

利用 UPLC - DAD - HRMS 分析低温压榨鲜青花椒油贮藏期间的色素变化

刘若曦^{1,2}, 肖宇雪^{1,2}, 俸贵强^{1,2}, 章康致^{1,2}, 周纯洁³, 蔡甜^{4,5}, 陈科伟^{1,2,5,6,7}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 西南大学食品科学与工程国家级实验教学示范中心, 重庆 400715;

3. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 4. 西南大学化学化工学院, 重庆 400715; 5. 西南大学

中甸食品科学合作中心, 重庆 400715; 6. 川渝共建特色食品重庆市重点实验室, 重庆 400715;

7. 农业农村部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆), 重庆 400715)

摘要:旨在为低温压榨鲜青花椒油的工业生产、贮藏和质量控制提供借鉴, 利用超高效液相色谱 - 二极管阵列检测器 - 高分辨质谱(UPLC - DAD - HRMS)技术对低温压榨鲜青花椒油中色素进行测定, 并研究贮藏过程中光、氧、温度对低温压榨鲜青花椒油的色素含量和色泽 L^* 、 a^* 、 b^* 的影响。结果表明:从低温压榨鲜青花椒油中鉴定出 32 种叶绿素和 10 种类胡萝卜素;叶绿素中主要含有叶绿素 a、C13²-羟基-叶绿素 a、叶绿素 b 和脱镁叶绿素 a;类胡萝卜素中主要含有叶黄素和 β -胡萝卜素;叶绿素总量为 9.44 mg/kg, 类胡萝卜素总量为 4.95 mg/kg。贮藏过程中影响低温压榨鲜青花椒油中色素降解最主要的因素是光, 其次是温度, 氧气几乎没有影响。另外, a^* 可以作为衡量低温压榨鲜青花椒油色素含量及色泽控制的指标。

关键词:青花椒;超高效液相色谱 - 二极管阵列检测器 - 高分辨质谱(UPLC - DAD - HRMS);色素;叶绿素;类胡萝卜素;色度值

中图分类号:TQ646;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)06-0145-08

Analysis of pigment change of cold - pressed fresh green Huajiao (*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc) oil by UPLC - DAD - HRMS

LIU Ruoxi^{1,2}, XIAO Yuxue^{1,2}, FENG Guiqiang^{1,2}, ZHANG Kangzhi^{1,2},
ZHOU Chunjie³, CAI Tian^{4,5}, CHEN Kewei^{1,2,5,6,7}

(1. School of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. National Experimental

Teaching Demonstration Center of Food Science and Engineering, Southwest University, Chongqing

400715, China; 3. Chongqing Institute of Food and Drug Inspection, Chongqing 401121, China;

4. School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China;

5. Sino - Hungarian Food Science Cooperation Center, Southwest University, Chongqing 400715, China;

6. Sichuan - Chongqing Key Laboratory of Special

Food, Chongqing 400715, China; 7. Laboratory

of Storage and Preservation Quality and Safety

Risk Assessment of Agricultural Products

(Chongqing), Ministry of Agriculture and Rural

Affairs, Chongqing 400715, China)

Abstract: Aiming to contribute to the industrial

production, storage and quality control of cold -

pressed fresh green Huajiao oil, the change of

pigment in cold - pressed fresh green Huajiao oil

was analyzed by ultra - high performance liquid

收稿日期:2023-11-10;修回日期:2024-02-29

基金项目:重庆市人民政府与中国农业科学院科技创新战略合作项目(2022164);西南大学创新研究 2035 先导计划重点项目(SWU - XDZD22007);西南大学大学生创新创业训练计划项目(S202210635250, X202210635487);重庆市基础研究与前沿探索项目(cstc2018jcyjAX0590);重庆市市场监督管理局科研资助项目(CQSKJ2020023)

作者简介:刘若曦(2003),女,在读本科,食品质量与安全专业(E-mail)1342280580@qq.com。

通信作者:陈科伟,副教授,博士(E-mail)chenkewei@swu.edu.cn。

chromatography – diode array detector – high resolution mass spectrometry (UPLC – DAD – HRMS), and the effects of light, oxygen, temperature on the pigment content and color (L^* , a^* , b^*) of fresh green Huajiao oil in storage were determined. The results showed that 32 chlorophylls and 10 carotenoids were identified from the cold – pressed fresh green Huajiao oil. The main chlorophylls were chlorophyll a, C13² – hydroxy chlorophyll a, chlorophyll b and pheophytin a; the main carotenoids were lutein and β – carotene. The total chlorophyll content was 9.44 mg/kg, and the total carotenoid content was 4.95 mg/kg. During storage, the main factor affecting the degradation of pigment in fresh green Huajiao oil was light, followed by temperature, and oxygen had little effect. In addition, the color index a^* can be used as an index for pigment content and color control.

Key words: green Huajiao; ultra – high performance liquid chromatography – diode array detector – high resolution mass spectrometry (UPLC – DAD – HRMS); pigment; chlorophyll; carotenoid; chromaticity value

青花椒 (*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc), 又名青川椒、崖椒、野椒、香椒子等, 含有蛋白质、挥发油、矿质元素等成分^[1-2]。鲜青花椒采后在干燥过程中很难保持其所特有的青绿色^[3]。传统的鲜青花椒油生产普遍采用热植物油对鲜青花椒进行油浸或油淋工艺, 该工艺使鲜青花椒中的多种鲜香味物质损失, 所得油脂 L^* 偏低, a^* 、 b^* 偏高, 色调和色彩饱和度也略有降低, 最终导致产品品质下降, 而且浸提不完全。此外, 在使用传统工艺提取鲜青花椒油时, 由于鲜青花椒原料的季节问题, 需要对其进行冷冻贮藏, 设备投入大, 占地面积大, 能耗高, 导致生产成本上升。因此, 急需寻找能够最大程度保留青花椒风味和色泽等品质且能够降低生产成本的青花椒油提取工艺。

低温压榨法是指原料不经过高温处理, 直接进行压榨的方法^[4], 该方法可以最大程度地保留青花椒中的营养成分和活性成分^[5], 且低温压榨鲜青花椒油的水分含量较低 (1.82%)^[6], 较低的水分含量有利于贮藏和运输。另外, 在鲜青花椒上市季节就可以大量生产低温压榨鲜青花椒油, 其在常温下即可保存, 可以减少生产场地及设施、贮藏规模等生产投入, 大大地降低生产成本, 因此近年来被企业广泛采用。随着技术的革新, 青花椒油的生产工艺逐渐向低温压榨工艺过渡, 但低温压榨鲜青花椒油在贮藏和销售过程中存在色泽变化问题, 对其品质有严重影响。如刚生产的低温压榨鲜青花椒油因富含叶绿素和类胡萝卜素而呈黄绿色, 在贮藏一段时间后, 其绿色会逐渐消失, 造成青花椒油产品品质下降及用途受限, 降低其经济价值, 因此对低温压榨鲜青花椒油色素变化的研究很有必要。目前, 国内外对青花椒的研究主要集中在青花椒的加工作

用、风味特性、化学组成和药理功能等方面^[1], 对于青花椒中色素的研究甚少。

二极管阵列检测器 (DAD) 可记录物质在紫外和可见光波段的全部吸收性质, 是研究色素类物质的常用检测工具^[7-8]。通过与液相色谱 (LC) 串联使用, 可以实现对目标色素的分离和光谱性质测定, 另外, 联合高分辨质谱 (HRMS) 可以得到色素分子的相对分子质量及质谱裂解规律和离子碎片, 为鉴定目标色素分子提供强有力的分析手段。

本研究利用超高效液相色谱 – 二极管阵列检测器 – 高分辨质谱 (UPLC – DAD – HRMS) 技术分析低温压榨鲜青花椒油中的色素成分, 研究贮藏过程中温度、光、氧等对其含量的影响, 并测定青花椒油在贮藏期间的色度值, 探究其色泽变化, 以期掌握低温压榨鲜青花椒油中色泽变化的物质基础及影响规律, 为生产高品质鲜青花椒油提供一定的借鉴和参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

低温压榨鲜青花椒油, 由低温压榨鲜青花椒原油经分离除水后得到。

N, N – 二甲基甲酰胺 (DMF)、正己烷、乙醚、氯化钠, 均为分析纯, 成都市科隆化学品有限公司; 甲醇、丙酮、乙酸铵, 均为色谱纯, 类胡萝卜素标准品 (β – 胡萝卜素、叶黄素、新黄素、紫黄质), 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司; 叶绿素混合标准品, 实验室自制。

1.1.2 仪器与设备

HunterLab 全自动测色色差仪、Agilent 1260 超高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; Impact II 10200

高分辨率质谱仪,德国 Bruker 公司;海尔 BCD - 258WDPM 冰箱,青岛海尔股份有限公司;DHP - 9052 恒温培养箱,上海齐欣科学仪器有限公司;UV - 5500 紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 低温压榨鲜青花椒油色素的测定

参考 Giuffrida 等^[9]的方法提取低温压榨鲜青花椒油中的叶绿素和分类胡萝卜素。量取 15 mL 低温压榨鲜青花椒油样品,向其中加入等体积 DMF,振荡静置分层后取下层溶液(DMF 层),重复以上操作 3 次,合并提取液。此时提取液中含有叶绿素、类胡萝卜素以及部分油脂。向提取液中加入等体积正己烷洗涤,振荡静置分层,除去正己烷层以除去其中的油脂(含类胡萝卜素),重复该操作 3 次,继续向提取液中加入等体积 10% 氯化钠溶液,然后用与 10% 氯化钠溶液等体积的乙醚萃取,萃取 3 次至下层无色,收集乙醚层,于 40 ~ 45 °C 下旋蒸挥干乙醚,用 1 mL 丙酮溶解,过 0.22 μm 有机滤膜,待 UPLC - DAD - HRMS 分析。

UPLC 条件:Poroshell 120 EC - C18 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm);柱温 30 °C;进样量 10 μL;流动相 A 相为 80% 甲醇,B 相为甲醇 - 丙酮(体积比 1:1),A 相和 B 相中均加入 20 mmol/L 乙酸铵溶液,流速 0.2 mL/min;采用梯度洗脱程序,洗脱梯度为 25% ~ 100% B(0 ~ 15 min),100% B(15 ~ 25 min),25% B(25 ~ 30 min);DAD 检测器记录波长范围为 190 ~ 800 nm。

MS 条件:ESI 正离子模式,质量扫描范围(m/z) 150 ~ 3 000,毛细管电压 4 500 V,末端平板电压 500 V,雾化气流速 2 L/min,干燥气流速 8 L/min,雾化气和干燥气均为高纯氮气;APCI 正离子模式(APCI⁺),质量扫描范围(m/z) 150 ~ 3 000,APCI 加热温度 450 °C,雾化气流速 3 L/min,干燥气流速 5 L/min,雾化气和干燥气均为高纯氮气。质谱二级(MS/MS)扫描使用自动采集模式,自动选择质谱产生的高强度离子峰作为二级质谱的母离子进行质谱碎裂。

参考实验室方法^[10]进行定性;参考实验室方法^[11-15]采用外标法进行定量。

β -胡萝卜素含量测定:由于 1.2.1 中的正己烷洗涤会带走提取液中的部分 β -胡萝卜素,故采用紫外可见分光光度计对 β -胡萝卜素进行定量。吸取 1 mL 1.2.1 中 DMF 层提取液于 25 mL 容量

瓶中,加入丙酮溶液定容,振荡混匀作为待测液,将空白溶液丙酮、待测液及 β -胡萝卜素标准溶液分别加入比色皿中,在 430 nm 处测定其吸光度,再根据朗伯比尔定律进行定量分析。光谱条件:透光率 100%,预热时间 20 min,进行暗电流和波长校正。

1.2.2 低温压榨鲜青花椒油贮藏实验

将低温压榨鲜青花椒油样品分装于 6 个透明的聚乙烯瓶中,每瓶 3.0 kg,分别置于不同的光、氧、温度条件下贮藏 90 d。贮藏实验设计见表 1,其中:有光条件设置为自然光;无光条件设置为在完全黑暗的贮藏室;有氧条件设置为大气压力下的氧暴露;无氧条件通过充入氮气来实现,并采用硅橡胶塞进行密封,取样过程中严格控制氮气流量和取样时间,确保样品表面不被氧化和氮气不发生损失。每隔 15 d 取 15 mL 不同贮藏条件下的样品(设置 4 个平行组)于 50 mL 离心管中,用氮气覆盖并于 -23 °C 保存待测。

表 1 低温压榨鲜青花椒油贮藏实验设计

组别	温度/°C	光	氧
组 1	40	无	无
组 2	4	无	无
组 3	25	无	无
组 4	25	有	无
组 5	25	无	有
组 6	25	有	有

1.2.3 低温压榨鲜青花椒油色泽的测定

使用全自动测色色差仪分别测定低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中的色度值 L^* 、 a^* 、 b^* ,综合评估青花椒油的色泽变化,其中 L^* 表示亮度, a^* 表示红绿度, b^* 表示黄蓝度。每个样品重复测定 10 次,以平均值作为最终测试结果。

1.2.4 数据统计与分析

采用 Excel 对数据进行初步整理分析,采用 SPSS 26.0 统计分析软件对数据进行单因素方差分析(Duncan 法和 LSD 法检验), $p < 0.05$ 表示具有显著性差异。利用 GraphPad Prism 9 软件绘制贮藏过程中低温压榨鲜青花椒油的色泽变化图。采用 Origin 进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 低温压榨鲜青花椒油中色素组成及含量

低温压榨鲜青花椒油中共检出 42 种色素,具体见表 2。

表 2 低温压榨鲜青椒油中叶绿素和类胡萝卜素组成及含量

化合物	分子式	最大吸收波长/nm	[M + H] ⁺ (m/z)	含量/(mg/kg)
叶绿素				
C13 ² -羟基-脱镁叶绿酸 b	C ₃₅ H ₃₄ N ₄ O ₇	524	623.253 1	+
脱植基叶绿素 a	C ₃₅ H ₃₄ MgN ₄ O ₅	616	615.246 0	+
C13 ² -羟基-脱镁叶绿酸 b	C ₃₅ H ₃₄ N ₄ O ₇	523	623.250 6	+
脱镁叶绿酸 b	C ₃₅ H ₃₄ N ₄ O ₆	523	607.255 4	+
C15 ¹ -羟基内酯-脱镁叶绿酸 a	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₇	504	625.266 6	+
C13 ² -羟基-脱镁叶绿酸 a	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₆	534	609.271 5	+
脱植基叶绿素 a 异构体	C ₃₅ H ₃₄ MgN ₄ O ₅	616	615.246 1	+
焦脱镁叶绿酸 b	C ₃₃ H ₃₂ N ₄ O ₄	523	549.250 4	+
C13 ² -羟基-脱镁叶绿酸 a	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₆	534	609.271 6	+
脱镁叶绿酸 a	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	534	593.276 7	0.31
脱镁叶绿酸 a 异构体	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	534	593.275 9	0.07
焦脱镁叶绿酸 a	C ₃₃ H ₃₄ N ₄ O ₃	534	535.270 5	0.23
紫红素 18a	C ₃₃ H ₃₂ N ₄ O ₅	544	565.244 6	+
植基叶绿三酸 e6	C ₅₃ H ₇₂ N ₄ O ₆	503	861.551 4	+
C15 ¹ -羟基内酯-叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₀ MgN ₄ O ₈	590	939.511 9	0.14
C13 ² -羟基-叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₀ MgN ₄ O ₇	595	923.516 9	0.17
植基紫红素 18a	C ₅₃ H ₇₀ N ₄ O ₅	544	843.541 0	+
C15 ¹ -羟基内酯-脱镁叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₇	500	903.562 8	+
叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₀ MgN ₄ O ₆	595	907.521 1	1.25
C13 ² -羟基-叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₀ MgN ₄ O ₇	595	923.516 2	0.08
C13 ² -羟基-叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₂ MgN ₄ O ₆	616	909.536 7	1.58
叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₂ MgN ₄ O ₅	616	893.540 8	2.83
叶绿素 a 异构体	C ₅₅ H ₇₂ MgN ₄ O ₅	616	893.541 0	0.30
C13 ² -羟基-脱镁叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₂ N ₄ O ₇	602	901.545 1	0.09
C15 ¹ -羟基内酯-脱镁叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₇	500	903.559 5	+
脱镁叶绿素 b	C ₅₅ H ₇₂ N ₄ O ₆	602	885.552 1	0.12
C13 ² -羟基-脱镁叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₆	504	887.565 5	0.12
C13 ² -羟基-脱镁叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₆	504	887.565 6	0.08
焦脱镁叶绿素 b	C ₅₃ H ₇₀ N ₄ O ₄	523	827.545 1	+
脱镁叶绿素 a	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₅	534	871.571 8	1.62
脱镁叶绿素 a 异构体	C ₅₅ H ₇₄ N ₄ O ₅	534	871.572 0	0.26
焦脱镁叶绿素 a	C ₅₃ H ₇₂ N ₄ O ₃	534	813.566 5	0.19
类胡萝卜素				
β-胡萝卜素	C ₄₀ H ₅₆	454	537.447 4	0.65
新黄质	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	442	601.425 8	0.30
新黄素	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	422	601.425 6	+
紫黄质	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	438	601.425 6	0.27
黄体黄质	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	422	601.426 8	+
5,6-O-叶黄素	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	440	585.429 5	0.25
黄体黄质	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	422	601.427 4	+
叶黄素	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	445	569.434 7	3.02
β-胡萝卜素-4-烯醇	C ₄₀ H ₅₄ O	442	551.424 9	0.35
β-胡萝卜素-4-酮	C ₄₀ H ₅₄ O	440	551.425 2	0.11

注: + 代表该种色素的质谱响应好,但 DAD 响应较差,不足以定量

由表 2 可知,低温压榨鲜青椒油中共鉴定出 42 种色素,包括 32 种叶绿素和 10 种类胡萝卜素,

其保留时间、最大吸收波长(λ_{\max})与同课题组以往用标准品所获得的信息^[11]一致,色素的离子碎片同

课题组以往用标准品获得的 MS/MS 部分碎片一致,类胡萝卜素的部分离子碎片同 Delgado - pelayo 等^[16]的报道一致。部分色素如脱镁叶绿素 a、叶绿素 b、C13²-羟基-叶绿素 b、C13²-羟基-叶绿素 a、叶绿素 a、焦脱镁叶绿素 b、脱镁叶绿素 a 等在 APCI 和 ESI 电离源中均能离子化,而类胡萝卜素只能采用 APCI 电离源离子化。一般来说,无植醇链的叶绿素采用 APCI 电离源离子化效果更好,有植醇链的叶绿素采用 ESI 电离源离子化效果更为理想^[11]。

由表 2 可知,部分色素虽然有质谱响应,但是 DAD 响应并不理想,其含量甚微,故不在定量范围之内。低温压榨鲜青花椒油中的叶绿素含量为 9.44 mg/kg,类胡萝卜素含量为 4.95 mg/kg。其中:叶绿素中含量最多的组分依次为叶绿素 a(包括其异构体)、脱镁叶绿素 a(包括其异构体)、C13²-羟基-叶绿素 a 和叶绿素 b,且含量均大于 1 mg/kg;类胡萝卜素中含量最多的组分是叶黄素和 β -胡萝卜素,二者含量约占类胡萝卜素总量的 74%。高等植物体内叶绿素和类胡萝卜素含量比例约为 2:1^[17],这与从低温压榨鲜青花椒油中检测出的叶

黄素与类胡萝卜素含量比例的结果相一致。

目前,国内还没有对低温压榨鲜青花椒油中叶绿素和类胡萝卜素含量的报道,本研究中叶绿素与类胡萝卜素的含量比例大致与 Giuffrida 等^[18]对初榨橄榄油的研究结果一致。低温压榨鲜青花椒油中叶绿素和类胡萝卜素总量与部分橄榄油中的大致相当^[10,19]。但值得注意的是,初榨橄榄油中检测出的叶绿素绝大多数为脱镁叶绿素 a^[18],而在本研究中低温压榨鲜青花椒油中检测出的叶绿素主要为叶绿素 a。

2.2 低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中类胡萝卜素和叶绿素含量的变化

以类胡萝卜素总量及其中的叶黄素和 β -胡萝卜素,叶绿素总量及其中的叶绿素 a、C13²-羟基-叶绿素 a、叶绿素 b 和脱镁叶绿素 a 含量为考察指标,研究具有代表性的光、氧、温度等因素对贮藏过程中低温压榨鲜青花椒油色素含量的影响。

2.2.1 贮藏过程中类胡萝卜素含量的变化

低温压榨鲜青花椒油中类胡萝卜素总量、叶黄素及 β -胡萝卜素含量变化如图 1 所示。

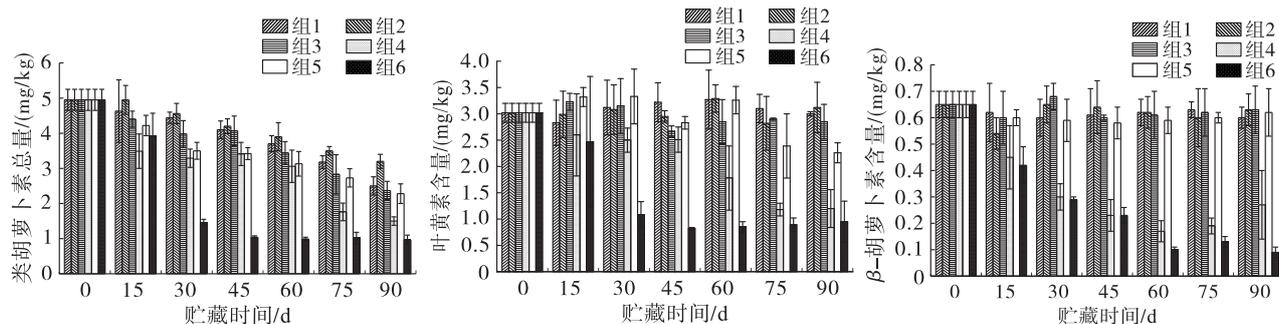


图 1 低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中类胡萝卜素总量、叶黄素及 β -胡萝卜素含量的变化

由图 1 可知:在贮藏过程中,类胡萝卜素总量不断下降,经过 90 d 的贮藏,其在 25 °C 有光有氧(组 6)条件下降低得最为明显,从约 5 mg/kg 下降至不足 1 mg/kg;而在 4 °C 无光无氧(组 2)条件下降低得最少,即在温度较低且无光无氧的条件下类胡萝卜素总量下降最小。这是因为氧气对类胡萝卜素有一定的作用,类胡萝卜素具有较强的还原性和淬灭自由基的能力,能够清除自由基,导致自身降解加速^[20-21]。叶黄素和 β -胡萝卜素含量在贮藏期间的变化趋势与类胡萝卜素总量的相似,但在 40、4 °C 无光无氧(组 1、组 2)条件和 25 °C 无光无氧(组 3)和无光有氧(组 5)条件下贮藏时 β -胡萝卜素的含量基本没有变化,说明 4 ~ 40 °C 无光贮藏条件下温度和氧对其影响不大;而叶黄素在 25 °C 无光有

氧(组 5)条件下比在 40、4 °C 无光无氧(组 1、组 2)和 25 °C 无光无氧(组 3)条件下贮藏时降解较多。叶黄素和 β -胡萝卜素均在 25 °C 有光无氧(组 4)和有光有氧(组 6)条件下分别较 25 °C 无光无氧(组 3)和 25 °C 无光有氧(组 5)条件下降解得多。这是因为叶黄素对光具有很强的吸收,而光对叶黄素具有较强的破坏能力,使叶黄素形成顺式双键,并加速叶黄素共轭长链的氧化,使其降解断裂^[22];同时光会使得食品发生光氧化产生自由基, β -胡萝卜素作为抗氧化剂在清除自由基的同时也被降解^[23]。

2.2.2 贮藏过程中叶绿素含量的变化

低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中叶绿素总量及其 4 种主要组分含量的变化情况如图 2 所示。

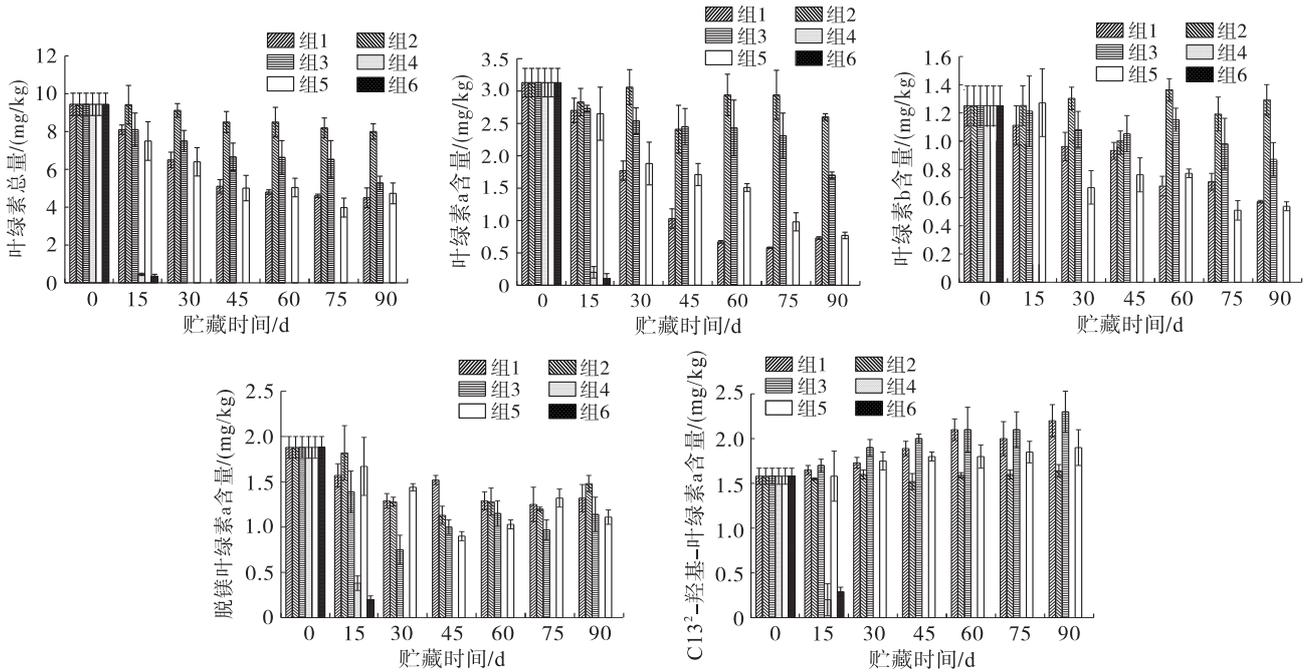


图2 低温压榨鲜青椒油在贮藏过程中叶绿素总量及其4种主要组分含量的变化

由图2可知,在无光无氧条件下贮藏90 d,低温压榨鲜青椒油中总叶绿素在4℃(组2)下降解很少,在25℃(组3)、40℃(组1)条件下的降解相对明显,说明叶绿素总量受温度的影响较类胡萝卜素总量更为显著。并且,叶绿素总量在有光的条件(组4、组6)下急剧下降,在15 d内几乎完全降解,而在其他组内缓慢降解,对比可知叶绿素的稳定性不如类胡萝卜素,尤其是光稳定性,与 Hayes 等^[24]报道的结果相一致。在有光条件下,无论氧是否存在,叶绿素的变化趋势都一样,说明氧对叶绿素的降解作用非常小,几乎没有影响。

叶绿素4种主要组分含量的变化与叶绿素总量的变化规律相似,在有光的条件(组4、组6)下贮藏15 d后检测到的叶绿素有叶绿素a、C13²-羟基-叶绿素a和脱镁叶绿素a,后两种叶绿素分别为叶绿素a的氧化产物和脱镁产物,但随着贮藏时间的

延长,这些叶绿素也会逐渐降解。在无光的条件(组1、组2、组3、组5)下,C13²-羟基-叶绿素a的含量在贮藏过程中总体上升,说明氧化反应是叶绿素不可避免的一类反应。

除去光因素的影响,从叶绿素a和叶绿素b的变化规律可以看出,叶绿素b的稳定性要优于叶绿素a,这与叶绿素b的分子结构有关,相较于叶绿素a在C⁷位的一CH₃,其C⁷位的一CHO通过π-π共轭可以使卟啉环的结构更加稳定^[25]。

2.3 不同贮藏条件下低温压榨鲜青椒油中类胡萝卜素和叶绿素含量的相关性分析

采用皮尔逊相关系数分析6组低温压榨鲜青椒油中类胡萝卜素总量和叶绿素总量之间的相关性,结果见图3。

组1	1.00*	0.57	-0.58	0.60	0.19	0.93*
组2	0.57	1.00*	-0.71	0.79*	0.57	0.47
组3	-0.58	-0.71	1.00*	-0.25	-0.46	-0.49
组4	0.60	0.79*	-0.25	1.00*	0.32	0.46
组5	0.19	0.57	-0.46	0.32	1.00*	0.26
组6	0.93*	0.47	-0.49	0.46	0.26	1.00*
	组1	组2	组3	组4	组5	组6

a) 类胡萝卜素总量

组1	1.00*	-0.43	-0.89*	0.58	0.06	0.57
组2	-0.43	1.00*	0.60	0.05	0.52	0.11
组3	-0.89*	0.60	1.00*	-0.21	0.08	-0.19
组4	0.58	0.05	-0.21	1.00*	-0.06	1.00*
组5	0.06	0.52	0.08	-0.06	1.00*	0.00
组6	0.57	0.11	-0.19	1.00*	0.00	1.00*
	组1	组2	组3	组4	组5	组6

b) 叶绿素总量

注: *表示具有显著性差异($p < 0.05$)。下同

图3 不同贮藏条件下低温压榨鲜青椒油中类胡萝卜素和叶绿素总量的相关性

类胡萝卜素的变化可分成两大类,一类以温度变化与类胡萝卜素含量变化之间的关系为主,另一

类以光和氧变化与类胡萝卜素含量变化之间的关系为主。由图3可知,不同温度间的类胡萝卜素总量

不具有显著相关性($p > 0.05$),说明单独的温度变化对类胡萝卜素降解的影响不显著。这是因为其主要的2种组分叶黄素在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下对温度不太敏感^[22],而 β -胡萝卜素在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下只有少部分结构由稳定的反式转变为易分解的顺式^[26],因此热稳定性均较好。

由图3可知,无光无氧条件下, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (组1)与 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (组3)的叶绿素总量之间具有显著的相关性($p < 0.05$), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (组2)与 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (组3)的无显著相关性,说明高温对叶绿素的降解具有显著影响。 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$

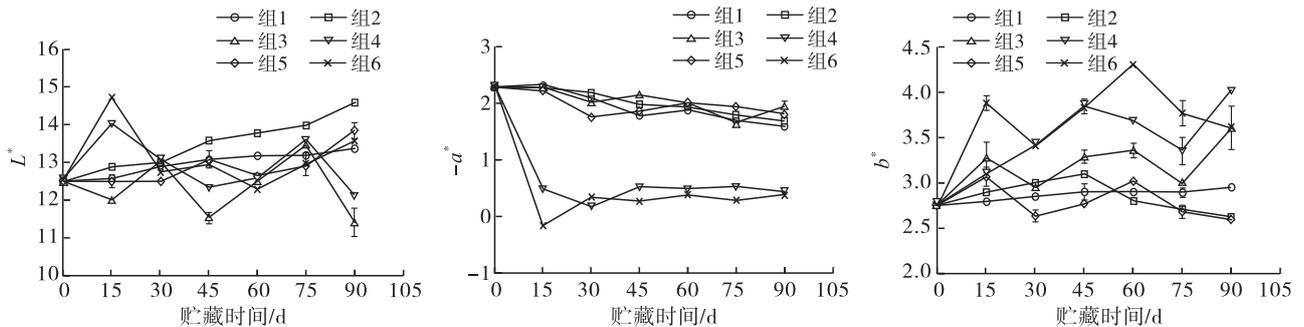


图4 低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中的色泽变化

由图4可知,不同贮藏条件下低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中的 L^* 和 b^* 的变化趋势相似,而 a^* 的变化趋势有所差别。其中:组1、组2、组3、组5的 a^* 在整个贮藏过程中不断缓慢增加,说明低温压榨鲜青花椒油的绿度不断下降,而组4、组6的 a^* 在前15 d内急剧增加,是因为在有光的条件下,低温压榨鲜青花椒油中的叶绿素急剧降解,直至完全消失导致。因此,贮藏后期,低温压榨鲜青花椒油的色泽主要反映的是剩余的类胡萝卜素的色。

分别对贮藏过程中低温压榨鲜青花椒油的 L^* 、 $-a^*$ 、 b^* 与叶绿素、类胡萝卜素总量进行相关性分析发现: $-a^*$ 与叶绿素、类胡萝卜素总量之间的相关系数最大,分别为0.939、0.724,说明 a^* 与叶绿素、类胡萝卜素总量之间均具有极强的负相关性; b^* 与叶绿素、类胡萝卜素总量之间具有较强的负相关性; L^* 与叶绿素、类胡萝卜素总量之间的相关性很弱。综上, a^* 是3个色度值中与色素含量之间相关性最强的指标,并且 $-a^*$ 变化的趋势同总类胡萝卜素和总叶绿素降解的趋势最相似(图1、图2),因此 a^* 可以作为衡量低温压榨鲜青花椒油色素降解程度的指标。

3 结论

本研究利用UPLC-DAD-HRMS探讨不同贮藏条件下低温压榨鲜青花椒油中类胡萝卜素和叶绿素含量的变化。低温压榨鲜青花椒油中共鉴定出

无光无氧(组3)和无光有氧(组5)的叶绿素总含量之间不具有显著相关性($p > 0.05$),说明室温无光条件下氧对叶绿素含量变化无太大影响。

2.4 低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中的色泽变化

花椒油的色泽是花椒色素的一种外在体现,通过外在色泽的变化可以了解内在色素的变化。低温压榨鲜青花椒油在贮藏过程中色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 的变化趋势如图4所示。

42种色素(包含32种叶绿素和10种类胡萝卜素);影响低温压榨鲜青花椒油中色素降解最主要的因素是光,其可以快速降解叶绿素类色素,在有光的条件下经过15 d的贮藏后,低温压榨鲜青花椒油中基本只能检测到类胡萝卜素;贮藏温度对叶绿素的降解有显著影响,但对类胡萝卜素的影响不显著;氧对于色素降解的影响最小。 a^* 可作为低温压榨鲜青花椒油色素含量及色泽控制的指标,其与青花椒油中色素的含量和分布密切相关。因此,在低温压榨鲜青花椒油以及其他叶绿素和类胡萝卜素含量丰富的油脂的贮藏和销售过程中,室温避光是最重要且简单有效的减缓色素降解的措施,并可通过检测 a^* 监控其色泽变化。

参考文献:

- [1] 张爱科. 青花椒的色素及其色泽劣变的研究[D]. 重庆:西南大学, 2009.
- [2] 李一卓. 鲜青花椒保鲜及其农残降解技术的研究[D]. 重庆:西南大学, 2011.
- [3] 汪洋, 阚建全. 光照对鲜青花椒干燥过程中叶绿素降解的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(3): 10-15.
- [4] 王灿. 葡萄籽低温压榨油品质分析及抗氧化能力评价[D]. 陕西 杨凌:西北农林科技大学, 2022.
- [5] 姜欢笑, 蒲彪, 周婷, 等. 超声波辅助提取花椒低温压榨油饼粕中油脂的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 220-223.
- [6] 周婷. 低温压榨法与溶剂法提取藤椒油的品质差异和

- 抑菌、抗氧化活性研究[D]. 四川 雅安:四川农业大学,2015.
- [7] WOJDYŁO A, NOWICKA P, TKACZ K, et al. Fruit tree leaves as unconventional and valuable source of chlorophyll and carotenoid compounds determined by liquid chromatography – photodiode – quadrupole/time of flight – electrospray ionization – mass spectrometry (LC – PDA – qTof – ESI – MS) [J/OL]. *Food Chem*,2021,349:129156 [2023 – 11 – 10]. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129156>.
- [8] BRIDOUX M C, SOBIECHOWSKA M, BRIGGS R G, et al. Separation and identification of fatty acid esters of algal carotenoid metabolites in the freshwater mussel *Dreissena bugensis*, by liquid chromatography with ultraviolet/visible wavelength and mass spectrometric detectors in series[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1513: 93 – 106.
- [9] GIUFFRIDA D, SALVO F, SALVO A, et al. Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties[J]. *Food Chem*, 2011, 124(3): 1119 – 1123.
- [10] 丁德胜, 王龙琼, 何小玲, 等. 基于 UPLC/Q – TOF – MS 技术分析人乳中维生素 D 及其酯类分布规律[J/OL]. *食品科学*:1 – 11 [2023 – 11 – 10]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220830.1129.010.html>.
- [11] CHEN K, RÍOS J J, ROCA M, et al. Development of an accurate and high – throughput methodology for structural comprehension of chlorophylls derivatives. (II) Dephytylated derivatives [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1412: 90 – 99.
- [12] 侍江春, 肖宇雪, 俸贵强, 等. 不同干条斑紫菜和烤条斑紫菜光合色素含量分析[J]. *食品与发酵工业*, 2020,46(23):169 – 177.
- [13] 李韵唱, 王龙琼, 何小玲, 等. 母乳中 β – 胡萝卜素、维生素 A 及维生素 A 酯分布规律研究[J/OL]. *食品与发酵工业*:1 – 11 [2023 – 11 – 10]. <http://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033086>.
- [14] JIN Z, EMIEZI AGARRY I, LI Y, et al. *In vitro* bioaccessibility evaluation of pheophytins in gelatin/polysaccharides carrier[J/OL]. *Food Chem*, 2023, 408: 135252 [2023 – 11 – 10]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135252>.
- [15] LI Y, AGARRY I E, DING D, et al. Screening of dephytinization reaction of chlorophyll pigments with citrus acetone powder by UPLC – DAD – MS [J]. *J Food Sci*, 2023, 88(1): 147 – 160.
- [16] DELGADO – PELAYO R, GALLARDO – GUERRERO L, HORNERO – MÉNDEZ D. Carotenoid composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits [J]. *Food Chem*, 2016, 199: 165 – 175.
- [17] GANDUL – ROJAS B, ROCA M, GALLARDO – GUERRERO L. Detection of the color adulteration of green table olives with copper chlorophyllin complexes (E – 141ii colorant) [J]. *LWT – Food Sci Technol*, 2012, 46(1):311 – 318.
- [18] GIUFFRIDA D, SALVO F, SALVO A, et al. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties[J]. *Food Chem*, 2007, 101(2): 833 – 837.
- [19] ARRIZABALAGA – LARRAÑAGA A, RODRÍGUEZ P, MEDINA M, et al. Pigment profiles of Spanish extra virgin olive oils by ultra – high – performance liquid chromatography coupled to high – resolution mass spectrometry[J]. *Food Addit Contam A*, 2020, 37(7): 1075 – 1086.
- [20] 马婷婷, 滕倩, 梁惠, 等. 叶黄素持续补充对机体叶黄素水平及抗氧化能力影响研究[J]. *中国食物与营养*, 2016,22(5):61 – 65.
- [21] 段卓, 郭浩昱, 刘也嘉, 等. 油菜籽中类胡萝卜素及其抗氧化研究进展[J/OL]. *中国油脂*:1 – 8 [2023 – 11 – 10]. <http://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210565>.
- [22] 李大婧, 刘志凌, 刘春泉. 叶黄素酯和叶黄素的光热降解动力学[J]. *江苏农业学报*, 2008,24(1):97 – 98.
- [23] 赵小皖, 刘润好, 李慧勤, 等. β – 胡萝卜素的降解及其对食品体系的影响[J]. *食品工业科技*, 2011,32(3):417 – 421.
- [24] HAYES M, POTTORFF M, KAY C, et al. *In vitro* bioaccessibility of carotenoids and chlorophylls in a diverse collection of spinach accessions and commercial cultivars [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68 (11) : 3495 – 3505.
- [25] CHEN K W, ROCA M. *In vitro* digestion of chlorophyll pigments from edible seaweeds [J]. *J Funct*, 2018,40: 400 – 407.
- [26] 汤丹丹. β – 胡萝卜素的化学合成及其性质研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2011.