in illegal cooking oil and its applications[J]. Talanta, 2022, 250: 123686. DOI:10.1016/j.talanta.2022.123686.

[17] 王穗萍, 夏延斌, 彭进, 等. 高效液相色谱法测定高含水量辣椒制品中的辣椒素类物质[J]. 分析测试学报, 2007, 26(4): 570-573; 576. DOI:10.3969/j.issn.1004-4957.2007.04.030.

[18] 黄慧学, 邓瑜, 刘涛, 等. HPLC测定辣椒中Nonivamide含量[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(2): 115-117. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2011.02.035.

[19] GAO Z M, WANG H B, ZUO Y J, et al. Re-engineering and regulating molecular architecture of synthetic capsaicin for enhanced water-based degradation performance[J]. Journal of Molecular Liquids, 2024, 399: 124275. DOI:10.1016/j.molliq.2024.124275.

[20] 班振, 邓瑜. 超高效液相色谱法-串联质谱法测定百色辣椒酱中合成辣椒素的含量[J]. 食品安全导刊, 2023(28): 80-83. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2023.28.023.

[21] 郭凌燕, 蔡玉刚, 黄海涛. GC-MS法检验辣椒制品中的合成辣椒素[J]. 广东公安科技, 2019, 27(2): 45-46; 58.

[22] 刘洪升, 韩丙军. 光度法测定辣椒碱生物农药中辣椒碱总量[J]. 现代农药, 2008, 7(1): 24-26. DOI:10.3969/j.issn.1671-5284.2008.01.008.

[23] 方林明, 陶唐平, 朱自德, 等. 高效液相色谱法测定食品中辣椒素类化合物[J]. 食品科技, 2020, 45(6): 361-365. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2020.06.062.

[24] LORENZONI R, BARRETO F, CONTRI R V, et al. Rapid and sensitive LC-MS/MS method for simultaneous quantification of capsaicin and dihydrocapsaicin in microdialysis samples following dermal application[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 173: 126-133. DOI:10.1016/j.jpba.2019.05.029.

[25] 梁璐, 赵静, 孙悦, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测回收油脂中的3 种辣椒素类化合物[J]. 食品科技, 2021, 46(5): 285-289. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2021.05.046.

- [26] 张中平, 周静. 改进的QuEChERS/气相色谱-静电场轨道阱质谱法测定牛乳中的71种农药残留[J]. 分析测试学报, 2023, 42(10): 1301-1308. DOI:10.19969/j.fxcxb.23040401.
- [27] 全凯旋, 常巧英, 谢瑜杰, 等. 一步式QuEChERS结合液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱同时筛查与分析生牛乳中153种兽药残留[J]. 分析测试学报, 2023, 42(10): 1279-1290. DOI:10.19969/j.fxcxb.23062802.
- [28] ZHAO L Y, LIU J, BAI B, et al. Natural deep eutectic solvent-based QuEChERS followed by magnetic beads ELISA for the analysis of ochratoxin A in cereal samples[J]. Food Control, 2024, 161: 110384. DOI:10.1016/j.foodcont.2024.110384.
- [29] ELATTAR R H, KAMAL EL-DEEN A. Porous material-based QuEChERS: exploring new horizons in sample preparation[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 172: 117571. DOI:10.1016/j.trac.2024.117571.
- [30] 王旭, 王富华, 钟红舰, 等. 高效液相色谱法测定食品中的辣椒素、二氢辣椒素[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 378-381. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2008.07.084.
- [31] 钟冬莲, 岳超, 喻宁华, 等. QuEChERS-高效液相色谱/串联质谱法同时测定茶油中21种农药残留[J]. 分析试验室, 2021, 40(10): 1201-1205. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2021.011402.
- [32] 王丽. 农产品中多环芳烃及卤代多环芳烃残留的检测方法和应用[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [33] LIU T, ZHOU J G, HE L, et al. Determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) using modified QuEChERS followed by GC-MS[J]. Analytical Methods, 2020, 12(18): 2398-2406. DOI:10.1039/d0ay00519c.
- [34] 陈鑫, 刘军, 沈菁, 等. QuEChERS-高效液相色谱法测定莲藕中15种多环芳烃[J]. 分析试验室, 2022, 41(9): 1047-1053. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2021.090804.
- [35] 门雪, 吴兴强, 全凯旋, 等. 改进的QuEChERS法结合液相色谱-高分辨质谱筛查热带水果中33种新烟碱类杀虫剂及杀菌剂[J]. 分析测试学报, 2022, 41(6): 820-826. DOI:10.19969/j.fxcxb.22041202.
- [36] LI P P, DUAN Y, GE H L, et al. Multiresidue analysis of 113 pesticides in different maturity levels of mangoes using an optimized QuEChERS method with GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS[J]. Food Analytical Methods, 2018, 11(10): 2742-2757. DOI:10.1007/s12161-018-1263-5.
- [37] KOZUKUE N, HAN J S, KOZUKUE E, et al. Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(23): 9172-9181. DOI:10.1021/jf050469j.