

花椒羟基- α -山椒素在紫外照射下的降解动力学及其转化机理研究

Degradation kinetics and transformation mechanism research of hydroxy- α -sanshool from *Zanthoxylum bungeanum* exposed to UV radiation

严雅丽¹ 刘福权¹ 赵志峰¹ 谷学权² 幸 勇²

YAN Ya-li¹ LIU Fu-quan¹ ZHAO Zhi-feng¹ GU Xue-quan² XING Yong²

(1. 四川大学轻纺与食品学院, 四川 成都 610065; 2. 四川五丰黎红食品有限公司, 四川 雅安 625302)

(1. College of Light Industry, Textile and Food Engineering, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610065, China;

2. Sichuan Wufeng Lihong Food Co., Ltd., Ya'an, Sichuan 625302, China)

摘要:为了研究花椒中典型酰胺类物质羟基- α -山椒素在紫外照射下的变化趋势及转化方向,从花椒油中提取、分离、纯化得到羟基- α -山椒素,对其进行紫外照射处理,利用 HPLC 法测定不同照射时间各物质的含量。结果表明,羟基- α -山椒素在紫外照射下迅速减少,8 h 后减少了 95.9%,浓度与时间满足一级反应速率方程 $C=490.68e^{-0.346\ 9t}$,且转化为其同分异构体羟基- ϵ -山椒素,使羟基- ϵ -山椒素含量在 3 h 后升高至初始含量的 8.56 倍,而羟基- β -山椒素在照射过程中持续减少,说明紫外照射对花椒及其制品的麻味有很大的影响。

关键词:花椒;酰胺类物质;紫外照射;同分异构体转化;动力学模拟

Abstract: To study the variation trend of hydroxy- α -sanshool from *Zanthoxylum bungeanum* exposed to UV radiation and its transformation direction, the hydroxy- α -sanshool, a typical alkylamides of *Zanthoxylum bungeanum*, was extracted, separated and purified from *Zanthoxylum* oil and exposed to UV radiation. The alkylamides content was detected by using HPLC after different hours of radiation. The results indicated that hydroxy- α -sanshool under UV radiation decreased rapidly by 95.9% in 8 hours. Furthermore, the concentration and time obeyed the first order reaction rate equation $C=490.68e^{-0.346\ 9t}$, meanwhile it transformed into hydroxy- ϵ -sanshool, which was 8.56 times of its initial content after 3 hours. Moreover, another isomer hydroxy- β -sanshool kept decreasing under UV radiation, which indicated that UV radiation made a big difference on

the numb-taste of *Zanthoxylum bungeanum* and its products.

Keywords: *Zanthoxylum bungeanum*; alkylamides; UV radiation; isomers transformation; kinetic simulation

花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)系芸香科花椒属植物,被誉为“八大调味品”之一^[1],是家庭常用的烹饪调料和中药配料。花椒的麻味主要来源于花椒中的酰胺类物质,不同的酰胺类物质的阈值、人体感觉及味觉强度有差异^[2],且其含量与种类是花椒质量等级分类的重要因素^[3]。花椒中酰胺类物质含量与种类的变化将引起其麻味的变化,而该变化与酰胺类物质在不同条件下的稳定性有关。花椒酰胺类物质在常温光照下不稳定,很容易发生化学变化,紫外可加速其变化^[4]。

近年来,有关花椒中典型酰胺类物质的研究成为热点,但大多关注于物质本身的鉴定与生理活性^[5-7],少数研究涉及了花椒中酰胺类物质贮藏稳定性,而对其保藏过程中酰胺类物质转化的研究还鲜有报道。Yang^[8]发现羟基- α -山椒素水溶液在 22~24 ℃中保存 4 周,降解了 50%;当暴露在紫外光下时,80%乙醇溶液中的羟基- α -山椒素 4 h 完全消失。Ichiro 等^[9]将羟基- α -山椒素在碘催化下进行紫外照射,制备出了羟基- β -山椒素,说明羟基- α -山椒素在一定条件下可以进行同分异构体的转化,但未关注其变化过程,无法了解反应的方向与速率。本试验以花椒中典型的酰胺类物质羟基- α -山椒素为对象,研究其在紫外照射下的稳定性、模拟降解动力学方程,并测定羟基- β -山椒素与羟基- ϵ -山椒素的含量变化,分析同分异构体之间的相互转化,进而初步推测羟基- α -山椒素在紫外照射下的转化机理,为研究花椒及其制品在贮藏过程中的麻味变化提供参考。

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:21502128);成都市产业集群协同创新重大项目(编号:2016-XT00-00031-NC)

作者简介:严雅丽,女,四川大学在读本科生。

通信作者:赵志峰(1980—),男,四川大学副教授,博士。

E-mail: zhaozhifeng@scu.edu.cn

收稿日期:2017-08-08

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

花椒油:四川成都建华食品有限公司;
甲醇、碱性氧化铝、乙腈、正己烷、无水乙醇:分析纯,成都科龙试剂厂。

1.1.2 仪器与设备

恒温振荡器:THZ-98AB型,上海一恒科学仪器有限公司;
旋转蒸发器:RE52-99型,上海亚荣生化仪器厂;
低速离心机:TDZ5-WS型,长沙湘智离心机仪器有限公司;
循环水式真空泵:SHZ-D型,上海道京仪器有限公司;
超声机:KH2200B型,昆山禾创超声仪器有限公司;
紫外灯:ZW40Z20W型,杭州亚光照明灯饰有限公司;
高效液相色谱仪:LC-6AD型,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 酰胺类物质的提取、分离纯化与检测

(1) 酰胺类物质的提取:参考文献[10]的方法,称取花椒油 15 g,置于 500 mL 试剂瓶中,加入 225 mL 甲醇,于恒温振荡器中水浴震荡提取(40 ℃,2 h,160 r/min),超声 5 min。混合液经过离心(4 000 r/min,10 min)后取上清液,用 2 倍体积的正己烷进行萃取除杂,下层清液过碱性氧化铝层析柱除去多酚,所得层析液减压蒸干并计重,所得样品即为酰胺类物质提取物。

(2) 酰胺类物质的分离纯化:取一定量的粗提物用色谱级甲醇溶解后过 0.22 μm 滤膜,在 ODS 柱(*F* 29 mm×153 mm,ODS 规格 50 μm 120A)中洗脱,每 50 mL 收集洗脱液,得到含羟基-α-山椒素及其同分异构体的洗脱液。

(3) 酰胺类物质的定量检测:取一定量的洗脱液用色谱级甲醇溶解后过 0.22 μm 滤膜,用高效液相色谱仪进行测定,色谱条件:MN Nucleodur 1100-5 C₁₈柱;流动相 A:水;流动相 B:乙腈;流速:0.5 mL/min;柱温:30 ℃;紫外检测波长:270 nm;进样量:20 μL。洗脱程序见表 1。

表 1 HPLC 洗脱程序

Table 1 HPLC elution procedure

时间/min	水/%	乙腈/%
0	65	35
40	25	75
50	0	100

以各浓度的羟基-α-山椒素标准品在 270 nm 下吸收峰面积(mAU·min)为纵坐标,浓度(μg/mL)为横坐标,绘制标准曲线,得到线型回归方程: $y=198\ 648x$, $R^2=0.998$,样品在 60~750 μg/mL 时呈较好的线性相关性,因此本试验可用峰面积表征物质的含量。

1.2.2 紫外连续照射处理

(1) 照射样品制备:将上述步骤得到的羟基-α-山椒素及

其同分异构体洗脱液(80%甲醇溶液)蒸干,用适量乙醇完全溶解,得到 100%乙醇溶剂的羟基-α-山椒素溶液。

(2) 紫外照射处理:将羟基-α-山椒素及其同分异构体的乙醇溶液置于透明石英试剂瓶中,试剂瓶置于距离紫外灯 15 cm 处,紫外灯功率 40 W,对样品进行连续照射,并分别在 0,1,2,3,4,5,6,7,8 h 时从试剂瓶中取样,蒸干,并用甲醇溶解,进行 HPLC 检测。

2 结果与分析

2.1 酰胺类物质检测结果

0 h 的羟基-α-山椒素乙醇溶液的液相色谱图见图 1。前期研究^[11]中,课题组已经利用液相色谱-质谱联用仪对花椒的酰胺类物质进行了分析,根据出峰时间、最大吸收峰和质荷比,对比参考文献[11]可知图 1 中的 1、2、3 号峰分别为羟基-ε-山椒素、羟基-α-山椒素、羟基-β-山椒素,其相对分子量均为 263,互为同分异构体。各物质峰面积及纯度见表 2。依次检测 0~8 h 时的样品,得到酰胺类物质的峰面积与纯度。

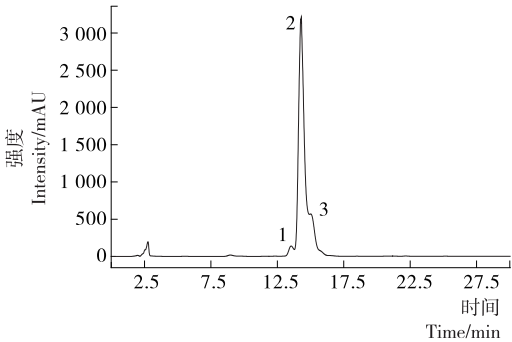


图 1 羟基-α-山椒素紫外照射前(0 h 时)的 HPLC 图谱
Figure 1 HPLC chromatogram of hydroxy-α-sanshool before UV radiation(0 hour)

表 2 0 h 时 3 种山椒素的峰面积与纯度

Table 2 The peak area and purity of three sanshools

峰号	化合物名称	峰面积/(mAU·min)	纯度/%
1	羟基-ε-山椒素	3 525 120	2.8
2	羟基-α-山椒素	97 472 245	79.0
3	羟基-β-山椒素	16 969 773	13.8
合计		117 967 138	95.6

紫外照射 8 h 后的羟基-α-山椒素乙醇溶液的液相色谱图见图 2。由图 2 可知,经过 8 h 的紫外照射,样品中的 3 种山椒素峰高大幅降低,含量明显减少,且各物质变化规律不一致,说明 3 种物质在紫外照射过程中发生了不同程度的变化。

2.2 酰胺类物质在紫外照射下的变化

2.2.1 羟基-α-山椒素在紫外照射下的变化 由图 3 可知,在紫外照射下,羟基-α-山椒素持续减少,在 0~2 h 时,减少速率较快,2 h 时已减少 56.8%;当紫外照射 8 h 时共减少了 95.9%。在羟基-α-山椒素含量减少的同时,其纯度也在降低,但两者趋势并不完全相同。

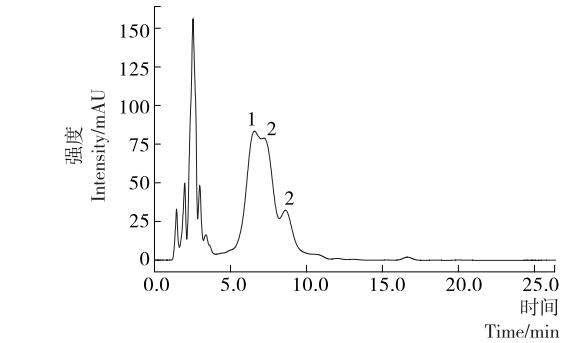


图 2 羟基- α -山椒素紫外照射 8 h 后的 HPLC 图谱
Figure 2 HPLC chromatogram of hydroxy- α -sanshool after 8 hours UV radiation

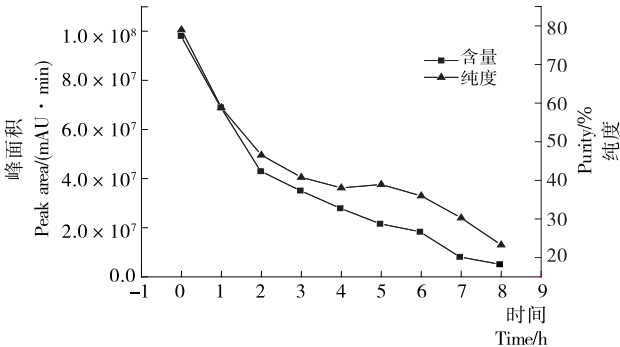


图 3 羟基- α -山椒素在紫外照射下含量与纯度变化
Figure 3 Changes in the content and purity of hydroxy- α -sanshool under UV radiation

对羟基- α -山椒素含量与照射时间作散点图,并根据一级反应速率方程进行拟合,得到图 4 所示趋势线。该模拟方程式为 $S = S_0 e^{-0.346 9t}$, $S_0 = 97\ 472\ 245$, $R^2 = 0.987$,拟合度较好。用标准曲线换算后得到反应速率方程 $C = 490.68e^{-0.346 9t}$,其中 C 表示某时刻样品中羟基- α -山椒素的浓度($\mu\text{g/mL}$), t 表示照射时间(h)。由此方程可推测出在紫外连续照射的不同时刻羟基- α -山椒素的含量及降低速率。

2.2.2 羟基- ϵ -山椒素在紫外照射下的变化 由图 5 可知,在紫外照射 1 h 时,羟基- ϵ -山椒素含量迅速增加,并在 1~3 h 时持续缓慢升高,3 h 时达到初始含量的 8.56 倍。照射 4 h 时羟基- ϵ -山椒素含量开始降低,在 4~5 h 和 6~7 h 时降低

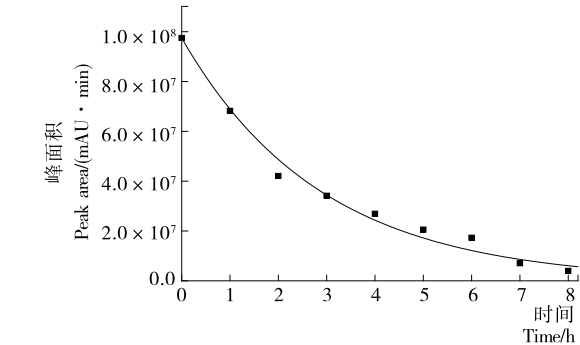


图 4 羟基- α -山椒素在紫外照射下的变化拟合曲线
Figure 4 Fitted curve of changes in the content of hydroxy- α -sanshool under UV radiation

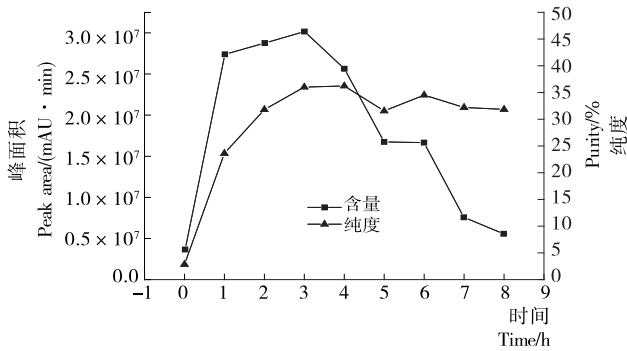


图 5 羟基- ϵ -山椒素在紫外照射下的含量与纯度变化
Figure 5 Changes in the content and purity of hydroxy- ϵ -sanshool under UV radiation

明显,8 h 时含量仅为初始含量的 1.54 倍。羟基- ϵ -山椒素初始纯度含量较低,仅有 2.86%,但在紫外照射 2 h 后,其纯度可达到 30% 以上,并且在后续照射中其含量不断降低,其纯度变化依然不大。

2.2.3 羟基- β -山椒素在紫外照射下的变化 由图 6 可知,羟基- β -山椒素在紫外照射过程中,其含量呈下降趋势,在 3 h 附近有少量升高,但总体呈下降趋势。紫外照射 5 h 时,羟基- β -山椒素含量已降低为初始的 50.7%,8 h 后仅剩 9.3%。

2.2.4 3 种山椒素及其总量的变化 由图 7 可知,在紫外连续照射下,3 种同分异构体总量不断降低,8 h 后仅为初始含量的 9.3%。其中,羟基- α -山椒素含量最高,在紫外下,其含

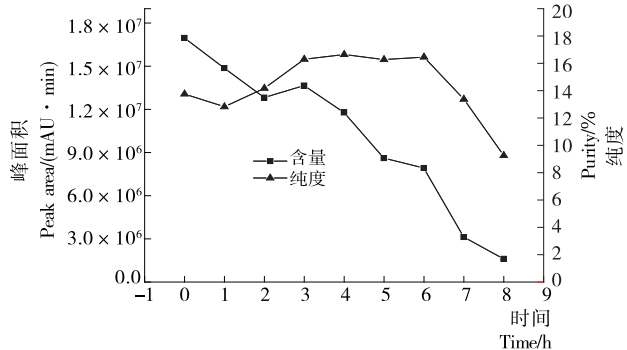


图 6 羟基- β -山椒素在紫外照射下的含量与纯度变化
Figure 6 Changes in the content and purity of hydroxy- β -sanshool under UV radiation

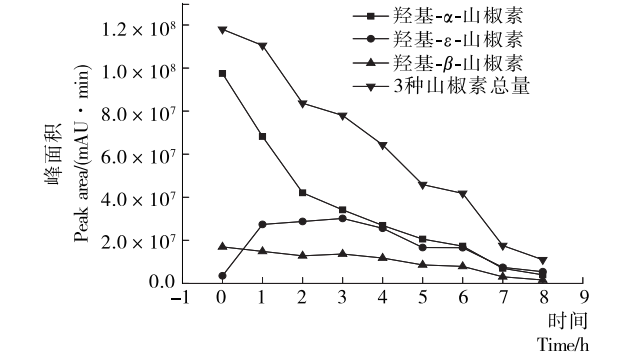


图 7 3 种山椒素与总含量的变化
Figure 7 Changes in the content of three sanshools and their sum

量不断降低,而羟基- ϵ -山椒素初始含量最低,在前3 h照射中含量相应增高。4 h后,羟基- α -山椒素和羟基- ϵ -山椒素含量差异逐渐变小,并在之后的照射中呈相似的下降趋势。羟基- β -山椒素含量处于前两者之间,在紫外照射后不断下降,并且1 h后处于三者最低水平。

通过检测不同紫外照射时间下的羟基- α -山椒素、羟基- ϵ -山椒素和羟基- β -山椒素的含量与纯度变化可知,三者在紫外照射下很不稳定,容易发生反应从而使含量发生变化。根据试验结果推测反应可能分为2种:①紫外照射使物质降解,导致其含量不断降低;②紫外光使物质之间进行了同分异构体转化,从而使得羟基- ϵ -山椒素出现增加。总的来说,各物质最终都呈现出减少的趋势,与Yang^[8]试验中80%乙醇溶液中的羟基- α -山椒素在紫外照射4 h后完全消失的结果相似。推测原因可能是这3种山椒素都拥有共轭三烯结构,此处电子云密度较高,在紫外光的照射下激发出电子,发生氧化或裂解反应。而在照射的前3 h,羟基- α -山椒素快速减少的同时羟基- ϵ -山椒素迅速增多,可能是紫外照射下,羟基- α -山椒素的一个反式双键吸收能量变成了顺式结构,从而得到了羟基- ϵ -山椒素。初始时样品中羟基- α -山椒素浓度较高,因此不断向羟基- ϵ -山椒素转化,当二者含量大致相等时,两者之间的转化达到动态平衡,同时呈相似的被紫外破坏趋势。Ichiro等^[9]用100 mL苯溶500 mg羟基- α -山椒素在碘催化下被汞灯照射1 h,得到120 mg羟基- β -山椒素,而本试验由羟基- α -山椒素得到的是羟基- ϵ -山椒素,且羟基- β -山椒素含量持续降低,可能是前者用碘作为催化剂,使转化反应向羟基- β -山椒素方向进行。

3 结论

本研究对羟基- α -山椒素进行了8 h连续紫外照射,结果表明羟基- α -山椒素在紫外照射下迅速被破坏,2 h后减少50%以上,8 h后基本完全消失,并且转化为羟基- ϵ -山椒素使其在3 h内达到原含量的8倍以上,这对花椒及其制品的麻味有很大的影响。为了更加科学地了解紫外对山椒素的影响,需进行进一步的产物分析和同分异构体转化试验。

参考文献

[1] MIZUTANI K, FUKUNAGA Y, TANAKA O, et al. Amides from Huajiao, pericarps of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1988, 36(7): 2 362-2 365.

[2] BADER M, STARK T D, DAWID C, et al. All-*trans*-Configuration in *Zanthoxylum* Alkylamides swaps the tingling with a numbing sensation and diminishes salivation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(12): 2 479-2 488.

[3] 朱琳, 余小琴, 阙建全. 花椒质量等级新要素探讨与分析[J]. 食品与机械, 2009, 25(2): 162-166.

[4] 宋莹莹. 花椒贮藏过程中酰胺类物质含量降低机理的初步研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014: 15-28.

[5] KOO Jae Yeon, JANG Yongwoo, CHO Hawon, et al. Hydroxy- α -sanshool activates TRPV1 and TRPA1 in sensory neurons[J]. European Journal of Neuroscience, 2007, 26: 1 139-1 147.

[6] KRISHNA P Devkota, JENNIFER Wilson, et al. Isobutyl-hydroxyamides from the pericarp of Nepalese *Zanthoxylum armatum* inhibit NF1-defective tumor cell line growth[J]. Journal of Natural Products, 2013, 76: 59-63.

[7] HUANG Shuai, ZHAO Lei, ZHOU Xian-li, et al. New alkylamides from pericarps of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Chinese Chemical Letters, 2012, 23(11): 1 247-1 250.

[8] YANG Xiao-gen. Aroma constituents and alkylamides of red and green Huajiao (*Zanthoxylum bungeanum* and *Zanthoxylum schinifolium*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(5): 1 689-1 696.

[9] ICHIRO Yasuda, KOICHI Takeya, HIDEGI Itokawa. Distribution of unsaturated aliphatic acid amides in Japanese *Zanthoxylum* species [J]. Phytochemistry, 1982, 21(6): 1 295-1 298.

[10] 赵志峰, 祝瑞雪, 高鸿, 等. 鲜花椒油和干花椒油酰胺类物质对比研究[J]. 中国调味品, 2014, 39(4): 33-36.

[11] ZHAO Zhi-feng, ZHU Rui-xue, ZHONG Kai, et al. Characterization and comparison of the pungent components in commercial *Zanthoxylum bungeanum* oil and *Zanthoxylum schinifolium* oil [J]. Journal of Food Science, 2013, 78(10): 1 516-1 522.

信息窗

出口食品企业需注意亚硫酸盐过敏原标识要求

近年来,我国出口食品因未规范标注过敏原而被通报情况屡见不鲜,对此出口企业应引起重视。亚硫酸盐作为一种常见的过敏原,其标注问题常被出口企业忽视。

亚硫酸盐是常用的一类食品添加剂,其使用历史已达数百年之久。它可作为食品漂白剂、防腐剂;可抑制非酶褐变和酶促褐变,防止食品褐变,使水果不至黑变,还能防止鲜虾生成黑斑;在酸性介质中,还是十分有效的抗菌剂。

根据美国食品药品监督管理局的研究,食品中的亚硫酸盐可能在气喘病患者中引起严重的过敏反应。鉴于此,美国、欧盟、澳大利亚等我国主要贸易伙伴均要求食品标签标注亚硫酸盐过敏原信息。然而由于未规范标注亚硫酸盐,近

期中国食品被通报问题时有发生。

我国《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》(GB 7718—2011)增加了食品中可能含有过敏物质时的推荐标示要求。对于过敏原标识,国家鼓励企业自愿标示以提示消费者,有效履行社会责任,并未作强制性要求。

食品生产企业首先要了解目的国家或地区对过敏原种类和标注的要求,其次要严格审查产品配方和工艺,按要求合理使用食品添加剂,同时注意可能由同一工艺生产线带入的过敏原,加强和进口商的沟通,按要求合理标注。

(来源:食品伙伴网)