

不同贮藏条件下花椒香气成分及代谢关键酶活性的变化规律

罗凯 张琴 李美东 王丽 黄秀芳*

(湖北民族大学生物科学与技术学院 湖北恩施 445000)

摘要 花椒果实在贮藏过程中其香气成分会随时间的延长而逐渐减弱。以新鲜花椒为试验材料,对其分别进行常温贮藏、风干后常温贮藏、0~4℃低温非真空贮藏、真空低温贮藏、真空包装常温贮藏处理,通过定期检测其香气成分及代谢途径关键酶活性,探寻花椒贮藏过程中香气成分的变化规律。结果显示:花椒的特征香气成分芳樟醇在存放过程中先增加后减少,其余呈味物质大都呈下降趋势,其中真空常温处理条件下贮藏的花椒香气保存效果最佳;香气成分代谢关键酶活性在相同时间内,醇酰基转移酶活性最高,乙醇脱氢酶次之,脂肪氧合酶活性最低,与花椒香气成分变化规律存在一定的相关性。本试验研究了香气成分与代谢关键酶活性的变化规律,为花椒的贮藏提供试验依据。

关键词 花椒;贮藏条件;代谢关键酶;香气成分

文章编号 1009-7848(2020)08-0216-07 doi: 10.16429/j.1009-7848.2020.08.026

植物及其果实的香气成分与植物种类、遗传及生产地域有直接的关联性^[1-3],然而其香气成分在采摘后的变化不仅与植物本身种类有关,还与贮藏温度、贮藏方式、贮藏时间以及果实体内的与香气成分代谢相关的生物酶对其香气成分的保存与变化有十分显著的影响^[4-8]。文献报道,低温贮藏能够延缓猕猴桃果实的成熟速度,从而保持猕猴桃的品质^[9-10];赵云峰等^[11]研究了热处理对龙眼果实采后品质变化的影响,发现热处理能够抑制果实的呼吸强度,从而延缓其衰老速度;梁爽等^[12]研究发现能量调控可以延缓草莓果实的衰老速度;张鹏等^[13]发现气调保藏对樱桃贮藏有利。果实香气成分的合成代谢途径研究发现,香气成分的合成主要有脂肪酸代谢途径、氨基酸代谢途径、单糖途径以及其它代谢途径^[14-15]。研究发现脂肪酸代谢途径的关键酶为脂氧合酶,果实中的部分清香型的挥发性物质与其代谢途径相关;乙醇脱氢酶与醇类香气成分的合成关系明显;醇酰基转移酶是

酯类香气成分合成过程中的关键酶之一,其活性高低与酯类香气成分合成关系显著^[16-17]。

花椒被称作“八大调味品”之一,既是家庭常用烹调调料,又是一种传统的中药,有散寒、杀虫等功效,花椒的香气在这些功效中起到重要作用,然而花椒采摘后在贮藏期间香气会不断减弱。本文研究花椒果实采后不同贮藏条件下香气成分及其代谢相关的酶活性的变化规律,研究其香气成分变化与贮藏条件的关系以及与代谢关键酶活性的关联性。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

苯甲基磺酰氟、萘乙酰胺、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)、乙酰辅酶 A、聚乙二醇辛基苯基醚、亚油酸钠均为分析纯级,购于上海源叶生物科技有限公司;聚乙烯吡咯烷酮、三羟甲基氨基甲烷等均为分析纯级,购于国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为分析纯级。超纯水;花椒果实,购于湖北恩施九叶青花椒公司,于田间现场采收后及时处理。

气相色谱-质谱仪(Agilent 7890B/5977b),美国安捷伦公司;低速冷冻离心机(DL-8000C),上海安亭科学仪器厂;电热鼓风干燥箱(GZX-9140 MBE),上海博迅实业有限公司医疗设备厂;紫外-

收稿日期:2019-08-26

基金项目:国家自然科学基金项目(31860066);湖北省教育厅项目(B2017093);国家级大学生创新创业训练计划项目(201610517018);湖北省大学生创新创业训练计划项目(2017CX190)

作者简介:罗凯(1979—),男,博士,副教授

通讯作者:黄秀芳 E-mail: 634321308@qq.com

可见分光光度计(WFZ-UV-2000),尤尼柯(上海)仪器有限公司;电子天平(BS224S),赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料处理 选取新鲜的花椒,采用不同的贮藏方式:常温贮藏,0~4℃低温非真空贮藏,真空包装常温贮藏,真空包装低温贮藏(0~4℃),风干后常温贮藏。

花椒香气提取前处理:称取2.0g花椒于顶空瓶,立即密封顶空瓶。将样品瓶置于加热的磁力搅拌器上,在50℃的恒温水浴锅中平衡40min,将萃取头(取样前在气相色谱进样口老化处理1h,老化温度250℃)插入顶空瓶中萃取40min,然后将手动SPME装置插入气相色谱(GC)进样口,在相同温度下解吸附3.5min,同时启动仪器收集数据^[11]。

1.2.2 脂肪氧合酶活性检测 脂肪氧合酶活性检测参考文献^[17]、^[18]。

1.2.3 乙醇脱氢酶活性检测 乙醇脱氢酶活性检

测参考文献^[19]。

1.2.4 醇酰基转移酶活性检测 醇酰基转移酶活性检测参考文献^[20]。

1.2.5 香气成分提取与检测分析 花椒挥发性成分的分析方法采用气相色谱质谱法^[21]。气相色谱条件:色谱柱122-5532为DB-5MS(30m×0.25mm×0.25μm)色谱柱,进样口温度250℃;升温梯度:以5℃/min升至150℃梯度,再以4℃/min升至250℃。载气He。检测器温度280℃。质谱条件:EI离子源,离子源温度230℃,电离电压70eV,前进样口温度250℃,四极杆温度150℃,扫描范围35~450m/z,电离方式:EI,检索谱库:NIST^[5]^[22]。

2 结果与讨论

2.1 新鲜花椒香气成分分析

为了检测花椒的新鲜状况,检测了刚采摘的新鲜花椒的香气成分,结果见表1。

表1 新鲜花椒香气物质成分检测结果

Table 1 Detection results of the aroma components of fresh *Zanthoxylum bungeanum Maxim*

编号	保留时间/min	相对峰面积/Ab·s	化合物名称	含量/%
1	1.169	19 573 115	2-甲基-硅烷二醇	0.183
2	2.535	7 362 766	六甲基环三硅氧烷	0.069
3	5.066	41 826 754	(E,E)-2,4-己二烯醛	0.390
4	5.446	59 272 787	α-水芹烯	0.553
5	5.666	57 875 757	2-蒎烯	0.540
6	6.792	6 573 264	苯甲醛	0.061
7	7.180	93 450 626	皮蝇磷	8.715
8	7.853	7 668 263	月桂烯	3.999
9	8.453	2 319 107	α-水芹烯	1.107
10	8.916	947 960	萹烯	0.538
11	10.213	92 389 053	罗勒烯	0.862
12	10.650	1 556 039	萹品烯;	0.437
13	11.237	96 482 396	环己醇	0.900
14	11.830	165 673 723	萹品油烯	1.545
15	12.062	26 155 958	3-(4-甲基-3-戊烯基)-咪喃	0.244
16	12.466	6 061 290	苯乙烯	0.057
17	13.202	3 320 907 247	芳樟醇	33.868
18	13.101	4 645 730	苯乙醇	0.043
19	13.564	80 094 213	(-)-α-侧柏酮	0.747
20	13.959	8 849 284	1,3,8-对苯三烯	0.083

(续表 1)

编号	保留时间/min	相对峰面积/Ab·s	化合物名称	含量/%
21	16.66	19 975 987	2-甲基-3-苯基-丙醛	0.119
22	17.192	7 391 133	乙酸芳樟酯	1.611
23	17.455	9 032 743	对异丙基苯甲醇	0.101
24	17.611	411 995 098	甲醇乙酸酯	0.194
25	18.727	5 930 920	榄香烯	0.054
26	20.41	514 465 732	可巴烯	0.045
27	21.73	36 258 749	1-石竹烯	1.020
28	21.835	21 553 985	榄香烯	0.184
29	22.009	1 363 283	香橙烯	2.099
30	25.761	1 788 749	表姜烯酮	0.167
31	26.174	7 434 389	橙花叔醇	0.693
32	27.494	6 047 706	杜松醇	0.056
33	31.806	779 230 845	棕榈酸	0.046

结合现有文献资料及试验检测结果得出花椒中的主要香气成分有烃、醇、酮、酯等几类物质,其中烃类 15 种,醇 13 种,酮、酸的种类和数量都较少。花椒的主要呈香物质包括芳樟醇、 β -月桂烯、 α -蒎烯、反式 β -罗勒烯、松油醇、橙花叔醇、乙酸芳樟酯等。从物质的结构看,大部分主要香气成分为异戊二烯类物质,而且主要香气成分很多是异构体,如芳樟醇、香叶醇、橙花醇和香草醇^[22]。

2.2 真空包装常温贮藏花椒香气与酶活的关系

在开始试验的 1 周,因未经处理的新鲜花椒已发霉变质,不能食用,此时测定没有意义,故未检测相关指标。只对其它 4 种贮藏条件下的花椒进行酶活测定和香气成分的提取、分析。

分析图 1、2、3 可知,真空常温处理的花椒在存放过程中特征香气成分芳樟醇含量先上升后下降,第 1 次试验时芳樟醇含量为 41.025%,第 3 次为 53.787%,之后不断下降,其它主要芳香物质如 β -月桂烯、橙花叔醇、 α -蒎烯、反式 β -罗勒烯、松油醇、乙酸芳樟酯等的含量大都呈下降趋势,如乙酸芳樟酯含量的变化,3 次检测结果分别为 2.847%,0.987%,提取的花椒香气种类也有所减少。随着存放时间的延长,乙醇脱氢酶和脂肪氧合酶活性均不断降低,最后下降很慢,而醇酰基转移酶活性先增加后降低,且乙醇脱氢酶活性均大于脂肪氧合酶活性。

2.3 真空包装冷冻贮藏花椒香气与酶活的关系

分析图 4、5、6 可得出,真空冷冻处理的花椒随着存放时间的延长,芳樟醇含量先上升后下降,初次测定其含量是 35.672%,第 3 次测定为 40.248%,之后随存放时间的延长,其含量不断下降。其它芳香物质如 β -月桂烯、 α -蒎烯、反式 β -罗勒烯、松油醇、橙花叔醇、乙酸芳樟酯等含量大都呈下降趋势,如 α -蒎烯含量变化为 0.511%,0.429%,之后不断下降。除花椒的主要香气物质减少外,提取并分析花椒香气成分,其香气物质的种类有所减少。随着存放时间的延长,乙醇脱氢酶和脂肪氧合酶活性均不断降低,最后下降很慢,而醇酰基转移酶活性先增加后降低。

2.4 低温(0~4℃)贮藏条件下花椒香气与酶活的关系

分析图 7、8、9 可得出,随着存放时间的延长,低温放置处理的花椒香气物质变化为:芳樟醇含量先上升后下降,其含量变化为 30.968%,35.992%,之后其含量不断下降;其它主要芳香物质如 β -月桂烯、 α -蒎烯、反式 β -罗勒烯、松油醇、橙花叔醇、乙酸芳樟酯等含量大都呈下降趋势,如 α -蒎烯变化为 0.546%,0.355%,之后不断降低。花椒的主要香气物质总体呈减少趋势。随着存放时间的延长,乙醇脱氢酶和脂肪氧合酶活性均不断降低,最后下降很慢,而醇酰基转移酶活性先增加

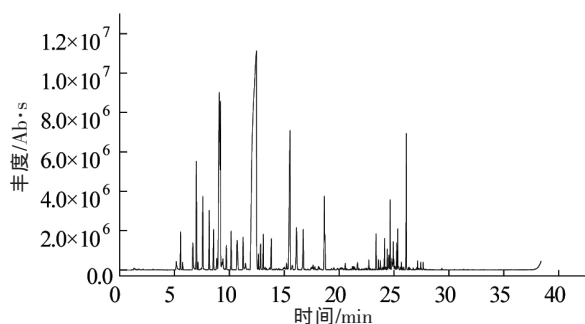


图 1 花椒真空常温包装贮藏 1 周的香气成分气相色谱图

Fig.1 Gas chromatographic analysis of volatile components of *Zanthoxylum bungeanum* after vacuum storage for one week

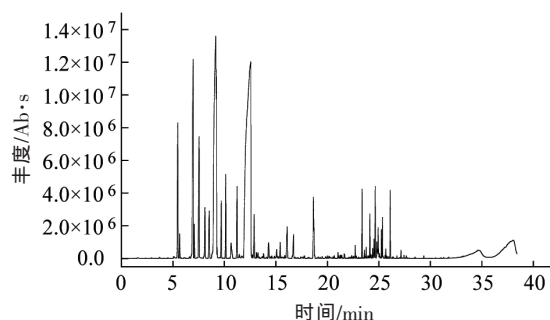


图 4 花椒真空包装冷冻(-18 °C)贮藏 1 周的香气成分气相色谱图

Fig.4 Gas chromatograph of aroma components of *Zanthoxylum bungeanum* after vacuum storage (-18 °C) for one week

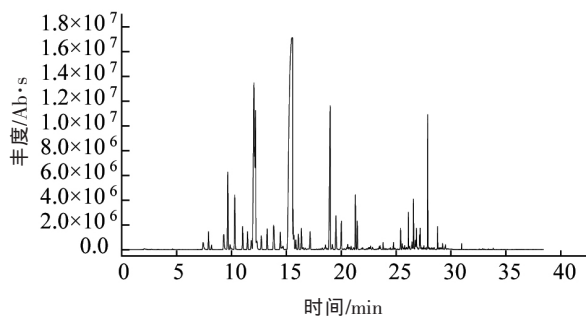


图 2 花椒真空常温处理贮藏 3 周的香气成分气相色谱图

Fig.2 Gas chromatographic analysis of volatile components of *Zanthoxylum bungeanum* after vacuum storage for three weeks

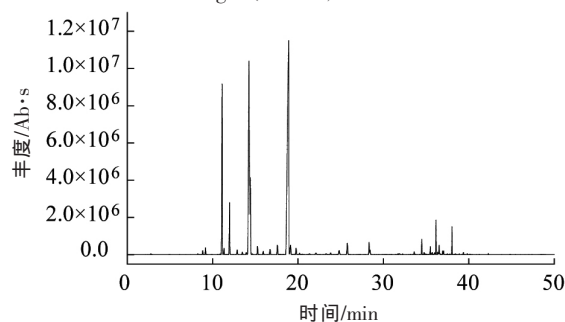


图 5 花椒真空包装常冷冻(-18 °C)贮藏 3 周的香气成分气相色谱图

Fig.5 Gas chromatograph of aroma components of *Zanthoxylum bungeanum* after vacuum storage (-18 °C) for three weeks

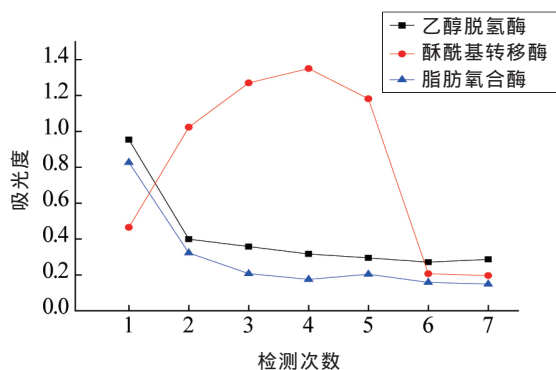


图 3 真空包装常温贮藏的花椒香气成分代谢关键酶活性变化

Fig.3 Changes of key enzyme activities of aroma components in *Zanthoxylum bungeanum* Maxim stored in vacuum at room temperature

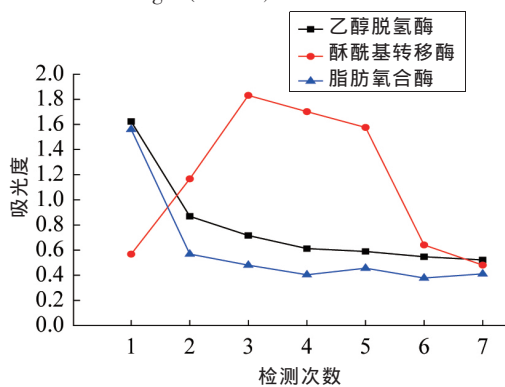


图 6 真空包装冷冻的花椒贮藏过程中香气成分代谢关键酶活性变化

Fig.6 Changes of key enzymes activities of volatile components in *Zanthoxylum bungeanum* Maxim stored in vacuum packaging

后下降。

2.5 烘干后常温贮藏花椒香气与酶活的关系

分析图 10、11、12 可得出,烘干常温处理的花

椒随着存放时间的延长, 芳樟醇含量先上升后下降, 其含量变化为 16.820%, 21.629%, 之后不断下降; 其它芳香物质如 β -月桂烯、 α -蒎烯、反式 β -

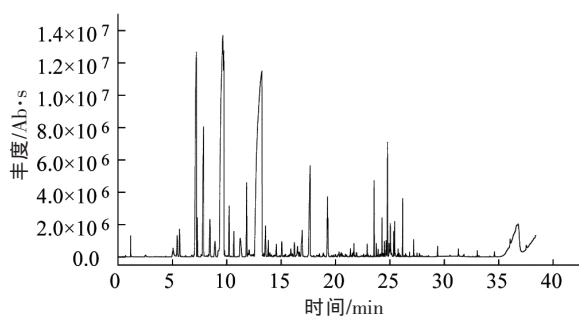


图7 花椒保鲜袋包装低温(0~4℃)贮藏1周的香气成分气相色谱图

Fig.7 Gas chromatograph of aroma components in *Zanthoxylum bungeanum Maxim* after packaging at low temperature (0-4 °C) for one week

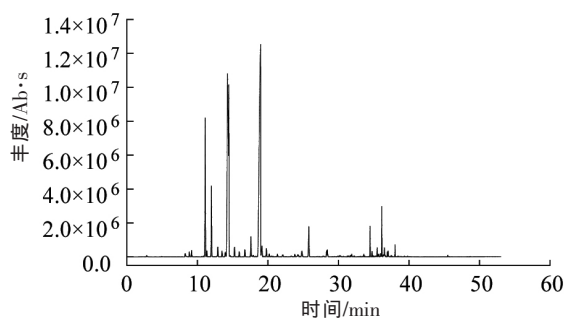


图8 花椒保鲜袋包装低温(0~4℃)贮藏3周的香气成分气相色谱图

Fig.8 Gas chromatograph of aroma components in *Zanthoxylum bungeanum Maxim* after packaging at low temperature (0-4 °C) for three weeks

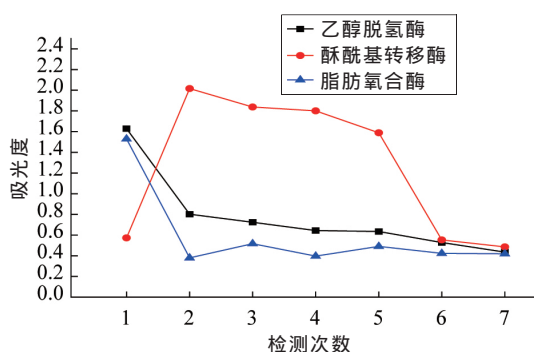


图9 低温(0~4℃)贮藏的花椒贮藏过程中香气成分代谢关键酶活性变化

Fig.9 Changes of key enzymes activities of volatile components in *Zanthoxylum bungeanum Maxim* stored at low temperature (0-4 °C)

罗勒烯、松油醇、橙花叔醇、乙酸芳樟酯等含量大都呈下降趋势,如 β -月桂烯含量变化为1.062%,0.511%,其后不断降低。根据吸光度与酶活之间的

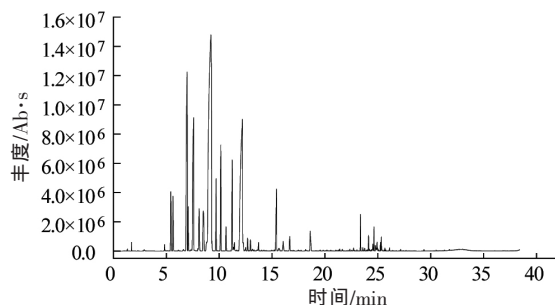


图10 花椒烘干后常温贮藏1周的香气成分气相色谱图

Fig.10 Gas chromatogram of volatile components in dried *Zanthoxylum bungeanum Maxim* after one week of storage at room temperature

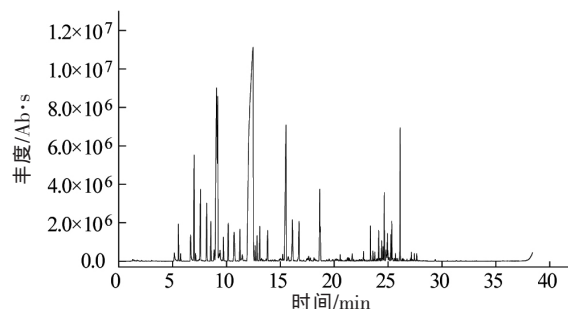


图11 花椒烘干常温贮藏3周的香气成分气相色谱图

Fig.11 Gas chromatogram of volatile components in dried *Zanthoxylum bungeanum Maxim* after three weeks of storage at room temperature

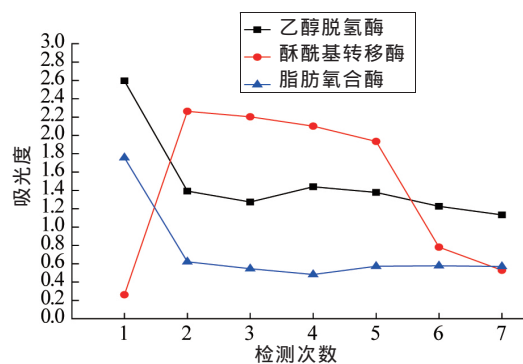


图12 烘干常温保存花椒贮藏过程中香气成分代谢关键酶活性变化

Fig.12 Changes of key enzymes activities of volatile components in *Zanthoxylum bungeanum Maxim* stored at ambient temperature after drying

关系,随着存放时间的延长,乙醇脱氢酶和脂肪氧合酶活性均不断降低,最后下降很慢,而醇酰基转移酶活性先增加后降低。

3 结论

植物果实贮藏过程中香气成分随贮藏时间的延长而发生改变,通常状况下香气成分含量下降。然而,部分香气成分在其内在代谢酶的作用下,也会出现增加的现象。在花椒果实贮藏过程中,本试验设计4种贮藏条件,其中真空包装常温贮藏的花椒香味物质保存最好,且同一香气成分含量在相同贮藏时间内也较其它贮藏方式的高,香味物质含量下降趋势最为缓慢。烘干后常温贮藏的花椒香味物质种类和相对含量最少,这可能是因为烘干过程中花椒的一部分香味物质挥发或受到破坏,相对于其它贮藏条件的花椒香气保存最不完整。未经其它处理的低温贮藏的花椒存放过程中可能受到外界空气的影响,香味物质出现异构化,致香味物质含量降低。真空包装后冷冻贮藏的花椒香气成分含量及种类变化仅次于真空包装常温贮藏,其原因是在冷冻状态下保存的花椒,其关键酶活性受到抑制,致部分香味物质无法生成或生成速率下降,最终使香气成分含量较低。

花椒采后贮藏过程中,其生理作用并未停止,与新鲜状态比较,发生一定的变化,因此与香气成分合成相关的代谢关键酶活性也随之变化。花椒在存放过程中,醇酰基转移酶活性呈先增加后下降趋势,结合花椒香气成分中醇类物质尤其是芳樟醇出现的规律,花椒香气代谢中醇酰基转移酶活性的变化规律与芳樟醇物质含量的变化规律一致。芳樟醇为花椒的主要香气成分,其含量最高,结合其阈值,芳樟醇为花椒的特征呈味物质,推断花椒香气代谢也呈先活跃后减慢的趋势。醇酰基转移酶活性在真空常温下最高,其它两种酶在低温放置时酶活较另两种处理酶活高,保存效果好。然而,随着贮藏时间的延长,其活性下降很快,这一规律也与花椒香气成分在贮藏过程中的变化规律一致。本文的缺陷在于未检测每条合成途径的系列关键酶活性,如果能够对比分析系列关键酶活性与香气成分的变化,则可明确花椒在贮藏过程中香气成分的变化规律。后续将从这方面及蛋白表达等方面开展研究,为花椒采后贮藏提供更科学的依据。

参 考 文 献

- [1] 杨晓帆,高媛,韩梅梅,等. 云南高原区酿酒葡萄果实香气物质的积累规律[J]. 中国农业科学 2014, 47(12): 2405-2416.
- [2] 宋丽娟,李雄伟,陈琳,等. 果实香气合成与遗传控制研究概述[J]. 果树学报, 2008, 25(5): 708-713.
- [3] 唐会周, 明建. 5种市售脐橙果实香气成分的主成分分析[J]. 食品科学, 2011, 32(20): 175-180.
- [4] 王龙,周鑫,盛蕾,等. 冷藏对南果梨酯类香气合成关键酶活性及蛋白表达的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 207-211.
- [5] 林江丽,朱亚娟,王金霞,等. SO₂处理对新疆3种葡萄香气成分的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 116-120.
- [6] 李晨辉,朱元娣,仇占南,等. 不同贮藏方式对‘京白梨’果实香气成分的影响[J]. 果树学报, 2016, 33(增刊): 157-165.
- [7] 徐怀德,孟祥敏,李银萍. 木瓜果实贮藏期间香气成分的变化研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(3): 537-542.
- [8] 刘玉莲,靳兰,毛娟,等. “新红星”和“长富2号”果实贮藏期间香气成分的变化[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 158-163.
- [9] 陈丽. 美味猕猴桃采后果实风味物质变化的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- [10] ECHEVERRÍA G, GRAELL J, LÓPEZ M L, et al. Volatile production, quality and aroma-related enzyme activities during maturation of ‘Fuji’ apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 31: 217-227.
- [11] 赵云峰,林河通,王静,等. 热处理对龙眼果实采后生理和贮藏品质的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(5): 124-133.
- [12] 梁爽,刘欢,李巧玲,等. 能量调控对草莓果实采后衰老过程中活性氧及保护酶的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2016, 43(5): 810-814.
- [13] 张鹏,王云舒,李江阔,等. 不同气调方式对甜樱桃贮藏后货架期芳香物质的影响[J]. 2016, 42(6): 173-180.
- [14] OKAMOTO G, LIAO K, FUSHIMI T. Aromatic substances evolved from the whole berry, skin and flesh of Muscat of Alexandria grapes [J]. Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama U-

- niversity, 2001, 90: 21-25.
- [15] 陈发兴, 郑少泉, 蒋际谋. 果实香气成分和生物合成代谢研究进展[J]. 福建果树, 2010, (2): 26-30.
- [16] STEINGASS C B, JUTZI M, MÜLLER J, et al. Ripening -dependent metabolic changes in the volatiles of pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] fruit; II. Multivariate statistical profiling of pineapple aroma compounds based on comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407: 2609-2624.
- [17] 陈昆松, 徐昌杰, 许文平, 等. 猕猴桃和桃果实脂氧合酶活性测定方法的建立[J]. 果树学报, 2003, 20(6): 436-438.
- [18] BURRELL M, HANFREY C C, MURRAY E J, et al. Evolution and multiplicity of arginine decarboxylases in polyamine biosynthesis and essential role in *Bacillus subtilis* biofilm formation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(50): 39224-39238.
- [19] 宁文彬, 刘菊华, 贾彩红, 等. 香蕉果实采后乙醇脱氢酶活性与乙烯代谢的关系[J]. 果树学报, 2009, 26(3): 386-389.
- [20] 隋静, 姜远茂, 彭福田, 等. 草莓果实发育过程中芳香物质含量和醇酰基转移酶活性的变化[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1411-1417.
- [21] 罗凯, 朱琳, 阚建全. 气相色谱法测定不同产地花椒挥发油中芳樟醇和柠檬烯含量的研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(8): 119-123.
- [22] 罗凯, 黄秀芳, 胡江, 等. 气相-质谱联用法检测花椒挥发油条件优化的研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 28(8): 87-91.

Changes of Aroma Components and Activities of Key Enzymes in *Zanthoxylum bungeanum Maxim* under Different Storage Conditions

Luo Kai Zhang Qin Li Meidong Wang Li Huang Xiufang*

(College of Biological Science and Technology, Hubei Minzu University, Enshi 445000, Hubei)

Abstract The aroma components of *Zanthoxylum bungeanum Maxim* fruit will gradually weaken during the storage process. In this experiment, fresh *Zanthoxylum bungeanum* fruit was used as the experimental material. It was preserved at room temperature, preserved at normal temperature after air drying, 0-4 degrees centigrade at low temperature and non vacuum preservation, cryopreservation after vacuum packaging and vacuum packing after vacuum packing. The aroma components of *Zanthoxylum bungeanum Maxim* during storage were studied by regular detection of aroma components and key enzyme activities in the metabolic pathway. The results showed that: the characteristic aroma components of *Zanthoxylum bungeanum* linalool first increased and then decreased and most of the rest of the aroma substances showed a downward trend, among them, the storage of *Zanthoxylum bungeanum Maxim* stored in vacuum packaging at room temperature was the best. At the same time, the activity of the key enzymes in the metabolism of aroma components, the activity of alcohol acyltransferase was the highest, followed by alcohol dehydrogenase, and the activity of fat oxygenase was the lowest. This results was related to the variation law of aroma components of *Zanthoxylum bungeanum Maxim*. The test results provided certain experimental basis for the storage of *Zanthoxylum bungeanum Maxim*, it also provided a theoretical basis for the study of the changes of aroma components and metabolism key enzyme activities.

Keywords *Zanthoxylum bungeanum Maxim*; storage condition; metabolism key enzyme; aroma component