

The Technology of Extracting and Separating Capsaicin from Capsicum

Chao Zhang¹, Liangfeng Niu^{1*}, Wei Liang², Cheng Liu³, Zhenyu Chen³

¹College of Chemistry and Chemical Engineering, Xuchang University, Xuchang Henan

²College of Advanced Materials and Energy, Xuchang University, Xuchang Henan

³Xuchang Ancheng Biotechnology Co., Ltd., Xuchang Henan

Email: hnbfnlf@126.com

Received: Feb. 27th, 2019; accepted: Mar. 13th, 2019; published: Mar. 20th, 2019

Abstract

In this paper, the extraction technology and refining process of capsaicin from capsicum were studied. Based on the analysis of capsaicin, the four-step production processes were established, which includes pretreatment, extraction, purification and crystallization. The extraction process of capsaicin was researched by the orthogonal design, and the best conditions were using 70% ethanol as extraction agent, liquid mass ratio of 1:4, temperature 65°C, and stirring for 2 hours. The obtained capsaicin has few impurities and high purity. The content of the target compounds is more than 95%, which is better than the regulations of the United States pharmacopoeia USP40-NF35 (2017) on the purity of capsaicin. The extraction and refining process is simple, feasible and efficient, which provides a new way for the industrial production of natural solid high purity capsaicin.

Keywords

Capsaicin, Orthogonal Design, Solid High-Purity, Extraction Technology, Refining Process

从辣椒中提取分离高纯度辣椒碱的工艺研究

张超¹, 牛亮峰^{1*}, 梁玮², 刘成³, 陈振宇³

¹许昌学院化学化工学院, 河南 许昌

²许昌学院新材料与能源学院, 河南 许昌

³许昌安成生物科技有限公司, 河南 许昌

Email: hnbfnlf@126.com

收稿日期: 2019年2月27日; 录用日期: 2019年3月13日; 发布日期: 2019年3月20日

*通讯作者。

摘要

本文对辣椒中辣椒碱的提取和精制工艺进行了研究。通过对辣椒碱性质的分析,建立了前处理、提取、除杂、结晶四步生产工艺。并使用正交法对辣椒碱的提取工艺进行了详细研究,最佳的条件为以70%乙醇为萃取剂,料液质量比为1:4,在65℃下,搅拌提取2小时。获得的辣椒碱杂质少,纯度高,含量大于95%,优于美国药典USP40-NF35 (2017)对辣椒碱纯度的规定。本提取和精制工艺,方法简单、可行,提取效率高,为天然高纯辣椒碱的工业化生产提供了新途径。

关键词

辣椒碱, 正交法, 固态高纯, 提取工艺, 精制工艺

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

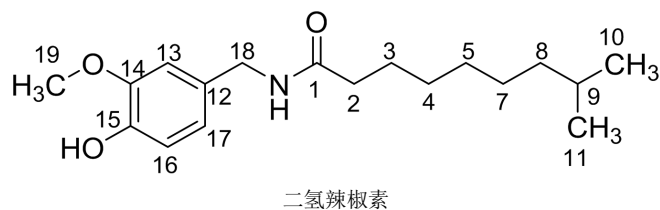
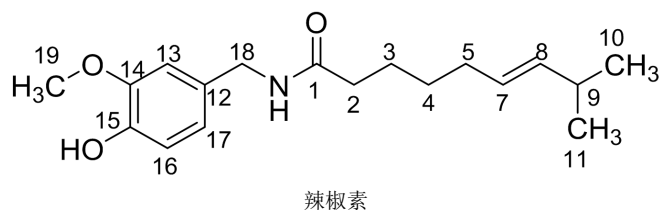
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

辣椒中引起辛辣的物质是辣椒碱,它是一类含香草酰胺结构的生物碱,包含辣椒素、二氢辣椒素、降二氢辣椒素等五类主要成分[1][2]。辣椒碱为白色针状晶体,熔点范围为57℃~66℃,沸点范围为210℃~220℃,易溶于甲醇、乙醇、丙酮中,难溶于水,低辣度辣椒碱常与色素、糖、磷脂等形成油溶物。由于气候、地域等因素,各地辣椒素的含量有所不同[3],但其主要成分都是辣椒素和二氢辣椒素,二者约占辣椒碱类物质总含量的90%。辣椒素中文名为反式-8-甲基-N-香草基-6-壬烯酰胺,在辣椒素类物质中含量居于首位,二氢辣椒素与之区别之处在于结构中不饱和的双键被氢化,它们结构式如下:



辣椒碱具有抗炎、镇痛、抗菌杀虫、治疗胃寒、风湿等作用[4][5],但是由于工艺技术问题限制,我国市场上现售的多为5%~30% [6]的辣椒油树脂,这种低纯度的辣椒碱提取物只能用作食品添加剂,而不能用于药物制剂的开发及其它对辣椒碱要求更高的领域。

目前辣椒碱的提取方法有溶剂提取法[7][8]、超临界CO₂萃取法[9]、微波提取法、超声波提取法[10]、酶提取法、固相萃取法等,现有文献报道关于溶剂提取法多为提取条件的优化或进一步柱色谱分离纯化

[11], 另外超临界 CO₂ 萃取法、微波提取法、超声波提取法, 虽然提取效率高, 但设备昂贵, 处理量小, 生产成本低, 而酶提取、固相萃取法[12]更是操作繁琐、分离纯化复杂, 目前这几种方法仅停留在实验室研究阶段, 因此有必要研究一种方法, 能够大量高效的提取出天然高纯辣椒碱。

本研究对全国各地的辣椒进行筛选, 以辣度最高辣椒为原料, 根据辣椒碱与杂质的性质, 针对性的采取分离措施, 研究了前处理工艺, 精准提取方法, 末端分离工艺, 并对结晶溶剂与结晶条件做了细致分析, 从而实现工业化生产天然高纯度辣椒碱(辣椒总碱含量 $\geq 95\%$), 其中辣椒素含量 62%~67%, 二氢辣椒素含量 23%~28%, 产品含量高于美国药典 USP40-NF35 (2017)版中关于辣椒碱的要求。该方法为辣椒的深加工提供了一条切实可行的工艺路线。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

辣椒来源分别为河南柘城三樱椒、陕西宝鸡线椒、贵州遵义朝天椒、云南芒市涮涮辣; 辣椒素标准品、二氢辣椒素标准品, HPLC 检测其纯度 $\geq 98\%$; 95%乙醇, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 乙酸乙酯, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 丙酮, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 异丙醇, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 正己烷, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 石油醚 60°C~90°C, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司。辣椒粉, 辣椒于 60°C 干燥 12 h, 粉碎, 过 40 目筛, 制成粗粉, 备用。

紫外-可见分光光度计, TU-1950, 北京普析通用仪器有限责任公司; 中压液相制备色谱仪, MP200, 天津博纳艾杰尔科技有限公司; 高压液相色谱仪, Thermo Fisher Ultimate 3000, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

2.2. 色谱条件

中压制备型 HPLC: Claricep Flash 无定形硅胶纯化柱(正相硅胶, 球形颗粒, 40 μm ~60 μm , 60 Å, 330 g), 流动相乙酸乙酯-石油醚(梯度洗脱), 流速 20 mL/min, 紫外检测波长 210 nm, 室温, 进样体积为 10 mL, 进样量 5 g。

分析型 HPLC: C₁₈ 色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(体积比为 50:50), 流速 1 mL/min, 紫外检测波长 280 nm, 柱温 30°C, 进样体积为 5 μL 。

3. 方法与条件

3.1. 辣椒素结晶可行性验证

3.1.1. 直接提取

辣椒粉(不同产地) \rightarrow 95%乙醇浸提 2 次 \rightarrow 过滤合并 \rightarrow 浓缩 \rightarrow 辣椒油树脂。

根据辣椒素的性质, 为高效的浸提出辣椒粉中的辣椒素, 同时考虑环境、成本、溶剂的毒性及残留, 选取水、乙醇、乙酸乙酯、丙酮、异丙醇为浸提溶剂, 进行同法提取比较, 浓缩后得到的辣椒油树脂按 2.2 色谱条件检测, 可以比较出哪种溶剂作为浸提液能够浸提出更高含量的辣椒油树脂, 结果见表 3 所示, 然后选择其作为进一步制备分离的原料。

3.1.2. 制备分离

辣椒油树脂 \rightarrow 制备色谱分离 \rightarrow 流分 \rightarrow 筛选后浓缩 \rightarrow 结晶 \rightarrow 辣椒碱。

称量上一步中选出的高辣提取物 5 g, 用乙酸乙酯 10 mL 溶解, 按照制备液相色谱条件填充色谱柱, 采用正相流动体系, 梯度洗脱分离, 洗脱梯度见表 1, 得到约 15 个样品溶液, 对此 15 个样品溶液进行

薄层色谱分析, 以 10%硫酸 - 乙醇为显色剂, 选择同样比移值的样品溶液合并浓缩, 浓缩物用乙腈配制成 1 mg/ml 的样品溶液, 按上述液相色谱条件分析, 并与对照品液相色谱图比较, 找出目标成分。

Table 1. Elution gradient conditions

表 1. 洗脱梯度条件

时间(min)	梯度条件(EA:PE)
0~40	0:100
40~60	10:90
60~100	20:80
100	50:50

3.1.3. 结晶与结晶溶剂选择

经过制备液相色谱的分离, 辣椒提取物被有效分离成不同部分, 其中目标成分浓缩物中辣椒素含量可达 98.1%, 将目标成分浓缩物按 1:4 料液比, 分别加入甲醇、乙醚、正己烷、石油醚, 使其充分热熔于该四中溶剂中, 并于 0℃ 环境下观察结晶情况。发现在正己烷中可结出固体结晶物, 过滤后得到高纯辣椒素。

通过辣椒素结晶的可行性验证, 说明天然辣椒提取物可以结晶出高纯辣椒素, 关键是如何有效除去待结晶产物中的其余成分, 使辣椒素的含量足够高, 因此下一步的任务是如何不采用色谱分离, 而使用工业化的方法分离纯化辣椒提取物, 3.2 的研究正是提供了这样一种方法。

3.2. 辣椒素的提取与分离

3.2.1. 前处理(低级性杂质的分离)

称量辣椒粉 100 g, 加入 1L 三口瓶中, 再加入 400 g 正己烷(石油醚、环己烷或 6 号溶剂油)作为前处理溶剂, 这种低极性溶剂不能或者很少浸提出辣椒素, 而能将辣椒粉中的色素与油脂提取出来, 减少后续油脂分离的难题, 具体是采用 60℃ 搅拌热浸 2 小时, 浸提后滤去正己烷, 滤饼于 60℃ 真空干燥 2 小时, 得到烘干料 88 g。

3.2.2. 精准提取(目标成分的精准提取)

将第一步烘干料 88 g 加入 1 L 三口瓶中, 加入乙醇作为浸提溶剂(验证性实验已筛选, 结果见表 3), 浸提辣椒素, 60℃ 搅拌提取 2 小时, 提取后滤去乙醇, 滤饼用乙醇再重复提取一次, 过滤, 合并两次滤液, 浓缩, 得到脱色脱油的辣椒油树脂, 液相色谱图见图 1。为提高辣椒素提取率, 接着设计 $L_9(3^4)$ 正交实验筛选乙醇的最佳提取条件, 因素水平见表 2, 实验结果分析见表 4、表 5。

Table 2. $L_9(3^4)$ Orthogonal experiment factor level table

表 2. $L_9(3^4)$ 正交实验因素水平表

因素	水平		
	1	2	3
A 时间/h	1	2	4
B 料液质量比	1:2	1:4	1:6
C 温度/℃	50	65	78
D 浓度/%	50%	70%	95%

3.2.3. 除杂(极性组分的分离)

将得到的脱色脱油辣椒树脂, 加入 1 L 三口瓶中, 加入水(甲醇/水 = 50:50、乙腈/水 = 50:50 或乙醇/水 = 50:50), 缓慢搅拌升温至 70℃, 使其全溶, 再加入乙酸乙酯(卤代烷类、醚类或烷烃类) 200 ml, 搅拌 10min, 冷却至室温, 转入 1 L 分液漏斗中, 静置, 萃取分液得到有机层, 70℃减压浓缩成膏, 得到高辣度辣椒油树脂, 见图 2。

3.2.4. 结晶(目标组分的进一步纯化)

将高辣度辣椒油树脂加入 250 ml 三口瓶中, 分别用单一溶剂: 甲醇、乙醇、乙醚、正己烷、石油醚; 或混合溶剂甲醇与乙酸乙酯(5:1)、正己烷与乙酸乙酯(5:1)进行结晶条件研究, 按膏液比 1:4 加入, 搅拌加热至回流, 使膏全溶, 搅拌冷却至室温, 继续冰水浴, 拌冷却至 0℃, 考察是否有固体物析出, 若有, 抽滤得到固体物, 液相色谱分析, 见图 3。

4. 结果与分析

本实验在保证辣椒碱提取率的基础上, 采用 70℃搅拌浸渍提取, 若溶剂沸点 $\leq 70^\circ\text{C}$, 则采用回流提取, 不同产地辣椒各浸提溶剂提取结果如表 3。在此过程中, 我们筛选出乙醇提取的云南芒市涮涮辣辣椒碱含量最高, 在后续的研究中我们以该品种辣椒为原料进行研究。

Table 3. Content of capsaicin in each pepper/100 g
表 3. 各种辣椒中辣椒碱含量/100 g

溶剂	三樱椒	线椒	朝天椒	涮涮辣(魔鬼椒)
水	0.78	1.42	1.38	2.02 g
乙醇	0.91	1.62	1.53	2.79 g
乙酸乙酯	0.82	1.51	1.42	2.51 g
丙酮	0.87	1.57	1.49	2.63 g
异丙醇	0.83	1.53	1.44	2.57 g

在上述单因素实验的基础上, 为进一步探索乙醇的最优提取条件, 设计 $L_9(3^4)$ 正交表, 以辣椒总碱提取量为指标, 正交实验结果见表 4、方差分析见表 5。

Table 4. Orthogonal experimental results of capsaicin extraction
表 4. 辣椒碱提取量正交实验结果

实验号	A	B	C	D	辣椒碱 g/100g 辣椒粉辣椒油树脂
1	1	1	1	1	1.79
2	1	2	2	2	2.60
3	1	3	3	3	2.24
4	2	1	2	3	2.37
5	2	2	3	1	2.62
6	2	3	1	2	2.57
7	3	1	3	2	2.74
8	3	2	1	3	1.89

Continued

9	3	3	2	1	2.06
K ₁	6.63	6.9	6.25	6.47	T = 20.88
K ₂	7.56	7.11	7.03	7.91	
K ₃	6.69	6.87	7.6	6.5	
k ₁	2.21	2.3	2.08	2.16	
k ₂	2.52	2.37	2.34	2.64	
k ₃	2.23	2.29	2.53	2.17	
R	0.31	0.08	0.45	0.48	
主次顺序	D > C > A > B				
优水平	A ₂	B ₂	C ₃	D ₂	
优组合	A ₂ B ₂ C ₃ D ₂				

Table 5. Anova table of capsaicin extraction quantity
表 5. 辣椒碱提取量方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
A	0.181	2	0.090	15.842	**
B	0.011	2	0.006	0.0000	
C	0.306	2	0.153	26.860	*
D	0.451	2	0.226	39.596	*
误差	0.011	2			
总和	0.950	8			

通过对正交实验结果的分析,得出辣椒碱提取量的影响因素依次为:浓度 > 温度 > 时间 > 料液比,确定乙醇提取辣椒碱的最佳工艺为乙醇浓度 70%, 温度 65℃, 提取时间 2 小时, 料液比为 1:4, 此时辣椒碱提取率最高, 产物中杂质较少, 辣椒碱含量高, 同时 65℃的浸提温度避免了高温对辣椒碱结构的影响, 为后续的分离提供了最佳原料。

为研究在此工艺过程中杂质的变化及辣椒碱的含量, 我们用辣椒素与二氢辣椒素标准品标定产物中辣椒素类化合物, 跟踪每个工序中辣椒素含量变化过程, 我们采用液相色谱分析各个工序处理后的产物, 液相色谱图见图 1、图 2、图 3、图 4, 为了更清晰的分辨提取物的成分, 增大了流动相的极性, 将流动相比比例调节为乙腈:水 = 20:80, 结果如图 1、图 2 所示; 图 3、图 4 中流动相比比例仍然为乙腈:水 = 50:50。

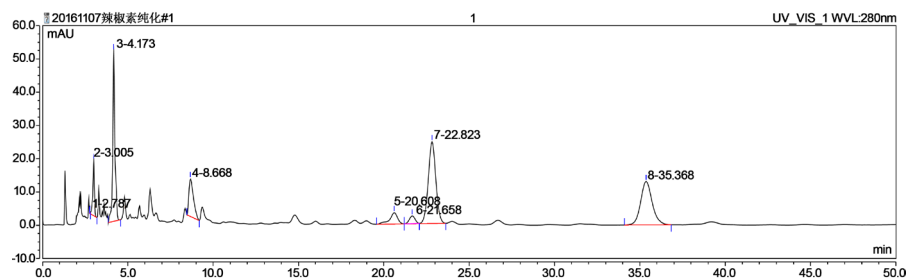


Figure 1. Ethanol extraction after pretreatment

图 1. 前处理后的乙醇浸提物

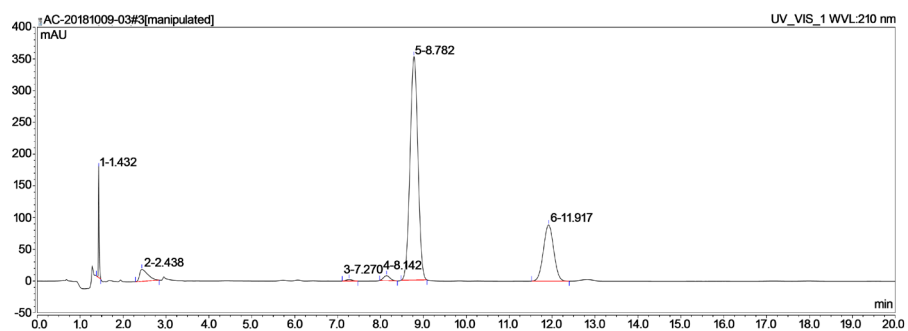


Figure 2. The concentrate after purification

图 2. 萃取分离后浓缩物

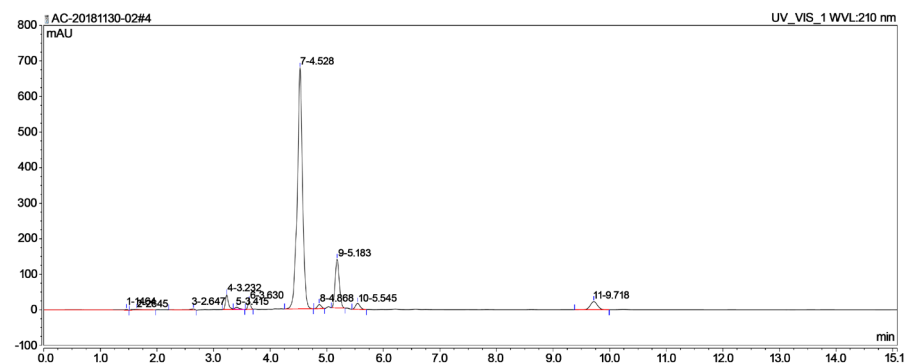


Figure 3. Capsaicin after solvent crystallization

图 3. 结晶后得到的辣椒碱

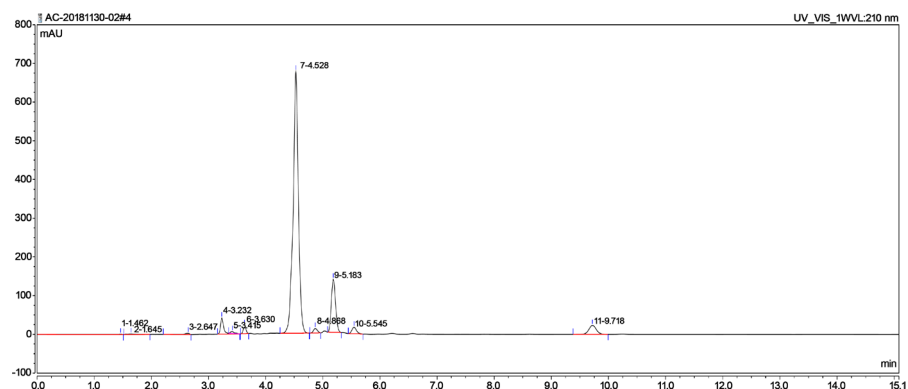


Figure 4. Capsaicin after recrystallization

图 4. 重结晶后的辣椒碱

如图 1 所示前处理去除了极性小的杂质, 剩余部分为前端极性大的组分, 后经萃取处理去除了大部分前端杂质, 正如图 2 所示, 在保留时间 0 min~20 min 内显示的为极性组分色谱峰, 可以明显观察出其被有效除去, 图 3 为结晶后产品液相色谱图, 前端部分进一步消失, 产品纯度获得更高提升, 图 4 为最终重结晶出的天然高纯辣椒碱, 其中保留时间在 4.528 处为辣椒素色谱峰、保留时间 5.183 处为二氢辣椒素色谱峰。

5. 结论

通过本文的研究建立了天然高纯辣椒碱的四步生产工艺, 该工艺过程简单, 可行, 提取率高, 产品质量好, 本方法克服了溶剂提取法所致的产品质量不高, 产品呈树脂状等缺点, 并且可以不用色谱分离的方式, 从辣椒中提取分离出晶态高纯辣椒碱, 产品中辣椒碱含量大于 95%, 符合美国药典 USP40-NF35 (2017)对辣椒碱的规定, 从而一举实现工业化生产天然高纯辣椒碱, 为辣椒的深加工利用提供了新的路径, 所得产品可用于药物制剂及其它纯度要求高的领域。

基金项目

河南省科技计划项目(No.182107000042, 142300410104), 河南省教育厅科学技术研究重点项目(No.14A150056), 许昌学院横向项目(No.2016HX017, 2018HX016)资助。

参考文献

- [1] 范勇, 范景辉. 天然辣椒碱提取纯化的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(10): 8-11.
- [2] 宋艾杰, 牛亮峰, 张超, 等. 辣椒素及二氢辣椒素的制备方法及其结构确证[J]. 山东化工, 2019, 1(48): 22-24.
- [3] Marincas, O., Feher, L., Magdas, D.A. and Puscas, R. (2018) Optimized and Validated Method for Simultaneous Extraction, Identification and Quantification of Flavonoids and Capsaicin, along with Isotopic Composition, in Hot Peppers from Different Regions. *Food Chemistry*, **267**, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.031>
- [4] 阳凤, 彭燕. 辣椒素的临床应用进展[J]. 临床消化病杂志, 2016, 28(2): 129-132.
- [5] 姜越君, 刘素纯, 李佳莲, 等. 辣椒素的生理功能及提取研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(31): 15426-15428.
- [6] 张容鹤, 窦志浩, 谢辉, 等. 辣椒碱类化合物提取工艺的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(19): 39-42.
- [7] Chinn, M.S., Sharma-Shivappa, R.R. and Cotter, J.L. (2010) Solvent Extraction and Quantification of Capsaicinoids from Capsicum Chinense. *Food and Bioprocess Processing*, **89**, 340-345. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.08.003>
- [8] Bajer, T., Bajerova, P., Kremr, D., Eisner, A. and Ventura, K. (2015) Central Composite Design of Pressurized Hot Water Extraction Process for Extracting Capsaicinoids from Chili Peppers. *Journal of Food Composition and Analysis*, **40**, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.008>
- [9] 王倩, 张依, 周进莉. 超临界 CO₂ 萃取辣椒精中辣椒碱的工艺研究[J]. 化工时刊, 2016, 12(30): 19-22.
- [10] 丰金玉, 周思杨, 徐丹丹, 等. 超声波辅助提取辣椒素工艺研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(11): 43-48.
- [11] 陆峰然, 张雄辉. 辣椒素类化合物及其制备方法的专利技术综述[J]. 中国发明与专利, 2017(4): 34-39.
- [12] Zhao, P.P., Lu, Y.M., Tan, C.P., Liang, Y. and Cui, B. (2015) Aqueous Two-Phase Extraction Combined with Chromatography: New Strategies for Preparative Separation and Purification of Capsaicin from Capsicum Oleoresin. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **175**, 1018-1034. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1303-6>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-5231，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：jocr@hanspub.org