

辣椒素的提取及抑菌活性研究

张继红^{1*}, 陶能国¹, 李俊丽², 刘友秀¹, 李晓宁¹

(1. 湘潭大学 化工学院生物食品工程系, 湖南 湘潭 411105; 2. 武汉理工大学 化工学院制药工程系, 武汉 430070)

摘要: 以干红辣椒为原料, 选取 95% 的乙醇和正己烷作为提取溶剂, 利用索氏提取法提取其中的辣椒素。结果表明, 以 95% 的乙醇作为提取溶剂的效果好于正己烷, 辣椒素的提取率最高可达 1.77%, 高于正己烷的 1.12% 的提取率。用滤纸片法研究辣椒素对大肠杆菌等 8 种常见食品腐败菌的抑菌活性。结果表明: 辣椒素对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌有明显的抑菌效果, 对大肠杆菌抑菌作用较弱, 对黑曲霉、青霉、保加利亚乳酸杆菌和噬热链球菌没有作用。辣椒素经过高温灭菌后, 抑菌作用减弱, 培养时间对抑菌圈的影响不大。以正己烷为助溶剂, 确定辣椒素对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度(MIC)为 50 mg/mL。

关键词: 辣椒素; 提取; 抑菌活性

中图分类号: Q949.96 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)01-0137-04

Extraction of capsaicin and its anti-microbial activity

ZHANG Ji-Hong^{1*}, TAO Neng-Guo¹, LI Jun-Li²,

LIU You-Xiu¹, LI Xiao-Ning¹

(1. College of Biology Engineering, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China; 2. College of Pharmaceutical Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Abstract: The capsaicin was extracted from red pepper using soxhlet extraction method with 95 % ethanol and n-hexane as solvents. Results showed that 95% ethanol was more suitable for extraction of capsaicin than n-hexane, with the extraction rate of 1.77% and 1.12%, respectively. The antimicrobial activities of the resulting capsaicin against 8 food spoiled microorganisms were also determined by disc-agar diffusion method. The capsaicin was observed to have significant inhibitory effects on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. A moderate antibacterial activity was also observed against *Escherichia coli*. No antimicrobial activity against *Lactobacillus Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Aaergerillus* sp. and *Penicillium* sp. was observed. The autoclaved capsaicin had more antimicrobial activity though its effect had been weakened. The inhibitory effect was not changed with the culture's time. The minimum inhibitory concentration of capsaicin against *B. subtilis* was determined to be 50 mg/mL.

Key words: capsaicin; extraction; antimicrobial activity

食品防腐剂是防止食品腐败变质的有效物质, 目前市场上的品种较多, 主要是苯甲酸和山梨酸及其盐类, 它们都是化学合成类添加剂, 现已发现, 它们对食品的口感及人们的身体健康有不良的影响, 且防腐效果欠佳。天然辣椒素是从红辣椒中提取出来的一种高附加值产品, 被广泛应用于医药、轻化和食品工业, 具有极高的药用价值和经济价值(董静等, 2006)。辣椒素的价格远高于辣椒色素价格, 低

成本、高质量的辣椒素生产工艺的提出以及相应分析方法的确立, 是综合利用辣椒资源的关键所在。

目前辣椒素的生产技术普遍存在工艺复杂, 提取率及得率均低等问题。辣椒素对细菌有很好的抑菌活性, 对酵母菌的抑菌活性次之, 对霉菌抑菌性较弱, 且在较宽的温度和 pH 值变化范围内仍能保持良好的抑菌活性(郭丽等, 2006)。有些材料如丁香、八角、银杏等虽有广谱抑菌作用, 但原材料价格比辣

收稿日期: 2008-07-21 修回日期: 2009-05-15

基金项目: 国家自然科学基金(30570432)[Supported by the National Natural Science Foundation of China (30570432)]

作者简介: 张继红(1977-), 男, 湖南湘乡人, 在职博士生, 从事生物分析与分析化学科研工作, (E-mail)jihongzh01@hotmail.com。

椒高很多(吴影等,2007;王勤等,2008)。因此,辣椒素可以作为一种广谱廉价的抑菌材料,不仅有良好的经济效益,而且有健康、绿色、环保、安全等社会效益。关于天然活性物质辣椒碱的防腐作用的探讨(Surh等,2002;Tani等,2004;吴东海等,2005),目前国内外报道甚少。本文以湖南本地干红辣椒为原料,提取出辣椒碱液,并研究其防腐效果。

1 材料与方 法

1.1 实验设备、材料

设备:250 mL 索氏提取器,ME215S 精密电子天平,旋转蒸发仪,水浴锅,研钵与杵棒,数显恒温水浴锅手提式压力蒸汽灭菌锅,电热恒温培养箱,双层铁皮电炉,电冰箱,无菌工作台。材料:干红辣椒购于湘潭大学附近超市;95%乙醇;正己烷;蒸馏水。所用的菌种包括:细菌:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)。霉菌:黑曲霉(*Aspergillus sp.*)、青霉(*Penicillium sp.*)以上菌

种均保存于湘潭大学生物食品工程系微生物教研组。细菌所用培养基为牛肉膏蛋白胨培养基,其配方为:牛肉膏粉 3 g、蛋白胨 18 g、NaCl 5 g、琼脂 12 g,使用时按 38 g/1000 mL 蒸馏水配置,pH7.2~7.4。霉菌用培养基为孟加拉红培养基,其配方为:蛋白胨 5 g、葡萄糖 10 g、磷酸二氢钾 1 g、硫酸镁 0.5 g、孟加拉红 0.03 g、氯霉素 0.1 g、琼脂 15 g,使用时按 31.8 g/1000 mL 无菌水,pH5.8~6.2。

1.2 实验方法

(1)提取实验方法:以本地干红辣椒为原料,用索氏提取法,分别以 95%乙醇和正己烷为提取剂,将辣椒样品按照一定的固液比(1:6,1:8,1:10),对提取温度和提取时间、虹吸次数等参数设置后,提取辣椒素。(2)旋转蒸发法:旋转蒸发仪浓缩辣椒素,所得的粗产品呈红色的油状,往其中加入 2 mL 的提取剂,溶解后转移至事先已称好了重量的干燥、洁净的称量瓶里,将称量瓶置于恒温鼓风箱中烘至粘稠稠状,称重,记录。(3)抑菌试验方法:将供试菌种接种于相应的试管斜面培养基上,细菌置于 37℃ 恒温培养箱培养 18~24 h;霉菌则在 28℃,培养 48 h,培养好的试管斜面放置在 0~4℃ 冰箱内冷藏备用。取活化好的菌株,用在酒精灯上充分灼烧灭菌

表 1 两种溶剂不同处理索氏提取辣椒素的提取率比较

Table 1 Soxhlet extraction rates of capsaicin extracted with two kinds of solvents

编号 No.	溶剂名称 Solvent	回流时间(h) Counterflow time	固液比 Solid-liquid ratio	溶剂体积(mL) Solvent volume	辣椒粉(g) Pepper powder	粗产品(g) Crude products	提取率(%) Extraction rate
a	95%酒精	5	1:10	100	12.5	0.140	1.12
b	95%酒精	5	1:8	100	12.5	0.108	1.08
c	95%酒精	5	1:6	100	12.5	0.088	0.70
A	正己烷	5	1:10	100	12.5	0.221	1.77
B	正己烷	5	1:8	100	12.5	0.147	1.47
C	正己烷	5	1:6	100	12.5	0.121	0.96

好的接种环挑取少量细菌、霉菌孢子,放入装有 9 mL 生理盐水的试管中,加入两颗小玻璃珠,摇匀,制成孢子均匀分散的悬浮液,使菌悬液中细菌数为 $1\sim 2\times 10^8$ CFU/mL,霉菌孢子数为 $1\sim 8\times 10^6$ CFU/mL。

2 结果与分析

2.1 索氏提取辣椒素提取率比较

辣椒提取率=粗提产品/干辣椒总重 $\times 100\%$;利用索氏提取方法,以 95%的无水酒精和正己烷为溶剂,对辣椒素的提取率进行比较,从表 1 得出,正

己烷的提取效率略高于无水酒精,提取率在 0.96%~1.8%之间。

2.2 滤纸片抑制常见菌法

抑菌指标判定:抑菌圈直径 $D\geq 10$ mm 为高度敏感,用“+++”表示; $8\leq D\leq 10$ 为中度敏感,用“++”表示; $6\leq D\leq 8$ 为低度敏感,用“+”表示; $D\leq 6$ 为不敏感,用“—”表示。未特殊说明者均为未灭菌处理所得结果。从表 2 得知,辣椒素对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和醋酸杆菌变种均有明显的抑菌效果,对大肠杆菌有抑菌效果,但抑菌作用较微弱,对黑曲霉、青霉、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌没有抑菌效果。

表 2 辣椒素对常见菌的抑菌效果
Table 2 Inhibitory effect of capsaicin to common bacteria

菌种 Strains	抑菌效果 Inhibitory effect	菌种 Strains	抑菌效果 Inhibitory effect
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	+++	黑曲霉 <i>Aspergillus</i>	--
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	+	青霉 <i>Penicillium</i>	--
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	+++	保加利亚乳杆菌 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	--
醋酸杆菌变种 <i>Acetobacter aceti</i>	+++	嗜热链球菌 <i>Streptococcus thermophilus</i>	--

表 3 不同辣椒素溶液的浓度对抑菌作用的影响
Table 3 The effect of different concentrations of capsaicin on the inhibitory effects

样品 Sample	金黄色葡萄球菌(mm) <i>Staphylococcus aureus</i>	枯草芽孢杆菌(mm) <i>Bacillus subtilis</i>
a(正己烷)	10.9±0.3	10.4±0.5
b(正己烷)	8.6±0.6	11.9±0.3
c(正己烷)	7.9±0.3	12.5±0.4
A(95%酒精)	15.1±0.8	8.32±0.4
B(95%酒精)	14.2±0.5	11.6±0.6
C(95%酒精)	11.0±1.0	12.3±0.2

注: a、A 号样品的辣椒素浓度为 0.14 g/mL; b、B 号样品的辣椒素浓度为 0.07 g/mL; c、C 号样品的辣椒素浓度为 0.0353 g/mL。

从表 3 可知,以正己烷和 95%乙醇作助溶剂时,其样品溶液对金黄色葡萄球菌的抑菌作用随着样品浓度的降低而减弱,且以乙醇作助溶剂的样品其抑菌效果较以正己烷作助溶剂的样品的抑菌效果好。

表 4 培养时间与抑菌效果的关系
Table 4 Relationship between culture time and inhibitory effect

样品 Sample	12 h(mm)	18 h(mm)	24 h(mm)	36 h(mm)
1(95%酒精)	9.8	9.3	9.6	9.4
2(95%酒精)	14.8	15.0	15.1	15.1
3(正己烷)	8.8	8.6	8.5	8.4
4(正己烷)	9.7	9.8	8.6	9.6
5(95%酒精)	10.0	9.7	9.9	10.0
6(95%酒精)	9.3	9.4	9.0	9.5
7(95%酒精)	8.2	8.3	7.8	8.2
8(正己烷)	7.3	7.5	7.4	7.6
9(正己烷)	8.8	8.8	9	8.5
10(95%酒精)	7.8	7.7	7.6	8.0

注: 1-5 号辣椒素浓度为 0.1395 g/mL; 6-10 号样品是 1-5 号样品溶液稀释 2 倍的溶液(辣椒素浓度为 0.279 g/mL)。

从表 4 可以得知,培养时间对高浓度和低浓度样品抑菌圈大小的影响均不大;2 号样品抑菌圈有略微减少趋势,3 号抑菌圈有略微增大趋势;高浓度样品较低浓度样品的抑菌圈要大。

2.3 灭菌对辣椒提取物抑菌作用的影响

由表 5 可知,未灭菌的辣椒提取物样品 1、2 对

金黄色葡萄球菌的抑菌圈大小分别为 12.1 mm 和 15.8 mm,较 121 °C 灭菌后的辣椒提取物的抑菌作用要强,可能是高温高压灭菌影响了辣椒提取物的活性。

表 5 辣椒提取物灭菌与否对金黄色葡萄球菌抑菌作用的关系

Table 5 The relationship between *Staphylococcus aureus* inhibitory effect and pepper extract with or without sterilization

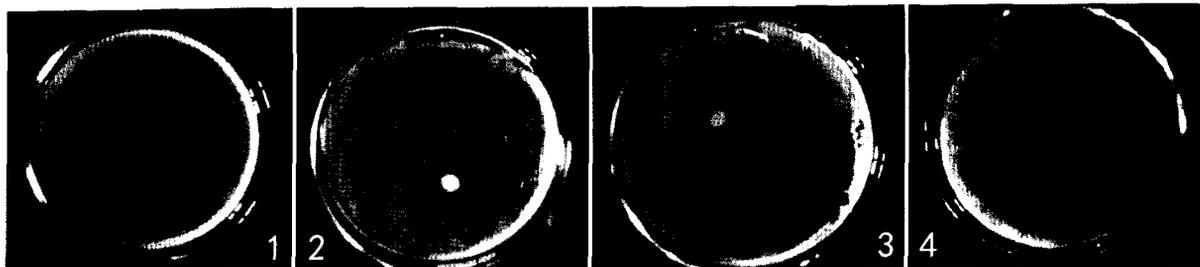
样品 Samples	未灭菌 Unsterized (mm)	121 °C 灭菌 (mm) 121 °C Sterized
1	12.1±0.5	9.8±0.2
2	15.8±0.9	12.2±0.6

注: 其中样品 1 以正己烷为助溶剂,而样品 2 以 95%无水乙醇为助溶剂。

3 讨论

本文利用 95%的乙醇和正己烷从辣椒粉中提取辣椒素,得到的辣椒素提取率差别较大,用 95%乙醇提取的提取率低于用正己烷提取的提取率。提取率除了与辣椒的取材部位、提取剂和固液比有关外,其它实验参数如虹吸次数、提取温度、回流时间都将影响提取率。本实验的辣椒提取率在 0.96%~1.8%,跟前人提取率为 1.26%的研究结果相近(樊钰虎等,2008)。

目前,关于辣椒素抑菌试验研究不是很多(Pemcka & Materska, 2003; Masterska & Perucka, 2005; 孙永华等, 2005),本文系统地辣椒素抑菌作用进行了研究,实验结果表明,辣椒素对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、醋酸杆菌变种均有明显的抑制作用,但对霉菌(青霉和曲霉)及乳酸菌无抑制作用。在一定范围内,辣椒素的抑菌作用随着浓度的升高而增强;未灭菌的辣椒素抑菌作用比经过 121 °C 高压灭菌的作用要差,可能是高温高压灭菌的过程中在一定程度上破坏了辣椒素的结构。辣椒素一般为辣椒碱和二氢辣椒碱的混合物,



图版 I 抑菌图 1. 枯草芽孢杆菌; 2. 金黄色葡萄球菌; 3. 2号样品未灭菌; 4. 2号样品 121 °C 灭菌。
Plate I Bacteriostasis map 1. *Bacillus subtilis*; 2. *Staphylococcus aureus*; 3. No. 2 sample unsterilized; 4. 21 °C sterilized.

二氢辣椒碱和辣椒碱分子结构的差异,后者具有 C=C 双键,双键在高温下稳定性较差(吴明光等,1993;方宏等,2004)。

参考文献:

- Dong J(董静),Zhang GH(张国辉),Wang HT(王洪涛). 2006. Extraction and application of capsaicin and hot pepper red pigment in capsicum(辣椒中辣椒碱和辣椒红色素的提取及应用)[J]. *Food Tech*(食品科技),60-62
- Fan YH(樊钰虎),Yi L(易龙),Ding W(丁伟),et al. 2008. Studies on extracting process of Capsaicin from(辣椒中辣椒碱提取工艺条件的研究)[J]. *J Southwest Univ; Nat Sci Edi*(西南大学学报:自然科学版),30(1):64-68
- Fang H(方宏),Zeng JZ(曾健智),Zhang HR(张厚瑞). 2004. Determination of xylose and xylitol in fermentation broth by high performance liquid chromatography(高效液相色谱法检测发酵液中木糖和木糖醇)[J]. *Guihaia*(广西植物),24(3):275-277
- Guo L(郭丽),Wang QZ(王巧珍),Zhu L(朱林). 2006. Study on the anti-pathogenic activities of capsaicin and effects of its antiseptic application to ketchup(辣椒碱抗菌原菌活性及其在番茄酱防腐中的应用)[J]. *J Hefei Univ Tech; Nat Sci Edi*(合肥工业大学学报:自然科学版),29(1):117-121
- Materska M,Perucka I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit capsicum[J]. *J Agric Food Chem*,53(5):1750-1756
- Pemcka I,Materska M. 2003. Antioxidant activity and content of capsaicinoids isolated from Polish[J]. *J Food Nutrition Sci*,12(2):15-18
- Sun YH(孙永华),Wang RY(王日勇). 2005. Capsaicin's extraction and analysis and its application in pest management(辣椒碱的提取、检测及其在有害生物防治中的应用)[J]. *J China Capsicum*(辣椒杂志),45-46
- Surh YL,et al. 2002. More than spice capsaicin in hot chili peppers makes tumor cells commit suicide[J]. *J National Cancer Institute*,94(17):1263-1265
- Tani Y,Fujioka T,Sumioka M,et al. 2004. Effects of capsinoid on rumen and liver lipids in hyperlipidemic rats[J]. *J Nutritional Sci Vitaminology*,50(5):351-355
- Wang Q(王勤),Zhong X(钟雪),Qiu L(邱凌),et al. 2008. Inhibitory mechanism of extracts from *Ginkgo biloba* sarcotesta on mushroom tyrosinase(银杏外种皮提取物对酪氨酸酶的抑制作用)[J]. *Guihaia*(广西植物),28(3):379-381
- Wu DH(吴东海),Ji HW(吉海旺),Shen L(沈霖). 2005. Efficacy and safety of topical capsaicin in treatment of arthralgia(辣椒碱软膏治疗关节痛 135 例)[J]. *J Chin Med Res*(中华医学研究杂志),5(2):115-117
- Wu MG(吴明光),Wang JM(王金茂),Wu B(吴兵),et al. 1993. Studies on the natural capsaicin determination(天然结晶辣椒碱的分析测定)[J]. *J Xiamen Univ; Nat Sci Edi*(厦门大学学报:自然科学版),32(6):749-752
- Wu Y(吴影),Gu SB(古绍彬),Zhang YJ(张永杰). 2007. Study on the bacteriostasis of capsaicin in *Capsicum annuum*(辣椒中辣椒碱抑菌作用的研究)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学),35(29):9130-9131