

纤维素酶法提取辣椒碱的工艺研究

罗仓学, 朱妞, 雷学锋

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘要: 研究了纤维素酶 (16568 U/g) 提取辣椒中辣椒碱的工艺。研究发现: 酶解液初始 pH 值 5.2, 酶量为 7 mg/g, 酶解时间 3 h, 酶解温度 40 °C 为酶解最适条件。通过酶解处理后的辣椒碱产量为 3.096 mg/g, 比传统的乙醇提取法提高了约 16%, 而且该法提取辣椒碱时间短、温度要求低、操作简单。

关键词: 辣椒碱; 提取; 纤维素酶

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)11-0047-04

A Study on Enzymatic Extraction of Capsaicin by Cellulose

LUO Cang-xue, ZHU Niu, LEI Xue-feng

(Department of Life Science and Engineering, Shanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The enzymatic method for the extraction of capsaicin by cellulose (16568 U/g) was developed. The results showed that the best enzymatic hydrolysis conditions for extracting capsaicin were as follows: pH value of enzyme solution of 5.2, the enzyme dosage of 7 mg/g, the reaction time of 3 h, and the reaction temperature of 40 °C. Compared with the traditional extraction methods, the extraction yield of capsaicin with the new method increased by 16%. Besides, this extraction method was simple, fast and with relative low temperature.

Key words: capsaicin; extraction; cellulase

辣椒 (*Capsicum annuum* L) 属茄科本草植物, 其果实可食用, 根茎可入药。近年来随着研究的深入, 辣椒的研究已经不限于传统的食用和药用上。辣椒含有辣椒红色素和辣椒碱, 辣椒红色素色泽鲜艳且无毒, 是食品添加剂红色素的优良原料^[1]。辣椒碱更是近年来的研究热点, 药用价值极高, 而且在军事、生化农药等领域也有很大的应用, 相关的研究国内外报道已有很多^[2-6]。目前辣椒碱的提取方法主要有有机溶剂提取法、超临界二氧化碳流体萃取法等, 前者耗时长, 操作复杂; 而后者设备投资大, 成本高。我国目前辣椒碱产量很小, 市场缺口大。因此深入研究辣椒碱提取方法, 提高辣椒碱产量和纯度有利于为我国提供广阔的市场发展空间。

辣椒粉表面为凹凸不平的纤维组织结构, 辣椒碱就分布在纤维组织之内。传统的有机溶剂提取法都是利用浓度梯度使辣椒碱逐步扩散到溶剂中, 消耗时间、溶剂用量多且操作繁琐。现在酶法提取已经广泛地应用于植物活性成分的提取, 如酶法提取黄酮^[7]、酶法提取色素^[8]等。目前酶法提取辣椒碱的研究鲜见报道。本试验试图通过酶法提取辣椒碱最佳酶解条件的研究为辣椒碱的提取提供一个新的方向。

收稿日期: 2007-07-06

作者简介: 罗仓学 (1959-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品保藏与加工

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

辣椒: 陕西兴平线椒, 市售, 干燥粉碎过筛; 纤维素酶 (16568 U/g)、氢氧化钠、柠檬酸、磷酸二氢钾、乙酸钠、磷酸: 西安市化学试剂厂; 柠檬酸钠: 天津市东丽区天大化学试剂厂; 磷酸氢二钠: 天津市红岩化学试剂厂; 冰醋酸: 天津 (香港) 新通精细化工有限公司; 乙醇: 天津市百世化工有限公司; 钨酸钠: 北京化工厂。

1.2 仪器与设备

万能粉碎机 FW-400A (北京中兴伟业仪器有限公司), RE-52A 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂), SHB-3 循环水多用真空泵 (河南省巩义市英峪仪器厂), 电热恒高水浴锅 (北京化玻医疗器械有限公司), 电热恒温干燥箱 (重庆试验设备厂), 电子天平 JA5003 (上海精密科学仪器厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 提取方法

辣椒粉酶解处理后加入有机溶剂提取。具体操作: 称取 1 g 辣椒粉, 用一定量的纤维素酶缓冲液进行酶解反应一段时间后, 加入一定体积的有机溶剂提取。将提取液抽滤, 滤液用旋转蒸发仪浓缩。浓缩液

用下述的辣椒碱分析方法测定吸光度 A 值, 并计算产量。

1.3.2 辣椒碱定量分析方法

1.3.2.1 标准曲线

精确称取香兰素 0.0500 g(相当于纯辣椒碱 0.1000 g), 用 0.1 mol/L NaOH 配制 100 mL, 此液 1 mL=1000 μ g 辣椒碱, 即为母液。分别吸取以上标准液 0.25 mL, 0.75 mL, 1.25 mL, 1.75 mL, 2.25 mL, 用 0.1 mol/L NaOH 溶解并定容至 50 mL 容量瓶中, 每毫升分别相当于 5 μ g, 15 μ g, 25 μ g, 35 μ g, 45 μ g 辣椒碱。取上述五种溶液各 5 mL 于 50 mL 容量瓶中, 各加 5 mL 显色剂混匀, 用饱和碳酸钠溶液定容至 50 mL。在 760 nm 处用 1 cm 的比色皿, 测定吸光度 A。以辣椒碱含量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。同时以 0.1 mol/L NaOH 溶液作空白对照。得标准曲线方程为: $y=0.0173x+0.2248$, $R^2=0.9945$ 。

1.3.2.2 测定方法

用 0.1 mol/L NaOH 溶解浓缩液, 抽滤去除不溶性杂质。滤液用 0.1 mol/L NaOH 定容至 50 mL 容量瓶中。取 10 mL 该溶液用 0.1 mol/L NaOH 定容至 50 mL。取该液 1 mL, 加入 1 mL 显色剂后, 用饱和碳酸钠定容至 10 mL。测定该溶液的吸光度 A。代入标准曲线回归方程, 得出辣椒碱浓度 x, 稀释倍数为 5, 则待测液浓度为 $G=5x$ 。

$$\text{辣椒碱含量}/\% = \frac{1.065 \times 50 \times G}{W \times 10^6} \times 100\%$$

其中: 1.065 为香兰素换算为相当量的辣椒碱的系数; G 为待测液浓度; W 为原料重/g。

2 结果与分析讨论

2.1 酶解缓冲溶液的选择

在 pH 5.4 的条件下选择纤维素酶酶解辣椒粉的最佳缓冲溶液。缓冲溶液种类分为: A (磷酸氢二钠-柠檬酸), B (柠檬酸-柠檬酸钠), C (磷酸氢二钠-磷酸二氢钾), D (醋酸-醋酸钠)。不同缓冲溶液酶解处理辣椒粉对辣椒碱产量的影响如表 1 所示。

表 1 不同缓冲溶液对辣椒碱产量的影响

缓冲液种类	A	B	C	D
吸光度 A	0.348	0.360	0.357	0.363
含量/%	0.190	0.208	0.203	0.213
辣椒碱产量/(mg/g)	1.896	2.081	2.035	2.127

由表 1 可知, 四种缓冲溶液对辣椒碱的产量影响变化不是很大。醋酸-醋酸钠缓冲溶液的辣椒碱产量相对较高, 且该缓冲溶液对食品影响不大, 不会影响辣

椒碱的后续分离及应用。综合考虑, 本试验选择醋酸-醋酸钠作为酶解缓冲溶液。

2.2 物料粉碎粒度的确定

在 pH 5.4, 酶解时间为 2 h, 温度为 30 $^{\circ}$ C, 加酶量 5 mg/g 的条件下, 考察了不同物料粒度对辣椒碱产量的影响。结果如图 1 所示。

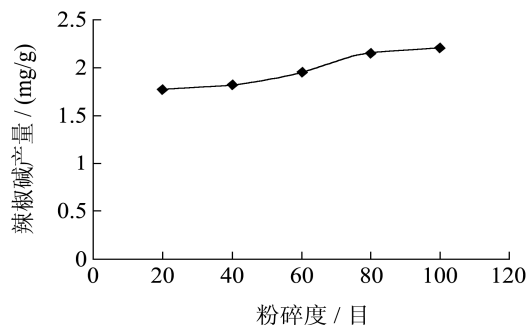


图 1 物料粉碎粒度对辣椒碱产量的影响

从图 1 可知, 在物料粒度为 80 目时, 辣椒碱产量达到最大。随着粉碎粒度的增加, 辣椒碱的产量逐渐增加, 原因是辣椒粒度增大有利于增大溶剂与物料的接触面积, 从而有利于辣椒碱的溶出。当达到 100 目时, 产量增加幅度不是很大, 且不利于分离过滤。因此综合考虑选择辣椒粉粉碎粒度为 80 目。

2.3 酶解 pH 值对辣椒碱产量的影响

在酶解时间为 2 h, 温度为 30 $^{\circ}$ C, 加酶量 5 mg/g, 粉碎粒度 80 目的条件下, 考察了酶解液初始 pH 值从 4.0 至 5.8 之间变化对产量的影响。结果如图 2 所示。

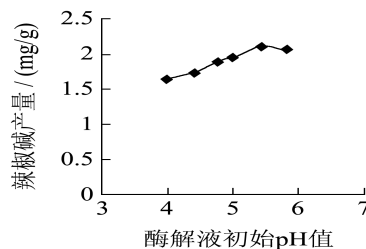


图 2 酶解液初始 pH 对辣椒碱产量的影响

从图 2 可以看出, 辣椒碱产量先随着酶解液初始 pH 值的增大而增大, 在 pH=5.4 时达到最大, 继续增大 pH 值辣椒碱产量反而减少。纤维素酶的活力受环境的 pH 值影响, 在一定的 pH 值下, 纤维素酶的反应达到最大速度, 此 pH 即为该酶的最适 pH 值, 由试验可知, 在 pH 为 5.4 附近, 该纤维素酶活力处于较佳状态。

2.4 加酶量对辣椒碱产量的影响

在 pH 值为 5.4, 酶解时间为 2 h, 温度为 30 $^{\circ}$ C, 粉碎粒度为 80 目的条件下, 考察了加酶量对辣椒碱产量的影响, 结果如图 3 所示。

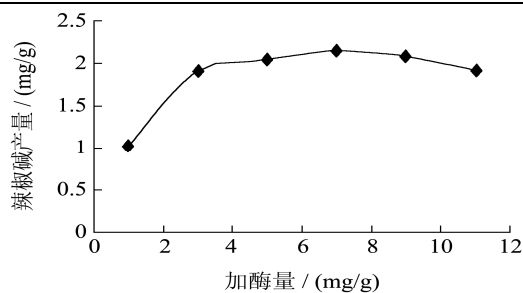


图3 加酶量对辣椒碱产量的影响

从图3可以看出,辣椒碱的产量随着酶量的增加而增大,在7 mg/g左右辣椒碱产量达到最大。这是因为在一定试验条件下,加酶量较低时酶解不完全,底物过量,产量不高。当达到最佳值时,酶解进行的比较彻底,从而辣椒碱的产量达到最大。继续加大酶用量,酶解反而有可能存在竞争抑制,使酶解不彻底,另外也是一种酶的浪费。

2.5 酶解时间对辣椒碱产量的影响

在pH值为5.4,温度为30℃,加酶量5 mg/g,粉碎粒度为80目的条件下,考察了酶解时间对辣椒碱产量的影响,结果如图4所示。

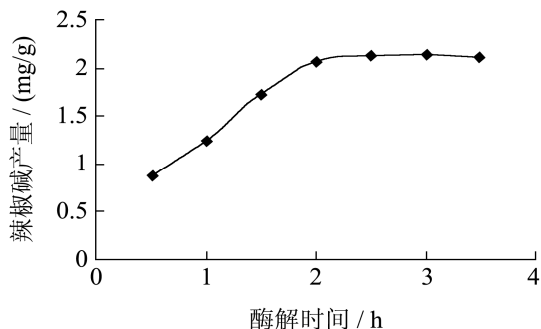


图4 酶解时间对辣椒碱产量的影响

由图4可知随着酶解时间的延长,辣椒碱产量增大,主要原因是随着时间的延长,酶活力得到充分的利用,酶解反应进行的比较彻底。在3h时辣椒碱产量达到最大,时间再继续延长,辣椒碱产量变化不大反而有所降低。原因可能是随着时间的延长,辣椒碱已经基本上被提取出来,也有可能是时间的延长导致辣椒碱部分分解,反而降低了辣椒碱产量。

2.6 酶解温度对辣椒碱产量的影响

在pH值为5.4,酶解时间为2h,加酶量5 mg/g,粉碎粒度为80目的条件下,考察了酶解温度对辣椒碱产量的影响,结果如图5所示。

由图5可知,随着温度的升高,辣椒碱的产量随之增大,在40℃时达到最大,而后随着温度的升高,辣椒碱产量反而降低。主要原因为温度是影响纤维素酶活力及酶促反应的重要影响因素。温度的升高使得酶活力增加,从而加快了反应速度。但是温度继续升

高会使酶逐步失活甚至变性。因此随着温度的继续上升,辣椒碱产量急剧地减少。通过单因素试验可以看出,该纤维素酶的最适温度30℃~50℃左右。

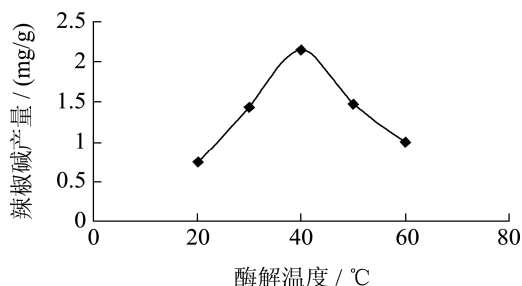


图5 酶解温度对辣椒碱产量的影响

2.7 正交试验

综合以上各单因素试验,本试验设计了正交试验,以便综合考虑各个主要因素之间的协同作用。本试验主要考察了酶解液初始pH值(A)、加酶量(B)、酶解时间(C)、酶解温度(D)四个因素对辣椒碱产量的影响。采用L₉(3⁴)的正交试验设计,力求找到酶解的最佳条件。试验以辣椒碱产量为评价指标。正交试验结果分析如表2所示。

表2 正交试验结果分析

序号	A/pH	B/(mg/g)	C/h	D/°C	吸光度 A	辣椒碱产 量/(mg/g)
1	5.2	3	2	30	0.374	2.296
2	5.2	5	2.5	40	0.366	2.173
3	5.2	7	3	50	0.418	2.973
4	5.4	3	2.5	50	0.360	2.081
5	5.4	5	3	30	0.383	2.435
6	5.4	7	2	40	0.393	2.589
7	5.6	3	3	40	0.411	2.866
8	5.6	5	2	50	0.368	2.204
9	5.6	7	2.5	30	0.363	2.127
K ₁	7.442	7.243	7.089	6.858		
K ₂	7.105	6.812	6.381	7.628		
K ₃	7.197	7.689	8.274	7.258		
k ₁	2.481	2.414	2.363	2.286		
k ₂	2.368	2.271	2.127	2.543		T=21.744
k ₃	2.399	2.563	2.758	2.419		
R	0.113	0.292	0.631	0.257		

从正交试验极差分析可知,酶解液初始pH值、加酶量、酶解时间、酶解温度对辣椒碱产量的影响程度为:酶解温度>加酶量>酶解时间>酶解液初始pH值。最佳酶解条件为A₁B₃C₃D₂,即酶解液初始pH值5.2,加酶量7 mg/g,酶解时间3h,酶解温度为40℃。在最佳条件下平行进行4次试验,取平均值得吸

光度为 0.426, 辣椒碱产量为 3.096 mg/g。标准差 (SD) 为 0.0008, 变异系数 (C.V %) 为 0.61。

3 小结

3.1 纤维素酶 (16568 U/g) 提取辣椒碱的最佳酶解条件为: 酶解液初始 pH 值 5.2, 加酶量 7 mg/g, 酶解时间 3 h, 酶解温度为 40 °C。辣椒碱产量为 3.096 mg/g。

3.2 酶法提取辣椒碱相对传统的有机溶剂提取法具有明显的优势, 采用酶解处理辣椒粉后再用 75%乙醇进行浸提, 比传统的乙醇提取法辣椒碱产量提高了 16%, 并且该法提取时间短、温度要求低、操作简单。

3.3 由于加入了缓冲溶液, 酶法提取辣椒碱后应进一步对其纯化工艺进行深入研究。

参考文献

- [1] 李炎. 辣椒红色素的改性、赋形、稳定性及椒多糖提取研究[J]. 食品工业科技, 2000, 4: 27-29
- [2] 丁筑红. 辣椒籽提取物对猪油抗氧化作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2004(30), 9: 41-43
- [3] 吕小兰. 辣椒素的应用与提取[J]. 江西化工, 2005, 4: 6-7
- [4] 王燕等. 辣椒素的分析方法及辣度分级[J]. 食品工业科技, 2006, 2: 208-210
- [5] 陈猛, 袁东星. 微波法萃取辣椒中辣椒素的研究[J]. 食品科学, 1999, 10: 25-27
- [6] 李美粉等. 超声强化提取辣椒素的研究[J]. 中国调味品, 2005, (5): 51-53
- [7] 王晓, 李林波. 酶法提取山楂中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(3): 37-39
- [8] 薛伟明, 张效林. 红花黄色素的酶法提取应用研究[J]. 化学工程, 1999, 27(1): 42-44

(上接第 43 页)

C, 即果浆糖度、发酵温度、酸度、接种量。以感官评价为标准的最佳配方是 D₁A₃B₁C₁, 各因素对指标影响的主次顺序为 D、A、B、C 即发酵温度、果浆糖度、酸度、接种量。综合两种不同的结果, 在正交试验和单因素试验有偏差时, 以酒精度为标准, 结合单因素试验制定出最佳配方为发酵温度 28 °C, 果浆糖度 22 °Bx, 酸度 pH 4.0, 接种量为 10%葡萄酒酵母液。

2.4 产品质量指标

2.4.1 感官指标

色泽: 浅黄或金黄, 澄清透明, 有光泽, 无沉淀, 无明显悬浮物; 香气: 具有鲜柿的果香及酒香, 无异香; 滋味: 滋味纯正, 醇涩协调, 酒体丰满, 爽口, 余味绵延, 无异味; 风格: 具有柿子发酵酒的典型风格。

2.4.2 理化指标

酒精度为 10%~13%, 残糖 ≤ 0.5%, 总酸含量为 0.40%~0.60%。

2.4.3 微生物指标

细菌总数 ≤ 100 个/mL, 大肠菌群 ≤ 3 个/100 mL, 致病菌未检出。

3 结论

以柿子果浆为原料, 经果胶酶处理后, 发酵前用白砂糖将糖度调至 22 °Bx, 用柠檬酸将酸度调至 pH 4.0, 加入 10%经活化后的葡萄酒酵母扩培液, 在 28 °C 下发酵 5 d。发酵前加入 0.01%亚硫酸氢钠, 防杂菌污染。发酵后经过滤、陈酿, 然后杀菌、包装与保存。这样的生产工艺, 可有效保证柿子酒品质, 得到的柿子酒具有良好的色、香、味和典型的风格。

参考文献

- [1] 金立周, 孙志旺. 柿的丰产栽培技术与加工[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1988
- [2] 杨天英, 逯家富. 果酒生产技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004
- [3] 王春霞, 王敏, 王建玲, 等. 半干型柿子果酒工艺的探讨[J]. 天津轻工业学院学报, 2001, (4): 24-27
- [4] 王蕊. 柿子发酵酒的研制[J]. 酿酒科技, 2005, (6): 101-103
- [5] 江苏, 蒙华贞, 何雁芳. 柿子酒酿造技术研究[J]. 保鲜与加工, 2004, (4): 28-29