

花椒指纹图谱的研究进展

潘佳慧*, 吕南, 胡君景, 刘晓成, 逯泽宇, 苏力特, 张小慧
(内蒙古草原红太阳食品股份有限公司, 呼和浩特 010000)

摘要: 我国的花椒资源丰富, 在各行各业中应用广泛。随着花椒需求的增大, 花椒的质量问题越来越明显, 因此制定全面系统的花椒质量控制方法尤其重要。目前, 花椒的质量控制研究主要集中在指纹图谱方面, 其研究成果大多以花椒指纹图谱研究性论文的形式出现, 缺乏综述性的论文。因此, 本文对不同类型的花椒指纹图谱的相关研究进行总结, 包括高效液相色谱指纹图谱、气相色谱指纹图谱、光谱指纹图谱、高效薄层色谱指纹图谱、核磁指纹图谱和分子生物学指纹图谱等。同时, 本文对这几种指纹图谱类型进行了简单的对比, 并对该技术花椒应用中的研究方向和发展前景进行展望, 期望为从事花椒研究和应用的工作者提供参考价值。

关键词: 花椒; 指纹图谱; 质量控制; 谱效关系

Research progress on fingerprint of *Zanthoxylum bungeanum*

PAN Jia-Hui*, LV Nan, HU Jun-Jing, LIU Xiao-Cheng, LU Ze-Yu, SU Li-Te, ZHANG Xiao-Hui
(Inner Mongolia Prairie & Red Sun Food Stock Co., Ltd., Hohhot 010000, China)

ABSTRACT: China has abundant resources of *Zanthoxylum bungeanum*, which are widely used in all walks of life. With the increasing demand for *Zanthoxylum bungeanum*, the quality problem of *Zanthoxylum* is becoming more and more obvious, so it is particularly important to formulate the quality control method of comprehensive and systematic *Zanthoxylum bungeanum*. At present, the quality control research of *Zanthoxylum* prickly ash mainly focuses on fingerprint, and most of its research results appear in the form of research papers on *Zanthoxylum bungeanum* prickly ash fingerprint, lacking of review papers. Therefore, this paper summarized the relevant studies of different types of *Zanthoxylum* prickly ash fingerprints, including high performance liquid chromatography fingerprint, gas chromatography fingerprint, spectral fingerprint, high performance thin layer chromatography fingerprint, nuclear magnetic fingerprint and molecular biological fingerprint, etc.. At the same time, this paper simply compared these fingerprint types, and prospected the research direction and development prospect of this technology in the application of prickly ash, hoping to provide reference value for the workers engaged in the research and application of prickly ash.

KEY WORDS: *Zanthoxylum bungeanum*; fingerprint; quality control; spectrum-effect relationship

0 引言

花椒 (*Zanthoxylum bungeanum*) 属于双子叶植物纲 (Dicotyledoneae) 芸香科植物。花椒属植物是小乔木或落叶

灌木, 据《中国植物志》记载, 我国花椒的地理分布广泛, 除东南部和西藏东南部没有记载外, 其他地区都有花椒生长的痕迹^[1]。目前, 我国花椒按颜色可分为红花椒 (*Z. bungeanum* Maxim., 又名川椒、秦椒、蜀椒、大红袍

基金项目: 内蒙古自治区“草原英才”工程资助项目

Fund: Supported by the “Grassland Talents” Project of Inner Mongolia Autonomous Region

*通信作者: 潘佳慧, 硕士, 工程师, 主要研究方向为复合调味品。E-mail: 1049936296@qq.com

*Corresponding author: PAN Jia-Hui, Master, Engineer, Inner Mongolia Prairie & Red Sun Food Stock Co., Ltd., 15, Zone C, Yulong Industrial Park, Hohhot, Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010000, China. E-mail: 1049936296@qq.com

等)和青花椒(*Z. schinifolium* Sieb. et Zucc, 又名青川椒、崖椒、野椒、香椒子), 两者都属于花椒属下的花椒亚属^[2]。我国人工栽培的花椒主要品种有茂汶、汉源的正路椒、韩城的大红袍、金阳和江津的青椒和遍及各地的枸椒, 其中大红袍、正路椒和青花椒的种植面积和产量占到我国人工栽培花椒产量的 80%, 枸椒占 20%^[2]。花椒的干、枝、叶、实均具有浓郁的辛香味, 这种独特的香味使它成为中国“八大味”之一。

花椒作为传统的药食两用资源, 不仅是食品中唯一的麻味物质来源, 也常用于中医的中药配料, 其营养价值和经济价值具有广阔前景^[3-4]。目前, 我国花椒产业巨大, 其总年产值不仅高达约 100 亿元, 而且每年以 20%~30% 的速度不断增长^[2]。同时, 巨大的花椒需求也促使我国形成多个全国闻名的花椒产业基地, 如山东莱芜、泰安, 重庆江津、酉阳, 陕西韩城等。由于花椒的品质深受花椒品种、产地、栽培技术和保鲜储存等方面的影响, 所以市场中的花椒质量参差不齐^[5]。尤其是在经济利益驱使下, 加上花椒种类繁多, 且各自形态特征差异不明显, 市场中时常发现以次充好、以假充真, 甚至采用以陈代新、染色、非法添加等手段进行掺假的现象, 这使得我国花椒质量控制困难^[6]。针对这一情况, 各学者在花椒质量控制方面进行了大量的研究。其中, 指纹图谱成为评价花椒品质的重要研究方法之一。

指纹图谱技术是以现代先进检测仪器检测的数据结果为依托, 得到相应的带有本质属性特征的光谱、色谱以及其他图谱, 并结合多种分析方法达到表征和鉴别的目的, 从而判断花椒品质的差异^[7]。但目前相关的研究成果大多是花椒指纹图谱类的研究性论文, 缺少花椒指纹图谱的综述性论文。所以, 本文对不同类型的花椒指纹图谱的相关研究进行总结, 并对指纹图谱在花椒应用中的研究方向和发展前景进行展望, 期望为花椒质量控制提供更多的理论基础。

1 高效液相色谱指纹图谱

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)因其灵敏性能好、稳定性较高、分析反应速度快等优点, 常被用作指纹图谱研究。HPLC 指纹图谱大多是根据指纹目标成分类型的不同, 相应的采用合适的色谱条件和检测器来进行指纹图谱的构建, 再通过相似度评价系统等技术手段进行大数据可视化分析, 由此判断花椒的差异和品质。HPLC 指纹图谱在花椒产地研究和质量控制方面应用广泛。许多研究学者利用该方法建立了大量的指纹图谱, 且从不同角度对花椒进行了全面的分析。杜文倩等^[8]以花椒组织中的麻味物质成分为研究对象, 对不同产地红花椒进行定量研究, 建立了基于麻味物质分子构成指纹特征的 HPLC 指纹图谱, 所得指纹图谱重现性较好, 该图谱

完整反映出了红花椒中的麻味等物质组成的指纹整体形态构成与特征, 为花椒中风味物质结构的进一步系统研究奠定了良好的研究基础。随后, 马青琳等^[9]模拟中药煎服的方法对 3 个产地的 15 种花椒水提取物建立了 HPLC 指纹图谱, 发现 6 个共有峰, 并对其中 2 个峰进行了物质鉴定, 该图谱重现性较好, 可用于不同产地花椒质量控制研究和产地科学鉴定评价。张萌萌等^[10]以两个麻味物质为主成分, 对 16 批不同产地花椒进行 HPLC 指纹图谱分析发现, 16 批不同产地花椒中的羟基- α -山椒素和羟基- β -山椒素的含量相差较大。

除产地外, 花椒品种不同对其主成分也有较大的影响。余晓琴等^[11]在建立花椒的 HPLC 指纹图谱时, 发现不同产地红花椒的指纹图谱具有相似性, 而不同产地青花椒的图谱存在显著差异, 并且通过对比红花椒与青花椒 HPLC 的主要差异性色谱峰, 探究出红花椒比青花椒多一个不饱和五烯酰胺, 这一点的发现进一步推进了研究者对花椒的探索。同时, 该研究也为花椒主成分研究和花椒类原料的品质把控提供了可靠的科学依据。KE 等^[12]对中国西部地区 38 份花椒样品建立 HPLC 指纹图谱, 并通过聚类分析和主成分分析将其划分为 3 组, 其中有 7 个峰鉴定为酰胺类物质, 其中峰 6 为羟基- β -山椒素。这一研究证明了花椒品种不同, 其品质确有较大的差异, 该图谱为客观评价不同花椒品种的差异提供了新的方法, 也为更好地评价花椒作出贡献。

鲜花椒采摘后常进行干燥处理, 以便于长时间的保存。但是花椒采摘后的不同处理方式也会对其品质有较大的影响。赵志峰等^[13]通过对比汉源鲜花椒油和干花椒油中的麻味物质, 发现影响其麻味作用的主要成分在结构上发生了变化, 细究发现鲜花椒中的麻味物质在晾晒过程中变得活跃而发生变化, 其中的一部分进行了同分异构体之间的相互转化, 另一部分则有可能转变为其他物质, 从而导致干花椒油的麻度低于鲜花椒油。敖厚豫等^[14]通过对顶坛鲜花椒进行不同干燥处理并对其处理后的产品进行麻味物质测定, 发现处理后的花椒产品中的麻味物质存在较显著的差异, 该结果能大概率区分出不同处理方式产品的类别, 其进一步建立的 HPLC 指纹图谱不仅为花椒采摘后的处理提供了新的理论基础, 也为一些企业提升花椒加工产品品质提供了新思路。该研究结果与赵志峰等^[13]的研究结果出现一定的相似性, 也进一步的证实了处理花椒的不同方法会使其品质存在一定的差异, 这也为花椒采摘后的深加工处理提供更多的理论基础。

近年来, 随着科学技术的进步, 指纹图谱研究在花椒质量控制以及地标产品鉴别方面的研究也越来越多。汪文涛等^[15]建立了张家界刺壳花椒的 HPLC 指纹图谱, 其通过 HPLC 对 10 批刺壳花椒药材进行数据检测, 发现其谱图重合性较好, 有 11 个共有峰。敖厚豫等^[14]通过建立顶坛花椒

的 HPLC 指纹图谱以区分顶坛花椒和其他来源花椒, 该图谱也可以作为顶坛花椒地理标志产品的判别。杨娟等^[16]对贵州红花椒中酰胺化合物的含量进行研究, 结果表明 HPLC 测定红花椒麻味物质分离效果好, 该研究结果为贵州花椒特色产业基地规范化的种植及区划建设和产品的研究开发利用提供了理论依据。马君义等^[17]建立了测定花椒中 3 种山椒素含量的反向 HPLC 的方法, 其结果可为武都花椒质量评价和地方质量标准规范的进一步制定提供理论参考。这些研究表明液相色谱技术在花椒指纹图谱构建方面有着重要的贡献, 其不仅为科研者提供一定的技术方法和手段, 也为科研者在探寻机制时提供一些研究思路。

综上, HPLC 指纹图谱不仅能对花椒的产地、品种和处理工艺进行有效的鉴别, 也对花椒地标性植物的鉴定研究有较好的指导。HPLC 指纹图谱因其构建方法的特殊性, 表达出的信息大多是一些不易挥发且溶于有机溶剂或水的化合物的成分或含量信息, 而并非是花椒整体全部物质的信息, 存在一定的缺陷性。但是该方法具有较好的重现性, 能够呈现清晰稳定的图谱, 且准确率较高。所以, 在科学研究中, 该方法仍然是大多数科研者的首选。

2 气相色谱指纹图谱

2.1 气相色谱-质谱指纹图谱

气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)具有分离效率高、稳定性好、灵敏性强、谱图清晰、定性准确等特点^[18-19]。GC-MS 是指纹图谱定性研究常用的分析手段, 可避免以往单独使用 GC 检测指纹的仪器局限性, 且更加灵敏、准确。花椒中的香气主要来自其中的挥发性物质, 而 GC-MS 是构建香气指纹图谱最常用且高效的方法。当下, 关于花椒的 GC-MS 指纹图谱大多针对不同产地和不同品种的花椒样品进行研究。张坎等^[20]根据检测数据建立了花椒水蒸气蒸馏-乙醚萃取物化学成分的指纹图谱, 该图谱具有较好的特征性, 可作为花椒蒸馏法精油的专属性指纹图谱, 为花椒资源的充分利用和质量评价提供了依据。之后 YANG^[21]利用先进的峰反褶积和数据处理软件对红花椒和绿麻椒的挥发油进行了 GC-MS 综合分析, 发现了许多重叠成分, 并且发现两种花椒中具有 6 种共同的顶级香气特征影响化合物, 即芳樟醇、 α -松蒎醇、月桂烯、1,8-桉树醇、柠檬烯和香叶醇, 这一发现为进一步探究花椒香气奠定了理论基础。随后, 朱琳^[22]对不同产地的红花椒和青花椒的挥发油构建了 GC-MS 指纹图谱, 发现青花椒油图谱上有 20 个共有峰, 红花椒油图谱上有 11 个共有峰, 且对青花椒油和红花椒油中的柠檬烯和芳樟醇两大主成分进行了系统的分析比较。近年来, MA 等^[23]采用 GC-MS 对 72 个产地的花椒果皮的挥发性特征进行了测定, 提供了不同品种花椒和不同产地花椒果皮挥发油特征的综合信息,

可为建立花椒果皮质量评价体系提供依据。叶洵等^[24]创建的 GC-MS 指纹图谱不仅可用于鉴定不同产地花椒的麻香, 也可用于花椒的质量评价和产地鉴别。同期, 候莹莹等^[25]在研究 16 个品种的陇南武都花椒时, 通过 GC-MS 对花椒挥发性物质进行检测, 再通过聚类分析和主成分分析进行分类评价, 建立指纹图谱, 并用相似度分析验证, 从而建立一套完整、全面综合的武都花椒果皮香味物质评估体系。

综上, 花椒风味研究的内容已经从花椒不同亚属的种类对比到同属不同品种的对比, 从少量产地对比到大量产地对比, 这些研究成果使得花椒的风味研究越来越系统和深入。而且有一部分研究学者将花椒产地的环境因素考虑到花椒风味的研究范围内, 将研究结果有效地应用到花椒种植产业中, 对于花椒的培育和质量控制有较大的指导意义。目前, 花椒风味指纹图谱大多是通过 GC-MS 来构建的, 该指纹图谱不仅弥补了 HPLC 指纹图谱不能表达出的信息, 也弥补了利用单一评价指标判断花椒质量的缺陷。对于企业和花椒研究者来说, 获得全面系统的花椒的香气成分至关重要。所以, 采用 GC-MS 技术建立花椒风味物质指纹图谱, 不仅更加全面客观地对花椒主要挥发性物质进行分析, 也从整体上可以更好地把握和评价花椒的质量。

2.2 气相色谱-嗅闻-质谱指纹图谱

20 世纪 90 年代初电子鼻技术兴起, 许多科研学者在探究挥发性物质时更加青睐这种模拟的人工嗅觉系统。该仪器的广泛应用使其成功地融入到气味指纹图谱的构建研究中。电子鼻主要用于检测、分析和识别挥发性风味物质, 其检测信息代表挥发性物质整体信息即指纹图谱数据。有研究在花椒香气成分分析中指明, 将气相色谱-嗅闻-质谱法(gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, GC-O-MS)融入到花椒香气研究中可进一步探究花椒的香气活性成分^[26-27]。蒲凤琳^[28]采用 GC-O-MS 联用技术检测分析 14 种花椒的香气成分, 对其风味特征(麻度及香气)进行了综合分析, 并建立了能够反映不同产地红花椒特征香气的指纹图谱, 结果显示: 青花椒的麻度高于红花椒, 而四川地区红花椒的麻度高于其他地区; 青红花椒中主要香气物质有较大的差异, 同时又具有一定的相似性。该研究结果为花椒品质评价、质量分级、产地追溯及掺假鉴别提供理论和实践依据。陈修红等^[29]应用超快速 GC-电子鼻对 25 种花椒油(青花椒油、红花椒油和藤椒油)进行快速、有效区分, 并通过 4 种统计方法分析发现红花椒油的香气与其他 2 种花椒油香气有显著差异, 而青花椒油和藤椒油之间的差异不明显, 该研究不仅通过电子鼻对花椒油的挥发性物质构建了指纹数据, 也建立了一种针对花椒油的气味分析和快速检测的方法。张玉涵等^[26]通过超快速气相电子鼻技术结合主成分分析建立的有效判别模型, 得出芳樟醇、乙酸芳樟酯等成分可用来鉴别青红花椒产品类别, 该

模型为市售花椒及花椒提取物品质评价及产地区分提供理论参考依据,同时也实现了花椒构成特征的快速解析。YIN 等^[30]采用主成分分析、线性判别分析、人工神经网络和支持向量机等方法对红花椒的地理来源进行了鉴别,并融入电子鼻构建气味指纹图谱,该图谱不仅可用来区分不同地区的红花椒的地理来源,也可利用电子鼻传递出的指纹图谱信息明确花椒中主要成分的香气贡献值,为花椒提取物香气成分调配及差异化产品开发提供理论支撑。WIJAY 等^[31]对印度尼西亚特有的植物 *Z. acanthopodium* DC. 研究类资料整理时指明,通过 GC-O-MS 测量结果发现香茅醛和柠檬烯可以作为花椒关键的香气活性成分,能够有效预测花椒质量差异。

综上,花椒香气是开发产品和质量控制的重要指标。随着科学技术的进步,花椒香气的研究已经从挥发性成分拓展到香气活性成分。近几年,将 GC-MS 与电子鼻有效的嫁接后,花椒的风味研究越来越立体化和形象化。企业和科研工作者可更有目的地去进行花椒的培育、储存、处理工艺和分离纯化等研究。

3 光谱指纹图谱

3.1 紫外光谱指纹图谱

一般情况下,研究者采用紫外光谱构建指纹图谱时,会根据不同的曲线峰形、峰高和峰面积等特征进行差异对比^[32]。齐海燕等^[33]通过对比花椒提取物的紫外光谱图发现,在不同纳米范围,花椒提取物的吸收强度不一样,可推断花椒的主成分含量有差异,但不能确定是何种成分存在差异,只能大概判断出是花椒中的某类成分。其构建的不同产地花椒紫外光谱指纹图谱具有一定的指纹特性,为花椒的质量鉴别研究提供了有力的科学理论依据。齐景梁等^[34]运用 HPLC 和紫外光谱技术相结合的方法对花椒中的酰胺类物质进行测定,所建立的检测方法适合花椒麻味物质的质量控制。

综上,利用紫外光谱构建的指纹图谱可简便区分花椒种类,但是,检测内容比较单一,而且准确率一般。这是因为紫外可见光谱的结果有加和效果^[35],且对于复杂物质的鉴别专属性较差,分辨率不高。

3.2 红外光谱指纹图谱

关于红外光谱构建花椒指纹图谱的研究相对较多。因红外光谱技术具有绿色无损、操作简单等特点,近几年,各研究者将近红外光谱分析检测技术应用到各行各业中,比如中药、食品、烟草、石化等。其不仅可以进行样品的营养成分分析,与其他方法结合后还可用于样品品质分析^[36]。李洋等^[37]在探究花椒的过程中,实现了花椒的生物碱活性和花椒挥发油含量成分的红外无损分析检测,为花椒质量标准的建立及其开发利用提供了依据。这些研究

结果在花椒整果无损快速检测方面作出巨大的贡献,不仅提供了新的研究方法,也为花椒质量安全可追溯体系的建立提供了新的思路和视角。

红外光谱不仅可以快速无损检测花椒整体品质,也可以进一步用来判别花椒的产地、掺假和新陈度等。课净璇等^[38]融合双指标分析法和聚类分析法的优点,构建了一种能有效鉴别花椒产地的红外指纹图谱,且结果表明不同产地花椒的红外光谱图虽然大部分保持一致性,但在两个特殊波段中的吸收峰数目和强度仍然存在差异,但这并不影响其实现快速、有效地鉴别花椒产地。吴习宇^[39]结合化学计量学方法对样品的近红外光谱数据进行分析,与此同时,分别在花椒产地、花椒新陈度以及花椒粉掺假等方面建立了定性鉴别模型和定量分析模型,为花椒产地溯源和质量安全提供技术支持。这些研究结果为无损检测鉴别花椒产地、新陈度掺伪提供了理论依据,也为花椒质量把控提供了有力依据。

综上,利用红外光谱的方法构建指纹图谱可快速无损地检测花椒的质量。该方法操作简单,对环境要求不高,并且不会损伤花椒本身组织,可作为食品产地溯源和掺伪检测的有效辅助手段。但这种方法不适合做痕量分析,而且对于测定的物质也局限于数据库中已有的物质。尽管如此,在探究花椒中某种化合物与花椒功能之间的构效关系时,红外光谱仍然是大多数研究者首选的方法。

4 其他类指纹图谱及指纹图谱对比结果

4.1 其他类指纹图谱

高效薄层色谱法(high performance thin-layer chromatography, HPTLC)是在薄层色谱法的基础上发展起来的一种直观的数据分析方法。因其具有较好的分辨率、准确性和重现性,在实验室中常被用于一些化合物的初步检测和鉴定^[40]。RASHMI 等^[41]对花椒的叶和果实进行了药理学标准化和色谱指纹图谱分析,同时建立了叶片和果实的 HPTLC 指纹图谱,该工作为该植物的正确鉴定和规范化提供了参考资料。

指纹图谱的构建方法非常多,除了常用的化学检测法,有些研究学者在构建指纹图谱时融入了其他方法。比如莫善列等^[42]在区分吴茱萸、花椒和蚕砂时,构建的特征性提取物 ¹H-核磁共振(¹H-nuclear magnetic resonance, ¹H-NMR)指纹图谱的峰形可有效区分这 3 种物质,同时也发现可以通过比较吴茱萸特征性提取物 A 的 ¹H-NMR 指纹图谱中吴茱萸碱、去氢吴茱萸和吴茱萸次碱的特征共振峰的有无来判断吴茱萸的真伪,该方法具有直观、特征性强、易识别的特点。

此外,一些学者对花椒的种质差异比较感兴趣,常利用分子生物学指纹图谱从源头探究花椒之间的品质

差异, 比如李立新等^[43]利用简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)标记技术构建花椒指纹图谱, 除构建了 8 对引物外, 也发现用较少的引物进行组合, 即可将 12 份花椒种质区分开, 这一研究为今后花椒遗传多样性分析、遗传图谱构建等方面奠定了基础。近年来, 孔丽娟^[44]又利用启动密码子定向多态性(start codon targeted polymorphism, SCoT)分子标记结合品质性状分析来自我国 12 个省的 48 份花椒种质资源的遗传多样性, 发掘不同种质的特异性位点并对潜在的易掺假的花椒进行混杂鉴定, 为我国花椒种质/品种的鉴定和不同花椒混杂的鉴别提供参考。

综上, 在现代技术和系统性分析方法的结合下, 花椒指纹图谱的研究将更加深入和具体。其研究内容不再局限于对比花椒产地和花椒品种的不同带来物质成分的差异变化, 而更多会聚焦在花椒品种分类、进化关系及其有效应用等方面。随着科学技术的进步, 花椒指纹图谱的研究不断在与其他学科相融合, 指纹图谱的种类会越来越多, 指纹图谱所呈现的信息也会越来越丰富。

4.2 指纹图谱对比结果

前文中所述构建指纹图谱的方法都有各自的优势和局限性。每种方法的使用场景和检测对象都不相同。在进行指纹图谱类的研究时, 研究者应结合自己的研究方向进行恰当的选择。比如研究花椒成分的构效关系可选择红外光谱指纹图谱和核磁指纹图谱; 研究花椒香气选择 GC-MS 指纹图谱和 GC-O-MS 指纹图谱更适合。现在, 仅对前文中所述的几种指纹图谱类型进行简单的对比, 对比结果如表 1 所示。

由表 1 可知, 指纹图谱的构建方法非常广泛, 每一种方法都有它的优缺点, 且适用的场景并不相同。根据检索文献得到的信息, 花椒指纹图谱的研究还处于一个发展阶段。研究内容不仅在不断地拓展和创新, 也正逐步向花椒

风味学和花椒分子生物学等研究方向转移。这对于研究者而言, 想要更深入地研究花椒, 不断提升其综合能力和知识面至关重要。

5 花椒的谱效关系

中医理论认为, 花椒具有温中止痛, 杀虫止痒的功效。现代药理学研究表明, 花椒具有驱虫、降压、抗菌、抗溃疡、镇痛、抗肿瘤等多种作用^[45-47]。花椒的谱效关系研究, 大多是针对花椒的某一特有组分展开的, 比如 ZHENG 等^[48]发现花椒果皮中的黄酮类化合物丰富, 于是以主种“汉城大红袍”为材料, 采用代谢组学和转录组学相结合的方法, 研究了花椒在 3 个关键发育阶段的黄酮类化合物生物合成机制, 揭示了花椒类黄酮的代谢途径和参与花椒类黄酮生物合成的候选基因, 为花椒新品种选育的潜在靶点奠定基础。此外, 也有不少研究者在实验中发现花椒在经过不同炮制方法处理后会有不同的药效^[4]。边甜甜等^[49]发现花椒醋制品镇痛作用较强, 而花椒盐制品抗炎作用较好, 所以采用清炒、醋制、盐制、酒制法炮制花椒, 利用 GC-MS 技术创建花椒不同炮制品指纹图谱, 此方法快速简单可行, 重复性、稳定性良好, 可为后续花椒的质量控制和临床应用提供理论依据。何鑫柱^[50]考察了 10 批不同来源竹叶花椒黄酮的抗氧化活性和其 HPLC 指纹图谱, 并对其谱效关系进行研究, 为竹叶花椒黄酮抗氧化的药效物质基础研究提供实验数据。韩胜男^[51]通过 GC-MS 建立了花椒挥发油指纹图谱, 定性检测出 23 个特征峰, 在完成 39 批花椒挥发油对宫颈癌细胞的活性抑制实验时发现, 不同花椒挥发油的抗肿瘤活性存在显著性差异, 随后, 采用多种人工神经网络方法对花椒挥发油的谱效关系进行研究, 并结合平均影响值对花椒挥发油中的活性成分进行辨识, 为揭示药效物质基础及新药研发提供参考。

表 1 指纹图谱类型的对比结果
Table 1 Comparison results of fingerprint types

项目名称	准确率	高效性	操作难度	经济性	适用场景
HPLC 指纹图谱	*****	**	*****	**	溶于溶剂的样品
GC-MS 指纹图谱	*****	***	*****	***	挥发性样品
GC-O-MS 指纹图谱	*****	***	*****	***	香气活性成分
紫外光谱指纹图谱	**	**	**	*****	单一样品/混合提取物
红外光谱指纹图谱	***	*****	**	*****	整颗粒
HPTLC 指纹图谱	*	*****	*	*****	单一样品/混合提取物
NMR 指纹图谱	*****	***	***	**	单一样品
分子生物学指纹图谱	*****	*	*****	**	某种物质的分子标记

注: * 越多代表准确率越高、效率越高、操作难度越大、经济性越高。

综上,花椒的谱效关系类的研究是当下研究的热点,但是该类研究还不够成熟。一般都是将其谱图简单地与其单一功能性成分相连接,而不能建立完整的谱-效关系。

6 展 望

花椒种类繁多,其中红花椒和绿花椒是两种最受欢迎的商业品种。在我国,花椒大多用于食品调味,但是随着花椒产品开发的深入,越来越多的研究者发现花椒中含有多种生物活性成分,且在药理活性方面也有较出色的表现。所以,花椒在我们的日常生活中有着非常重要的地位。全面系统地评价花椒的质量管理、品种鉴别、掺伪判断和工艺控制都非常必要。而指纹图谱可以更加整体、综合、有层次地对花椒进行评价。这种方法不仅可以判别花椒真伪,考察花椒优劣,区分花椒不同部位,也可以检测原料与产品之间的一致性和稳定性。

目前,除用色谱法、光谱法等可建立花椒的指纹图谱,控制其质量外,还有一些在指纹图谱中融入了电子鼻等辅助分析技术,以此可更加全面地评价花椒品质,对花椒质量进行控制。此外,许多花椒的研究中融入了分子生物指纹图谱,该方法多将色谱分离与分子生物学联系起来,对花椒品种进行鉴别研究,并建立其 DNA 指纹图谱,探究其遗传特性,为选育优质花椒提供理论基础和新的方法。

花椒由于其广泛的地理分布和药用特性,在许多国家被广泛用作食品和贸易医药。据观察,许多花椒品种被用作食品配料和治疗炎症、疼痛、高血压和脑部疾病^[52]。但由于花椒成分的复杂性,研究者并不能判断出花椒中发挥药效的是何种物质。所以,为进一步明确花椒中发挥药效的活性成分,许多研究者将花椒的指纹图谱与其生物活性相结合做了大量的研究。目前,关于花椒谱效关系的研究主要集中在抗炎活性、抗氧化活性、抗肿瘤活性和抑菌活性等方面^[53-54]。而这些研究多数是通过数据分析将某种活性成分的活性实验结果与其指纹图谱建立联系,从而得出花椒的部分谱效关系,但并不能得到相对完整的谱效关系。所以,在当下,花椒的谱效关系类研究还不够成熟,谱与效的表达不具有一致性。这也为花椒的谱效研究指明了新的方向,花椒的谱效研究将不再局限于花椒有效成分的研究与筛选。随着科学技术的进步,花椒的谱效研究会越来越深入。比如在互联网的推动下,花椒指纹图谱的数据处理将更加多样和全面,谱与效的关系将更加一致和立体。甚至,这些研究结果会运用到花椒种子的培育研究,从而更有目的地对花椒进行种植和生产。所以,深入研究花椒的谱效关系,将花椒指纹图谱的应用早日变成花椒功能图谱的应用,且从多角度多方面地控制花椒质量,选育更加优质的花椒种质必将成为今后研究工作的重点之一。

参考文献

- [1] 赵志峰. 花椒中的风味物质[M]. 成都: 四川大学出版社, 2018.
ZHAO ZF. The flavor of prickly ash [M]. Chengdu: Sichuan University Press, 2018.
- [2] 阙建全, 陈科伟, 任廷远, 等. 花椒麻味物质的生理作用研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(1): 11-17.
KAN JQ, CHEN KW, REN TY, et al. Review on physiological function of alkylamide compounds from *Zanthoxylum bungeanum* [J]. J Food Sci Technol, 2018, 36(1): 11-17.
- [3] 贺梦媛, 张兵, 徐桐, 等. 花椒化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 山东中医杂志, 2022, 41(12): 1351-1358.
HE MY, ZHANG B, XU T, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Huajiao (*Zanthoxylum pericarpium*) and predictive analysis of quality markers [J]. Shangdong J Tradit Chin Med, 2022, 41(12): 1351-1358.
- [4] 李春晓, 张兵, 李红艳. 炮制对药食同源植物功能成分和活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(24): 7867-7874.
LI CX, ZHANG B, LI HY. Effects of processing on functional components and activities of medicinal and edible homologous plants [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(24): 7867-7874.
- [5] 郭晓宏, 郭一丹, 杜佳铭, 等. 花椒的营养价值和贮藏保鲜技术研究进展[J]. 中国果菜, 2022, 42(8): 8-17.
GUO XH, GUO YD, DU JM, et al. Advance on the nutritional value and storage technologies of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. China Fruit Veg, 2022, 42(8): 8-17.
- [6] 马尧. 不同种质资源花椒主要品质性状差异及其影响因素研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
MA Y. Differences and influence factors for pericarp quality of different *Zanthoxylum* germplasm resources [D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University, 2021.
- [7] 李月明, 韩冰, 王军茹, 等. 气味指纹图谱技术在肉类产品中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(5): 210-215, 225.
LI YM, HAN B, WANG JR, et al. Advances in the application of odour fingerprinting techniques in meat products [J]. Food Mach, 2022, 38(5): 210-215, 225.
- [8] 杜文倩, 史波林, 欧克勤, 等. 基于麻味物质构成特征的红花椒高效液相色谱指纹图谱建立研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1138-1144.
DU WQ, SHI BL, OU KQ, et al. Establishment of high performance liquid chromatography chromatographic fingerprint of *Zanthoxylum bungeanum* based on spicy components [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(3): 1138-1144.
- [9] 马青琳, 刘晓美, 李亚男. 花椒水提取物 HPLC 指纹图谱研究[J]. 山东中医杂志, 2019, 38(9): 876-882.
MA QL, LIU XM, LI YN. Study on HPLC fingerprint of water extract of Huajiao (*Zanthoxylum pericarpium*) [J]. Shangdong J Tradit Chin Med, 2019, 38(9): 876-882.
- [10] 张萌萌, 李朝敏, 吴博, 等. 花椒 HPLC 指纹图谱建立及指标性成分的测定[J]. 中国调味品, 2019, 44(3): 152-155, 184.
ZHANG MM, LI CM, WU B, et al. Establishment of HPLC fingerprint of *Z. bungeanum* and determination of main components [J]. China Cond, 2019, 44(3): 152-155, 184.
- [11] 余晓琴, 张丽平, 阙建全. 红花椒和青花椒 HPLC 指纹图谱的分析[J].

- 食品与发酵工业, 2012, 38(4): 171-174.
- YU XQ, ZHANG LP, KAN JQ. HPLC fingerprint analysis of red prickly ash and green prickly ash [J]. Food Ferment Ind, 2012, 38(4): 171-174.
- [12] KE JX, QU Y, LI SS, *et al.* Application of HPLC fingerprint based on acid amide components in Chinese prickly ash (*Zanthoxylum*) [J]. Ind Crops Prod, 2018, (119): 267-276.
- [13] 赵志峰, 祝瑞雪, 高鸿, 等. 鲜花椒油和干花椒油麻味物质对比研究[J]. 中国调味品, 2014, 39(4): 33-36.
- ZHAO ZF, ZHU RX, GAO H, *et al.* Comparison of the pungent components in fresh and dried *Zanthoxylum bungeanum* oil [J]. China Cond, 2014, 39(4): 33-36.
- [14] 敖厚豫, 李欣, 余天华, 等. 基于麻味成分的顶坛花椒 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(5): 19-26, 32.
- AO HY, LI X, YU TH, *et al.* research on HPLC fingerprint spectra of *Zanthoxylum planispinum* var. *dingtanensis* based on numb-taste components [J]. China Cond, 2020, 45(5): 19-26, 32.
- [15] 汪文涛, 伍城颖, 马一华, 等. 刺壳花椒 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2009, 40(4): 634-637.
- WANG WT, WU CY, MA YH, *et al.* HPLC Fingerprint of *Zanthoxylum echinocarpum* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2009, 40(4): 634-637.
- [16] 杨娟, 曾钦滕, 罗红, 等. 贵州高海拔地区花椒优良单株麻味物质测试分析[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(12): 153-157.
- YANG X, ZENG QM, LUO H, *et al.* Detection and analysis of hemp flavor substances of *Zanthoxylum bungeanum* in high altitude area of Guizhou [J]. Grain Oil, 2021, 34(12): 153-157.
- [17] 马君义, 周慧霞, 刘潮, 等. RP-HPLC 法同时测定武都花椒中 3 种山椒素[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2022, 58(3): 79-84.
- MA JY, ZHOU HX, LIU C, *et al.* Simultaneous determination of three sanshool in Wudu pepper by RP-HPLC [J]. J Northwest Normal Univ (Nat Sci Ed), 2022, 58(3): 79-84.
- [18] 马丽娅, 张晓乐, 吕南, 等. 火锅底料常用花椒主要挥发性物质分析[J]. 食品科技, 2022, 47(11): 244-249.
- MA LY, ZHANG XL, LV N, *et al.* Analysis of main volatile substances of prickly ash commonly used in hotpot condiment [J]. Food Sci Technol, 2022, 47(11): 244-249.
- [19] LV SD, WU YS, SONG YZ, *et al.* Multivariate analysis based on GC-MS fingerprint and volatile composition for the quality evaluation of Pu-Erh green tea [J]. Food Anal Method, 2015, 8(2): 321-333.
- [20] 张玖, 姜洪芳, 张卫明. 花椒气相色谱指纹图谱共有峰的 GC/MS 研究[J]. 中国野生植物资源, 2003, (6): 46-47.
- ZHANG J, JIANG HF, ZHANG WM. Studies on the main co-peaks of GC fingerprint of the volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* maxim. by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin Wild Plant Res, 2003, (6): 46-47.
- [21] YANG XG. Aroma constituents and alkylamides of red and green Huajiao (*Zanthoxylum bungeanum* and *Zanthoxylum schinifolium*) [Z]. 2008
- [22] 朱琳. 花椒挥发油 GC-MS 指纹图谱及其成分的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- ZHU L. Studies on the GC-MS fingerprint and components of *Zanthoxylum* essential oil [D]. Chongqing: Southwest University, 2010.
- [23] MA Y, TIAN JY, CHEN YB, *et al.* Volatile oil profile of prickly ash (*Zanthoxylum*) pericarps from different locations in China [J]. Foods, 2021, 10: 866.
- [24] 叶洵, 刘子博, 张婷, 等. 基于 GC-MS 结合保留指数法建立花椒挥发油指纹图谱[J]. 中国调味品, 2022, 47(4): 68-73.
- YE X, LIU ZB, ZHANG T, *et al.* Establishment of the fingerprint of *Zanthoxylum bungeanum* volatile oils based on GC-MS combined with retention index method [J]. China Cond, 2022, 47(4): 68-73.
- [25] 侯莹莹, 张宏杰, 马君义, 等. 气相色谱-质谱法分析武都花椒挥发性成分及特征指纹图谱的建立[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-10. [2023-05-06]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033281
- HOU YY, ZHANG HJ, MA JY, *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile components in Wudu pepper and establishment of characteristic fingerprint [J/OL]. Food Ferment Ind: 1-10. [2023-05-06]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033281
- [26] 张玉涵, 蒋云聪, 魏占蛟, 等. 基于超快速气相电子鼻构建不同品种花椒和花椒提取物指纹图谱库及应用研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(9): 226-233.
- ZHANG YH, JIANG YC, WEI ZJ, *et al.* Construction and application of fingerprint database of different *Zanthoxylum* and *Zanthoxylum* extracts using electronic nose based ultrafast gas chromatography [J]. China Food Addit, 2022, 33(9): 226-233.
- [27] 李伟. 花椒中香气成分分析研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(12): 192-196.
- LI W. Research progress of analysis of odor constituents in *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. China Food Addit, 2021, 32(12): 192-196.
- [28] 蒲凤琳. 不同产地花椒风味分析及其特征香气指纹图谱的构建[D]. 成都: 西华大学, 2017.
- PU FL. The analysis of pepper flavor in different origin and its characteristic aroma fingerprints [D]. Chengdu: Xihua University, 2017.
- [29] 陈修红, 欧克勤, 汪厚银, 等. Heracles 快速气相电子鼻对花椒油气味指纹分析研究[J]. 食品科技, 2016, 41(12): 256-261.
- CHEN XH, OU KQ, WANG HY, *et al.* Investigation of flash GC electronic nose Heracles for the analysis of odor fingerprints in pepper oil [J]. Food Sci Technol, 2016, 41(12): 256-261.
- [30] YIN XQ, XU XX, ZHANG Q, *et al.* Rapid determination of the geographical origin of chinese red peppers (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) based on sensory characteristics and chemometric techniques [J]. Molecules, 2018, 23(5): 1001.
- [31] WIJAY A, NAPITUPU LU, KARNA DY, *et al.* A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice "andaliman" (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) [J]. Food Rev Int, 2019, 35(1): 1-19.
- [32] LI Y, SHEN Y, YAO CL, *et al.* Quality assessment of herbal medicines based on chemical fingerprints combined with chemometrics approach: A review [Z]. 2020.
- [33] 齐海燕, 武亚会, 王宇嘉, 等. 花椒的紫外光谱指纹图谱研究[J]. 中国调味品, 2015, 40(2): 62-65.
- QI HY, WU YH, WANG YJ, *et al.* Ultraviolet spectrum fingerprint study on *Zanthoxylum bungeanum* [J]. China Cond, 2015, 40(2): 62-65.
- [34] 齐景梁, 高必兴, 周娟, 等. 高效液相色谱法和紫外-可见分光光度法测定竹叶花椒中 2 种主要成分的含量[J]. 中国药业, 2021, 30(1): 52-56.
- QI JL, GAO BX, ZHOU J, *et al.* Content determination of two main components in *Zanthoxylum armati* pericarpium by HPLC and ultraviolet-visible spectrophotometry [J]. China Pharm, 2021, 30(1): 52-56.
- [35] 杜泽飞, 张霞, 温翔, 等. 紫外指纹图谱结合化学计量学对黄精原植物的鉴别[J]. 亚热带植物科学, 2022, 51(2): 125-130.

- DU ZF, ZHANG X, WEN X, *et al.* Identification and analysis of original plants of *Polygonati rhizoma* by UV fingerprint combined with chemometrics [J]. *Subtrop Plant Sci*, 2022, 51(2): 125–130.
- [36] LI Z, WANG PP, HUANG CC, *et al.* Application of VIS/NIR spectroscopy for chinese liquor discrimination [J]. *Food Anal Method*, 2014, 7(6): 1337–1344.
- [37] 李洋, 魏安智, 杨途熙, 等. 花椒生物碱和挥发油含量的近红外光谱无损检测[J]. *食品工业*, 2012, 33(5): 122–125.
LI Y, WEI ANZ, YANG TX, *et al.* Nondestructive detection of alkaloids and volatile oil content in *Zanthoxylum bungeagum maxim* by near infrared spectroscopy [J]. *J Food Ind*, 2012, 33(5): 122–125.
- [38] 课净璇, 黎杉珊, 申光辉, 等. 基于双指标分析法和聚类分析法的花椒红外指纹图谱研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(3): 55–61.
KE JX, LI SS, SHEN GH, *et al.* Infrared fingerprint analysis of *Zanthoxylum* based on sequential dual-indexes and cluster analysis method [J]. *J Food Mach*, 2017, 33(3): 55–61.
- [39] 吴习宇. 花椒产地、新陈度及掺伪的近红外光谱鉴别方法研究[D]. 成都: 西南大学, 2018.
WU XY. Identification of geographical origin, freshness and adulteration of Huajiao by near infrared spectroscopy [D]. Chengdu: Southwest University, 2018.
- [40] COSTA FV, GADEA A, ANTUNES AR. Chemical fingerprinting of the Brazilian medicinal plant *Calea pinnatifida* (R.Br.) Less. (Asteraceae) collected at different altitudes [J]. *J Nat Prod Res*, 2022, 36(23): 6069–6074.
- [41] RASHMI M, MILIND JB. Pharmacognostic standardisation and chromatographic fingerprinting of leaves and fruits of *Zanthoxylum rhetsa* [J]. *Int J Pharm Pharmaceut Sci*, 2018, 10(4): 101–104.
- [42] 莫善列, 张建新, 欧莹, 等. 吴茱萸及其伪品花椒及蚕砂的核磁共振氢谱指纹图谱鉴别[J]. *时珍国医国药*, 2007, (11): 2806–2807.
MO SL, ZHANG JX, OU Y, *et al.* Identification of fructus evodiae pericarpium *Zanthoxylum* and feculae bombycis by ¹H-NMR fingerprints [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2007, (11): 2806–2807.
- [43] 李立新, 司守霞, 魏安智, 等. 基于花椒转录组序列 SSR 分子标记开发及花椒种质鉴定[J]. *华北农学报*, 2017, 32(5): 69–77.
LI LX, SI SX, WEI ANZ, *et al.* Study on development of SSR molecular markers based on transcriptome sequencing and germplasm identification in *Zanthoxylum germplasm* [J]. *Agric Boreali-Sin*, 2017, 32(5): 69–77.
- [44] 孔丽娟. 基于 SCoT 标记对花椒种质资源的分析与鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
KONG LJ. Analysis and identification of Chinese prickly ash germplasm resources based on SCoT markers [D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University, 2022.
- [45] KIM JG, LIM JJ, YOU JS, *et al.* Comparative study of bioactivity and safety evaluation of ethanolic extracts of *Zanthoxylum schinifolium* fruit and pericarp [J]. *Molecules*, 2021, 26(19): 5919–5919.
- [46] OKAGU IU, NDEFO JC, AHAM EC, *et al.* *Zanthoxylum* species: A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry, pharmacological and nutraceutical applications [J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2021, 26(13): 4023–4023.
- [47] JULIETE GLS, ADRIELI GT, ADRIANA HW, *et al.* Chemical composition, antimicrobial, repellent and antioxidant activity of essential oil of *Zanthoxylum caribaeum* Lam. [J]. *J Essential Oil Bear Plants*, 2019, 22(2): 380–390.
- [48] ZHENG T, HAN J, SU KX, *et al.* Regulation mechanisms of flavonoids biosynthesis of Hancheng Dahongpao peels (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) at different development stages by integrated metabolomics and transcriptomics analysis [J]. *BMC Plant Biol*, 2022, 22(1): 251.
- [49] 边甜甜, 司昕蕾, 牛江涛, 等. 花椒不同炮制品 GC-MS 指纹图谱与定量分析[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2050–2056.
BIAN TT, SI XL, NIU JT, *et al.* GC-MS fingerprint and quantitative analysis of different processed products of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2021, 36(4): 2050–2056.
- [50] 何鑫柱. 竹叶花椒中黄酮类化合物抗氧化的谱效关系研究[D]. 成都: 西南科技大学, 2022.
HE XZ. Study on spectrum-effect relationship of antioxidant activity of flavonoids from *Zanthoxylum armatum* DC. [D]. Chengdu: Southwest University of Science and Technology, 2022.
- [51] 韩胜男. 基于中药组效关系的花椒挥发油抗肿瘤活性组分的研究[D]. 天津: 天津大学, 2014.
HAN SN. Antitumor active ingredients identification from *Zanthoxylum* essential oil based on composition-activity relationship [D]. Tianjin: Tianjin University, 2014.
- [52] TOCHUKWU OM, CHIYERE BCI. *Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) DC.: A systemic review of its ethnomedicinal properties, phytochemistry and pharmacology [J]. *World News Nat Sci*, 2021, (37): 41–57.
- [53] 王琳琳, 牛晨冬, 卢宜然, 等. 中药材谱效关系研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2022, 43(4): 379–383.
WANG LL, NIU CD, LU YR, *et al.* Research progress on the spectrum-effect relationships of traditional Chinese medicine [J]. *J Qiqihar Med Univ*, 2022, 43(4): 379–383.
- [54] 张强, 杨宇婷. 中药谱效关系研究现状概述[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(3): 680–683.
ZHANG Q, YANG YT. The overview of the research status of the relationship between spectrum and effect of traditional chinese medicine [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2022, 33(3): 680–683.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



潘佳慧, 硕士, 工程师, 主要研究方向为复合调味品。

E-mail: 1049936296@qq.com