

文章编号:2095-7386(2016)03-0013-07

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2016.03.002

酱卤鸭制品辣椒辣度分析方法的研究

王茹¹, 陈季旺^{1,2*}, 黄迪¹, 胥伟^{1,2}, 王宏勋¹

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 农产品加工湖北省协同创新中心, 武汉 430023)

摘要: 本文通过超声波辅助法提取辣椒中的辣椒素和二氢辣椒素, 研究辣椒粒径、溶剂种类、料液比、超声频率和时间对辣椒素和二氢辣椒素得率的影响, 优化超声提取工艺, 建立辣椒辣度的高压液相色谱(HPLC)测定方法。结果显示: 辣椒粒径 100 目、甲醇-四氢呋喃溶剂(60:40, v/v)、料液比 1:10(g/mL)、双频超声波使用频率为 25 和 40KHz、时间 50 min, 辣椒素和二氢辣椒素的得率较高, HPLC 法的精密度、重复性及加标回收率良好。采用 HPLC 法和感官评定法测定 6 种辣椒的辣度, HPLC 法测定的辣度(Scoville 指数)分别为 3.91×10^4 、 4.04×10^4 、 4.42×10^4 、 5.84×10^4 、 9.39×10^4 、 3.67×10^4 SHU, 感官评定法为 3.4×10^4 、 3.7×10^4 、 4.0×10^4 、 5.0×10^4 、 8.0×10^4 、 3.1×10^4 SHU, 两种分析方法的辣度测定结果类似。

关键词: 酱卤鸭制品; 辣度; 高效液相色谱法; 辣椒

中图分类号: TS 254.4

文献标识码: A

Analysis methods for pungency of chili pepper with pot-stewed duck products

WANG Ru¹, CHEN Ji wang^{1,2*}, HUANG Di¹, XU Wei^{1,2}, WANG Hong-xun¹

(1. School of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Hubei Collaborative Innovation Center for Processing of Agricultural Products, Wuhan 430023, China)

Abstract: The ultrasonic-assisted method was used to extract the capsaicin and dihydrocapsaicin in chili pepper and the effect of Chili pepper size, solvent types, ratio of chili pepper to solvent (g/mL), ultrasonic conditions (frequency and time) on the yield of capsaicin and dihydrocapsaicin were investigated to optimize the process, then high performance liquid chromatography (HPLC) method for analyzing the capsaicin and dihydrocapsaicin of chili pepper was established. The results showed that the chili pepper powder with 100 mesh sieve, methanol-tetrahydrofuran solution (60:40, v/v), ratio of chili pepper powder to methanol-tetrahydrofuran solution (1:10, g/mL), ultrasonic conditions (25 and 40 KHz at the same time and 50 min) were preferred. HPLC method was utilized to determine the capsaicin and dihydrocapsaicin of Chili peppers extracted using the preferred conditions, and the favourable precision, repeatability, and recovery rate for capsaicin and dihydrocapsaicin were achieved. The pungency of six kinds of chili peppers was determined using HPLC and sensory evaluation methods, respectively. The Sco-

收稿日期: 2016-05-21.

作者简介: 王茹(1992-), 女, 硕士研究生, E-mail: m15717187257@163.

通讯作者: 陈季旺(1970-), 男, 教授, 博士, E-mail: jiwangchen1970@126.com.

基金项目: 湖北省重大科技创新计划项目(项目编号: ZDC2015000350).

vill index were 3.91×10^4 , 4.04×10^4 , 4.42×10^4 , 5.84×10^4 , 9.39×10^4 , and 3.67×10^4 SHU for HPLC method and 3.4×10^4 , 3.7×10^4 , 4.0×10^4 , 5.0×10^4 , 8.0×10^4 , and 3.1×10^4 SHU for sensory evaluation method. The pungency of six kinds of chili peppers analyzed using HPLC and sensory evaluation methods were similar.

Key words: pot-stewed duck product; pungency; high performance liquid chromatography (HPLC); chili pepper

1 引言

我国酱卤鸭制品的历史悠久,肉颜色明亮、滋味独特、酥软适口,品种不尽相同,口味各有特色。卤制为酱卤肉制品的重要环节,主要步骤是将鸭肉同香辛料、盐等配料放在卤水中熬煮。湖北酱卤鸭肉制品是以酱卤整鸭、卤鸭腿、卤鸭脖、卤翅尖等一系列卤鸭产品为代表,深受国内外消费者的喜爱,已经成为湖北的地方特色食品,年产值达数百亿元。

酱卤鸭制品独特的风味、成色以及口感,与各种调料的搭配使用密不可分,酱卤工艺是保证成品质量的关键步骤。目前生产酱卤鸭制品的企业很多,大多采用传统的加工工艺,生产规模小,自动化程度低;酱汁卤汤的品质缺乏统一的标准来评价,使用量难以准确控制,各种调料在酱卤过程中的使用量及消耗难以体现,原辅料使用量及工艺参数不明确,生产的酱卤鸭的批次差异较大,使得酱卤肉制品的生产难以实现标准化。

辣椒是酱卤鸭制品中经常使用的原料,不同人群对酱卤鸭制品辣度有不同的喜好,如何量化辣度对调控酱卤鸭制品风味非常重要。辣椒素类物质是辣感产生的物质基础^[1],辣感的强弱与辣椒素类物质的含量密切相关。为了保证酱、卤汁的品质和风味,必须建立酱卤汁中影响辣度的物质定量检测的方法,控制加工过程中的辣椒素类物质的含量变化。辣度检测的国家标准 GB/T 21265-2007 中规定了辣椒辣度的测定方法-Scoville 指数法^[2],有关 HPLC 法测定辣椒及其制品辣度的前处理条件已有较多的文献报道^[3-4],测定辣椒辣度也有国家标准,但是这些方法对辣椒的粒径、提取温度、超声时间等条件未进行具体说明,研究超声提取辣椒中辣椒素和二氢辣椒素的工艺,能够增加辣椒中辣椒素及二氢辣椒素的得率,保证测定结果的准确。因此,研究 HPLC 法测定辣椒辣度的前处理条件,建立良好的辣椒辣度的 HPLC 测定方法,对酱卤鸭制品标准化加工有着重要的意义。

本研究采用超声辅助工艺提取辣椒中的辣椒素和二氢辣椒素,研究辣椒粒径、溶剂种类、料液比、超

声频率和时间对辣椒素和二氢辣椒素得率的影响,优化超声提取工艺,建立辣椒辣度的 HPLC 测定方法,以为酱卤鸭制品的标准化生产提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

干辣椒(产地福建、河南,2015 年 7 月)由湖北小胡鸭食品有限责任公司提供;尖辣椒、干辣椒(产地四川凤县,2015 年 6 月 22 日)购于吉林市茴香食品有限公司;水临门朝天椒(产地山东德州,2015 年 8 月 16 日)购于山东乐陵市益民调味食品有限公司;友佳朝天椒辣干(产地四川成都,2015 年 7 月 22 日)购于四川友佳食品有限公司;厨大哥小米辣(产地四川成都,2015 年 9 月 16 日)购于四川友嘉食品有限公司;味达佳辣椒(产地福建泉州,2015 年 4 月 11 日)购于福建泉州味中皇食品有限公司;

辣椒素标准品(20 mg,纯度 99 %)、二氢辣椒素标准品(20 mg,纯度 99 %)购于山东省西亚化学工业有限公司;甲醇(HPLC 纯)、乙醇(分析纯)、无水乙醇(分析纯)、四氢呋喃(分析纯)购于上海国药集团化学试剂有限公司;蔗糖(分析纯)购于天津市凯通化学试剂公司;娃哈哈纯净水(500 mL)购于杭州娃哈哈集团有限公司。

2.2 仪器与设备

SB-3200 DTS 双频超声清洗器:宁波新芝科技有限公司;FA114N 分析天平:上海精密科学仪器有限公司;Agilent 1260 高效液相色谱仪:美国安捷伦科技公司;TGL-16C 高速离心机:上海安亭科学仪器厂;YB1000A 高速多功能粉碎机:浙江省永康市速锋工贸有限公司。

2.3 方法

2.3.1 辣椒辣度测定的 HPLC 法

参照 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》^[5]。

(1) 色谱条件的选择

选择色谱柱为 Zorbax SB-C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为甲醇和水(V/V, 70: 30),流速 1.0 mL/min,柱温 30℃,紫外检测波长 280 nm,

进样量 10 μL 。

(2) 标准曲线绘制

分别准确称量 0.0526 g 辣椒素标准品及 0.0556 g 二氢辣椒素标准品,放入 50 mL 烧杯中,用甲醇溶解,转移到容量瓶中定容至 50 mL,作为混合标准液保存(辣椒素与二氢辣椒素均为 1 mg/mL)。分别移取标准储备液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3 mL 至 25 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度后混匀,按浓度梯度配制辣椒素和二氢辣椒素的稀释液,按 2.3.1 中(2) HPLC 分析条件进行分析,辣椒素和二氢辣椒素的浓度为 0-120 mg/L (0、20、40、60、80、100、120 mg/L),将标准品的浓度作为横坐标,峰面积作为纵坐标,绘制标准系列曲线。辣椒素的线性回归方程 $y = 4.877x + 14.990$ ($R^2 = 0.9944$);二氢辣椒素线性回归方程 $y = 3.729x + 6.061$ ($R^2 = 0.9969$),在 0-120 mg/L 的范围内,线性关系良好。

(3) 样品处理方法

将烘干的辣椒用高速粉碎机粉碎,通过 80 目的标准筛后,放于密封袋储藏。称取 1g (精确到 0.0001g) 的上述辣椒粉,置于锥形瓶中,以 50 mL 的甲醇:四氢呋喃(50:50, v/v) 为提取液,密闭封口后开小孔,放入双频超声清洗器 50℃ 超声提取 50 min 后,用提取液定容到 50 mL,静置 10 min,将上层溶液取 5 mL 置入 7 mL 离心管中,转速 8000 r/min 离心 5 min,过 0.45 μm 尼龙有机滤膜,进高效液相色谱仪分析。根据辣椒中辣椒素及二氢辣椒素的含量及检测器的灵敏度,适当调整稀释倍数。每组样品平行测定 3 次。

(4) 结果计算

按 2.3.1 中(3)的条件进行 HPLC 分析,用辣椒素及二氢辣椒素标准品的出峰时间确定辣椒中的色谱峰,辣椒中的辣椒素及二氢辣椒素峰面积定量。根据辣椒中辣椒素和二氢辣椒素含量绘制标准曲线,计算样品中辣椒素及二氢辣椒素的含量。

辣椒素得率计算: $W_a = C_1 \times V / 1000$ m

二氢辣椒素得率计算: $W_b = C_2 \times V / 1000$ m

辣椒素类物质得率计算: $W = (W_a + W_b) / 0.9$

式中:

W_a —辣椒素得率(mg/g); W_b —二氢辣椒素得率(mg/g); W —1 g 辣椒素类物质得率(mg/g); C_1 —由辣椒素标准曲线上查到的辣椒素浓度(mg/L); C_2 —由二氢辣椒素标准曲线上查到的二氢辣椒素浓度(mg/L); V —提取液定容体积(mL);

m —干辣椒质量(g); 0.9—辣椒素与二氢辣椒素占辣椒素类物质总质量的比例系数。

Scoville 指数(SHU)的计算:

$$X = W \times 0.9 \times 16\ 100 + W \times 0.1 \times 9\ 300$$

式中:

0.9—辣椒素与二氢辣椒素占辣椒素类物质总质量的比例系数; 16 100—辣椒素与二氢辣椒素转换为 Scoville 指数的系数,辣椒素和二氢辣椒素质量和每占 1 mg/g 时相当于 16 100 SHU; 0.1—其余辣椒素类物质占辣椒素类物质总质量的比例系数; 9 300—其余辣椒素类物质的 Scoville 指数的换算系数,其余辣椒素类物质质量和每占 1 mg/g 相当于 9 300 SHU。

2.3.2 超声辅助提取辣椒中辣椒素及二氢辣椒素工艺优化

(1) 辣椒粒径对辣椒素类物质得率的影响

取粉碎后的辣椒粉末,分别通过 20、40、60、80、100、120 目数的标准筛,各称取 2.5 g 辣椒,按 2.3.1 中(3)的操作步骤进行提取,测定辣椒素和二氢辣椒素的含量,研究辣椒粒径对辣椒素类物质得率的影响。

(2) 溶剂种类对辣椒素类物质得率的影响

根据上述试验确定的较佳粉碎粒径,称取 1g 辣椒,置于 50 mL 的锥形瓶中,分别加入不同浓度的甲醇、乙醇、甲醇—四氢呋喃 50 mL,混合比例为 30、40、50、60、70%,其他超声提取条件及操作步骤同 2.3.1,研究溶剂种类对辣椒素类物质得率的影响。

(3) 料液比对辣椒素类物质得率的影响

根据上述试验确定的较佳粉碎粒径、溶剂,称取 1g 辣椒,置于 50 mL 的锥形瓶中,分别加入 10、20、30、40、50 mL 体积的溶剂,使得料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50,其他超声提取条件及操作步骤同 2.3.1,研究料液比对辣椒素类物质得率的影响。

(4) 超声频率对辣椒素类物质得率的影响

根据上述试验确定的较佳粉碎粒径、溶剂、料液比,称取 1g 辣椒,置于 50 mL 的锥形瓶中,加入对应体积的溶剂,在不同超声频率 25、40、25 和 40 KHz 的条件下,其他超声提取条件及操作步骤同 2.3.1,研究超声频率对辣椒素类物质得率的影响。

(5) 时间对辣椒素类物质得率的影响

根据上述试验确定的较佳粉碎粒径、溶剂、料液比、超声频率,称取 1 g 辣椒,置于 50 mL 的锥形瓶

中,其他超声提取条件及操作步骤同 2.3.1,研究超声频率对辣椒素类物质得率的影响。

2.3.3 精密度试验

按优化后的辣椒预处理工艺提取辣椒素与二氢辣椒素,重复测定 6 次,计算平均值、标准偏差和相对标准偏差。

2.3.4 重复性试验

准确称取 6 份平行辣椒样品,按优化后的辣椒预处理工艺提取其中的辣椒素及二氢辣椒素,分别测定辣椒素和二氢辣椒素含量,计算平均值、标准偏差和相对标准偏差。

2.3.5 加标回收率试验

准确称取已知辣椒素和二氢辣椒素含量的平行辣椒样品 6 份,分别加入 1 mg/mL 混标溶液各 1、2、4 mL,计算回收率。计算公式如下:

表 1 不同辣味区段称取的辣椒质量

辣味区段	A'	B'	C'	D'	A	B	C	D	E	F
测试质量/g	10.000	5.000	2.000	1.000	0.500	0.250	0.100	0.050	0.050	0.050

注:辣味区段 A'-F 表示辣味由弱至强。

将无水乙醇用双重蒸馏水配成乙醇溶液,体积分数为 95%,称取蔗糖配成浓度为 50 g/L 蔗糖水溶液。用 95% 的乙醇提取辣椒,制备提取液。根据上述选定的位于中间的辣味区段,参照附录 A 或 B 移取对应体积的提取液,按体积从大到小的顺序用 50 g/L 蔗糖溶液稀释;选取 3 个连续辣味区段的中间区段的中部,按对应的体积移取 95% 的乙醇,用 50 g/L 蔗糖溶液稀释后为空白液。随机挑选本实验室的 5 位研究生同学作为感官评定小组的成员,要求参加的同学几乎不吃辣椒或对辣椒很敏感。要求小组成员至少在 1 个小时前不吃东西才能进行品评,且至少 1 个半小时前没吃过任何含有辣味的食物。

5 人品评小组中至少有 4 人都没有感觉到比空白提取液强的辣的刺激为止,此时体积为最小样液量,将它作为后续稀释液的起点体积,并选择随后相邻的 5 个移液体积,用 95% 的乙醇定容到 50 mL 容量瓶,并编号为 a-f。

将空白液连同 6 个稀释液为一组,供给品评小组的成员品评,品评员按照由稀到浓的顺序,按照要求进行品评。当至少有 3 位的品评小组的成员同时认为其中一个品评液具有辣味,并且至少有 4 位小组成员认为最后一个品评液 f 具有辣味,以确定的辣味区段和品评液移取的体积为依据,查阅附录 A

$$P = \frac{m_2 - m_1}{m_3} \times 100\%$$

式中:

P 为加标回收率; m_1 为辣椒素或二氢辣椒素的质量; m_2 为加标的质量; m_3 为辣椒的质量。

2.3.6 辣椒辣度的 Scoville 感官评定法

参照国标 GB/T 21265—2007《辣椒辣度的感官评价方法》^[6]。干辣椒用高速万能粉碎机粉碎,过 40 目筛后均匀取样。根据 HPLC 法测定辣椒的含量换算得到的 Scoville 指数值,计算其稀释倍数,找到辣椒的辣度所在的区段,将所在的区段选为中间辣度区段,并选择相邻的 2 个辣味区段,每种辣椒选取 3 个连续的辣味区段,按表 2.1 称取测试辣椒粉的质量。(如表 1 所示)

或 B,找出该品评液对应稀释倍数,并以此计算并确定 Scoville 指数。

A'-D'辣味区段的 Scoville 指数为稀释倍数的数值;A-F 辣味区段的 Scoville 指数为 1 000 倍的稀释倍数的数值。

3 结果与讨论

3.1 超声辅助提取辣椒中辣椒素及二氢辣椒素工艺优化

3.1.1 辣椒粒径对辣椒素类物质得率的影响

辣椒粒径对辣椒素及二氢辣椒素得率的影响见表 2。由表 2 看出随着辣椒粒径减小,辣椒素和二氢辣椒素的得率增加,辣椒粒径为 120 目筛时,得率达到最大值。辣椒粒径越小,表明细胞破碎率越大,辣椒颗粒的比表面积越大,使提取溶剂接触更充分,利于超声提取^[7]。辣椒粒径继续减小,得率的增加趋势变缓,这可能是由于在粉碎过程中,粉碎粒径越小,产生的表面效应越大,表面能的作用使得辣椒粉末颗粒聚集成团^[8],在后续的离心分离的步骤中,需要更大的转速。越小的粉碎粒径对设备的要求较高,筛分所需的时间会更长。综合考虑,选取过 100 目筛的辣椒粉进行后续试验。

3.1.2 溶剂种类对辣椒素类物质得率的影响

不同溶剂对辣椒素类物质得率的影响见图 1 和

表 2 辣椒粒径对辣椒素及二氢辣椒素得率的影响

筛目数	辣椒素含量/(mg/g)	二氢辣椒素含量/(mg/g)
20	1.40 ± 0.69 ^f	0.69 ± 0.03 ^e
40	2.70 ± 0.02 ^e	1.26 ± 0.01 ^d
60	2.80 ± 0.01 ^d	1.32 ± 0.01 ^d
80	3.01 ± 0.01 ^c	1.44 ± 0.06 ^c
100	4.62 ± 0.07 ^b	2.08 ± 0.02 ^b
120	5.48 ± 0.01 ^a	2.57 ± 0.01 ^a

注:同一列数据中,不同字母表示差异显著($P \leq 0.05$)。

图 2。由图 1 和图 2 看出,将甲醇溶液作为提取溶剂时,随着甲醇的体积分数的增加,辣椒素和二氢辣椒素的得率增加,甲醇浓度为 60% 时,得率最大,分别为 4.01 和 2.53 mg/g,甲醇浓度超过 60% 时,辣椒素类物质的得率逐渐下降;使用乙醇溶液提取辣椒素与二氢辣椒素,当乙醇浓度为 60% 时得率最大,分别为 4.53 和 2.68 mg/g,与甲醇相比,提取的辣椒素类物质更多;使用甲醇—四氢呋喃为溶剂时,与用 60% 浓度乙醇提取的得率非常接近,但提取效果比单独用一种溶剂好,得率分别为 4.54 和 2.66 mg/g。

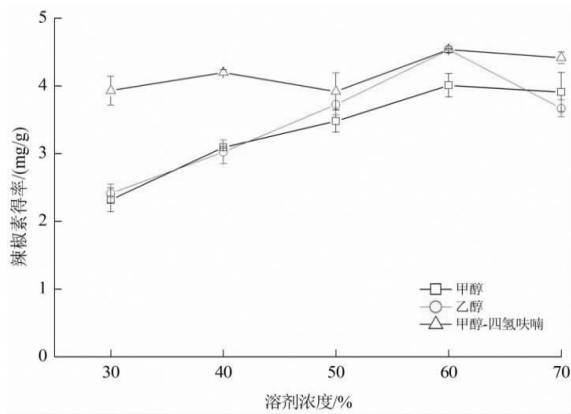


图 1 甲醇—四氢呋喃、甲醇、乙醇浓度对辣椒素得率的影响

由于溶剂的极性不同,提取溶剂浓度和组分变化时,整个溶液的极性也在变化^[9],达到某一浓度时,提取溶剂的极性和黏度比较利于辣椒素和二氢辣椒素的提取。甲醇、乙醇、四氢呋喃、水纯溶剂的黏度比较接近,分别为 0.6、1.2、0.55、1 mPa·s;4 种溶剂的介电常数值为 32.7、24.5、7.39、80 F/m^[10]。单独采用甲醇、乙醇的水溶液提取时,提取液浑浊且黏度大,辣椒素和二氢辣椒素提取困难,离心分离步骤需要的转速较高、时间更长。辣椒素和二氢辣椒素为脂溶性化合物,极性相对较弱,以极性较小的溶剂提取较为合适;另外,超声提取时,随着甲醇、乙醇浓度的提高,提取液中干扰色素、蛋白质的浸出量明

显增加,造成分离困难、降低得率。用复合溶剂甲醇—四氢呋喃要优于单独用甲醇或乙醇,四氢呋喃脂溶性好,极性比甲醇、乙醇小,所以提取效果要比其他溶剂更好。四氢呋喃与甲醇混合后,提取溶液澄清,辣椒素和二氢辣椒素的色谱峰能分开,无拖尾。综合考虑溶液消耗量、提取效果,60% 的甲醇—四氢呋喃为较佳提取溶剂。

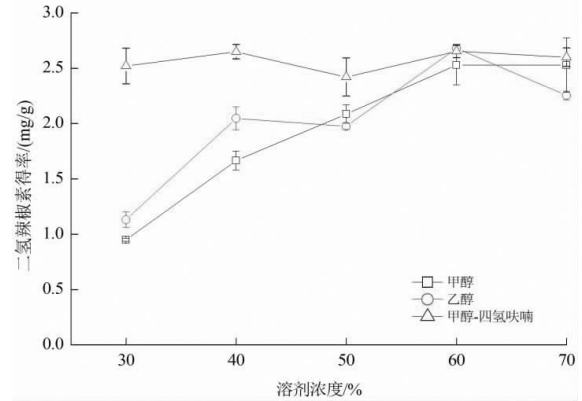


图 2 甲醇—四氢呋喃、甲醇、乙醇浓度对二氢辣椒素得率的影响

3.1.3 料液比对辣椒素类物质得率的影响

料液比对辣椒素类物质得率的影响见图 3。从图 3 看出料液比为 1:10 时,辣椒素和二氢辣椒素的得率最大,分别为 5.14 mg/g 和 3.26 mg/g。继续增大提取溶剂的体积,辣椒素和二氢辣椒素的得率缓慢降低。其原因可能为,料液比越大,辣椒素类物质浓度较大,辣椒粉与溶液的接触比较充分,并且细胞内外的溶质浓度相差较大,较大的浓度差产生的推动力也大,加速了辣椒素物质的扩散、渗透作用^[11],能加速提取过程,使得率较高。料液比 1:10 时,提取辣椒素和二氢辣椒素已经较为充分,固液交换基本完成,如果继续增加提取液的体积,会稀释溶液浓度,降低得率。综合考虑,选取 1:10 作为较佳料液比。

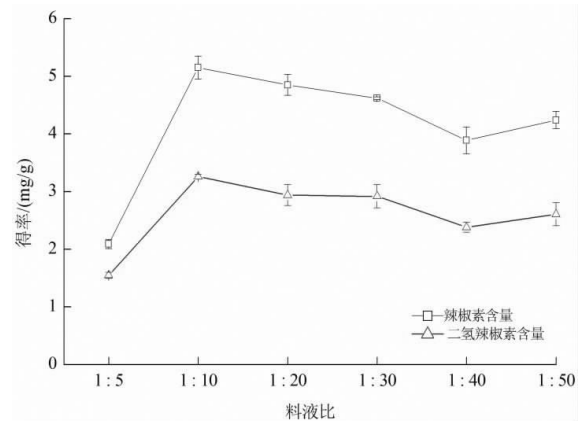


图 3 料液比对辣椒素及二氢辣椒素得率的影响

3.1.4 超声频率对辣椒素类物质得率的影响

超声频率对辣椒素类物质得率的影响见表 3。由表 3 可知当超声频率为 25 KHz 和 40 KHz 单独作用时,辣椒素和二氢辣椒素的含量较低,且 40 KHz 的超声波的得率大于 25 KHz;两种超声频率同时作用时,含量分别为 4.55 mg/g 与 2.89 mg/g。在同一超声功率下,超声频率越大,辣椒素和二氢辣椒素的得率也越大。超声波具有空化效应、热效应、机械效应,能产生瞬时的高温高压,具有较高的能量,具有粉碎、搅拌、乳化等特殊作用^[12]。因此,随着超声频率增加,超声波对辣椒的组织结构、细胞壁和细胞壁的破碎作用逐渐增强,溶剂更容易渗透到辣椒颗粒的内部,细胞内的辣椒素和二氢辣椒素溶出量增大,得率也就相应地增大。

表 3 超声频率对辣椒素及二氢辣椒素得率的影响

超声频率/KHz	辣椒素含量/(mg/g)	二氢辣椒素含量/(mg/g)
25	4.16 ± 0.19 ^b	2.58 ± 0.18 ^a
40	4.34 ± 0.06 ^b	2.73 ± 0.15 ^a
25 + 40	4.55 ± 0.17 ^a	2.89 ± 0.21 ^a

注:同一列数据中,不同字母表示差异显著($P \leq 0.05$)。

3.1.5 时间对辣椒素类物质得率的影响

时间对辣椒素类物质得率的影响见上图 4。由图 4 可知,超声提取时间为 20-50 min 时,超声提取的时间增加,辣椒素类物质得率随之增大;当提取时间达到 30 min 后,得率增加趋势变平缓;超声时间在 50 min 时,辣椒素类物质的提取量达到最大,得率分别为 6.36 和 3.88 mg/g,而当提取时间在 50-60 min 时,随着超声时间延长,辣椒素类物质的得率降低。由于提取时间的足够长,保证了提取溶剂与辣椒粉末接触作用的时间,并加强了细胞壁和纤维组织的破坏作用,利于植物细胞内物质的释放、扩散及溶解,从而保证了较高的得率^[13]。当提取时间足够长时,辣椒素类物质在提取液中已达到了平衡,继续增加提取时间,辣椒素类物质含量的增加不大。而提取时间过长时,长时间的加热会使得辣椒细胞组织结构干缩,并造成溶剂的挥发,不利于辣椒素类物质的释放。超声波有较强的机械剪切力,超声时间过长,会对已溶出的辣椒素类化合物产生较强的破坏作用,导致辣椒素类物质的损失,综合考虑,选择提取时间为 50 min。

3.2 精密度试验

精密度试验结果见表 4。由表 4 可知 HPLC 法测定辣椒中辣椒素的 RSD 为 1.80%,二氢辣椒素的

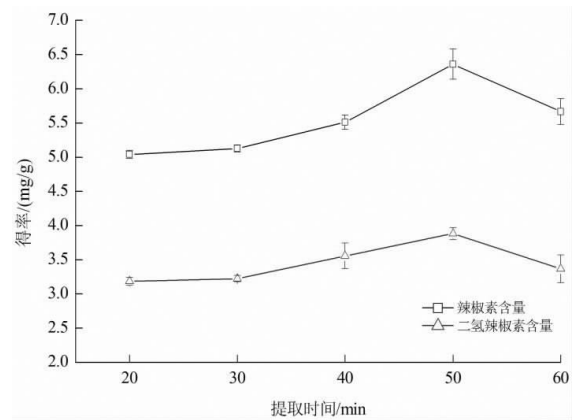


图 4 提取时间对辣椒素及二氢辣椒素得率的影响
RSD 为 2.46%,相对误差均小于 5%,表明该方法的精密度良好。

表 4 HPLC 法的精密度 (n = 6)

提取次数	辣椒素含量/(mg/g)	二氢辣椒素含量/(mg/g)
1	2.69	0.28
2	2.77	0.29
3	2.80	0.28
4	2.82	0.30
5	2.74	0.27
6	2.68	0.29
平均值	2.75	0.29
标准差	0.06	0.01
相对标准偏差/%	2.08	3.67

3.3 重复性试验

重复性试验结果见表 5。由表 5 可知 HPLC 法测定辣椒中辣椒素的 RSD 为 2.53%,二氢辣椒素的 RSD 为 3.80%,相对标准偏差较小,表明该方法的重复性良好。

表 5 HPLC 法的重复性 (n = 6)

卤水编号	辣椒素含量/(mg/g)	二氢辣椒素含量/(mg/g)
1	2.73	0.32
2	2.69	0.31
3	2.57	0.28
4	2.76	0.33
5	2.54	0.29
6	2.58	0.30
平均值	2.65	0.30
标准差	0.09	0.02
相对标准偏差/%	3.52	5.58

3.4 加标回收率试验

表 6 辣椒素的加标回收率 (n=2)

辣椒素含量 /(mg/g)	加标量 /mg	测定量 /(mg/g)	平均回收 率/%
2.71	2	4.55	91.62
	2.5	5.15	97.49
	3	5.52	93.64

HPLC 法测定辣椒中辣椒素的加标回收率试验结果见上表 6。由表 6 可知辣椒素的平均加标回收率范围为 96.67-98.41%,回收率较高,该方法的回收率良好,试验结果准确可靠。

表 7 二氢辣椒素的加标回收率 (n=2)

二氢辣椒素 含量/(mg/g)	加标量 /mg	测定量 /(mg/g)	平均回收 率/%
0.3	0.2	0.48	90.79
	0.3	0.59	95.34
	0.4	0.68	94.33

表 8 6 种辣椒的辣度

辣椒品种	辣椒素含量 /(mg/g)	二氢辣椒素含量 /(mg/g)	HPLC 法测定辣度 /SHU	感官评定法测定辣度 /SHU
A	1.30±0.02	0.98±0.05	36 708	34 000
B	1.37±0.01	0.99±0.01	37 996	37 000
C	1.62±0.01	0.96±0.02	41 538	45 000
D	1.86±0.19	1.55±0.23	54 901	50 000
E	3.20±0.11	2.28±0.01	88 228	80 000
F	1.07±0.01	1.07±0.05	34 454	31 000

注:A-水临门朝天椒;B-友佳朝天椒辣干;C-厨大哥小米辣;D-味达佳辣椒;E-尖辣椒;F-干辣椒。

乙醇的静置的方法提取的辣椒素,而 HPLC 法的预处理方法为超声辅助法,预处理方法的不同对辣椒素含量造成了影响,导致了 Scoville 指数的差异。另外,感官评价法受到个体差异和环境因素的影响较大,不同个体对辣味的感觉还受到其他味觉的影响。

4 结论

HPLC 法测定辣椒中的辣椒素和二氢辣椒素的前处理的较佳条件为:辣椒粒径 100 目,60% 甲醇—四氢呋喃,料液比 1: 10,超声频率 25 和 40 KHz 同时作用,温度 60 ℃,时间 50 min。该方法具有良好的线性范围,精密度、重复性良好,辣椒素和二氢辣椒素的加标回收率分别为 96.67- 98.41% 和 94.12-98.69%。HPLC 法测定辣椒的辣度快速、准确、可

HPLC 法测定辣椒中二氢辣椒素的加标回收率试验结果见上表 7。由表 7 可知二氢辣椒素的平均加标回收率的范围为 94.12-98.69%,回收率较高,该方法的回收率良好,试验结果准确可靠。

3.5 不同品种辣椒的辣度分析

以市售 6 种干辣椒为原料,按照 2.3.2 中的感官评价方法,以 2.3 中单因素实验优化确定的较佳提取条件,进行超声辅助提取辣椒素与二氢辣椒素,HPLC 法测定辣度与感官评价法的辣度测定结果比较,以验证建立的 HPLC 分析方法的准确性。

HPLC 法测定 6 种辣椒的辣度的结果见表 8。根据表 8 将 6 中辣椒按 Scoville 指数从大到小排列,辣度顺序为 E、D、C、B、A、F,辣度范围为 34 454-88 228 SHU。感官评价法测定得到的辣椒辣度的强弱顺序与 HPLC 法一致,Scoville 指数范围为 31 000-80 000 SHU。与感官评价法相比,HPLC 法测定的辣椒素含量偏高,这可能是由于感官评价法采用加入

靠,与感官评定法测定的辣度结果一致。

参考文献:

[1] Kuzma M, Fodor K, Maasz G, et al. A validated HPLC-FLD method for analysis of intestinal absorption and metabolism of capsaicin and dihydrocapsaicin in the rat[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2015 (103):59-66.

[2] Chuichulcherm S, Prommakort S, Srinophakun P, et al. Optimization of capsaicin purification from Capsicum frutescens Linn. with column chromatography using Taguchi design [J]. Industrial Crops and Products, 2013 (44), 473-479.

(下转第 24 页)

酵母菌,且 1 号菌在发酵过程中产酸能力较低,酿造出的南瓜酒口感更佳,因此,1 号菌株是一株优良的南瓜酒酿造酵母。下一步将以 1 号酵母作为南瓜酿酒酵母,并对其发酵工艺进行优化,为南瓜酒的酿造提供理论参考。

参考文献:

- [1] 卢丽芳,朱海生,温庆放,等. 南瓜种质资源遗传多样 SRAP 分析[J]. 热带作物学报. 2015, 36(12):2142-2148.
- [2] 刘宏伟,朱乾华,谢华林. 南瓜子中微量元素的组成研究[J]. 食品科技,2012,37(11):67-69.
- [3] Mi Y, Eun J, Young-Nam, et al. Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (Cucurbitaceae) species and parts [J]. Nutrition Research and Practice, 2012,6(1):21-27.
- [4] 张高帆,苏东洋,张拥军,等. 南瓜多糖对不同糖尿病模型小鼠的降糖作用[J]. 中国食品学报,2014,14(2):24-26.
- [5] 黄儒强,郭倩玉,陈杰,等. 南瓜酒发酵工艺条件的研究[J]. 食品科学,2007,28(8):227-230.
- [6] 张靖媛,王成荣,杨绍兰,等. 响应面分析法优化南瓜酒发酵工艺条件[J]. 食品科学,2012(5):213-217.
- [7] 张靖媛,吴昊,王凤舞,等. 南瓜酒抗氧化活性及其 Vc、多酚和多糖含量的关系[J]. 食品科学,2013,34(1):78-85.
- [8] 郝瑶,王陶,李文,等. 富硒猕猴桃果酒酵母的筛选及鉴定[J]. 食品科学,2014,35(1):175-179.
- [9] LAMBRECHTS M G, PRETORIUS I S. Yeast and its importance to wine aroma: a review[J]. South African Journal of Enology and Viticulture, 2000, 21(1): 97-129.
- [10] 赵祥杰,杨荣玲,肖更生,等. 桑椹果酒专用酵母的筛选及鉴定[J]. 中国食品学报,2008,8(1):60-66.
- [11] 安冬梅,孟长军,孙爱红. 南瓜酒加工工艺研究[J]. 北方园艺,2012(15):166-168.
- (上接第 19 页)
- [3] Alvarez A P, Maya E R, Suarez L A . Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(14): 2843-2847.
- [4] 周宝磊,董新荣. 辣椒素类物质的研究进展[J]. 化工中间体,2010(9):16-21.
- [5] 中国国家质量监督检验检疫总局. 辣椒及辣椒制品中辣椒素类物质测定及辣度表示方法:GB/T 21266-2007. 北京:中国标准化出版社,2008. 3.
- [6] 中国国家质量监督检验检疫总局. 辣椒辣度的感官评价方法:GB/T 21265-2007. 北京:中国标准化出版社,2007. 12.
- [7] 陈旭华. 酱卤肉制品定量卤制工艺研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.
- [8] 黄婷. 辣椒加工制品溶出与肠道微生物体外发酵特性[D]. 华中农业大学,2013.
- [9] 朱书平,李添宝. 高效液相色谱法测定辣椒碱[J]. 湖南师范大学自然科学学报,2005,28(4):63-66.
- [10] Smallwood I M. Handbook of organic solvent properties [M]. US: John Wiley & Sons Inc 1966.
- [11] 刘佳,李琼,黄惠芳,周汉林,周璐丽. 海南黄灯笼辣椒油树脂的超临界 CO₂ 提取工艺优化及 GC-MS 分析[J]. 广东农业科学,2015(6):80-87.
- [12] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:2570.
- [13] Hemwimon S., Pavasant P., Shotipruk A. Microwave-assisted extraction of antioxidative antraquinones from roots of *Miranda citrifolia* [J]. Separation and Purification Technology, 2007, 54: 44-50.