



吴奕敏, 李光光, 杨 崇, 等. 小米辣椒素类物质含量测定[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(5): 52-56.

小米辣椒素类物质含量测定

吴奕敏¹, 李光光², 杨 崇³, 雷建军⁴, 刘少群⁴

(1 华南农业大学 林学院, 广东 广州 510642; 2 广州市农业科学研究所, 广东 广州 510308;
3 华南农业大学 测试中心, 广东 广州 510642; 4 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】对小米辣 *Capsicum frutescens* 的辣椒素类物质合成规律进行研究.【方法】采用高效液相色谱法, 对花后 13 个不同时期小米辣胎座、果肉的辣椒素和二氢辣椒素含量进行检测, 结合 SAS 软件的多因素方差法进行分析.【结果和结论】辣椒素类物质在胎座和果肉中均能合成; 其合成随花后果实发育逐渐增加到最高值, 而后略微降低; 其含量的高低与辣椒果实中组织部位和合成时期显著相关 ($P=0.00 \leq 0.01$), 以胎座部位最多 (22 d 的质量分数达 $11.418 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

关键词: 小米辣; 辣椒素; 二氢辣椒素; 胎座; 高效液相色谱 (HPLC)

中图分类号: S641

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)05-0052-05

Measurements of the capsaicinoid contents in *Capsicum frutescens*

WU Yimin¹, LI Guangguang², YANG Chong³, LEI Jianjun⁴, LIU Shaoqun⁴

(1 College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Guangzhou City Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510308, China;

3 Instrumental Analysis & Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

4 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】The purpose of this study was to understand the pattern of capsaicinoid synthesis in *Capsicum frutescens*.【Method】With high performance liquid chromatography (HPLC), the placenta and pulp were sampled at 13 different periods after anthesis for analyses of capsaicin and dihydro capsaicin. All the data were subject to SAS software for multi-factor variance analysis.【Result and conclusion】Capsaicinoids were synthesized in both the placenta and pulp. Their contents gradually increased to a peak and then slightly decreased. The contents of capsaicinoids were significantly affected ($P=0.00 \leq 0.01$) by fruit tissues and developmental periods. The placenta had the highest content of capsaicinoids, which was $11.418 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ at 21 d after anthesis.

Key words: *Capsicum frutescens*; capsaicin; dihydrocapsaicin; placenta; high performance liquid chromatography (HPLC)

辣椒素类物质 (Capsaicinoids) 是辣椒辛辣味的主要来源, 以其丰富的营养价值被广泛应用于食品、化工和医药保健^[1-3]. 辣椒素类物质的主要成分是辣

椒素和二氢辣椒素. 目前虽然已经有许多研究辣椒素分子机理的报道, 但由于辣椒素的生物合成路径极其复杂, 在其合成过程中有数以百计的蛋白酶起

收稿日期: 2013-01-08 优先出版时间: 2014-07-17

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140717.0909.026.html>

作者简介: 吴奕敏 (1969—), 女, 实验师, 硕士, E-mail: wym@scau.edu.cn; 通信作者: 刘少群 (1974—), 男, 高级农艺师, 博士, E-mail: scau@163.com

基金项目: 国家星火计划重大项目 (2010GA780001); 广东省自然科学基金 (10151064201000056); 广东普通高校重点实验室项目 (KBL11008); 农业部园艺作物生物学与种质创制华南地区重点实验室专项; 广东省现代特色蔬菜创新团队岗位专家建设任务项目; 广州市科技局专项 (2011Y2-0001511BppZXbb3140003)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

作用,更有不计其数的调控基因影响辣椒素的合成.所以至今为止,辣椒素合成的分子机理并没有完全弄清楚^[5].本试验以小米辣 *Capsicum frutescens* 为试材,通过测定辣椒果实中胎座、果肉及各发育阶段辣椒素、二氢辣椒素的含量,以研究辣椒素的含量变化规律,为小米辣椒素合成提供更多的依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自辣椒属 *Capsicum* 的一个栽培种小米辣 *C. frutescens*,采用云南省西双版纳州普文镇经过驯化的农家品种,华南农业大学教学科研增城基地去杂后的第2代种子.

2011年2月将小米辣种植于华南农业大学校园12号楼后菜地,按照露地栽培方式进行田间管理.4月19日开花,花后7d开始,每隔3d(共13个时期)对小米辣的上部果实进行随机取样,将果实分为胎座、果肉2部分进行测定,每时期设3个重复.

1.2 试验方法

分别测定胎座、果肉各个阶段辣椒素、二氢辣椒

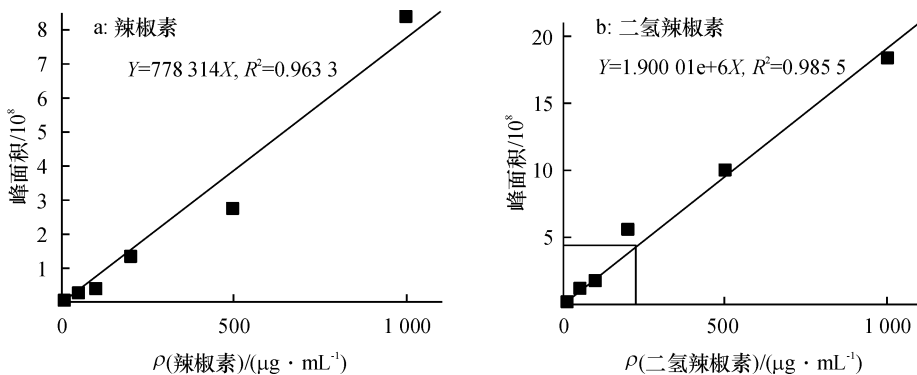


图1 辣椒素和二氢辣椒素标准曲线

Fig. 1 The standard curves of capsaicin and dihydrocapsaicin

2.2 辣椒素类物质测定结果的方差分析

试验共测定了小米辣的果肉、胎座各13个时期的辣椒素和二氢辣椒素的含量,结果如表1所示.

从小米辣的胎座、果肉在13个不同时期辣椒素、二氢辣椒素、辣椒素总量和SHU的方差分析结果(表2~表4)可知:辣椒素总量、SHU在不同部位间以及辣椒素和二氢辣椒素在花后不同时期的0.01检测水平下,表现出显著差异.由表2可知,辣椒素的含量变化与果实生长时期显著相关($F=126.317, P=0.000 \leq 0.01$).辣椒素的含量先是缓慢增加,在花后19~25d达到最高峰,而后又略微降低(表1).二氢辣椒素的含量变化与辣椒素含量变化趋势相似.表3、表4显示,辣椒素总量和SHU

的含量.辣椒素含量测定及斯科维尔指数(SHU)的计算参考农业部标准(NY/T 1381-2007)和湖南省地方标准(DB43/T275-2006)方法^[4]进行.

1.3 辣椒素、二氢辣椒素的含量计算

通过高效液相色谱法(HPLC)分析辣椒素、二氢辣椒素的含量.色谱条件为:280nm检测波长,30℃柱温, $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=80:20$ 为流动相,1.0mL/min的流速,10 μL 的进样量.用标准混合液的色谱峰所保留的时间定性,用辣椒素、二氢辣椒素标准曲线及试样中的峰面积定量,将峰面积转换成相应的含量,试验数据用SAS统计软件处理.

2 结果与分析

2.1 辣椒素和二氢辣椒素标准曲线的构建

通过HPLC测定辣椒素和二氢辣椒素的混合标准溶液于不同质量浓度下的峰值,分别建立辣椒素和二氢辣椒素的标准曲线方程(图1).辣椒素为 $Y=778.314X (R^2=0.9633)$,二氢辣椒素为 $Y=1.90001e+6X (R^2=0.9855)$,用来分析小米辣样品中的辣椒素和二氢辣椒素含量.

变化与辣椒果实合成的部位呈显著相关($P=0.00 \leq 0.01$).

2.3 不同部位辣椒素类物质的含量变化

由表1可见,胎座、果肉的辣椒素类物质的含量变化规律基本上是一致的,在前期累计合成,在一定时期合成的辣椒素类物质急剧增加,后期减少,这与前人的研究结果^[6-10]是一致的.辣味材料中的辣椒素类物质含量以胎座部位最多、果肉次之.

本试验中,小米辣不同时期材料的辣椒素类物质总量以胎座在花后22d时最高,为11.418mg $\cdot\text{g}^{-1}$;而果肉辣椒素类物质总量最高的时期是花后31d,为0.780mg $\cdot\text{g}^{-1}$,不仅时间迟,而且辣椒素类物质总量远少于胎座.

表1 小米辣2个部位辣椒素类物质含量及斯科维尔指数的计算结果¹⁾

Tab.1 The contents of capsaicinoids and the calculated Scoville Heat Units in the placenta and pulp

$t_{\text{花后}}/d$	胎座				果肉			
	$w/(mg \cdot g^{-1})$			斯科维尔 指数	$w/(mg \cdot g^{-1})$			斯科维尔 指数
	辣椒素	二氢辣椒素	总辣椒素		辣椒素	二氢辣椒素	总辣椒素	
7	0.153 ± 0.002hH	0.018 ± 0.002gE	0.190 ± 0.005	2 934.272	0.050 ± 0.004dE	0.005 ± 0.001fE	0.060 ± 0.006	932.555
10	0.764 ± 0.143hH	0.087 ± 0.003gE	0.945 ± 0.198	14 567.320	0.071 ± 0.066dE	0.003 ± 0.002fE	0.083 ± 0.072	1 274.093
13	3.267 ± 0.143gG	0.431 ± 0.034fD	4.108 ± 0.234	63 352.746	0.110 ± 0.004dE	0.020 ± 0.002eDE	0.144 ± 0.006	2 225.569
16	6.587 ± 0.117eDE	0.808 ± 0.013bcdBC	8.216 ± 0.178	126 687.158	0.238 ± 0.031cCD	0.039 ± 0.005abcdABCD	0.308 ± 0.040	4 755.019
19	8.842 ± 0.604abA	1.245 ± 0.038aA	11.208 ± 0.872	172 830.907	0.248 ± 0.034cCD	0.042 ± 0.006abcdABC	0.322 ± 0.044	4 970.005
22	8.966 ± 0.306aA	1.311 ± 0.055aA	11.418 ± 0.488	176 070.957	0.243 ± 0.032cCD	0.045 ± 0.005abcABC	0.321 ± 0.042	4 949.003
25	8.195 ± 0.476bcAB	1.212 ± 0.074aA	10.452 ± 0.745	161 167.835	0.280 ± 0.062cC	0.054 ± 0.011aA	0.371 ± 0.081	5 720.542
28	7.476 ± 0.234cdBCD	0.929 ± 0.152bB	9.338 ± 0.521	143 998.884	0.273 ± 0.037aA	0.046 ± 0.007abABC	0.354 ± 0.048	5 458.973
31	7.537 ± 0.299cdBCD	0.660 ± 0.049cC	9.108 ± 0.473	140 445.160	0.652 ± 0.150bAB	0.050 ± 0.013aAB	0.780 ± 0.164	12 031.270
34	6.955 ± 0.370deCDE	0.798 ± 0.047cdBC	8.615 ± 0.568	132 841.172	0.534 ± 0.099bB	0.029 ± 0.020deCD	0.625 ± 0.131	9 638.471
37	6.386 ± 0.758eE	0.913 ± 0.070bcB	8.110 ± 0.967	125 052.160	0.450 ± 0.018bB	0.031 ± 0.005cdeBCD	0.534 ± 0.014	8 238.042
40	4.771 ± 0.077fF	0.395 ± 0.031fD	5.740 ± 0.147	88 517.246	0.517 ± 0.079bAB	0.033 ± 0.006bcdeBCD	0.611 ± 0.095	9 428.251
43	7.704 ± 0.118cdBC	0.702 ± 0.058deC	9.340 ± 0.085	144 016.663	0.520 ± 0.086bAB	0.045 ± 0.011abcABC	0.627 ± 0.107	9 673.768

1) 同列数据后,凡具有一个相同小写或大写字母者,表示在0.05水平或0.01水平下差异不显著(Duncan's多重比较法)。

表2 胎座的辣椒素和二氢辣椒素方差分析

Tab.2 Variance analyses of capsaicin and dihydrocapsaicin in the placenta

变异来源	辣椒素					二氢辣椒素						
	自由度	平方和	均方值	F值	无差别的 概率P	差异显 著性 ¹⁾	自由度	平方和	均方值	F值	无差别的 概率P	差异显 著性 ¹⁾
重复	2	0.04	0.022	0.111	0.896		2	0.02	0.008	1.457	0.253	
时期	12	303.34	25.278	126.317	0.000	**	12	6.14	0.512	95.173	0.000	**
试验误差	24	4.80	0.200				24	0.13	0.005			
总和	38	308.18	8.110				38	6.28	0.165			

1) “**”表示在0.01水平下差异显著(Duncan's多因素方差分析法)。

表3 总辣椒素方差分析

Tab.3 Variance analyses of total capsaicinoids

变异来源	自由度	平方和	均方值	F值	无差别的概率P	差异显著性 ¹⁾
总体	4	0.17	0.042			
部位	1	969.12	969.122	6 722.551	0	**
时期	12	258.06	21.505	1.149	0.406 8	
部位×时期	12	224.56	18.713	129.809	0	
试验误差	48	6.92	0.144			
总和	77	1 458.83	18.946			

1) “**”表示在0.01水平下差异显著(Duncan's多因素方差分析法)。

表4 斯科维尔指数的方差分析

Tab.4 Variance analyses of Scoville Heat Units

变异来源	自由度	平方和	均方值	F值	无差别的概率P	差异显著性 ¹⁾
总体	4	4.00×10^7	1.00×10^7			
部位	1	2.30×10^{11}	2.30×10^{11}	6 722.534	0	**
时期	12	6.14×10^{10}	5.11×10^9	1.149	0.406 8	
部位×时期	12	5.34×10^{10}	4.45×10^9	129.809	0	
试验误差	48	1.65×10^9	3.43×10^7			

1) “**”表示在0.01水平下差异显著(Duncan's多因素方差分析法)。

3 讨论与结论

辣椒外形的变化,在开花之后,辣椒果实由小到大,果皮逐渐变光亮、变硬到转色.种子也由小到大、由嫩到老.辣椒素含量的变化与其提取方式、测定方法和所用材料有密切关系.本试验采用甲醇和四氢呋喃混合液在超声波作用下从辣椒果肉、胎座中萃取辣椒素类物质、借助 HPLC 仪器检测辣椒素类物质含量,分析结果显示辣椒素类物质的合成有一定的规律.

3.1 HPLC 检测辣椒素的含量

本试验用 HPLC 检测到的辣椒素质量分数为 $(0.050 \pm 0.004) \sim (8.966 \pm 0.306)$ mg/g,二氢辣椒素质量分数为 $(0.003 \pm 0.002) \sim (1.311 \pm 0.055)$ mg/g.胎座辣椒素总量在开花后 22 d 达到最高值,果肉辣椒素总量则在开花后 31 d 达到最高值,且果肉比胎座的含量少了很多.从一个方面证明了辣椒素在胎座形成并向果肉转移和储存;张晶等^[11]对海南小米辣辣椒素测定的结果显示 SHU 为 56 000,邓明华^[12]对小米辣胎座的测定结果显示,辣椒素为 (7.73 ± 0.38) mg/g、二氢辣椒素为 (2.88 ± 0.16) mg/g,与本试验在具体的辣椒素含量及辣椒素/二氢辣椒素的比值上都有些差距.

在未对粗样品提纯的情况下(成熟期的辣椒中含有红色素,而红色素易溶于有机溶剂),用 HPLC 仍可以检测到辣椒材料中很微量的辣椒素类物质.但是在检测的峰图中,容易出现杂峰,干扰辣椒素类物质出现的时间.因此,要用标样反复检测辣椒素和二氢辣椒素的出峰时间,为准确找到对应的峰图位置做参照.

3.2 辣椒素类物质的含量变化分析

本试验得到的数据显示,辣椒素类物质的合成在辛辣材料中都是先缓慢增加,到一定时期急剧累加到最大值,而后又逐渐减少.小米辣以青色期最高.这是由于辣椒素在果实中的积累受到合成与降解两方面的共同调节,现在已有研究表明:辣椒果实中的过氧化物酶参与了辣椒素的氧化,使得辣椒素转化为其他次生物质,降低了辣椒果实中辣椒素的含量^[13].富宏丹等^[14]研究了 3 个不同辣椒品种胎座和果肉中的辣椒素与其降解相关酶之间的关系,认为在整个辣椒果实发育时期,过氧化物酶、多酚氧化酶活性均和辣椒素含量呈一定的负相关.因此,这两种酶有可能参与了辣椒素的氧化降解,且在该过程中有互补的作用.从果实性状与辣椒素含量的关系来看,大果型辣椒的辣味轻,或带甜味,辣椒素含量低;朝天椒、线椒等小果型品种

则辣味强,辣椒素含量高^[15].

本试验用 HPLC 检测小米辣 2 个部位、13 个不同时期的辣椒素类物质含量时发现,在开花后 7 d 的辣椒素类物质含量为果实全生育期最少,在花后 10 d 的辣椒素类物质含量开始逐渐升高,说明辣椒素类物质合成在花期 10 d 前才刚刚开始.同时检测数值显示,同期的辣椒素含量以胎座最高,果肉含量一直较低.前人研究认为辣椒素类物质主要在果实胎座表皮细胞的液泡中形成,并通过子房隔膜运输到果肉表皮细胞的液泡中积累^[16].胎座中的过氧化物酶活性远低于果肉,也可能使得胎座中的辣椒素含量大大高于果肉^[17].另外,从小米辣果实的发育过程来看,胎座的发育要早于果肉.可能是辣椒素在胎座中合成以后,少量的以游离态形式运送到果肉,所以果肉中的辣椒素含量较少.

3.3 小结

本试验通过 HPLC 法检测了小米辣胎座、果肉在花后 13 个不同时期的辣椒素、二氢辣椒素含量,辣椒素类物质的含量以胎座部位最多.同时,用 SAS 软件对不同时期材料、不同部位的辣椒素含量进行了统计分析,从果实的胎座、果肉在 13 个不同时期辣椒素、二氢辣椒素、辣椒素总量与 SHU 的方差分析结果可知:辣椒素总量、SHU 在不同部位间以及辣椒素和二氢辣椒素在花后不同时期,在 0.01 检测水平下表现出显著差异,说明辣椒素类的物质含量与部位和合成时间显著相关.

参考文献:

- [1] IWAI K, SUZUKI T, FUJIWAKE H. Simultaneous micro-determination of capsaicin and its four analogues by using high-performance liquid chromatography and gas chromatography—mass spectrometry [J]. *J Chromatography*, 1979, 299(172): 303-311.
- [2] GRAM D X, HANSEN A J, WILKEN M, et al. Plasma calcitonin gene-related peptide is increased prior to obesity, and sensory nerve desensitization by capsaicin improves oral glucose tolerance in obese Zucker rats [J]. *Eur J Endocrinol*, 2005, 153(6): 963-969.
- [3] GRUSHKA M, EPSTEIN J B, GORSKY M, et al. Burning mouth syndrome [J]. *American Family Physician*, 2002, 65(4): 615-620.
- [4] 李光光,陈国菊,曹必好,等.不同辣椒基因型辣椒素的积累特性[J].*中国蔬菜*, 2010, 30(24): 31-35.
- [5] 王金玲,吕长山,于广建.光对储存期辣椒果实辣椒素含量的影响[J].*中国农学通报*, 2005, 21(9): 96-98.
- [6] 彭书练,夏延斌,丁芳林.索氏提取法制备辣椒素的工艺研究[J].*辣椒杂志*, 2007, 7(4): 31-33.

- [7] 刘晓鹏,姜宁. 微波辅助提取辣椒中辣椒素的研究[J]. 江西师范大学学报:自然科学版, 2008,32(3):286-289.
- [8] 李鑫,马斌强,胡晓娟,等. 辣椒素的提取与分析工艺研究[J]. 江西农业学报, 2009,21(3):139-141.
- [9] 李鑫,吴莉莉,袁超,等. 辣椒素提取方法的比较研究[J]. 河南农业大学学报, 2008,42(2):231-235.
- [10] 严伟,李淑芬,田松江. 超声波协助提取技术[J]. 化工进展, 2002,21(9):649-651.
- [11] 张晶,孙长波,石磊岭,等. RP-HPLC 法测定辣椒中辣椒素、二氢辣椒素和降二氢辣椒素含量[J]. 药物分析杂志, 2011,31(2):244-246.
- [12] 邓明华. 辣椒胞质雄性不育的分子生理机制及亲缘关系研究[D]. 长沙:中南大学, 2011.
- [13] GOODWIN D C, HERTWIG K M. Peroxidase-catalyzed oxidation of capsaicinoids: Steady-state and transient-state kinetic studies [J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 417(1):18-26.
- [14] 富宏丹,何莉莉,陈俊琴,等. 不同品种辣椒 POD 和 PPO 活性与辣椒素含量的关系[J]. 沈阳农业大学学报, 2006,37(6):479-481.
- [15] 徐毅. 干辣椒的开发前景及高产高效栽培[J]. 江西园艺, 2004,36(6):68-70.
- [16] 狄云,蒋健箴,石正强. 辣椒果实中的辣椒素类物质研究进展[J]. 食品科学, 1999,20(6):30-32.
- [17] 狄云,蒋健箴,石正强,等. 辣椒果实成熟过程中辣椒素的降减[J]. 食品科学, 2000,21(6):19-23.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第35页)

- [15] 高玲. 水稻长护颖突变体基因图位克隆[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2005.
- [16] EMERSON R A, FRASER A C, BEADLE G W. A summary of linkage studies in maize[M]. New York: Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir, 1935: 1-83.
- [17] MERTZ E T, BATES L S, NELSON O E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm[J]. Science, 1964,145(2):279-280.
- [18] McWHIRTER K S. A floury endosperm, high lysine locus on chromosome 10[J]. Maize Genet Coop News Letter, 1971,45:184.
- [19] YANG W P, ZHENG Y L, ZHENG W T, et al. Molecular genetic mapping of a high-lysine mutant gene (*opaque-16*) and the double recessive effect with *opaque-2* in maize [J]. Mol Breeding, 2005, 15(3): 257-269.
- [20] EAST E M, HAYES H K. Inheritance in maize[M]. New Haven: Connecticut Agricultural Experiment Station, 1911: 1-142.
- [21] VINEYARD M L, BEAR R P. Amylose content [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1952,26:5.
- [22] SCHNABLE P S, WARE D, FULTON R S, et al. The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics [J]. Science, 2009,326(5965):1112-5.
- [23] 兰进好,张宝石. 玉米分子遗传图谱的 SSR 和 AFLP 标记构建[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004,32(12):28-37.
- [24] WANG G, SUN X, WANG G. *Opaque7* encodes an acyl-activating enzyme-like protein that affects storage protein synthesis in maize endosperm [J]. Genetics, 2011, 189(4):1281-1295.
- [25] 孙大元,肖武名,杨祁云,等. 空间诱变水稻 DH104 的稻瘟病抗性分析及抗病基因定位[J]. 华南农业大学学报, 2011,32(3):18-21.
- [26] GARDINER J, SCHROEDER S, Mary L. Anchoring 9, 371 maize expressed sequence tagged unigenes to the bacterial artificial chromosome contig map by two-dimensional overgo hybridization [J]. Plant Physiol, 2004, 134(4): 1317-1326.
- [27] SODERLUND C, DESCOUR A, KUDRNA D. Sequencing, mapping, and analysis of 27,455 maize full-length cDNAs [J]. PLOS Genetics, 2009,5(11):1-13.
- [28] JONES M W, BOYD E C, REDINBAUGH M G. Responses of maize (*Zea mays* L.) near isogenic lines carrying Wsm1, Wsm2, and Wsm3 to three viruses in the potyviridae [J]. Theor Appl Genet, 2011,123(5):29-40.

【责任编辑 李晓卉】