

辣椒中辣椒碱提取工艺条件的研究

樊钰虎, 易 龙, 丁 伟, 张 静

西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 采用乙醇浸提法从辣椒中提取辣椒碱, 在单因素试验的基础上, 通过正交试验并结合回归分析进行工艺参数的优化, 其最佳的工艺条件为: 温度 58 ℃, 时间 4 h, 提取溶剂为 70% 浓度的乙醇, 料液比 1:11, 在此工艺条件下进行试验, 辣椒碱提取率为 1.26%。

关键词: 辣椒碱; 提取; 正交优化

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

红辣椒为茄科植物辣椒(*Capsicum Frutescence*. L)的成熟果实, 是日常生活中常用的食品和调色剂, 种植遍布世界各地, 我国大部分地区均有栽培, 资源丰富。辣椒的果实中含有辣椒红色素、辣椒碱、亚油酸、维生素、矿物质等多种有效成分, 其果实除了用作食用辛香料外, 尚可用作药物。辣椒具有温中下气、散寒除湿、开胃消食、祛风行血的功效。辣椒中含有的辣椒碱还具有持久的消炎镇痛作用, 在医药行业常被用作抗肿瘤及镇痛药物; 将辣椒碱制备成外敷剂, 则有促进局部血液循环, 去淤肿和利关节的功效^[1-4]; 在军事上辣椒碱可作为制造催泪弹和防卫武器的主要原料。另外, 辣椒碱作为一种新型农药, 发展前景广阔, 目前国际市场非常走俏^[5-7]。

本研究通过单因素试验和正交试验对影响红辣椒中辣椒碱提取收率的一些关键因素进行了研究, 并采用回归分析方法建立经验回归方程, 合理优化了辣椒碱的提取工艺。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原 料

辣椒 市售河北红尖椒, 洗净, 去籽, 粉碎, 放入烘箱在 50 ℃ 下烘干, 干燥后置于干燥器中冷却至室温备用。

1.1.2 试 剂

乙醇, 甲醇, 丙酮, 氢氧化钠, 浓硫酸, 浓盐酸, 碘化铊钾, 香草醛, 乙醚, 磷钼酸, 钨酸钠, 磷酸, 石油醚, 以上试剂均为 AR。

1.1.3 仪 器

Spectrumlab 752s 紫外可见分光光度计(上海棱光技术有限公司), 恒温磁力搅拌器, RE-85Z 旋转蒸发

收稿日期: 2007-06-25

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC, 2006BB1319)。

作者简介: 樊钰虎(1977-), 男, 陕西铜川人, 讲师, 博士研究生, 主要从事天然产物中有效成分提取、分离及活性研究。

通讯作者: 丁 伟, 教授。

器(上海轻浦沪西仪器厂),SHZ-D(III)循环水式真空泵,数显恒温水浴锅 HH-2,JA2003A 电子天平,pHS-4C⁺酸度计。

1.2 实验方法

1.2.1 辣椒碱的提取

干红辣椒粉碎后,称取一定量辣椒粉于烧瓶中,然后加入5倍体积的70%乙醇,在45℃水浴中提取2h,趁热过滤,再往辣椒粉残渣中加入4倍体积的70%乙醇2次浸提1h,过滤。合并滤液,减压浓缩回收溶剂,得深红色浸膏。

将得到的浸膏用2倍体积的2%NaOH溶解,接着加入1倍浸膏体积的石油醚萃取,分离有机相与水相,在不断搅拌及室温条件下加入5% H_2SO_4 溶液中和并酸化至pH值为3.0~3.5,用石油醚进行反萃取,将有机相浓缩,得粗品辣椒碱类化合物溶液,用旋转蒸发仪浓缩得辣椒碱粗品。

1.2.2 辣椒碱含量分析

1.2.2.1 标准曲线的绘制

采用GB10465-89法测定^[8,9],又称比色法。其原理为辣椒试样在丙酮-氯化钠溶液的浸泡下,辣椒碱被溶解出来,再经石油醚处理纯化后,在碱性溶液中与磷钨酸-磷钼酸作用,溶液呈钼蓝色,其色素深浅与溶液中辣椒碱的含量成正比,从而可确定试样中辣椒碱的含量。根据香草醛与辣椒碱结构中都含有甲氧基,并能与磷钨酸-磷钼酸在碱性条件下反应生成钼蓝色络合物的原理,使用香草醛替代标准辣椒碱,测定辣椒原料中辣椒碱含量。

精确称取香草醛0.0500g(相当于纯辣椒碱0.1000g),用0.1mol/L NaOH配制100mL,此液1mL $\approx$ 1000 μg 辣椒碱,即为母液。分别吸取以上标准液1.25,2.5,3.75,5.0,6.25,7.5,8.75,10.0mL,用0.1mol/L NaOH溶解并定容至50mL容量瓶中,每mL分别相当于25,50,75,100,125,150,175,200 μg 辣椒碱。取上述8种溶液各5mL于50mL容量瓶中,各加5mL钨酸盐-磷钼酸显色剂混匀,加饱和碳酸钠溶液40mL振荡30min并稀释至刻度,混匀过滤。在 $\lambda=660\text{nm}$ 下,以0.1mol/L NaOH溶液作空白对照,用1cm光径的比色皿,测定吸光度(A),以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制其标准曲线。

1.2.2.2 辣椒碱含量分析

吸取待测液5mL于50mL容量瓶中,加5mL钨酸盐-磷钼酸溶液,摇匀。然后按照制备标准曲线的步骤测定吸光度。根据标准曲线计算样品中辣椒碱浓度,由下面的计算公式计算辣椒碱含量。

$$\text{辣椒碱含量}(\%) = \frac{C \times 50 \times 1.065}{[A] \times 10^6} \times 100$$

式中:C为标准曲线上查得的辣椒碱浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$);50为待测液显色时最终体积;1.065为标样香草醛换算为相当量辣椒碱的系数;W为样品总克数(g); 10^6 是将g换算为 μg 。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

在 $\lambda=660\text{nm}$ 下,以0.1mol/L NaOH溶液作空白对照,用1cm光径的比色皿,测定吸光度(A),以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制其标准曲线(图1)。以浓度(C)对吸光度(A)进行回归,得线性方程: $C=853.1123A-9.6719$, $r=0.9856$ 。

2.2 单因素试验及正交试验

2.2.1 不同浸提溶剂对浸出辣椒碱含量的影响

以10mL不同种类的溶剂进行浸提,具体方法同1.2.2,结果如图2。

图2表明,在6种有机溶剂中,丙酮、甲醇、乙醇、乙酸乙酯对辣椒碱浸提效果都较好。但乙醇具有价格低廉,毒性低等优点,因此选用乙醇为最佳浸提溶剂。

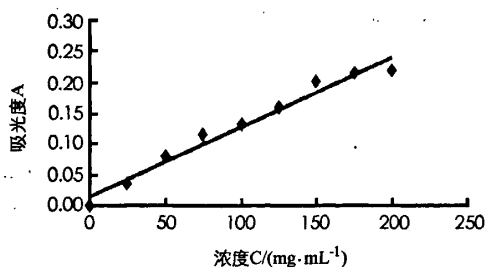


图1 辣椒碱标准溶液曲线

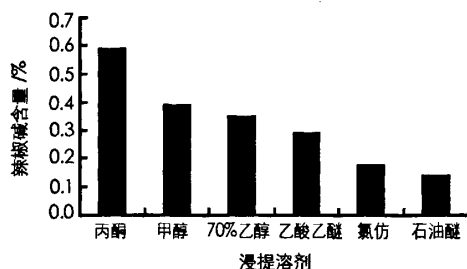


图2 不同浸提溶剂对辣椒碱含量影响

2.2.2 乙醇浓度对浸出辣椒碱含量的影响

以 10 mL 不同浓度的乙醇进行浸提, 具体方法同 1.2.2, 结果如图 3.

图 3 表明, 乙醇浓度在 40%~70% 范围内, 辣椒碱的含量随乙醇浓度的增大而增加; 当浓度超过 70% 后, 辣椒碱含量反而下降, 故选用 70% 乙醇浓度.

2.2.3 浸提温度对浸出辣椒碱含量的影响

在不同温度下进行浸提, 具体方法同 1.2.2, 结果如图 4.

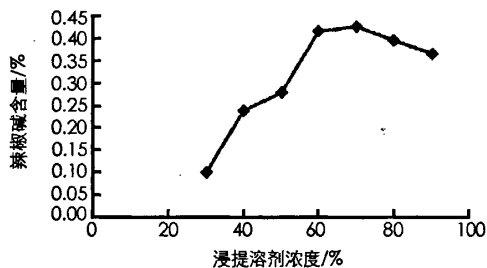


图3 溶剂浓度对辣椒碱含量的影响

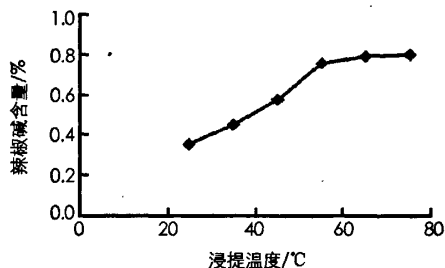


图4 不同浸提温度对辣椒碱含量的影响

图 4 表明, 辣椒碱的提取量随温度升高而显著提高, 在 20~50 °C 间变化较明显, 而在 50~70 °C 间, 辣椒碱的提取量趋于平稳.

2.2.4 浸提时间对浸出辣椒碱含量的影响

以不同浸提时间进行浸提, 具体方法同 1.2.2, 结果如图 5.

图 5 表明, 当 $1 < h < 4$ 时, 辣椒碱浸出量随时间增加而显著提高, 当 $h > 4$ 时, 时间的改变对浸提量影响不大.

2.2.5 料液比对浸出辣椒碱含量的影响

以不同料液比进行浸提, 具体方法同 1.2.2, 结果如图 6.

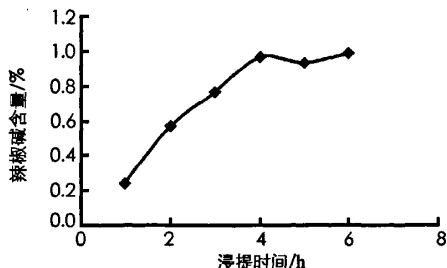


图5 不同浸提时间对辣椒碱含量的影响

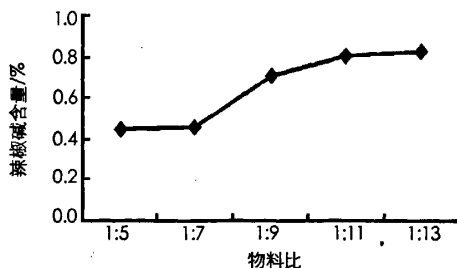


图6 不同料液比对辣椒碱含量的影响

图 6 表明, 辣椒碱浸出含量随料液比的增加而提高, 液料比在 1:6~1:12 区域内变化幅度较大, 既能减少溶剂用量, 又能得到较高的浸提效率.

2.2.6 辣椒碱提取工艺的正交试验

根据以上各单因素试验结果, 选用 70%乙醇作为浸提溶剂, 确定浸提温度、浸提时间、料液比为浸提过程中影响浸出辣椒碱含量最显著的 3 个因素, 选取 3 因素的较优水平, 按 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验, 因素水平如表 1、极差分析如表 2, 方差分析如表 3 所示。

表 1 正交试验因素水平表

水平	因素		
	A 浸提温度/℃	B 浸提时间/h	C 料液比/(W·V ⁻¹)
1	45	2	1:7
2	55	3	1:9
3	65	4	1:11

表 2 辣椒碱提取工艺正交设计表及结果

编号	A 浸提温度/℃	B 浸提时间/h	C 料液比	辣椒碱含量/%
1	1.00	1.00	1.00	0.82
2	1.00	2.00	2.00	0.85
3	1.00	3.00	3.00	1.02
4	2.00	1.00	2.00	1.06
5	2.00	2.00	3.00	1.26
6	2.00	3.00	1.00	1.18
7	3.00	1.00	3.00	1.19
8	3.00	2.00	1.00	1.09
9	3.00	3.00	2.00	1.06
K1	2.690 0	3.070 0	3.090 0	
K2	3.500 0	3.200 0	2.970 0	
K3	3.340 0	3.260 0	3.470 0	
R	0.810 0	0.190 0	0.500 0	

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	MS	F 值	显著性
A	0.122 7	2.000 0	0.061 3	112.673 5	$p<0.01$
B	0.006 3	2.000 0	0.003 1	5.775 5	$p>0.05$
C	0.045 4	2.000 0	0.022 7	41.714 3	$p<0.05$

注: $F_{1-0.05}(2, 2)=19.00$ 。

2.2.6.1 正交实验结果分析

1) 极差分析

从表 2 中可看出, 各因素的影响顺序是 $A>C>B$, 即影响顺序大小依次是浸提温度、物料比、浸提时间。因此, 最佳的提取工艺条件是 $A_2B_3C_3$, 即浸提温度 55℃, 浸提时间 4 h, 料液比 1:11。

2) 方差分析

从方差分析表 3 中可看出, 因素 A 对结果有非常显著性影响, 因素 C 对结果有显著性影响, 因素 B 没有显著影响。因此, 在生产中必须控制好浸提温度和料液比。

此工艺条件下进行了辣椒碱的提取实验, 辣椒碱的提取率为 1.24%。

2.2.6.2 回归方程分析

对提取辣椒碱的实验结果进行回归分析, 得到回归方程为

$$Y=-1.814\ 861+0.188\ 667\ X_1-0.001\ 617\ X_1^2+0.101\ 667\ X_2-0.011\ 667\ X_2^2-45.233\ 379\ X_3+183.067\ 866\ X_3^2, R^2=0.993\ 8.$$

Y 为辣椒碱含量; X_1 为浸提温度; X_2 为浸提时间; X_3 为料液比。

根据方程对最佳提取条件进行预测, 方程最优解为 $X_1=58$, $X_2=4$, $X_3=1/11$, $Y=1.31$. 按上述方程优化后的工艺条件进行试验, 得到辣椒碱的提取率为 1.26%, 与回归方程的预测值 1.31% 接近, 比正交实验确定的工艺条件提取率更高. 综合考虑工艺成本, 确定辣椒碱提取的最佳条件为: 浸提温度 58 °C, 浸提时间 4 h, 料液比 1 : 11.

3 结 论

本文通过正交试验并结合回归分析对辣椒碱的提取工艺进行优化, 确定辣椒碱类化合物的最佳提取工艺条件为: 70% 乙醇在 58 °C 恒温水浴中浸提 4 h, 料液比为 1 : 11, 由此最适工艺条件提取辣椒碱, 提取率为 1.26%. 实验结果表明该工艺提取率高, 重现性好, 方法简便. 此法可为辣椒碱类化合物的进一步开发与利用提供科学依据.

参考文献:

- [1] Epstein J B, Marcoc J H. Topical Application of Capsaicin for Freatment of Oral Neuropathic Pain and Trigeminal Neuralgia [J]. Oral Surge Oral med Oral Pathos, 1994, 77(2): 135 - 140.
- [2] Tandan R, Lewis G A. Topical Capsaicin in Painful Diabetic Neuropathy Effect on Sensory Function [J]. Diabetes Care, 1992, 15(10): 15 - 18.
- [3] 吴明光. 新型长效镇痛药辣椒碱研究进展 [J]. 中国新药杂志, 1984, 3(4): 10 - 13.
- [4] 高 蓝, 李浩明. 辣椒素及其在医药中的应用 [J]. 中国药学杂志, 1995, 30(4): 244 - 246.
- [5] 刘 新, 林 永. 辣椒碱对桃蚜的生物活性及其余几种杀虫剂的联合作用 [J]. 农药学学报, 2003, 5(2): 94 - 96.
- [6] 杨海燕, 郭 丽, 傅 力, 等. 辣椒碱的抗菌研究 [J]. 新疆农业大学学报, 2002, 25(4): 63 - 66.
- [7] 张志栋. 辣椒碱的研究进展 [J]. 天津药学, 1997, 9(2): 24 - 26.
- [8] 国家标准化委员会. GB10465 - 1989 辣椒干 [S]. 北京: 中国标准化出版社, 1989.
- [9] 王吉祥, 刘惠蓉, 王志恒, 等. 辣椒素含量测定法 [J]. 陕西农业科学, 1995, 5: 18 - 19.

Studies on Extracting Process of Capsaicin from Chilli

FAN Yu-hu, YI Long, DING Wei, ZHANG Jing

School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The ethanol extraction of capsaicin from red pepper were carried out on the basis of single-factor experiments, the orthogonal experiment was used in the optimization of technological parameters. Results show that the optimum conditions are as follows: the ratio of material to solution is 1 : 11 (w/v), time is 4 h, temperature is 58 °C and ethanol concentration is 70%. By the above conditions, the capsaicin extraction rate is 1.26%.

Key words: capsaicin; extraction; orthogonal optimization

责任编辑 汤振金