

HPLC 法测定麻辣火锅底料中辣椒碱含量

屠大伟,李沿飞

(重庆市计量质量检测研究院,重庆 400020)

摘要:笔者为明确辣椒碱消费程度,保证麻辣火锅底料产品质量,研究了麻辣火锅底料中辣椒碱含量的测定方法。采用 ODS 色谱柱,检测波长为 280nm,以甲醇和水为流动相进行梯度洗脱,测定了麻辣火锅底料中的辣椒碱含量。结果显示,清油火锅底料中辣椒碱含量为 0.068mg/g,牛油火锅底料中辣椒碱含量为 0.077mg/g,方法加样平均回收率为 101.85%和 102.69%。

关键词:麻辣火锅底料;辣椒碱;HPLC

中图分类号:TS207.3 **文献标识码:**A

Determination of Capsaicin in Spicy Hot Chafing Dish by HPLC

Tu Dawei, Li Yanfei

(Chongqing Academy of Metrology and Quality Inspection, Chongqing 400020)

Abstract: The paper studied the method of determination of Capsaicin in Spicy Hot Chafing Dish to define the consumed degree of capsaicin and guarantee the quality of Spicy Hot Chafing Dish. The method was established to determine capsaicin in spicy hot chafing dish by HPLC. ODS column was used, with mixtures of acetonitrile and water as mobile phase in a gradient mode. The wavelength of measurement was at 280nm. The results showed that the contents of capsaicin in samples were 0.068mg/g and 0.077mg/g, the recoveries were 101.85% and 102.69% for the samples respectively.

Key words: spicy hot chafing dish, capsaicin, HPLC

中国是火锅的故乡,火锅作为一种传统的饮食方式,受到越来越多的消费者的青睐。随着行业的发展,火锅文化作为中国的传统文化正在中国蓬勃发展,而火锅的发展离不开火锅底料的发展,火锅底料对火锅的发展起到了巨大的推动作用。

辣椒作为麻辣火锅底料主要辣味原料,辣味物质的含量直接关系到底料辣味的强弱和口感。辣椒中的辣椒素主要有 5 种,分别为:辣椒素、二氢辣椒素、降二氢辣椒素、高辣椒素、高二氢辣椒素。辣椒素和二氢辣椒素二者约占辣椒素总量的 90%,也提供了约 90%的辣感和热感,其含量高低直接影响辣椒及辣椒制品的辣度。辣椒素含量的测定方法很多^[1-5],笔者利用 HPLCFA 火锅底料中的辣椒碱含量进行了测定,为提高火锅底料生产水平提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验于 2008 年在重庆市质量计量检测研究院进行。

1.2 主要材料

牛油火锅底料、清油火锅底料。辣椒碱、二氢辣椒碱混合对照品(辣椒碱含量为 76%)由西南大学药学院药化教研室提供。

1.3 仪器与设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪,二极管阵列检测器(DAD),超声波清洗机,均质机和旋转蒸发器。

1.4 试验方法

1.4.1 标准溶液的配制 精密称定辣椒碱与二氢辣椒碱混合对照品 10mg,置 10ml 容量瓶中,加甲醇使溶解

第一作者简介:屠大伟,男,1977 年出生,内蒙古通辽市人,工程师,博士,研究方向为农产品贮藏及加工工程。通信地址:400020 重庆市江北区观音桥小苑二村 2 号重庆市计量质量检测研究院。Tel:023-89232101,E-mail:weidatufu@163.com。

通讯作者:李沿飞,男,1956 年出生,重庆市江北区人,硕士,高级工程师,研究方向为分析化学。通信地址:400020 重庆市江北区观音桥小苑二村 2 号重庆市计量质量检测研究院。Tel:023-89232101,E-mail:ff_ly2001@hotmail.com。

收稿日期:2008-06-08, **修回日期:**2008-07-10。

并稀释至刻度,精密吸取一系列不同浓度标准溶液,甲醇稀释至刻度,以备制作标准曲线。

1.4.2 样品处理^[6] 样品均质后,称取 10.000g 火锅底料样品于 100ml 烧杯中,加入甲醇+四氢呋喃(50+50)混合溶液 50ml,用保鲜膜封口后放在 60℃ 水浴条件下,使用超声波清洗器提取 30min,用滤纸过滤,收集滤液。然后,将滤渣连同滤纸重新用甲醇+四氢呋喃(50+50)混合溶液 50ml,使用超声波清洗器提取 10min,再重复 1 次。将 3 次过滤收集的滤液合并用旋转蒸发器在 70~75℃ 温度下浓缩至 40~50ml,再用甲醇+四氢呋喃(50+50)混合溶液定容至 50ml,经 0.45μm 滤膜过滤后,备检。

按照上述方法,牛油底料需融化后趁热均质,冷却后称量,提取后放置在冰箱中 2h,离心 5min,倾出上清液,再定容。

1.4.3 色谱条件^[7]

柱子:Agilent ODS 柱(250mm×4.6mm, 5μm);流动相:A 水,B 乙腈;检测波长:280nm;流速:1.0ml/min;记录时间:40min;进样量:20μl(标样 10μl)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线绘制

按照 1.4.3 色谱条件测定各浓度辣椒碱峰面积。以

峰面积积分值为纵坐标,对照品溶液浓度为横坐标绘制标准曲线,结果辣椒碱标准曲线为 $y=4.225x+11.62$ ($R^2=0.998$),线性范围为 3.8~76μg/ml,色谱图如图 1。

2.2 麻辣火锅底料中辣椒碱含量的测定

按照 1.4.3 色谱条件对 2 种麻辣火锅底料进行测定。测定结果与标准图谱进行对照,记录峰面积,代入标准曲线方程,算出提取液浓度,按照下列公式,计算辣椒碱含量。

$$X = \frac{C \times V}{2 \times 1000M}$$

X—辣椒碱含量(mg/g);C—提取液浓度(μg/ml);V—提取液体积(ml);M—样品质量(g)。

麻辣火锅底料中辣椒碱含量测定结果如表 1。

表 1 麻辣火锅底料中辣椒碱含量

样品名称	辣椒碱 / (mg·g ⁻¹)
牛油火锅底料	0.077
清油火锅底料	0.068

图 1 所示,辣椒碱和二氢辣椒碱在此色谱条件下可以很好的分离,利用此条件可以测定辣椒碱的含量。

试剂空白如图 2,清油火锅底料色谱图如图 3,牛油火锅底料色谱图如图 4。

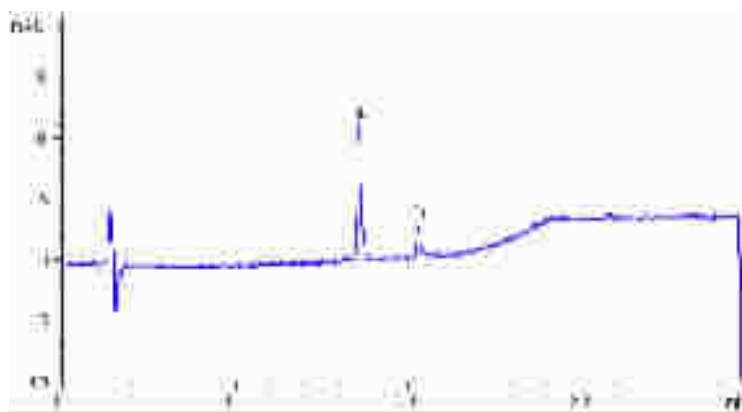


图 1 辣椒碱和二氢辣椒碱混合对照品 HPLC 图谱

注:a 为辣椒碱;b 为二氢辣椒碱。下同。

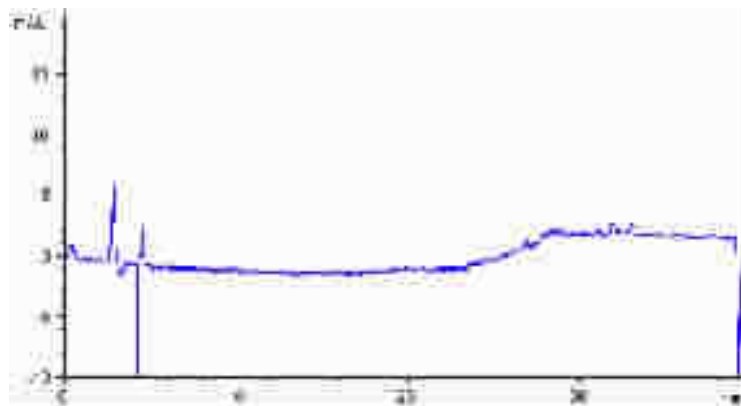


图 2 提取试剂空白

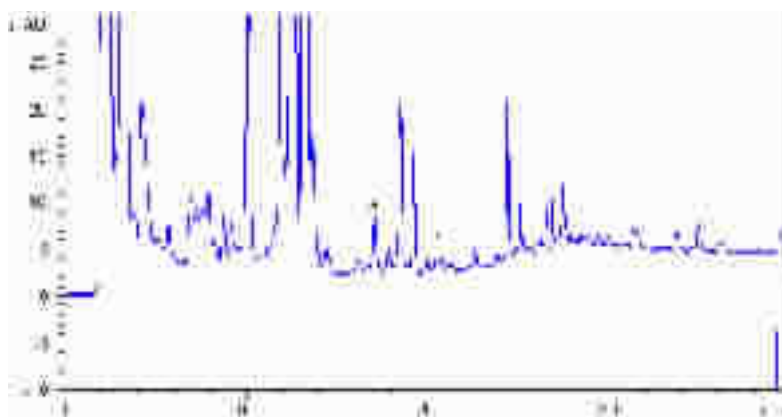


图3 清油火锅底料提取液 HPLC 图谱

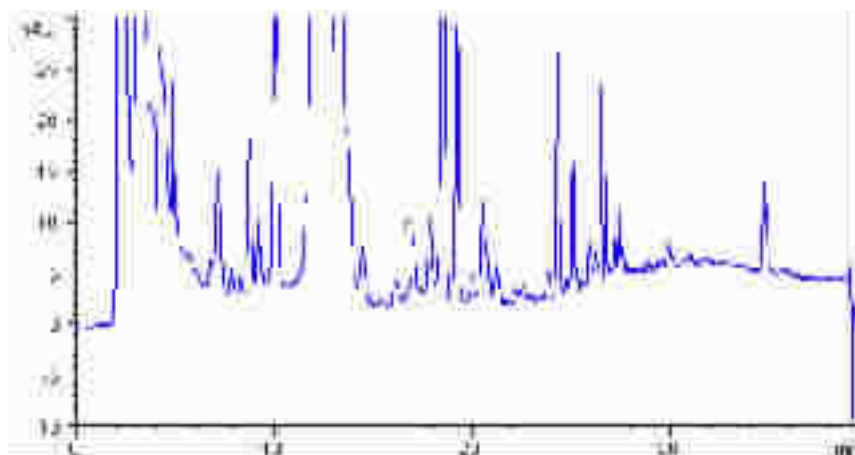


图4 牛油火锅底料提取液 HPLC 图谱

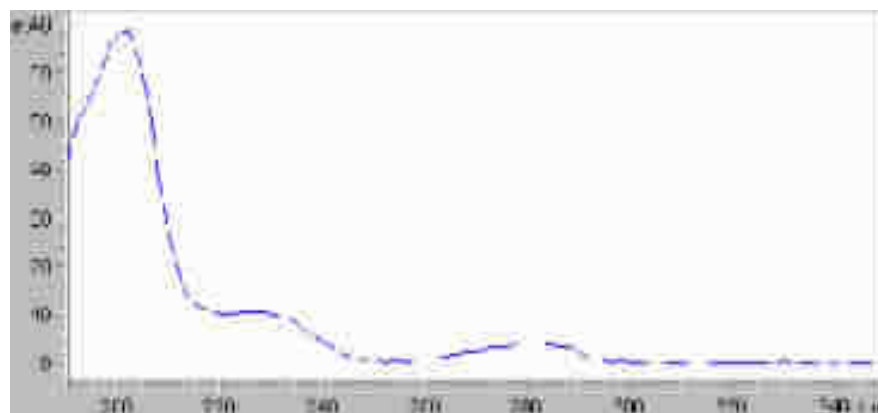


图5 辣椒碱紫外扫描图谱

试剂空白图谱显示, 试剂对辣椒碱测定无影响, 试剂空白图谱如图2。图3、图4显示清油火锅底料和牛油底料, 在上述色谱条件下, 可以将辣椒碱充分分离开, 可以达到测定的目的。由于在底料样品中相近的物质很多, 根据保留时间和采用紫外扫描图谱进行确认辣椒碱组分的确认, 紫外扫描图谱如图5。

2.3 精密度试验

取同一浓度对照品溶液, 按照色谱条件, 在一天内

分别进样6次, 计算进样精密度。结果辣椒碱的进样精密度(RSD)为0.002mg/g, 说明辣椒碱在24h内稳定。

2.4 重复性试验

取牛油火锅底料样品, 按色谱条件, 测定6次, 考察重复性, 结果辣椒碱的RSD分别为0.003mg/g。

2.5 回收率试验

于已知含量的样品中加入辣椒碱对照品, 按照含量测定方法测定, 计算加样回收率, 结果平均加样回收率如表2、表3。结果显示此方法确实可行。

表 2 清油底料中辣椒碱回收率试验结果

样品中测定值 /mg	加入量 /mg	加入量 /mg	回收率 /%	X/%	RSD/%
0.69	0.65	1.38	106.15		
0.67	0.65	1.37	107.69		
0.68	0.65	1.31	96.92	101.85	6.10
0.66	0.65	1.34	104.62		
0.68	0.65	1.29	93.85		

表 3 牛油底料中辣椒碱回收率试验结果

样品中测定值 /mg	加入量 /mg	实测值 /mg	回收率 /%	X/%	RSD/%
0.77	0.72	1.51	103.21		
0.78	0.72	1.55	106.41		
0.76	0.72	1.46	97.42	102.69	3.31
0.77	0.72	1.51	102.34		
0.79	0.72	1.54	104.06		

3 讨论

3.1 麻辣火锅底料的原料中辣椒、蒜、姜和花椒均呈辣味。辣椒其辣味成分的主要化合物为辣椒素、二氢辣椒素和降二氢辣椒素等辣椒碱类物质；新鲜姜的辣味成分是一类邻甲氧基酚基烷基酮，其中最具活性的为 6-姜醇(姜辣素)，鲜姜经干燥储存，6-姜醇脱水生成更为辛辣的姜酚类化合物，但受热时，会生成姜酮，其辛辣味较为缓和。蒜的主要辣味成分为蒜素、二烯丙基二硫化物、丙基烯丙基二硫化物 3 种，二硫化物在受热时都会被还原而生成相应的硫醇，而硫醇甜味较强。花椒其主要辣味成分为花椒素，它是不饱和酰胺化合物，此外还有少量异硫氰酸烯丙酯等^[8]。麻辣火锅底料中，辣椒的使用量是所有呈辣原料中最高的，经高温处理后姜和蒜中的辣味物质基本失去辣味，而花椒主要提供麻味感，所以可以将辣椒碱类物质的含量作为麻辣火锅底料辣味指标进行评定。

3.2 火锅底料中除辣椒碱外，还含有二氢辣椒碱可以检测，但由于笔者确定方法，二氢辣椒碱不能与其他物质达到很好分离，所以还需要进一步的进行研究。

3.3 麻辣火锅底料按照使用油脂不同可分为动物油和植物油两类，而采用牛油加工而成的火锅底料在常温下呈固体，无法捣碎或均质，只有先将底料融化后，趁热均质后再取样，保证取样的均匀性。

3.4 虽然火锅底料加工工艺简单，但添加多种调味料，组成复杂，这给辣椒碱的测定造成了一定的困难。按照

文献^[2]中辣椒碱 HPLC 测定方法，杂质干扰较大，无法测定底料中的辣椒碱的含量。所以，采用梯度洗脱的方式将杂质与辣椒碱明显分开，达到测定的目的。

参考文献

- [1] Nikolaeva D A. Use of a spectrophotometric method for the quantitative determination of capsaicin in pepperbreeding by chemical composition[J]. Chemical Abstract,1983,99:19097C.
- [2] Technical Committee ISO/TC,Agricultural food precuts,Sub-Committee SC 7,Spices and condiments.ISO 7453-1-1993,Chillies and Chileoresins- Determination of total capsaicinoid content-Part 1: Spectrometric Method.Switzerland:International Organization for Standardization,1993.
- [3] Iwai K Simultaneous microdetermination of capsaicin and its four analogues by high-perfrmance liquid chromatography [J].J Chromatogr,1979,172(2): 303-311.
- [4] Lee K R Quantitative microanalysis of capsaicin dihydrocapsaicin and nordihydrocapsaicin using mass framentography [J].J Chromatogr,1976,123(2):119.
- [5] Pankar D S New method for the determination of capsaicin by using multi-band thin layer chromatography [J].J Chromatogr,1977,144(2): 149-152.
- [6] 湖南农业大学,辣妹子食品股份有限公司.DB43/T275-2006,辣椒素测定及辣度表示方法.湖南:湖南省技术监督局,2006.
- [7] 陈燕,蔡同一,付立,等.用改进的高效液相色谱法(HPLC)测定姜中姜辣素[J].食品科学,2001,22(4):60-63.
- [8] 苏扬. 川菜辣味调料中辣味物质的研究. 中国调味品,2000,(10): 29-31.