

辣椒中辣椒素的高效液相色谱法测定

李如华 韩振泰

(中国林科院森林生态环境与保护研究所国家林业局森林生态环境重点实验室 北京 100091)

摘 要 辣椒素的化学组成主要为辣椒碱和二氢辣椒碱。辣椒碱具有镇痛、消炎、促进食欲、改善消化、抗菌、杀虫及对神经递质的选择性等药理作用。辣椒碱可以治愈和缓和一些难治愈慢性神经疼痛,可为这些疾病的治疗提供一条新的途径,是一个很有发展潜力的药物^[1]。本文采用高效液相色谱法,通过对流动相、检测波长等分离条件的优化,建立了辣椒素的分析方法。经实验证实,本方法操作简单、重复性好、准确度高,可以对辣椒素的工业化生产提供帮助^[3-4]。方法回收率 90%~92%,相对偏差:2.5%,相关系数: $r=0.9956$ 。

关键词 辣椒素;二氢辣椒碱;高效液相色谱

中图分类号 Q946.88

Determination of Capsaicinoids in Hot Pepper by RP-HPLC

Li Ruhua, Han Zhentai

(Research Institute of Forestry Environment and Protection, CAF; Key Laboratory of Forestry Ecology and Environment, State Forestry Administration, Beijing, 100091, China)

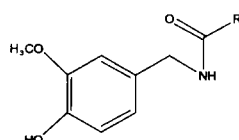
Abstract The chemical composition of Capsaicinoids is capsaicin and dihydrocapsaicin. Capsaicin has the effects of Analgesia, antiphlogosis, increasing the appetite, improving the digestion, antibacterial, disinfections and so on. Capsaicinoids can cure and mitigate some chronic neural ache, provide a new way for these disease treatments. Capsaicinoids is the medicine with high development potentials^[5]. In this paper, by the HPLC method and with the optimization of mobile phase and detection wavelength, the analysis method of Capsaicinoids was established. Experiments proved that the method has the characteristics of simple operation, good reproducibility, high accuracy and can provide help to the industrial production of Capsaicinoids^[3-4]. The Recovery rate, relative deviation and correlation coefficient of the method are 90%~92%, 2.5% and 0.9956 respectively.

Key words Capsaicinoids; Dihydrocapsaicin; HPLC

辣椒是一种药食同源的蔬菜,含有生物碱、色素、维生素、有机酸、矿物质等成分^[7-8]。辣椒所独具的特性是辣味,其成分为辣椒素类物质。辣椒素是辣椒果实中结构为 N-香草基酰胺类的生物碱。辣椒素的化学组成主要为辣椒碱(Capsaicin, C),二氢辣椒碱^[2](Dihydrocapsaicin, DC),二者约占整个辣椒素的 90%,其它为二者的同系物。

辣椒素类提取物通常是混合物^[6],晶体颜色为白色(或微黄、微红),没有固定的熔点,通常熔点范围为 57℃~66℃,沸点范围为 210℃~220℃,易溶于低级醇和丙酮、氯仿、石油醚等有机溶剂,由于其酚羟基表现出弱酸性,因而能溶于强碱^[1]。辣椒素属于酰胺类化合物,因而可发生水解生成香草基胺和癸烯酸。

辣椒素的结构通式:



1 实验部分

1.1 仪器与试剂

液相分析仪: Waters244 高效液相色谱仪、Waters486 紫外检测器、M510 泵、浙大色谱工作站。甲醇为优级并经 0.5 μ m 滤膜过滤。水为重蒸水并经 0.45 μ m 滤膜过滤。辣椒碱标样:天然, Sigma 公司。

1.2 色谱条件

色谱柱: 250 cm $\times$ 4.6 mm ODS 柱;流动相: 75% 的甲醇/水溶液;流速: 1 mL/min;检测器: 220 nm。

1.3 标准样品配制

准确称取 50 mg 辣椒碱标样,用甲醇定容至 10 mL,备用。

1.4 辣椒碱样品配制

准确称取 60~200 mg 辣椒碱样品,用甲醇定容至 10 mL。

收稿日期: 2008-07-29

作者简介: 李如华,男,大学本科。

2 实验结果与讨论

2.1 流动相的选择和优化

实验前我们对辣椒碱的 HPLC 法进行了调研,目前所采用的流动相主要有以下几种体系。张继敏等人采用稀磷酸(pH3.1~3.5)溶液/乙腈(50:50)为流动相,这与美国药典 USP2003 磷酸水溶液(1:1000, V/V)/乙腈(600:400)相似;赵仁邦等人采用甲醇作流动相。用甲醇作流动相,价格低廉,且避免了使用酸性溶液。为此,我们选择以甲醇作流动相进行实验。实验发现,用纯甲醇作流动相,辣椒碱和二氢辣椒碱的色谱峰未完全分开。于是,我们分别配制 85%、75%、70% 的甲醇溶液作流动相。实验结果显示,随着流动相中水的含量增加,辣椒碱和二氢辣椒碱的 t_R 逐渐增加,当流动相为 85% 的甲醇/水溶液时,辣椒碱和二氢辣椒碱基本分开;当流动相为 75% 的甲醇/水溶液时,辣椒碱和二氢辣椒碱可实现基线分离;但当水的含量增加至 40% 时,即 60% 的流动

相对辣椒碱样品溶解性降低。因此,我们认为,流动相以 70~75% 的甲醇溶液较为合适。此时样品各组分能实现基线分离(如图 1)。

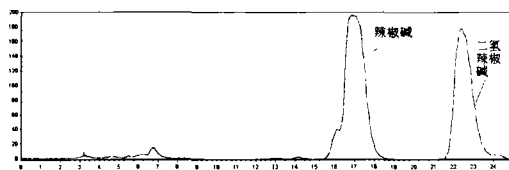


图 1 辣椒碱标样图谱

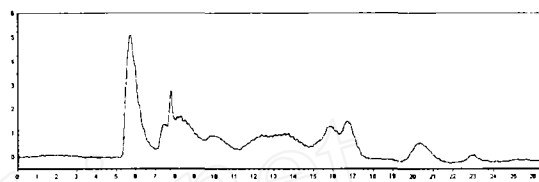


图 2 辣椒提取物样品图谱

2.2 检测波长的影响

我们用标准样品,在图 1 的条件下,测定了不同检测波长下的辣椒素和二氢辣椒素的峰面积,其结果见表 1。

表 1 不同检测波长下的辣椒素和二氢辣椒素的峰面积

检测波长	220nm		248nm		254nm		296nm	
谱图编号	A0029	A0030	A0027	A0028	A0014	A0031	A0025	A0026
$t_R = 6.7\text{min}$	5.852×10^5	2.181×10^5	7.91×10^4	5.466×10^4	4.367×10^4	4.261×10^4	4.322×10^4	8.058×10^4
$t_R = 16.5\text{min}$	1.204×10^6	1.229×10^6	1.471×10^5	1.519×10^5	6.738×10^4	7.900×10^4	1.007×10^5	7.477×10^4
$t_R = 17.3\text{min}$	1.440×10^7	1.431×10^7	2.205×10^5	2.168×10^5	1.211×10^6	1.253×10^6	1.523×10^6	1.568×10^6
$t_R = 23.1\text{min}$	1.216×10^7	1.143×10^7	1.465×10^6	1.490×10^6	8.066×10^5	7.696×10^5	$1.10^6 \times 10^6$	1.041×10^6

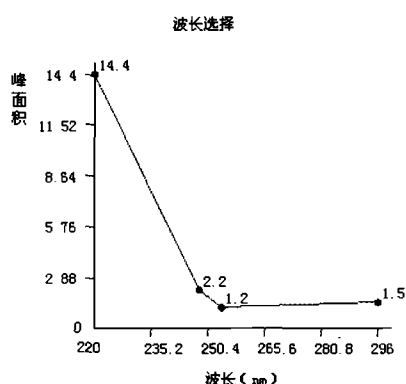


图 3 检测波长对峰面积的影响

根据表 1,我们绘出了保留时间 t_R 为 17.3 min 的辣椒碱组分的检测波长对峰面积的影响趋势,如图 3 所示。

由图 3 看出,当波长在 220nm 时,辣椒碱的峰面积最大,此时灵敏度最高。

2.3 定量分析

2.3.1 重复性实验

在上述优化条件下,即流动相为 75% 的甲醇/水溶液、检测波长为 220 nm,连续测定七次标样,测定结果见表 2。经计算,平均测定相对偏差为 2.5%。

表 2 计算相对误差

	A0040	A0041	A0042	A0043	A0044	A0045	A0046
辣椒碱峰面积	1.397×10^7	1.360×10^7	1.434×10^7	1.435×10^7	1.358×10^7	1.447×10^7	1.463×10^7

2.3.2 标准曲线

通过测量不同浓度的标样,得出辣椒碱、二氢辣椒碱的峰面积与浓度的关系,(见表 3),即可绘出标

准曲线,如图 4、图 5 所示。结果表明,辣椒碱在 0.25~5 mg/mL 浓度范围内,浓度与峰面积具有良好的线性关系。

表 3 辣椒碱、二氢辣椒碱的峰面积与浓度的关系

		1	2	3	4	5	6
标样浓度	标样溶液 (mL)	0.1	0.075	0.05	0.025	0.01	0.01
	甲醇 (mL)	0	0.025	0.05	0.075	0.09	0.19
	浓度 (mg/mL)	5	3.75	2.50	1.25	0.50	0.25
辣椒碱	峰面积 1	1.532×10^7	1.260×10^7	1.081×10^7	5.331×10^6	3.618×10^6	2.399×10^6
	峰面积 2	1.589×10^7	1.217×10^7	1.012×10^7	5.664×10^6	3.260×10^6	2.065×10^6
	平均峰面积	1.560×10^7	1.239×10^7	1.047×10^7	5.497×10^6	3.439×10^6	2.232×10^6
二氢辣椒碱	峰面积 1	1.142×10^7	9.188×10^6	6.718×10^6	3.136×10^6	1.596×10^6	1.261×10^6
	峰面积 2	1.164×10^7	9.048×10^6	6.516×10^6	3.407×10^6	1.837×10^6	1.120×10^6
	平均峰面积	1.153×10^7	9.118×10^6	6.617×10^6	3.271×10^6	1.716×10^6	1.190×10^6

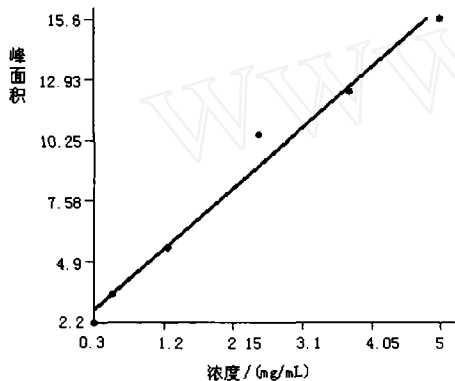


图 4 辣椒碱标准曲线

直线回归方程: $Y = 2.0927 + 2.801X$,

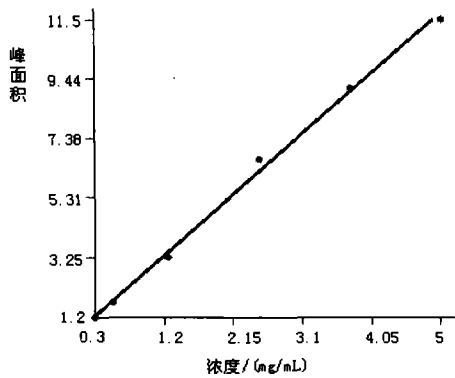


图 5 二氢辣椒碱标准曲线

直线回归方程: $Y = 0.6805 + 2.2141X$ 。

2.3.3 样品测定

表 4 样品中的辣椒碱含量测定

样品编号	a	b	c	d
Y	7.031×10^6	9.619×10^6	8.792×10^6	4.804×10^6
X	1.76	2.69	2.39	0.97
含量/mg	6.17	9.40	8.37	3.39
百分比	9.80%	10.80%	10.89%	5.06%

表 5 样品中的二氢辣椒碱含量测定

样品编号	a	b	c	d
Y	3.262×10^6	6.868×10^6	6.439×10^6	3.817×10^6
X	1.18	2.79	2.60	1.41
含量/mg	4.14	9.78	9.10	4.96
百分比	6.60%	11.20%	11.80%	7.40%

3 结 论

本文建立了辣椒素的高效液相色谱分析方法。其优化条件是:色谱柱 250 cm × 4.6 mm ODS 柱;流动相 75% 的甲醇/水溶液;流速 1 mL/min; UV220 nm。平均相对偏差为 2.5%, 辣椒碱在 0.25 – 5 mg/mL 浓度范围内, 浓度与峰面积具有良好的线性关系。经实验证实, 本方法操作简单、重复性好、准确度高, 满足分析要求。

参考文献

[1] 彭书练, 单扬, 丁芳林. 辣椒碱的制取、纯化及应用研究. 辣椒杂志, 2005, 3: 40 – 41
[2] 张甫生, 庞杰, 徐秋兰, 陈梅芳. 辣椒红色素的研究进展. 辣椒杂志, 2003, 2: 37
[3] 江和源, 段文华, 尉蕊仙. 分子蒸馏技术及其应用. 西部粮油科技, 2003, 6: 41 – 43
[4] 杨村, 于宏奇, 冯武文. 分子蒸馏技术. 北京: 化工工业出版社, 2003, 1: 1 – 55, 110 – 111
[5] 张志栋. 辣椒碱的研究进展. 天津药学, 1997, 9: 25 – 26
[6] 伍明, 任仲皎, 王杰. 天然辣椒红色素的提取新工艺. 精细化工, 1994, 11: 30 – 33
[7] 阳勇. 重庆大学学报. 2004, 12
[8] 张世文. 吉首大学学报. 2002, 2