

# SPME-GC-MS结合OAV分析不同产区花椒炸花椒油的关键香气物质

高夏洁<sup>1,2</sup>, 高海燕<sup>1</sup>, 赵 镭<sup>2</sup>, 史波林<sup>2</sup>, 张璐璐<sup>2</sup>, 汪厚银<sup>2</sup>, 钟 葵<sup>2,\*</sup>

(1.上海大学生命科学学院, 上海 200444; 2.中国标准化研究院农业食品标准化研究所, 北京 102200)

**摘要:**以17种不同产地红花椒为原料, 油炸法制取花椒油, 采用顶空固相微萃取(headspace solid phase microextraction, HS-SPME)与气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用技术对红花椒油挥发性风味成分进行鉴定。结果表明: 共鉴定出55种挥发性风味成分(18个共有组分), 包括22种烃类、17种醛酮类、9种醇类、5种酯类及2种其他物质。气味活度值(odor activity value, OAV)分析表明芳樟醇、桉叶油醇、月桂烯、柠檬烯等是花椒油中的关键香气物质。通过主成分分析及偏最小二乘回归分析建立花椒油原料分类的有效判别模型, 筛选出8种关键差异性风味物质, 分析为水芹烯、罗勒烯、芳樟醇、桉叶油醇、乙酸芳樟酯、(-)- $\beta$ -蒎烯、*p*-伞花烃及月桂烯。根据香气物质可将17种花椒油的原料分为4组, 产区及品种是花椒油香气差异的重要因素。HS-SPME-GC-MS结合OAV分析关键香气物质对市售花椒油品质评价及产地区分提供理论参考。

**关键词:**炸花椒油; 关键香气物质; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用; 不同产区; 偏最小二乘回归分析

## Analysis of Key Aroma Components in Fried *Zanthoxylum bungeanum* Oil from Different Production Areas by Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry Combined with Odor Activity Value

GAO Xiajie<sup>1,2</sup>, GAO Haiyan<sup>1</sup>, ZHAO Lei<sup>2</sup>, SHI Bolin<sup>2</sup>, ZHANG Lulu<sup>2</sup>, WANG Houyin<sup>2</sup>, ZHONG Kui<sup>2,\*</sup>

(1. College of Life Science, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

2. Food and Agriculture Standardization Institute, China National Institute of Standardization, Beijing 102200, China)

**Abstract:** The volatile flavor components of fried *Zanthoxylum bungeanum* oil from 17 geographical origins were identified by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that a total of 55 volatile flavor components (18 of which were common to all oil samples) were identified, including 22 hydrocarbons, 17 aldehydes and ketones, 9 alcohols, 5 esters and 2 other substances. Odor activity value (OAV) analysis showed that linalool, eucalyptol, myrcene and limonene were the key aroma substances in fried *Z. bungeanum* oil. Through principal component analysis (PCA) and partial least squares discrimination analysis (PLS-DA), a discriminant model for the classification of fried *Z. bungeanum* oil samples according to geographical origin was established, and eight key differential flavor substances were selected using the model, namely phellandrene, ocimene, linalool, eucalyptol, linalyl acetate, (-)- $\beta$ -pinene, *p*-cymene and myrcene. The 17 oil samples were divided into four categories according to the aroma substances. Production area and cultivar were important factors for the difference in the aroma of fried *Z. bungeanum* oil. The results of this study will provide a theoretical reference for the quality evaluation and geographical origin discrimination of *Z. bungeanum* oil on the market.

**Keywords:** fried *Zanthoxylum bungeanum* oil; key aroma substances; headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry; different production areas; partial least squares-discrimination analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20201120-217

中图分类号: TS201

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2022)04-0208-07

收稿日期: 2020-11-20

基金项目: 市场监管总局科技计划项目(2019MK117); 公益性科研院所基本科研业务费专项(562018Y-5983);

“十三五”国家重点研发计划重点专项(2017YFD0400101)

第一作者简介: 高夏洁(1997—)(ORCID: 0000-0001-5869-7347), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品感官与风味分析。

E-mail: gxiajie@foxmail.com

\*通信作者简介: 钟葵(1979—)(ORCID: 0000-0001-5341-7086), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为感官分析与消费喜好。

E-mail: zhongkui@cnis.ac.cn

引文格式:

高夏洁, 高海燕, 赵镭, 等. SPME-GC-MS结合OAV分析不同产区花椒炸花椒油的关键香气物质[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 208-214. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20201120-217. <http://www.spkx.net.cn>

GAO Xiajie, GAO Haiyan, ZHAO Lei, et al. Analysis of key aroma components in fried *Zanthoxylum bungeanum* oil from different production areas by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry combined with odor activity value[J]. Food Science, 2022, 43(4): 208-214. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20201120-217. <http://www.spkx.net.cn>

花椒 (*Zanthoxylum bungeanum*) 分布广泛, 如早期的农业文献《齐民要术》中就有“蜀椒出武都, 秦椒出天水”的记载, 可见花椒自古就已形成特有的优良产区<sup>[1]</sup>。花椒制取的花椒油是目前最常见的花椒加工品, 有效解决花椒食用不便的问题<sup>[2]</sup>, 是一道调味佳品<sup>[3-4]</sup>, 味道温和、椒香浓郁、味道鲜美、醇麻可口, 且炸花椒油的咸香风味更浓郁<sup>[5]</sup>, 还具有除腥去膻、增香调味的功效, 深受消费者的喜爱<sup>[1]</sup>。

张玉霖等<sup>[6]</sup>分析了市售花椒油的挥发性香气成分, 研究发现桉烯、(E)- $\beta$ -罗勒烯、桉叶油醇、乙酸芳樟酯是其主要的挥发性化合物。目前Sun Jie等<sup>[7]</sup>采用香气萃取稀释分析结合气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用技术与气相色谱-嗅觉法鉴定四川汉源和陕西韩城两个地区的花椒油中的主要香气活性化合物, 发现 $\beta$ -水芹烯、*p*-伞花烃、乙酸辛酯、辛酸、香茅醇和桉烯在2种花椒油的香气差异中起关键作用, 并发现乙酸芳樟酯、芳樟醇和柠檬烯是红花椒的主要成分。研究证明生态环境对红花椒的香气品质有显著影响, 不同产地的花椒挥发性风味成分有很大差异<sup>[8]</sup>。采用不同产地花椒制取的花椒油食品调味效果差异显著, 然而目前对不同产地花椒制取花椒油的香气研究报道较少, 因此研究不同产地花椒油的挥发性风味成分及关键香气物质十分有必要<sup>[9]</sup>。

为对花椒油中的香气成分定性及定量, 采用顶空固相微萃取 (headspace solid phase microextraction, HS-SPME) 与GC-MS联用技术对同种工艺下不同产地红花椒油挥发性风味成分的差异进行分析<sup>[10-11]</sup>。旨在为建立红花椒油香气成分图谱数据库提供数据支持, 为市售花椒油产地溯源提供理论及数据参考<sup>[12]</sup>。

## 1 材料与方

### 1.1 材料与试剂

花椒样品均为红花椒, 其中四川花椒样品由成都珪一食品开发股份有限公司提供, 其余样品均由陕西省韩城市花椒管理局提供, 详细信息见表1。

表1 花椒样品产地及品种信息

Table 1 Geographical origins and cultivars of *Z. bungeanum* used in this study

样品编号	产区产地	品种	样品编号	产区产地	品种
Z1	甘肃武都	伏椒	Z10	四川盐源	南椒
Z2	甘肃元龙	伏椒	Z11	四川丹巴	南椒
Z3	甘肃秦安	伏椒	Z12	陕西韩城	大红袍
Z4	甘肃甘谷	伏椒	Z13	陕西富平	大红袍
Z5	甘肃临夏	伏椒	Z14	山西运城	大红袍
Z6	甘肃临夏	棉椒	Z15	河北涉县	大红袍
Z7	四川茂县	大红袍	Z16	山东莱芜	大颗粒
Z8	四川汶川	大红袍	Z17	山东莱芜	小颗粒
Z9	四川汉源	南椒			

C<sub>7</sub>~C<sub>40</sub>系列烷烃标准品 美国Agilent科技公司;  
1,2-二氯苯 上海西格玛奥德里奇贸易有限公司。

### 1.2 仪器与设备

HH-S-3L数显恒温油浴锅、HH-1数显电子恒温水浴锅 常州国华电器有限公司; DC-320AS型电子天平 南京苏测计量仪器有限公司; 7890A-5975C GC-MS联用仪 美国Agilent科技公司; 手动固相微萃取进样针及DVB/CAR/PDMS萃取头 (50/30  $\mu$ m)、HP-5MS色谱柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25  $\mu$ m) 美国Supelco公司; PC-420D磁力加热搅拌器 美国Corning公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 花椒油制备

参考文献[5-7]基础上, 开展热炸花椒油预实验, 考察不同油温 (110~230  $^{\circ}$ C)、不同油炸时间 (5~30 min) 花椒油的香气品质, 最终确定花椒油制备工艺: 菜籽油 $\rightarrow$ 油浴加热 $\rightarrow$ 加入花椒 $\rightarrow$ 恒温油炸 $\rightarrow$ 冰水冷却 $\rightarrow$ 过筛 (90目) $\rightarrow$ 花椒油。

上述工艺中, 将菜籽油加入100 mL棕色锥形瓶中, 添加量为25.00 g, 油浴加热温度至180  $^{\circ}$ C后恒温20 min, 迅速加入5.00 g破碎花椒粒, 加盖后油炸6 min, 取出后迅速用冰水冷却, 冷却至常温后 (5~10 min) 密封冷藏, 放置第2天上机测试。

#### 1.3.2 样品前处理

称取5.00 g花椒油样品与20 mL顶空瓶中, 并加入1  $\mu$ L质量浓度为0.326 5  $\mu$ g/ $\mu$ L的1,2-二氯苯溶液。将顶空瓶加盖密封后, 放置于75  $^{\circ}$ C的恒温水浴锅中, 平衡20 min后, 插入HS-SPME进样针, 推出吸附涂层, 萃取

30 min<sup>[11]</sup>, 萃取结束后将萃取头从样品瓶中拔出, 立即插入GC进样口, 250 °C解吸10 min, 实验平行3次测定<sup>[13]</sup>。

### 1.3.3 GC-MS测定

GC条件: HP-5MS弹性石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 进样口温度: 250 °C, 载气: 高纯(99.999%)氦气, 载气流速: 1.00 mL/min, 进样方式为不分流进样, 色谱柱升温程序: 起始温度65 °C, 保持2 min; 以5 °C/min升至95 °C, 保持1 min; 以1 °C/min升至97 °C, 保持2 min; 以1 °C/min升至120 °C, 保持2 min; 以5 °C/min升至190 °C, 保持0 min; 以30 °C/min升至230 °C。

MS条件: 电子电离源, 电子能量70 eV, 离子源温度230 °C, 四极杆温度150 °C, 全扫描模式, 质量扫描范围40~450 u, 延迟3 min。

### 1.3.4 定性与定量

定性方法: 分离出的未知物与NIST 14.0谱库进行检索(仅选匹配度大于80%的鉴定结果), 并与标准品的保留指数(retention index, RI)值进行对比分析<sup>[14]</sup>, 通过直接和相应的标准品比较及质谱图的方式定性, 化合物RI计算见式(1):

$$RI = 100 \times \left( n + \frac{t'_x - t'_n}{t'_{(n+1)} - t'_n} \right) \quad (1)$$

式中:  $n$ 为碳数;  $t'_x$ 为保留在碳数 $n$ 和 $n+1$ 正构烷烃之间目标化合物保留时间;  $t'_n$ 为碳数是 $n$ 的正构烷烃的保留时间;  $t'_{(n+1)}$ 为碳数是 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间。

定量方法: 使用内标法定量, 1,2-二氯苯(0.326 5 μg/μL)溶液为内标, 并根据内标的质量浓度从而计算样品中每一个挥发性香气物质的质量浓度, 定量公式见式(2):

$$C_i = C_{is} \times \frac{A_i}{A_{is}} \quad (2)$$

式中:  $C_i$ 为化合物质量浓度/(μg/mL);  $C_{is}$ 为内标质量浓度/(μg/mL);  $A_i$ 为化合物的色谱峰面积;  $A_{is}$ 为内标物色谱峰面积<sup>[14-15]</sup>。

### 1.3.5 关键香气活性物质分析

气味活度值(odor activity value, OAV)表示呈香物质在香气中起作用的强度, 当OAV≥1, 该香气物质可能对食品香气的贡献和影响较大, OAV<1, 表明该物质对总体香气无实质性贡献, 一般情况下, OAV越大说明该物质对总体香气的贡献越大<sup>[16]</sup>。因此, 本研究把OAV不小于1作为花椒油特征香气成分的判别标准<sup>[17]</sup>。

### 1.4 数据处理

每次数据采集分别选择3个平行样, 采用Microsoft Office Excel 2016进行原始数据处理, IBM SPSS Statistics 23、Origin 2021、Metabo Analyst进行分析及作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同产地花椒制取花椒油挥发性风味成分解析

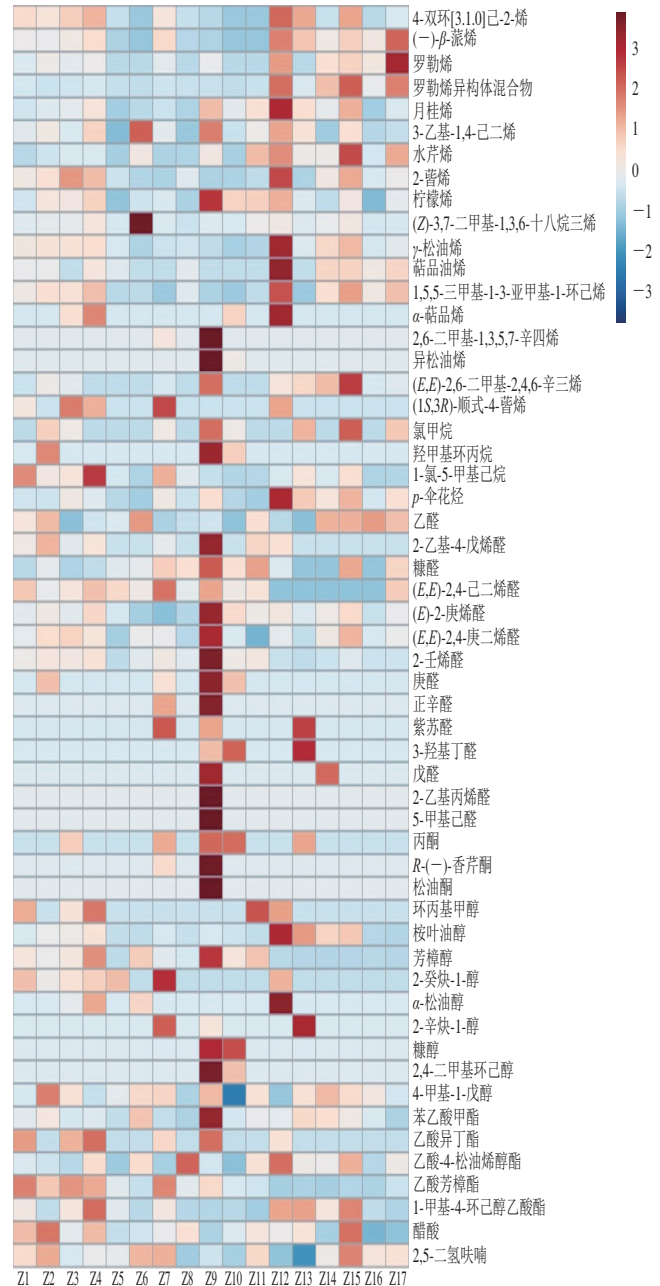


图1 花椒油GC-MS测定结果热图

Fig. 1 Heatmap plot showing volatile composition of *Z. bungeanum* oil measured by GC-MS

经GC-MS检测, 不同产地红花椒制取花椒油挥发性风味成分总含量介于85.91~1 201.35 mg/kg之间, 且存在显著差异( $P<0.05$ )。17种不同的红花椒为原材料制取的花椒油含有55种挥发性风味成分(18个共有组分), 对这些挥发性风味成分进行定性、定量分析, 包括22种烃类、17种醛酮类、9种醇类、5种酯类、1种

酸类和1种呋喃类化合物。热图将GC-MS分析得到的挥发性风味成分数据可视化<sup>[16]</sup>, 红色代表同种物质在某一样品中的含量高, 蓝色则代表该物质在对应样品中的含量低<sup>[17]</sup>, 不同产地红花椒制取花椒油挥发性风味成分总含量分布热图如图1所示, 17种花椒油中有含量高(在一个或多个样品中含量 $\geq 1\ 000\ \text{mg/kg}$ )的有芳樟醇、桉叶油醇、月桂烯、柠檬烯、乙酸芳樟酯, 这与前人研究花椒油的主要成分一致<sup>[5-7,18]</sup>。同一工艺下, 不同产地花椒油炸制花椒油的挥发性风味成分含量有区别。

### 2.2 花椒油特征香气的分析

香气阈值对于食品的香气分析研究十分重要, 许多挥发和非挥发化合物已经从食品、饮料、水和其他溶剂中被鉴定出来, 根据化合物在食品、饮料和饮用水中的浓度和阈值, 可对这些体系中对香味或味觉重要性的贡献率进行判断<sup>[19-20]</sup>。根据OAV理论, 食品中香气浓度高而阈值低的成分很可能是食品的特征香气, 物质浓度高不一定对花椒油的香气有很大贡献, 而含量低的物质也有可能对花椒油的整体香气有大的影响<sup>[21]</sup>。

表2 不同产地花椒制取花椒油特征香气成分的阈值及其嗅觉描述

Table 2 Thresholds and olfactory description of characteristic aroma components of fried *Z. bungeanum* oil from different production areas

编号	香气成分	化学式	阈值/ (mg/kg)	香气描述
O1	(-)- $\beta$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.14	松木香、树脂香
O2	月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.044 5	花香
O3	罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.034	甜香
O4	水芹烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.036	黑胡椒香、薄荷香
O5	柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.2	柑橘香
O6	异松油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.2	有松树树脂似的气息、温和的木香
O7	<i>p</i> -伞花烃	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	0.034	潮湿发霉的抹布味
O8	乙醛	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O	0.1	发酵味
O9	糠醛	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	0.97	油脂味、木香味
O10	( <i>E,E</i> )-2,4-庚二烯醛	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	0.1	具有肉桂样的清香、脂肪香
O11	2-壬烯醛	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	0.9	肥皂、青草、水腥臭
O12	庚醛	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	0.23	青草、青瓜
O13	( <i>E</i> )-2-庚烯醛	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	0.75	油脂味、青草味
O14	正辛醛	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	0.056	香草味、橘子味
O15	戊醛	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	0.15	油脂味、木香味
O16	<i>R</i> (-)-香芹酮	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	0.025	留兰香味
O17	桉叶油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.023	松油香、草药味、樟脑气息
O18	芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.037	花香、青香、木香、甜香
O19	$\alpha$ -松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.33	水果味、薄荷味
O20	糠醇	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	0.72	甜的、类似面包的焦糖样香韵
O21	苯乙酸甲酯	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	0.1	有弱的蜂蜜及麝香样香气
O22	乙酸异丁酯	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	0.5	月季花香
O23	$\alpha$ -乙酸松油酯	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2.5	清甜味、具清香带甜、似香柠檬、薰衣草气息
O24	乙酸芳樟酯	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	1	类似铃兰、薰衣草等精油的幽雅香气
O25	醋酸	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1.05	刺鼻的醋酸味

参考文献[7,21], 确定了25种香气物质在部分或所有花椒油样品中OAV大于1, 它们是花椒油中的关键香气物质, 阈值及嗅闻香气描述如表2所示, 成分主要为烃类、醛酮类, 另外还有醇类、酯类和酸类, OAV结果如表3所示。

可以看出, O1 ((-)- $\beta$ -蒎烯)、O3 (罗勒烯)、O4 (水芹烯)、O7 (*p*-伞花烃)、O10 ((*E,E*)-2,4-庚二烯醛)、O16 (*R*(-)-香芹酮)、O24 (乙酸芳樟酯)这7种香气物质在部分花椒油样品中 $100 < \text{OAV} < 1\ 000$ , O2 (月桂烯)、O5 (柠檬烯)、O17 (桉叶油醇)、O18 (芳樟醇)这4种香气物质在部分花椒油样品中 $\text{OAV} \geq 1\ 000$ , 经文献中描述芳樟醇有花香、青香、木香、甜香, 桉叶油醇有松油香、草药味、樟脑气息, 月桂烯有花香, 柠檬烯有柑橘香及清淡的香脂香气<sup>[6-7,11,22]</sup>, 这些物质对不同产地花椒油的整体香气及差异区分起到很大的贡献作用, 其余关键香气物质为花椒油的整体香气起到重要修饰作用<sup>[23-24]</sup>。

表3 不同产地花椒炸花椒油特征香气成分的OAV

Table 3 OAVs of characteristic aroma components of fried *Z. bungeanum* oil from different geographical origins

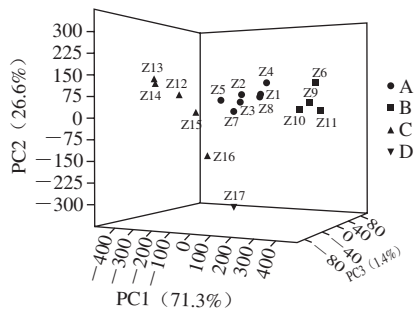
香气成分	OAV																
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12	Z13	Z14	Z15	Z16	Z17
(-)- $\beta$ -蒎烯	171	161	191	244	56	19	251	73	59	19	20	407	291	187	271	196	454
月桂烯	535	655	733	1041	161	362	495	270	1516	719	1125	2891	1176	763	1645	169	641
罗勒烯	21	34	26	32	-	-	25	-	30	-	-	89	-	51	60	41	158
水芹烯	21	34	43	43	9	67	14	15	67	11	110	141	61	60	186	38	122
柠檬烯	463	707	681	872	183	445	502	288	1635	871	888	1057	528	384	682	124	569
异松油烯	-	-	-	-	-	-	-	-	49	4	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -伞花烃	34	33	67	46	16	-	66	30	89	15	-	237	108	76	125	35	85
乙醛	36	50	8	23	26	58	15	21	23	9	40	18	8	52	53	57	49
糠醛	<1	1	<1	<1	1	1	3	2	4	2	3	1	-	-	3	-	2
( <i>E,E</i> )-2,4-庚二烯醛	33	48	51	42	15	35	34	19	105	29	-	33	22	39	61	28	35
2-壬烯醛	4	5	4	5	1	3	4	3	17	4	5	2	1	2	3	2	2
庚醛	-	2	-	-	-	-	1	-	5	2	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )-2-庚烯醛	3	3	3	4	3	2	1	2	9	4	3	4	3	3	4	2	3
正辛醛	-	-	-	-	-	-	18	-	38	-	-	-	-	-	-	-	-
戊醛	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	6	-	-
<i>R</i> (-)-香芹酮	-	-	-	-	-	-	63	-	269	-	-	-	-	-	-	-	-
桉叶油醇	889	1336	1579	2096	416	319	846	481	837	600	382	6673	3952	2581	2942	110	-
芳樟醇	2638	1984	2600	5619	537	3825	1653	1252	8216	2740	4107	484	373	301	377	420	393
$\alpha$ -松油醇	-	-	2	13	-	8	-	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-
糠醇	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-
苯乙酸甲酯	10	16	8	9	5	25	5	-	58	7	12	11	20	19	15	8	-
乙酸异丁酯	1	-	<1	1	-	-	<1	-	1	-	-	<1	-	-	-	-	-
$\alpha$ -乙酸松油酯	<1	<1	<1	2	<1	2	<1	3	<1	<1	1	3	1	1	2	<1	1
乙酸芳樟酯	236	160	216	192	73	42	230	75	137	59	52	10	14	9	23	18	48
醋酸	13	16	8	13	7	7	9	10	6	8	10	9	10	5	16	4	4

注: - 未检出。

### 2.3 特征香气物质与产区关联分析

主成分分析 (principal component analysis, PCA) 采用降维思想, 将原来的众多变量通过降维、除噪转化为几个综合指标用于反映原来变量的信息<sup>[16-17]</sup>。由

表3可见,不同香气物质或同一香气物质OAV差异很大,因此将表3中17个不同产地红花椒OAV进行归一化处理,再采用Metabo Analyst进行分析,绘制样品得分图,见图2。由图2可见,17个样品分为4组,第1组是甘肃伏椒(Z1~Z5)以及四川茂县及汶川大红袍花椒(Z7和Z8);第2组为四川南椒(Z9~Z11)及甘肃棉椒(Z6);第3组为陕西、山西、河北大红袍品种(Z12~Z15)及山东大颗粒(Z16);第4组为山东莱芜小颗粒花椒(Z17)。四川汶川花椒品种为大红袍,但由于四川茂汶地形、日照特点,以及多年品种循环化导致四川茂汶这2个大红袍花椒品种与其他省份大红袍样品存在明显香气差别,PCA聚类中将其与甘肃伏椒归为一类;山东小颗粒个头小、颜色暗红,且香气组成上与其他花椒样品差异显著,根据得分图可将该品种花椒单独归为一类。因此,产区和品种对分类影响较大,表明是花椒特征香气物质差异的重要因素。



A~D.样品第1~4组。下同。

图2 花椒油样品的OAV三维PCA得分示意图

Fig. 2 Three-dimensional PCA score plot of OAVs of fried *Z. bungeanum* oil samples

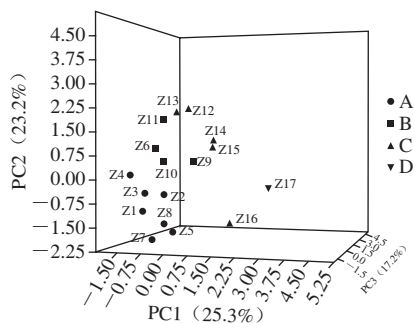
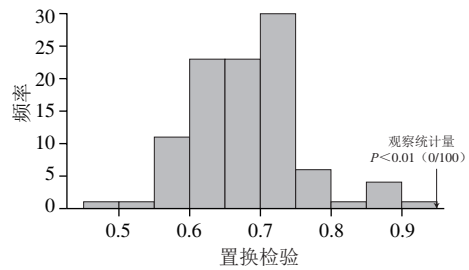
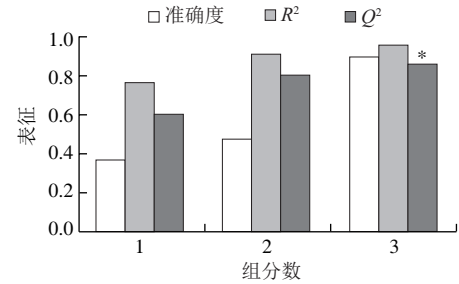


图3 花椒油样品的OAV三维PLS-DA的得分示意图

Fig. 3 Three-dimensional PLS-DA score plot of OAVs of fried *Z. bungeanum* oil samples

PCA侧重于描述样品分类趋势<sup>[8]</sup>,偏最小二乘判别分析(partial least squares-discrimination analysis, PLS-DA)是一种有监督的判别分析统计方法<sup>[25]</sup>,可进一步采用PLS-DA建立香气物质表达量OAV与样品类别的关联模型,实现样品类别预测。OAV的PLS-DA三维得分图

如图3所示,PC1贡献率为25.3%,PC2贡献率为23.2%,PC3贡献率为17.2%。可直观反映各样本间的相似性和差异性,两个样本间差异越大,表现在得分图上的相对位置越远,反之亦然。由图3可知,17个不同产地花椒油样品归类结果与花椒品种直接相关,PLS-DA建立的关系模型可以将4组花椒油样品有效归类。



\*.差异显著( $P < 0.05$ )。

图4 花椒油样品的OAV PLS-DA模型参数

Fig. 4 PLS-DA model parameters of OAVs of fried *Z. bungeanum* oil samples

PLS-DA的模型参数见图4,这4组有香气区别的花椒油样品在95%的置信区间空间分布区域性明显,模型参数中 $R^2$ 及 $Q^2$ , $Q^2 > 0.8$ ,表明模型具有较高的预测能力。通过置换检验随机化检验通过标签的随机排列检查模型的 $Q^2$ 显著性,见图4,样品量为100时, $P < 0.01$ ,表明极显著相关。

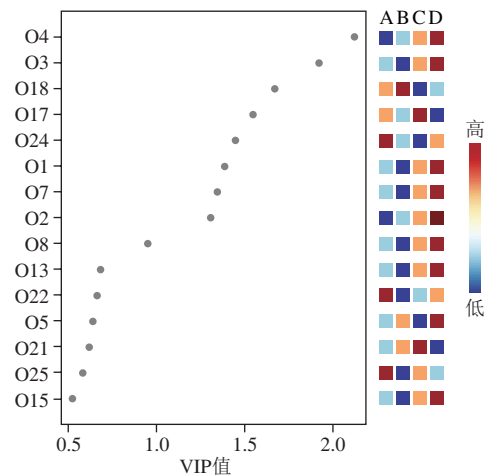


图5 花椒油样品OAV PLS-DA的VIP值

Fig. 5 PLS-DA VIP of OAVs of fried *Z. bungeanum* oil samples

如图5所示, 可以通过计算变量投影重要度 (variable importance for the projection, VIP) 衡量PLS-DA模型下每一个变量因子的表达模式对各组样本分类判别的影响强度和解释能力, 从而辅助标志变量因子的筛选 (通常以VIP>1.0作为筛选标准)<sup>[26-27]</sup>, VIP值越大, 表明该香气化合物在组间的差异越大, 对花椒油香气类型的判别分类越关键。依据VIP>1.0的原则, 共筛选出8种关键差异性化合物, 为水芹烯、罗勒烯、芳樟醇、桉叶油醇、乙酸芳樟酯、(-)- $\beta$ -蒎烯、*p*-伞花烃及月桂烯<sup>[2,19,28-29]</sup>。

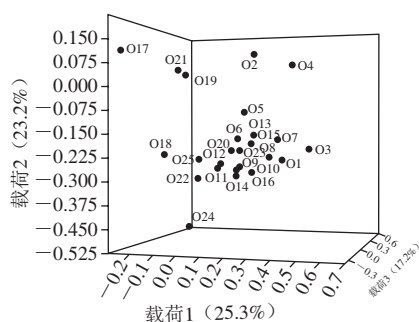


图6 花椒油样品的OAV二维和三维PLS-DA的样品得分载荷图

Fig. 6 Two-dimensional and three-dimensional PLS-DA score load plots of OAVs of fried *Z. bungeanum* oil samples

如图6所示, 根据OAV样品得分示意图及载荷图, 第1组为甘肃武都、元龙、秦安、甘谷的伏椒及四川茂汶大红袍花椒油样品, 主要以芳樟醇、乙酸芳樟酯为关键差异性化合物, 根据表2, 芳樟醇香气描述为花香、青香、木香、甜香; 乙酸芳樟酯香气描述为类似铃兰、薰衣草等精油的幽雅香气<sup>[26]</sup>, 均为花香, 因此本组特征可描述为较强的花香。第2组为四川汉源、盐源、丹巴南椒及甘肃临夏棉椒, 主要以桉叶油醇、苯乙酸甲酯及芳樟醇为关键差异性化合物; 根据表2, 桉叶油醇香气描述为松油香、草药味、樟脑气息; 苯乙酸甲酯有弱的蜂蜜及麝香样香气; 芳樟醇香气描述为花香、青香、木香、甜香, 但本组样品与(-)- $\beta$ -蒎烯、罗勒烯、*p*-伞花烃距离较远, 根据香气描述本组样品香气相对特点可描述为青草香、松木香及草药香。第3组为陕西韩城、富平, 山西运城, 河北涉县及山东莱芜花椒油样品, 以大红袍品种为主, 主要以月桂烯、水芹烯等为关键差异性化合物, 根据表2, 月桂烯香气描述为花香; 水芹烯香气描述为黑胡椒香、薄荷香, 根据香气描述本组样品香气相对特点可描述为黑胡椒香、薄荷香等辛香。第4组是山东莱芜独有的花椒品种, 其关键差异性化合物为(-)- $\beta$ -蒎烯及罗勒烯, (-)- $\beta$ -蒎烯香气描述为松木香、树脂香; 罗勒烯香气描述为甜香, 但本组样品与桉叶油醇距离很远, 因此本组的香气相对特点为松香、花香较弱。

Sun Jie等<sup>[7]</sup>发现在陕西韩城及四川汉源花椒油中OAV较高的香气物质有桉叶油醇、 $\beta$ -月桂烯、 $\beta$ -罗勒烯、柠

檬烯和芳樟醇, 与本研究结果一致, 但Sun Jie等<sup>[7]</sup>研究中发现(*E*)-2-庚醛OAV较高, 本研究(-)- $\beta$ -蒎烯、乙酸芳樟酯、(*E,E*)-2,4-庚二烯醛等OAV在部分样品大于100, 差异体现可能原因有花椒样品、油样品及花椒油制备工艺的区别等。王立艳等<sup>[30]</sup>研究发现高温浸提花椒油相较于其他工艺乙酸芳樟酯含量高, 并发现柠檬烯、芳樟醇、乙酸芳樟酯在高温浸提花椒油中含量占比很高, 与本研究结果一致。花椒油的香气成分绝大部分来自于花椒, 而Iseli等<sup>[31]</sup>发现花椒中的主要挥发物有乙酸芳樟酯、柠檬烯、 $\gamma$ -松油醇、桉树油、桉烯、芳樟醇和 $\beta$ -月桂烯, 与本实验用花椒为原料制取的花椒油中主要挥发物研究结果基本一致。虽然花椒油样品中主要挥发性物质大体一致, 但是香气物质含量的区别导致不同主产地花椒制取的花椒油样品香气差异很大, 关键香气物质的分析对花椒油样品的香气描述及归类至关重要, 因此有必要对不同产地花椒油样品的挥发性风味成分进行连续分析, 以揭示不同产地花椒油样品物质成分的贡献程度及香气差异描述。

### 3 结论

采用GC-MS联用技术, 对17个不同产地花椒作为原料, 同种工艺制取花椒油中55种香气物质进行定性、定量分析, 通过进一步分析确定25种挥发性物质为花椒油的特征香气成分, 在此基础上计算OAV确定花椒油的关键香气成分。OAV法实现了对花椒油样品复杂香气的简单化分析, 进一步验证了以挥发性风味成分分组的特点, OAV PCA结果表明: 花椒油关键香气成分主要有月桂烯、柠檬烯、桉叶油醇、芳樟醇, 这几个香气物质OAV在部分样品中大于1000, 为花椒油主体香气有很大的贡献作用。经PCA及PLS-DA, 建立花椒油样品原料花椒分类的有效判别模型; 基于VIP>1和 $P \leq 0.05$ , 筛选出了8种关键差异性化合物, 这8种关键差异性化合物是水芹烯、罗勒烯、芳樟醇、桉叶油醇、乙酸芳樟酯、(-)- $\beta$ -蒎烯、*p*-伞花烃及月桂烯。根据这些香气物质可将17种不同产地花椒油样品分为4组香气类型, 这4组香气类型花椒油样品在95%的置信区间空间分布区域性明显, 根据香气差异可描述为第1组以伏椒为原料的花椒油样品有浓郁的花香, 以芳樟醇、乙酸芳樟酯为特征风味物质; 第2组以棉椒及南椒为原料的花椒油样品有突出的青草香、松木香及草药香, 以桉叶油醇、苯乙酸甲酯及芳樟醇为特征风味物质; 第3组主要以大红袍为原料的花椒油样品, 样品黑胡椒香、薄荷香等辛香较为突出, 第4组是一种独有的小颗粒花椒品种, 样品香气相对特点为松香、花香较弱, 以(-)- $\beta$ -蒎烯及罗勒烯为特征风味物质。根据分组结果可知, 花椒油样品的香气差异与品种

有密切相关性,但是四川茂县及四川汶川花椒品种为大红袍,由于特殊的地理地形及很多产地因素循化,这两个产地的两个花椒油样品香气类型与伏椒更为接近,由此可见,花椒产地对花椒油的香气类型有一定的影响,关于不同产地同一花椒品种制取的花椒油的香气类型差异还有待研究。

#### 参考文献:

- [1] HUO Z H, XU D P, BIAO P, et al. Predicting distribution of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. in China[J]. BMC Ecology, 2020, 20(1): 366-375. DOI:10.1186/s12898-020-00314-6.
- [2] ZHAO Z F, ZHU R X, ZHONG K, 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): 1516-1522. DOI:10.1111/1750-3841.12236.
- [3] 纪珍珍. 花椒叶主要成分分析和干燥特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015: 1-2.
- [4] 孙国峰, 李凤飞, 杨文江, 等. 花椒有效成分的CO<sub>2</sub>超临界萃取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(6): 899-904. DOI:1673-1689(2011)06-0899-06.
- [5] 陈海涛, 孙丰义, 王丹, 等. 梯度稀释法结合气相色谱-嗅闻-质谱联用仪鉴定炸花椒油中关键性香气活性化合物[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(3): 191-198. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.201703034.
- [6] 张玉霖, 周亮, 陈莉, 等. 顶空固相微萃取结合GC-MS分析花椒油香气成分[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(1): 173-178. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2019.01.029.
- [7] SUN J, SUN B G, REN F Z, et al. Characterization of key odorants in hanyuan and hancheng fried *Zanthoxylum bungeanum* (*Zanthoxylum bungeanum*) oil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(23): 6403-6411. DOI:10.1021/acs.jafc.0c02026.
- [8] 王思思, 钟葵, 史波林, 等. 基于多元统计分析的不同产地红花椒挥发性成分差异分析[J]. 中国调味品, 2019, 44(3): 51-56. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2019.03.011.
- [9] ALLUHAYB A H, LOGUE B A. The analysis of aroma/flavor compounds in green tea using ice concentration linked with extractive stirrer[J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1518: 8-14. DOI:10.1016/j.chroma.2017.08.049.
- [10] DIAO W R, HU Q P, FENG S S, et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from green Huajiao (*Zanthoxylum schinifolium*) against selected foodborne pathogens[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(25): 6044-6049. DOI:10.1021/jf4007856.
- [11] 王立艳, 陈吉江, 安骏, 等. 混合原料制取花椒油工艺优化及挥发成分分析[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(8): 18-23. DOI:10.3969/j.issn.1673-1689.2019.08.003.
- [12] FAN L H, HUANG Y L, ZHAO R, et al. Geographical-origin discrimination and volatile oil quantitative analysis of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. with a portable near-infrared spectrometer[J]. Analytical Methods, 2019, 41(11): 5301-5310. DOI:10.1039/C9AY01520E.
- [13] HWANG Y S, LEE H W, CHANG J Y, et al. Characterization of kimchi flavor with preconcentration by head space solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction and analysis by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical Letters, 2019, 52(8): 1247-1257. DOI:10.1080/00032719.2018.1530256.
- [14] 牛文婧, 田洪磊, 詹萍, 等. 基于主成分分析的花椒油香气质量评价模型的构建[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 263-269; 275. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.043.
- [15] SONG H, CADWALLADER K R. Aroma components of American country ham[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(1): 29-35. DOI:10.1111/j.1750-3841.2007.00593.x.
- [16] FAN S S, TANG K, XV Y, et al. Characterization of the potent odorants in Tibetan Qingke Jiu by sensory analysis, aroma extract dilution analysis, quantitative analysis and odor activity values[J]. Food Research International, 2020, 137. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109349.
- [17] BABICKI S, ARNDT D, MARCU A, et al. Heatmapper: web-enabled heat mapping for all[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(1): W147-W153. DOI:10.1093/nar/gkw419.
- [18] 李锦, 刘玉兰, 徐晨辉, 等. 花椒风味油的制取及品质研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(2): 24-31. DOI:10.12166/j.zgyz.1003-7969/2020.02.006.
- [19] ZHANG W T, LAO F, BI S, et al. Insights into the major aroma-active compounds in clear red raspberry juice (*Rubus idaeus* L. cv. Heritage) by molecular sensory science approaches[J]. Food Chemistry, 2021, 336: 127721. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127721.
- [20] FU L, XIE H L, SHI S Y, et al. Multielement analysis of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. essential oil using ICP-MS/MS[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(16): 3769-3778. DOI:10.1007/s00216-018-1040-8.
- [21] 里奥·范海默特. 化合物嗅觉阈值汇编[M]. 2版. 北京: 中国科学技术出版社, 2018: 5.
- [22] 李翠翠, 侯利霞, 汪学德, 等. 炒籽温度及初始水分含量对葵花籽酱挥发性风味成分的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(14): 278-285. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190731-432.
- [23] WANG Y H, ZHAO J W, XU F, et al. GC-MS, GC-O and OAV analyses of key aroma compounds in Jiaozai steamed bread[J]. Grain & Oil Science and Technology, 2020, 3(1): 9-17. DOI:10.1016/j.gaost.2019.11.003.
- [24] LIU H, WANG Z Y, ZHANG D Q, et al. Characterization of key aroma compounds in beijing roasted duck by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, odor-activity values, and aroma-recombination experiments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(20): 5847-5856. DOI:10.1021/acs.jafc.9b01564.
- [25] WANG S Y, ZHAO F, WU W X, et al. Comparison of volatiles in different jasmine tea grade samples using electronic nose and automatic thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry followed by multivariate statistical analysis[J]. Molecules, 2020, 25(2): 380. DOI:10.3390/molecules25020380.
- [26] YANG Y Q, ZHANG M M, YIN H X, et al. Rapid profiling of volatile compounds in green teas using micro-chamber/thermal extractor combined with thermal desorption coupled to gas chromatography-mass spectrometry followed by multivariate statistical analysis[J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 96: 42-50. DOI:10.1016/j.lwt.2018.04.091.
- [27] MARSEGLIA A, MUSCI M, RINALDI M, et al. Volatile fingerprint of unroasted and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from different geographical origins[J]. Food Research International, 2020, 132: 109101. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109101.
- [28] YU L, WU W L, PAN Y Y, et al. Quality evaluation of different varieties of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. peels based on phenolic profiles, bioactivity, and HPLC fingerprint[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(4): 1090-1097. DOI:10.1111/1750-3841.15095.
- [29] LIU Y P, LI Q R, YANG W X, et al. Characterization of the potent odorants in *Zanthoxylum armatum* DC Prodr. pericarp oil by application of gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry and odor activity value[J]. Food Chemistry, 2020, 319: 126564. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126564.
- [30] 王立艳, 陈吉江, 安骏, 等. SPME-GC-MS对五种加工工艺鲜花椒油挥发性风味成分的分析[J]. 中国调味品, 2017, 42(9): 128-133; 137. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2017.09.032.
- [31] ISELI V, POTTERAT O, HAGMANN L, et al. Characterization of the pungent principles and the essential oil of *Zanthoxylum schinifolium* pericarp[J]. Die Pharmazie, 2007, 62(5): 396-400. DOI:10.1691/ph.2007.5.6701.