

花椒品质评价研究进展

吕春梅^{1,2}, 史文娟^{1,2}, 雷 军³, 王伟峰^{1,2}, 杨军丽²

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000; 3. 中国人民解放军 69218 部队医院, 新疆 喀什 844000)

摘要: 花椒是一种传统药食同源中药, 具有“温中止痛, 杀虫止痒”的功效, 现代临床上具有抗炎、抗肿瘤、镇痛、抗氧化、麻醉等功效。花椒品质的优劣直接决定了花椒的药用价值和高附加值产品开发, 因此花椒品质评价研究一直是科研人员关注的热点之一。从色泽、香味、麻味、谱效相关等方面对花椒品质评价的研究现状和方法技术进展进行了介绍, 具体地介绍了花椒色泽的感官评价特征分析技术, 花椒香味和麻味成分的光谱、色谱及电化学等分离分析技术, 花椒成分与功能功效的“谱效相关”研究, 花椒品质评价研究进展和发展趋势等, 以期对花椒品质评价、资源保障、高价值产品研发提供参考。

关键词: 花椒; 活性成分; 品质评价; 谱效关系

中图分类号: O65; R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-3757(2024)05-0295-15

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2024.05.003

CSTR: 32263.14.j.1006-3757.2024.05.003

Research Progress on Quality Evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

LÜ Chunmei^{1,2}, SHI Wenjuan^{1,2}, LEI Jun³, WANG Weifeng^{1,2}, YANG Junli²

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 3. Chinese People's Liberation 69218 Army Hospital, Kashi 844000, Xinjiang China)

Abstract: *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. is a traditional Chinese medicine using as medicine and food, which has the effects of "warming middle energizer to relieve pain, killing parasites to relieve itching", and has anti-inflammatory, anti-tumor, analgesic, antioxidant, anesthetic and other effects in modern clinical practice. The quality of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. directly determines the medicinal value and the development of high value-added products, so the research on the quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. always has been one of the hot spots of scientific researchers. The research status and methodological progress of quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. were introduced from the aspects of color, aroma, numbing taste and spectral effect. Specifically, the sensory assessing technology of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. color was introduced. The spectral, chromatographic and electrochemical

收稿日期: 2024-05-11; 修订日期: 2024-08-09.

基金项目: 甘肃省科技重大专项(23ZDNA002), 中央引导地方科技发展资金项目(23ZYQK0001), 四川省重点研发计划项目(2022YFN0019), 山东省自然科学基金项目(ZR2021MB089), 青岛市科技惠民示范专项(23-1-3-13-zyyd-nsh), 陇南市科技计划项目(2022-S•QKJ-03 和 2022-S•QKJ-05) [Gansu Provincial Science and Technology Major Project (23ZDNA002), Central Guidance Local Science and Technology Development Fund Project (23ZYQK0001), Sichuan Provincial Key Research and Development Program (2022YFN0019), Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2021MB089), Qingdao Science and Technology Demonstration Project (23-1-3-13-zyyd-nsh), Longnan Science and Technology Program (2022-S•QKJ-03 and 2022-S•QKJ-05)]

作者简介: 吕春梅(1996-), 女, 硕士生, 研究方向: 花椒品质评价方法研究, E-mail: lvchunmei2024@163.com

通信作者: 王伟峰(1986-), 男, 副研究员, 研究方向: 药物分析化学, E-mail: wangwf@licp.cas.cn; 杨军丽(1983-), 男, 研究员, 《分析测试技术与仪器》编委, 研究方向: 天然药物化学, E-mail: yangjl@licp.cas.cn.

based separation and analysis techniques for *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. aroma and numbing taste were reviewed. The "spectrum-effect correlation" between *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. components and functional efficacy were discussed, and the progress and development of the quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. were prospected. It will provide a reference for the quality evaluation, resource guarantee and high-value product research of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

Key words: *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.; active ingredient; quality evaluation; spectrum-effect relationship

花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.), 属芸香科(*Rutaceae*)花椒属(*Zanthoxylum* L.)植物, 主要分为青花椒、红花椒、竹叶花椒等^[1], 广泛分布于亚洲、非洲、北美洲及大西洋。目前全世界大约有花椒品种 250 个, 其中, 我国约有 81 种, 36 个变种, 主要分布在陕西、甘肃、四川、贵州、云南等地区^[2-3]。花椒的活性成分主要有挥发油、酰胺、黄酮、酚酸、生物碱、蛋白质和多肽、其他活性成分(如: 香豆素、木质素)等^[4]。花椒药用历史悠久, 据《神农本草经》记载, 花椒“味平、温, 归脾、胃、肾经, 主治风邪气, 温中, 除寒痹, 坚齿明目, 逐下气”。现代药理学研究表明, 花椒具有抗炎、抑菌、杀虫、抗氧化和抗肿瘤等药理功效^[5]。

近年来, 花椒研究主要聚焦于其化学成分和生物活性。化学成分的研究常见于挥发油、黄酮、酚类和生物碱等, 生物活性主要为体外抗氧化、抗肿瘤、抗菌、酶抑制活性等方面^[6-9]。目前, 花椒品质研究主要包含色泽、香味及麻味 3 个方面。色泽方面是使用国家标准对其感官特征进行评价。香味及麻味的研究集中采用色谱方法, 包括气相色谱-质谱联用(GC-MS)、高效液相色谱(HPLC)、液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)指纹图谱及 HPLC 指纹图谱等, 以上方法主要针对花椒香味(挥发油)和麻味(酰胺成分)进行定量分析。近年来, 部分报道使用电子鼻和电子舌技术对花椒品质进行研究^[10-15]。本综述对花椒的活性成分、品质评价方法及谱效关系 3 个方面进行详细介绍, 以期对花椒产品的资源研究、开发和利用提供参考。

1 花椒的活性成分

目前, 国内外研究人员已经对花椒果皮、叶、枝、根、籽等部位的活性成分进行了详细研究。花椒各部位所含活性成分的种类差异显著, 主要包含的活性成分有挥发油、酰胺、黄酮、酚酸、生物碱、蛋白质和多肽等。花椒果皮中含苯丙素类^[2]、酰胺^[5]、生物碱^[5]、挥发油^[16]、黄酮^[17]、酚酸^[18]等成分, 叶中含

挥发油、黄酮、酰胺、糖类、蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂肪、酚类、纤维素等成分^[19-21], 枝中含挥发油、黄酮、香豆素等, 幼嫩茎叶中富含蛋白质、维生素、氨基酸、矿质元素等^[22-25], 根中含生物碱^[26]、香豆素^[27]、挥发油^[28]、多酚^[29]等成分, 籽中含挥发油、酰胺、黄酮类、生物碱、蛋白质、氨基酸、多糖、多酚、甾醇、粗纤维、油脂类、脂肪酸、肽类成分^[30-31]。

1.1 主要活性成分

1.1.1 挥发油

挥发油是花椒重要的活性成分之一, 也是花椒香味的主要来源, 其化学成分主要包含醇类、烯烃类、酮类、酯类和环氧化合物等。花椒挥发油中含量较高的是月桂烯、柠檬烯和芳樟醇, 占花椒总挥发油成分的 67.83%^[32]。花椒挥发油具有抑菌、杀虫、抗氧化、抗肿瘤及镇痛等药用功效^[33]。肖瑞瑶等^[34]从九叶青花椒果皮挥发油中鉴定出 33 个化学成分, 主要为醇类和烯烃类, 含量较高的是芳樟醇、桉烯、D-柠檬烯、大根香叶烯 D、石竹烯, 占挥发油总成分的 92.57%。邹传宗等^[35]从伏椒和葡萄椒中分别鉴定出了 38 和 43 个挥发油化学成分。伏椒中挥发油的主要化学成分为芳樟醇、 α -松油醇、4-萜烯醇、柠檬烯、丙酸, 占总挥发油成分的 76.31%。葡萄椒中挥发油的主要化学成分为芳樟醇、柠檬烯、月桂烯、大根香叶烯 D, 占总挥发油成分的 76.07%。黄明等^[36]从 5 种花椒的挥发油中鉴定出 26 个化学成分, 其中桉叶油醇、 α -松油醇、4-萜品醇、芳樟醇、 β -月桂烯、桉烯、柠檬烯、 α -蒎烯、乙酸松油酯的质量浓度均超过了 10 mg/mL。Zhang 等^[37]从花椒果皮中分离得到挥发油主要化学成分包括芳樟醇、萜酸芳樟醇、桉油醇、 α -松油醇、桉油醇、 α -松油醇、柠檬烯、4-松油酚、壬酸、桉树脑和石竹烯氧化物。

1.1.2 酰胺类

花椒中含有丰富的酰胺类成分, 以山椒素(sanshool)为代表^[38], 包括 α -山椒素、羟基- α -山椒素、羟基- β -山椒素、 γ -山椒素、羟基- γ -山椒素等, 是花椒呈现麻味的主要来源^[39]。花椒酰胺类化合物主

要为长链不饱和脂肪酸酰胺^[40]。现代药理研究表明,其主要药效为抗炎、镇痛、麻醉等^[41]。高露等^[42]从青椒中分离鉴定出6种酰胺类成分,分别为羟基- α -山椒素、 β -山椒素、羟基- β -山椒素、花椒油素、羟基- γ -山椒素、羟基- ε -山椒素,其中羟基- α -山椒素、羟基- β -山椒素、羟基- γ -山椒素和羟基- ε -山椒素含量占总酰胺含量的98%。徐珊珊等^[43]从汉源花椒中分离鉴定出9种花椒酰胺类成分,分别为羟基- α -山椒素、花椒素、羟基- β -山椒素、 γ -山椒素、羟基- γ -山椒素、羟基- γ -花椒素、异花椒素、羟基- ε -山椒素、四氢花椒素,其中羟基- α -山椒素、羟基- γ -山椒素、羟基- β -山椒素和羟基- ε -山椒素的平均含量占总酰胺平均含量的92.23%。

1.1.3 黄酮类

花椒中含有丰富的黄酮类化学成分,如芦丁、金丝桃苷、槲皮苷、异槲皮苷等^[44]。花椒中黄酮具有多种生物活性,主要具有抗氧化和清除自由基的作用^[45]。周孟焦等^[46]从竹叶花椒果皮中鉴定出10种黄酮类成分,分别为芦丁、金丝桃苷、槲皮苷、表儿茶素、阿福豆苷、紫云英苷、山柰酚、槲皮素、异鼠李素和异鼠李素-3-O-葡萄糖苷。Bitchagno等^[47]从花椒中鉴定出3种黄酮苷,分别为槲皮素3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷、山柰酚3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷、槲皮素3-O- β -D-半乳糖苷。Hu等^[48]从花椒中分离并鉴定出槲皮素-3-O-半乳糖苷、角花青苷、山柰酚-7-O-鼠李糖苷、异牡荆素、芦丁、愈创木苷、绣线菊苷、橙皮素-5-O-葡萄糖苷和槲皮素-7-O-葡萄糖苷。

1.1.4 酚酸类

Karanjalkar等^[49]从花椒果皮中鉴定出18种酚酸,主要酚酸成分为咖啡酸、阿魏酸、对香豆酸、芥子酸、龙胆酸和反式肉桂酸,其中阿魏酸和咖啡酸含量分别占总酚酸含量的64.27%和12.38%。杨成峻^[18]从花椒果皮中鉴定出9种酚酸,分别是绿原酸、没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、阿魏酸。研究表明,花椒果皮中的酚酸可以抑制 α -葡萄糖苷酶及 α -淀粉酶活性,对II型糖尿病小鼠的胰腺、血糖、血脂和肝脏异常等具有一定的改善作用。翟小雪^[50]从竹叶花椒枝中分离得到10种酚酸,分别为香草酸、(E)-p-甲氧基肉桂酸甲酯、反式阿魏酸、阿魏酸乙酯、丁香酸甲酯、3,4,5-三甲氧基苯甲酸、3,4,5-三甲氧基肉桂酸、丁香酚、(1S,2S)-1,2,3-trihydroxy-1-(3,4-

methylenedioxyphenyl) propane、邻苯二甲酸二丁酯。进一步生物活性研究结果表明,所含有的酚酸类成分具有抗缺氧活性和抗胰腺癌活性。

1.1.5 生物碱类

花椒中的生物碱主要以游离态或季铵盐的形式存在^[51],按母核可分为喹啉类生物碱、苯并菲啶类生物碱、异喹啉类生物碱和喹诺酮类生物碱^[52]。药理研究表明,花椒中的生物碱类成分具有抗菌、抗炎镇痛、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗血小板凝集等药用功效^[53]。目前,从花椒中已分离出大量结构确定的生物碱,如:青花椒碱、白藜碱、白屈菜红碱、茵芋碱、铁屎米-6-酮、 γ -花椒碱等。刘锁兰等^[54]从花椒果皮中分离鉴定出香柑内酯、伞形花内酯、茵芋碱、青花椒碱。任振华^[55]从花椒果皮中鉴定出了小檗红碱、乙氧基白屈菜红碱和吴茱萸次碱。吴蓉蓉等^[9]从花椒茎及青花椒根部鉴定出白鲜碱、木兰花碱、德卡林碱、(+)-(S)-异普拉得斯碱、(-)-(S)-丙酮基白屈菜赤碱、伪非洲防己碱、加锡弥罗果碱、(+)-(S)-阿瑞罗甫碱、6-甲氧基-咪喃喹诺酮、去甲基白屈菜红碱、(-)-(S)-日立宁、花椒棚碱等生物碱。

1.1.6 蛋白质和多肽

Osborne^[56]根据蛋白质的溶解性特点,将蛋白分为清蛋白(易溶于水)、球蛋白(易溶于稀盐溶液)、醇溶蛋白(易溶于50%~90%乙醇)和谷蛋白(易溶于稀碱溶液)4种类型。瞿瑗等^[57]采用Osborne法提取并研究了青花椒籽蛋白质的组成,结果表明,青花椒籽中含清蛋白23.06%、球蛋白21.64%、醇溶蛋白6.41%、谷蛋白40.02%。李超^[58]对花椒籽壳与籽仁中蛋白质进行研究,结果表明,花椒籽壳中蛋白质含量为5.29%,籽仁中蛋白质含量为30.90%。吕俊霞^[59]测得花椒籽中含谷蛋白63.22%、球蛋白15.44%、醇溶蛋白2.28%、清蛋白2.74%,并采用纳米液相色谱-串联电喷雾质谱法(Nano LC-ESI-MS/MS)和6个生物信息学数据库(APD3、SATPdb、HIPdb、Stra Pep、AVPdb和BIOPEP-UWM)对花椒籽蛋白在模拟胃肠消化下的最终产物中的全部肽段进行鉴定,结果筛选到426条活性肽,进一步筛选分析出66条疑似活性肽,功能集中于抗菌、抗病毒、抗癌性、药物输送、神经阻断等。吴红洋^[60]以花椒籽蛋白为原料,采用酶解法从中提取出降血压肽,研究表明花椒籽蛋白中的降血压肽对血管紧张素转化酶(ACE)有抑制作用。姜太玲^[61]用胃蛋白酶水

解花椒籽后从中分离出抑菌肽,该抑菌肽对大肠杆菌的抑菌率为 60.96%.

1.2 其他活性成分

除上述活性成分外,花椒中还有香豆素、木质素、多糖、维生素、矿物质元素、氨基酸等.香豆素和木质素是苯丙素类成分的主要存在形式,具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎和抗血小板凝聚等药用功效^[62].张涛等^[63]基于色谱技术从花椒果皮中分离得到了糖苷类化合物,药理研究表明,其具有保肝、抗氧化、抗炎、抗真菌、抗肿瘤等活性.刘子怡^[64]通过测定花椒活性成分对 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、2, 2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)自由基、·OH、O₂⁻以及 H₂O₂ 的清除能力,表明花椒多糖具有体外抗氧化作用.图 1 总结了花椒主要活性成分及药理作用.

2 花椒品质评价

2.1 品质评价指标

2.1.1 化学指标

花椒风味主要是指花椒的香味和麻味,高品质的花椒通常具有浓郁且持久的香味和麻味.花椒挥发油成分是反映花椒香味强度的主要化学指标^[32].《中华人民共和国药典(2020 年版 一部)》规定,花椒中的挥发油含量不得少于 1.5%^[1].花椒麻味的强弱主要由酰胺类物质决定,其中以山椒素类为代表,主要是羟基- α -山椒素、羟基- β -山椒素、羟基- γ -山椒素等多种酰胺类成分,具有强烈的刺激性,被认为是反映花椒麻味的主要化学指标^[65].

2.1.2 感官指标

花椒品质评价的感官指标包括色泽、麻味、香

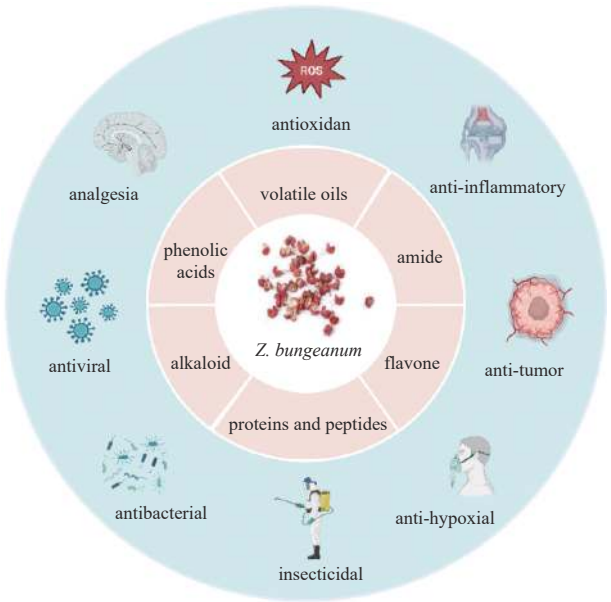


图 1 花椒主要活性成分及药理作用

Fig. 1 Main active ingredients and pharmacological effects of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

味、果型特征等.根据花椒果皮色泽、麻味、香味和果型,将花椒产品(大红袍、小红袍及青花椒)分为特级、Ⅰ级、Ⅱ级、Ⅲ级 4 个等级,每个等级必须符合相应的等级指标(表 1).

2.2 品质评价方法

我国花椒品质标准化评价的方法主要有紫外分光光度法(UV)、HPLC、近红外光谱技术(NIRS)、电子舌技术和指纹图谱技术等.表 2 统计了现有花椒品质评价标准,涵盖了国际标准、国家标准、行业标准、团体标准和企业标准等.

2.2.1 UV

UV 是一种广泛应用于分析化学领域的定量分析方法,旨在测定天然产物中的特定成分.当一束

表 1 感官指标分级标准^[66-67]

Table 1 Grading criteria for sensory indicators^[66-67]

类别	感官指标	特级	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级
红花椒 (大红袍、 小红袍)	色泽	大红或鲜红、均匀、有光泽	深红或枣红、均匀、有光泽	暗红或浅红、较均匀	褐红或灰白、较均匀
	麻味	浓烈、持久、纯正	浓烈、持久、纯正	浓烈、持久、纯正	尚浓、无异味
	香味	浓郁、纯正	浓郁、纯正	较浓、纯正	香气、尚纯正
	果型	颗粒大、均匀	颗粒大、均匀	颗粒较大、均匀	颗粒中等、完整
青花椒	色泽	黄绿、均匀、有光泽	青绿、均匀、有光泽	青褐、较均匀	棕褐、较均匀
	麻味	浓烈、持久、纯正	浓烈、持久、纯正	较浓、持久、无异味	尚浓、无异味
	香味	清香、芳香、纯正	清香、芳香、纯正	清香、芳香、纯正	清香、尚纯正
	果型	颗粒大、均匀	颗粒大、均匀	颗粒较大、均匀	颗粒中等、完整

表 2 花椒品质评价标准情况统计
Table 2 Quality evaluation criteria of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

序号	检测方法	花椒活性成分	标准
1	UV	花椒酰胺总含量的测定	GH/T 1290—2020
2	HPLC	花椒酰胺总含量的测定	GH/T 1291—2020
3	GC-MS	花椒挥发性成分的测定	GH/T 1294—2020
4	HPLC	花椒麻素的测定	T/CQCAA-0006-2021
5	斯科维尔指数法	花椒麻度评价	20160718-T-424

平行的单色光通过花椒样品时, 样品中的山椒素类成分会吸收一部分光能, 不同成分对光的吸收程度不同, 未被吸收的光能透过样品照射到检测器上, 通过测量入射光和透射光强度, 计算吸光度(A). 吸光度与花椒山椒素类成分中酰胺的浓度呈正比, 通过花椒酰胺成分对花椒麻味指标进行品质评价. 该方法具有操作简便、快速检测等优点^[68]. 马伟等^[69]基于 UV 建立了一种简便、快捷、稳定、可靠的羟基- α -山椒素含量测定方法. 通过对花椒样品中羟基- α -山椒素检测方法的研究, 确定最优检测波长为 268 nm, 在质量浓度范围为 0.582 3 ~ 5.823 2 $\mu\text{g/mL}$ 内相关系数 r 为 0.999 9, 线性良好, 方法精密度良好, 平均加样回收率在 96.8% ~ 97.8% 之间. 该方法对照品溶液和样品溶液在 24 h 内检测稳定性良好, 可作为测定花椒及花椒制品中麻味成分的方法, 有助于花椒品质评价. 齐景梁等^[13]基于 UV 建立了一种准确可靠的酰胺类物质总量测定方法. 以羟基- α -山椒素为对照品, 270 nm 作为检测波长, 测得供试品溶液与羟基- α -山椒素对照品溶液吸收光谱一致. 研究结果表明, 羟基- α -山椒素在质量浓度为 0.791 0 ~ 7.910 0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 95.84%, 相对标准偏差(RSD)为 0.78%, 表明该测定方法可用于评价花椒品质. 陈茜^[70]基于 UV 建立了竹叶花椒果皮中山椒素、总酰胺含量测定方法. 在 200 ~ 400 nm 波长下分别对羟基- α -山椒素对照品、羟基- β -山椒素对照品和竹叶花椒样品进行测试. 测得羟基- α -山椒素和羟基- β -山椒素最大吸收波长分别为 270 和 267 nm, 总酰胺的平均百分含量为 4.5548%, RSD 为 0.31%, 表明该方法重复性和精密度良好, 以山椒素和总酰胺含量作为指标对花椒品质进行评价具有可行性. 然而, 该方法在花椒样品分析过程中易受提取溶剂、样品基质、提取温度等多种因素的影响, 对测定结果干扰较大, 导致测量准确度不高^[71].

2.2.2 HPLC

HPLC 是一种利用固定相和流动相之间的相互作用差异对混合物中不同成分进行分离分析的技术, 具有分离效率高、应用范围广、自动化程度高等优点, 适用于复杂样品中多组分的定量定性分析^[72]. 在花椒品质研究中, 可利用 HPLC 测得花椒麻味物质的峰面积大小, 进一步通过标准曲线获得对应待测样品中花椒麻味物质的含量, 从而实现品质特征和分级分析. 黄明等^[36]使用 HPLC 对丰都县生产的 5 种高香型新鲜花椒样品中的主要麻味物质(花椒酰胺)进行定量分析, 并对花椒样品的麻味特征属性进行了定量评价. 该方法使用的分离柱为 C18 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为离子水(洗脱液 A)和甲醇(洗脱液 B), 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 270 nm, 流速 1 mL/min, 进样量为 10 μL , 梯度洗脱 40 min 来检测花椒酰胺成分, 并以羟基- α -山椒素、羟基- β -山椒素、羟基- γ -山椒素及羟基- ε -山椒素的标准曲线计算麻味物质含量来评价花椒品质指标. 祝磊等^[73]使用 HPLC 测定藤椒中的麻味物质, 该方法使用 MGII-C18 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(体积比为 40 : 60), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm, 经分析发现不同藤椒样品中均含有羟基- α -山椒素和羟基- β -山椒素, 其中羟基- α -山椒素含量最高, 其含量是羟基- β -山椒素的 15 倍以上, 是藤椒的主要麻味物质. 杨清山等^[74]建立了以羟基- α -山椒素为标准样品, 测定花椒及其提取物中羟基- α -山椒素、羟基- β -山椒素、羟基- γ -山椒素和羟基- ε -山椒素的 HPLC 方法. 该方法使用 Zorbax SB-C18 色谱柱(4.6 mm $\times$ 100 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-1% 冰醋酸水溶液(体积比为 40 : 60), 流速 1.5 mL/min, 检测波长 270 nm, 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$. 结果表明, 羟基- α -山椒素在 0.007 84~0.078 4 mg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系,

R^2 为 0.999 8. 该方法不仅能够实现花椒及其提取物中花椒麻味物质的含量测定, 而且还得出不同产地和品种的花椒酰胺类成分比例具有特征性, 其中羟基- γ -山椒素可以作为鉴别产地和品种的特征指标, 有助于评价不同产地的花椒品质. 然而, 与 UV 相比, HPLC 的样品前处理较复杂、仪器价格较高、日常维护和检测成本较高, 不利于大量样本现场检测^[75].

2.2.3 NIRS

NIRS 是利用物质分子中的 C-H、O-H、N-H、S-H 等共价键振动和转动的能级跃迁产生近红外吸收光谱, 并与化学计量学多元校正方法于一体的分析方法, 可对中药成分进行分析, 具有快速、非破坏性、重现性好、整体分析等优点, 主要应用于中药品质评价、中药制剂过程的监控等方面^[76].

李洋等^[77]采用 NIRS 对花椒完整颗粒中生物碱和挥发油成分进行定量分析, 其成分在近红外谱区的吸收主要为含氢基团的各级倍频与合频. 花椒挥发油中分离出的主要组分为醇类、烯烃类、醛类、酮类及环氧化合物等, 含有大量的含氢基团. 结果表明, 花椒中生物碱和挥发油的化学测定值与模型预测值之间具有良好的线性关系, 表明 NIRS 可快速检测花椒生物碱和挥发油活性成分, 其结果可用于花椒品质评价. 范林宏^[78]采用便携式 NIRS 对花椒产地、挥发油含量、开口率、等级进行鉴别, 并对花椒中挥发油含量、开口率进行近红外定量分析, 将挥发油含量与开口率相结合, 对花椒品质进行综合评价. 采用 NIRS 对花椒的香味成分进行分析, 可实现在线检测, 为花椒的品质分析提供一种新的方法, 使其能更完整的反映花椒品质. 与传统分析技术相比, NIRS 具有快速、非破坏性、无污染、重现性好、整体分析等优点, 最大优点是可以在整个花椒品质评价方面实现数据资源的共享, 实现花椒品质评价的数字化管理^[79].

2.2.4 电子舌技术

电子舌技术是一种模拟人的味觉, 检测复杂样品中多种化学成分的新技术^[80]. 电子舌系统结构如图 2 所示: 上位机软件控制数据采集卡产生激励信号, 经过信号调理电路调理后作用在传感器阵列上. 在激励信号的激发下, 电子舌工作电极与样本溶液发生电化学反应并产生微弱的电流信号. 信号经过电流/电压(I/V)转换、放大和滤波后, 通过数据采集卡进行数据采集, 随后送至上位机进行处理, 形成

不同的味觉指纹图谱, 用于标识和比较样品之间的差异. 采用电子舌采集花椒样本的味觉“指纹图谱”信号, 与花椒酰胺成分对应起来评价花椒品质^[81]. 与其他技术相比, 在测定花椒成分方面, 电子舌技术具有多组分分析、非破坏性检测等优势, 但在灵敏度、准确度、精密度等方面存在不足^[82].

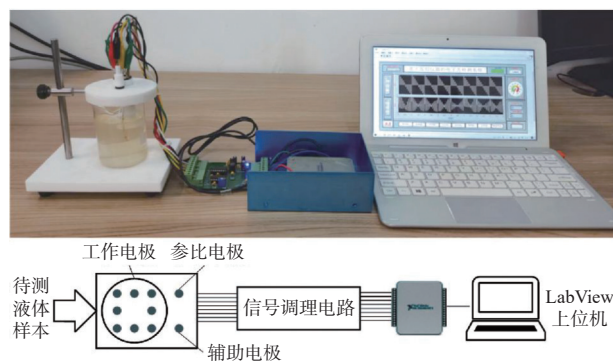


图 2 电子舌系统结构和实物图^[81]

Fig. 2 Structure and physical diagram of electronic tongue system^[81]

袁小钧等^[83]采用倍半稀释法配制质量浓度分别为 0.40、0.20、0.10、0.05、0.025、0.001 mg/mL 的花椒酰胺标准溶液, 然后利用电子舌技术研究花椒酰胺成分在水煮过程中的变化情况. 将标准品直接采用 ASTREE 味觉指纹分析仪自动进样分析. 结果显示, 麻味强度值与花椒酰胺含量值具有一致性, 电子舌雷达图(图 3)及主成分分析能够较好地反映不同水煮时间花椒溶液中酰胺成分的变化, 为花椒品质评价提供参考. 王素霞^[84]采用电子舌技术对花椒中的酰胺类成分进行测定, 并用于花椒品质分级. 结果表明, 电子舌分级结果与 UV 分级结果一致, 随着电子舌判定级别的增大, UV 测定酰胺含量也逐渐增加. 该方法达到了快速批量评价花椒麻味强度的目的, 为花椒品质评价提供了依据. Gao 等^[85]采用动态稀释嗅觉仪和排名描述分析(RDA)技术, 对四川和重庆地区的 7 个青花椒样品整体的香味强度进行了评价. 结果表明, 月桂烯、 β -蒎烯、柠檬烯和 γ -萜品烯是区分不同地区花椒香味的关键成分.

2.2.5 指纹图谱技术

指纹图谱技术是基于光谱或色谱等现代化分析技术对中药化学成分进行分析, 可描绘出特征化学成分的峰值分布情况, 获得峰值与化学成分的关键信息, 从而实现对中药质量的定性和定量评价^[86]. 该技术主要用于评价中药、中药制剂以及半成品质

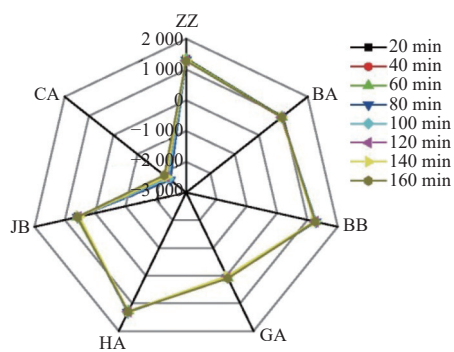


图 3 花椒水煮溶液电子舌探头响应雷达图(ZZ、BA、BB、CA、GA、HA、JB: 对酸、苦、咸、鲜、甜敏感程度不同的电子舌传感器)^[83]

Fig. 3 Radar diagram of response of electronic tongue probe in *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. boiling solution (ZZ, BA, BB, CA, GA, HA, JB: electronic tongue sensors with varying degrees of sensitivity to acidity, bitterness, saltiness, freshness and sweetness)^[83]

量的真实性、优良性和稳定性,具有专属性高、整体性强、稳定性好等优点^[87-88]。指纹图谱能全面反映样品中的化学成分,其特征峰可以反映中药材品种、产地等差异,具有较高的专属性和特异性。

边甜甜等^[89]基于 GC-MS 指纹图谱技术建立了花椒不同炮制品(清炒、醋制、盐制、酒制法)中标志性成分的含量测定方法,采用多元统计分析方法主成分分析(PCA)和偏最小二乘分析(PLS-DA)找出花椒不同炮制品的差异性成分。研究了花椒不同炮制品中挥发性成分的含量差异,以含量较大的芳樟醇、柠檬烯、乙酸芳樟酯为含量指标。结果表明,花椒醋制品中柠檬烯和芳樟醇含量较高,清炒品中乙酸芳樟酯含量较高,花椒经酒制法炮制后 3 个挥发性成分含量均显著降低。该方法快速、简单可行,

重复性、稳定性良好,可为花椒炮制品的品质评价提供支撑。马青琳等^[14]使用 HPLC 指纹图谱技术研究了不同产地、不同批次花椒水溶性化学成分,发现 15 批花椒药材水提取物指纹图谱中呈现 6 个共有峰,并指出 2 个化学成分羟基- α -山椒素和羟基- β -山椒素相似度为 0.984 ~ 0.999,结果表明不同产地花椒水溶性指纹图谱成分具有一致性。该方法所建立的指纹图谱稳定可靠,有助于花椒药材的质量控制和品质评价。姜丽等^[90]基于指纹图谱相似度评价系统建立了 10 批青花椒 HPLC 指纹图谱技术,以麻味指标山椒素类含量为特征聚类分析,对 10 批青花椒进行了产地分析,不同产地栽培的青花椒品种的指纹图谱解析了 8 个共有峰和 1 个特征峰。研究在 HPLC 法基础上构建了贵州青花椒的指纹图谱分析方法,具有操作简便、结果稳定可靠的特点,可用于青花椒鉴别和品质评价。叶洵^[91]使用 GC-MS 指纹图谱技术对不同产地花椒挥发油中大牛儿烯 D、杜松烯、石竹烯、乙酸香叶酯、芳樟醇、 α -松油醇、别罗勒烯、反式- β -罗勒烯、橙花醇和 γ -榄香烯的含量进行分析。结果表明,不同产地花椒挥发油成分存在显著差异,可用于不同产地花椒香味指标的品质评价。基于指纹图谱品质评价的核磁共振氢谱(H-NMR)法^[92],提供了定量测定烷基酰胺的新策略。还可以通过相似性分析(SA)、PCA、聚类分析(HCA)和判别分析(DA),建立标准化评价模型^[93]。指纹图谱不仅能对花椒的炮制工艺和产地进行有效的鉴别和评价,还可以全面客观地对花椒香味指标挥发油成分进行分析,从而评价花椒品质。

针对上述花椒品质评价方法研究,可以看出每种方法具有各自的适用范围。对各方法检测指标、方法优点和应用局限性进行了总结,详见表 3。UV

表 3 花椒品质评价方法总结

Table 3 Summary of quality evaluation methods of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

品质评价方法 花椒评价指标		优点	不足
UV	麻味	操作简便、快速检测	易受提取溶剂、样品基质、提取温度等多种因素的影响
HPLC	麻味	分离效率高、应用范围广、自动化程度高	样品前处理复杂,分析成本较高,不利于大量样品检测
NIRS	香味	分析速度快,对样品无化学污染,测量准确度高,分析成本低	光谱分辨率较低,对于复杂样品不能区别其组分
电子舌技术	麻味	多组分分析、非破坏性检测	灵敏度、准确度、精密度较差
指纹图谱技术	香味、麻味	专属性高、整体性强、稳定性好	样品前处理复杂、分析成本高、不利于大量样品分析、缺乏对感官品质的评价

操作简便、快速,但易受干扰。HPLC 分离效率高,但样品前处理复杂。NIRS 分析速度快、准确度高,但不利于复杂样品分析。电子舌技术在精密度和准确度方面具有局限性。指纹图谱技术具有专属性高、整体性强、稳定性好等优点,但不利于大量样品分析。结合多个指标、多个维度对花椒品质进行整体评价将是未来花椒品质评价研究的新趋势。

3 谱效关系

建立在中草药活性成分基础上的指纹图谱是国际公认的中草药质量评价方法,但这些活性成分与其功效相关性的研究仍然存在不足。利用化学计量学方法,将指纹图谱中活性成分的变化与其生物活性相结合建立谱效关系,可有效用于评价单味中药或中药复方制剂的品质^[94]。

杨悦等^[95]采用 UV 测定花椒中黄酮组分含量,并利用 DPPH、ABTS 自由基清除试验研究了黄酮类成分与抗氧化活性之间的关系。结果表明,总黄酮和芦丁与 DPPH、ABTS 清除率的半数有效浓度 (EC_{50})均呈显著负相关,说明花椒中总黄酮、芦丁

抗氧化作用明显。何鑫柱^[96]建立了竹叶花椒黄酮类物质的 HPLC 指纹图谱,利用 DPPH 法测试其抗氧化性,运用偏最小二乘回归法研究了黄酮类成分与抗氧化活性的谱效关系。结果表明,主要抗氧化活性成分是表儿茶素、金丝桃苷、紫云英苷和山奈酚,谱效关系能有效识别抗氧化活性成分,可用于花椒品质评价。赵容等^[97]基于 HPLC 法建立了竹叶花椒指纹图谱并测定其抗氧化活性,运用皮尔逊相关性分析及逐步回归分析法考察了指纹图谱特征峰与抗氧化活性的相关性。研究表明,竹叶花椒中抗氧化活性成分与抗氧化能力呈正相关,表现出明显的抗氧化活性,该研究为竹叶花椒质量控制和开发利用提供了科学依据。韩胜男^[98]研究了花椒挥发油成分与其抗肿瘤活性之间的关系。结果表明,挥发油成分是抗肿瘤活性的主要成分。将花椒中活性成分的指纹图谱与其药理活性相结合建立相关谱效关系,可以更加准确地测定花椒中的活性成分并进行品质评价^[99]。图 4 总结了谱效关系研究的一般内容^[100]。

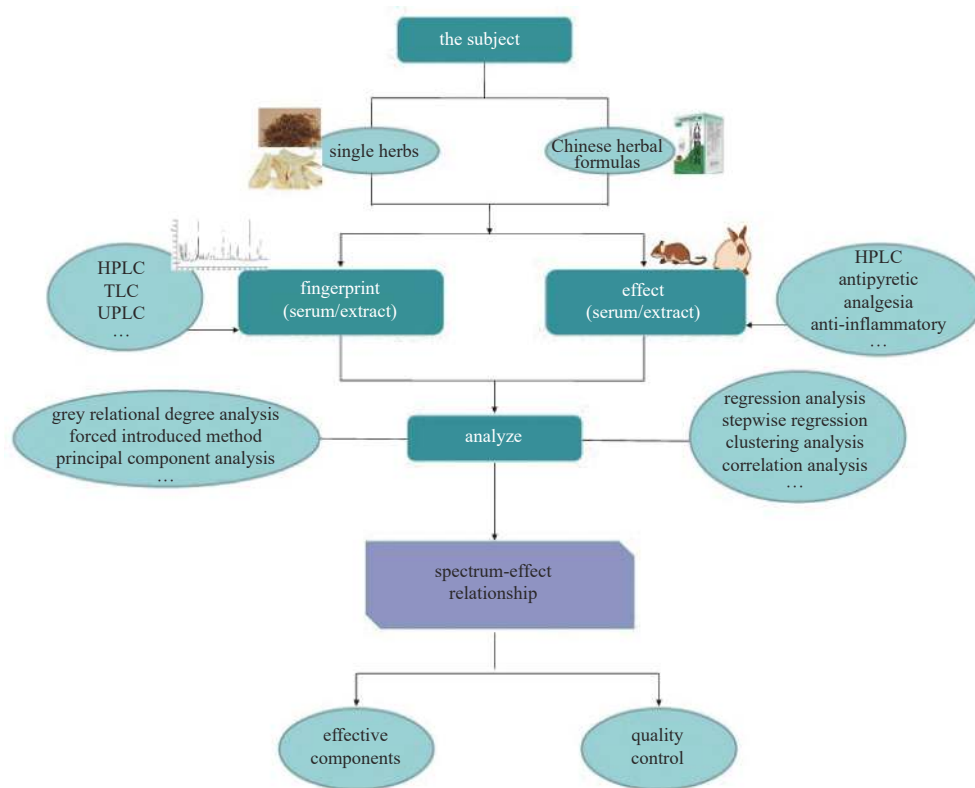


图 4 谱效关系研究的一般内容^[100]

Fig. 4 General content of spectral-effect relationship studies^[100]

4 总结与展望

花椒,作为一种传统的药食同源植物资源,其品质高低决定了它的药用价值,也直接关系临床疗效。花椒的活性成分主要包括挥发油、酰胺、黄酮、酚酸、生物碱、蛋白质、多肽、香豆素、木质素和多糖等,其药理活性有抗炎、抑菌、抗氧化、镇痛、麻醉、抗肿瘤、抑制血小板凝聚、抗病毒、保肝、杀虫、抗缺氧和抗胰腺癌等。如何把花椒活性成分与其药理活性之间的关系对应起来是花椒品质评价应遵循的基本原则,也是未来花椒品质评价体系建设研究的重要方向之一。

当前,花椒品质评价方法已从感官评价发展到活性成分的评价。传统的单一活性成分指标不足以代表花椒的功能功效,花椒“温中止痛,杀虫止痒”等功效,是花椒多种活性成分作用的结果。研究花椒的功能功效,不能只针对某一个活性成分,而应该对其多个活性成分、多个指标整体进行研究。单纯地使用指纹图谱技术来评价花椒的品质仍然具有局限性。因此,评价其品质应采用与之相适应的、能够提供丰富鉴别信息的品质评价方法——谱效关系。谱效关系的研究是在中医药理论现代研究和中药指纹图谱研究的基础上,以其功效为主要内容,找出中药“谱”与“效”之间的科学规律,进而为中药品质和药效评价标准提供规律性的科学依据,从而建立中药产品与其功效基本一致的反映产品内在品质的评价标准,对我国中医药现代化、国际化起到积极的促进作用。

中药活性成分的多样性和功效的复杂性是中药物质研究的理论基础,且活性成分与功效之间是相互依存的关系,活性成分离不开功效,功效要有活性成分作支撑。中药谱效关系研究可作为中药质量控制的有效手段,并将是中药品质评价的重要方向。未来花椒品质评价新策略的研究可以结合计算机技术,建立更加科学、客观的花椒谱效关系品质评价体系。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版 一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 166.
- [2] 袁海梅, 邱露, 宋雨, 等. 花椒属植物苯丙素类成分及其药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(22): 5760-5772. [YUAN Haimei, QIU Lu, SONG Yu, et al. Phenylpropanoids from *Zanthoxylum* species and their pharmacological activities: a review[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(22): 5760-5772.]
- [3] 童光森. 不同种源大红袍花椒油风味分析及抑菌效果研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(9): 38-42. [TONG Guangsen. Study on the flavor analysis and antibacterial effect of Dahongpao *Zanthoxylum* oils with different provenances[J]. China Condiment, 2020, 45(9): 38-42.]
- [4] 姜京荣. 花椒化学成分及药理活性研究[D]. 济南: 济南大学, 2019. [LOU Jingrong. The Study on the pharmacological activities and chemical constituents from barks of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.[D]. Jinan: University of Jinan, 2019.]
- [5] 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 Mengyuan, ZHANG Bing, XU Tong, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Huajiao (*Zanthoxyli* pericarpium) and predictive analysis of quality markers[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2022, 41(12): 1351-1358.]
- [6] 周雨晨, 陈佳欢. 筋欏花椒化学成分及其抑菌活性研究[J/OL]. 中成药: 1-5[2024-06-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20231226.1142.004.html>. [ZHOU Yuchen, CHEN Jiahuan. Chemical constituents from *Zanthoxylum avicennae* and their antibacterial activities[J/OL]. Chinese patent medicine: 1-5[2024-06-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20231226.1142.004.html>.]
- [7] 魏英焕. 墨脱花椒的化学成分及生物活性研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2023. [WEI Yinghuan. Study on chemical composition and biological activity of *Zanthoxylum motuoense* Huang[D]. Guiyang: Guizhou Medical University, 2023.]
- [8] 李春丽. 花椒中的化学成分及其生物活性的研究[D]. 兰州: 西北民族大学, 2021. [LI Chunli. Study on the chemical constituents and biological activities of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.[D]. Lanzhou: Northwest University for Nationalities, 2021.]
- [9] 吴蓉蓉, 田书璵, 陈勇, 等. 青花椒生物碱类化学成分及生物活性研究[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1305-

1309. [WU Rongrong, TIAN Shuying, CHEN Yong, et al. Studies on chemical constituents and bioactivities of alkaloids from *Zanthoxylum schinifolium* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(6): 1305-1309.]
- [10] 霍归国, 梁婷玉, 史金涵, 等. 武都‘大红袍’花椒品质研究 [J]. *中国农学通报*, 2021, 37(22): 120-125. [HUO Guiguo, LIANG Tingyu, SHI Jinhan, et al. Study on the quality of *Zanthoxylum bungeanum* ‘dahongpao’ from Wudu [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(22): 120-125.]
- [11] 张国琳. 基于风味成分的花椒品质评价研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014. [ZHANG Guolin. Quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* based on the analysis of flavor components [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.]
- [12] 杨志成, 李青松, 潘韬, 等. HPLC-MS/MS 测定花椒及其制品中羟基- α -山椒素 [J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(4): 271-277. [YANG Zhicheng, LI Qingsong, PAN Tao, et al. The determination of hydroxyl- α -capsaicin in *Zanthoxylum* and its products by HPLC-MS/MS [J]. *China Food Additives*, 2024, 35(4): 271-277.]
- [13] 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 Jingliang, GAO Bixing, ZHOU Juan, et al. Content determination of two main components in *Zanthoxylum armati pericarpium* by HPLC and ultraviolet-visible spectrophotometry [J]. *China Pharmaceuticals*, 2021, 30(1): 52-56.]
- [14] 马青琳, 刘晓美, 李亚男, 等. 花椒水提取物 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *山东中医杂志*, 2019, 5(9): 876-882. [MA Qinglin, LIU Xiaomei, LI Yanan, et al. Study on HPLC fingerprint of water extract of Huajiao (*Zanthoxylum pericarpium*) [J]. *Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 5(9): 876-882.]
- [15] 乔森. 基于电子鼻的花椒品质检测方法研究 [D]. 天津: 河北工业大学, 2020. [QIAO Miao. Research on quality detection method of *Zanthoxylum bungeanum* based on electronic nose [D]. Tianjin: Hebei University of Technology, 2020.]
- [16] 卫林. 花椒果皮的化学成分研究 [D]. 太原: 中北大学, 2023. [WEI Lin. Study on chemical constituents of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. peel [D]. Taiyuan: North University of China, 2023.]
- [17] 席少阳, 郭延秀, 马晓辉, 等. 花椒化学成分及药理作用的研究进展 [J]. *华西药学杂志*, 2021, 36(6): 717-722. [XI Shaoyang, GUO Yanxiu, MA Xiaohui, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Zanthoxylum* [J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 36(6): 717-722.]
- [18] 杨成峻. 花椒果皮多酚的鉴定及降血糖功效初探 [D]. 南昌: 南昌大学, 2022. [YANG Chengjun. Identification of *Zanthoxylum bungeanum* pericarps polyphenols and preliminary study on its hypoglycemic effect [D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.]
- [19] 苟鼎, 张腊梅, 黄红琴. 花椒叶提取物主要成分及其生物特性的研究进展 [J]. *清远职业技术学院学报*, 2022, 15(4): 64-71. [GOU Ding, ZHANG Lamei, HUANG Hongqin. Research progress on main components and biological characteristics of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extract [J]. *Journal of Qingyuan Polytechnic*, 2022, 15(4): 64-71.]
- [20] 齐素芬, 张华峰, 姚美, 等. 苯酚-硫酸法测定花椒叶多糖含量 [J]. *食品科学技术学报*, 2015, 33(4): 40-46. [QI Sufen, ZHANG Huafeng, YAO Mei, et al. Development and application of phenol-sulfuric acid method for determination of polysaccharides in *Zanthoxylum bungeanum* leaves [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 33(4): 40-46.]
- [21] 袁小钧, 刘阳, 姜元华, 等. 花椒叶化学成分、生物活性及其资源开发研究进展 [J]. *中国调味品*, 2018, 43(7): 182-187, 192. [YUAN Xiaojun, LIU Yang, JIANG Yuanhua, et al. Research progress of chemical constituents, biological activities and exploitation and utilization of Chinese prickly ash leaves [J]. *China Condiment*, 2018, 43(7): 182-187, 192.]
- [22] Lara L L S, Nascimento V A, Fernandes C C, et al. Chemical composition and antifungal activity of *Zanthoxylum riedelianum* stem bark essential oil [J]. *Natural Product Research*, 2022, 36(6): 1653-1658.
- [23] 马捷, 李梅, 宁莉萍, 等. 竹叶花椒枝和叶精油化学成分及其对二磷酸腺苷诱导血小板聚集的影响研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(9): 1552-1558. [MA Jie, LI Mei, NING Liping, et al. Chemical constituents of essential oils from branches and leaves of *Zanthoxylum armatum* DC. and their effects on adenosine diphosphate induced platelet aggregation [J]. *Natural Product Research and Develop-*

- ment, 2019, 31(9): 1552-1558.]
- [24] Chai T, Qiang Y. Two new coumarins from branches of *Zanthoxylum schinifolium*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2022, 24(9): 820-826.
- [25] 李佩洪, 陈政, 龚霞, 等. 花椒枝梢的研究利用现状 [J]. *四川农业科技*, 2016(12): 50-52.
- [26] 龙奕霄. 花椒根中总生物碱的含量测定及其对 H₂₂ 荷瘤小鼠抑瘤作用的研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2021. [LONG Yixiao. Determination of total alkaloids in the roots of *Zanthoxylum prickly aspergillus* and study on the antitumor effect on H₂₂ tumor-bearing mice[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2021.]
- [27] Tsai I L, Lin W Y, Teng C M, et al. Coumarins and antiplatelet constituents from the root bark of *Zanthoxylum schinifolium*[J]. *Planta Medica*, 2000, 66(7): 618-623.
- [28] Wang C F, Yang K, You C X, et al. Chemical composition and insecticidal activity of essential oils from *Zanthoxylum dissitum* leaves and roots against three species of storage pests[J]. *Molecules*, 2015, 20(5): 7990-7999.
- [29] Islam M K, Acharzo A K, Saha S, et al. Bioactivity studies on *Zanthoxylum budrunga* wall (Rutaceae) root bark[J]. *Clinical Phytoscience*, 2018, 4(1): 24.
- [30] 古雪艳, 徐国伟, 张康, 等. 花椒籽资源利用研究进展 [J]. *中兽医医药杂志*, 2024, 43(1): 43-47. [GU Xueyan, XU Guowei, ZHANG Kang, et al. Review on resource utilization of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. seeds[J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2024, 43(1): 43-47.]
- [31] 姜太玲, 吴红洋, 申光辉, 等. 花椒籽蛋白抗菌肽的抑菌作用及其稳定性研究 [J]. *现代食品科技*, 2015, 31(8): 129-135. [JIANG Tailing, WU Hongyang, SHEN Guanghui, et al. Antibacterial activity and stability of antimicrobial peptides in Chinese prickly ash seed proteins[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(8): 129-135.]
- [32] 祝晓云, 张开艳, 余家奇, 等. GC-MS 法分析两种花椒挥发油的成分 [J]. *亚太传统医药*, 2022, 18(9): 68-73. [ZHU Xiaoyun, ZHANG Kaiyan, YU Jiaqi, et al. Analysis of volatile oil from two kinds of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. by GC-MS[J]. *Asia-Pacific Traditional Medicine*, 2022, 18(9): 68-73.]
- [33] 邵利华, 陈曙光, 陈乐乐, 等. 花椒挥发油化学成分及药理作用研究进展 [J]. *山东中医杂志*, 2024, 43(2): 197-205. [SHAO Lihua, CHEN Shuguang, CHEN Lele, et al. Research progress of chemical constituents and pharmacological effects of *Zanthoxylum bungeanum* volatile oil[J]. *Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 43(2): 197-205.]
- [34] 肖瑞瑶, 滕攀攀, 钱玺丞, 等. 九叶青花椒挥发油 GC-MS 成分分析 [J]. *云南化工*, 2023, 50(6): 78-81. [XIAO Ruiyao, TENG Panpan, QIAN Xicheng, et al. Component analysis of essential oil from *Zanthoxylum armatum* var. *novemfolius* by GC-MS[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2023, 50(6): 78-81.]
- [35] 邹传宗, 盛巧娟. 两种花椒挥发油成分比较 [J]. *陕西农业科学*, 2020, 66(2): 44-46, 55.
- [36] 黄明, 曾维友, 张义刚, 等. 重庆地区高香型花椒种质资源品质评价 [J]. *南方农业*, 2023, 17(15): 16-23.
- [37] Zhang W J, Guo S S, You C X, et al. Chemical composition of essential oils from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. and their bioactivities against *lasioderma serricorne*[J]. *Journal of Oleo Science*, 2016, 65(10): 871-879.
- [38] 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 Houyu, LI Xin, YU Tianhua, et al. Research on HPLC fingerprint spectra of *Zanthoxylum planispinum* var. *dingtanensis* based on numb-taste components[J]. *China Condiment*, 2020, 45(5): 19-26, 32.]
- [39] Huang S, Zhao L, Zhou X L, et al. New alkylamides from pericarps of *Zanthoxylum bungeanum*[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2012, 23(11): 1247-1250.
- [40] 柴丽琴. 花椒油树脂提取、成分分析、抗氧化性及抑菌性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2018. [CHAI Liqin. Study on extraction, composition analysis, oxidation resistance and bacteriostasis of *Zanthoxylum bungeanum* oleoresin[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2018.]
- [41] 叶倩女, 石晓峰, 杨军丽. 花椒属植物中酰胺类成分的结构与功能研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(9): 2406-2418. [YE Qiannü, SHI Xiaofeng, YANG Junli. Research advance on structure and function of amides in *Zanthoxylum* plants[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2023, 48(9): 2406-2418.]
- [42] 高露, 赵镭, 史波林, 等. 川渝地区青花椒的麻感特

- 性分析[J]. *食品科学*, 2024, 45(12): 187-193.
- [GAO Lu, ZHAO Lei, SHI Bolin, et al. Numb taste characteristics of green pepper (*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc.) from Sichuan and Chongqing[J]. *Food Science*, 2024, 45(12): 187-193.]
- [43] 徐珊珊, 张璐璐, 高海燕, 等. 基于超高效液相色谱-质谱的汉源花椒麻味物质构成研究[J]. *中国调味品*, 2018, 43(5): 6-12. [XU Shanshan, ZHANG Lulu, GAO Haiyan, et al. Characterization of pungent components of Hanyuan *Zanthoxylum bungeanum* by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *China Condiment*, 2018, 43(5): 6-12.]
- [44] 王锐清, 郭盛, 段金彪, 等. 花椒果实不同部位及其种子油资源性化学成分分析与评价[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(15): 2781-2789. [WANG Ruiqing, GUO Sheng, DUAN Jin'ao, et al. Analysis and evaluation of resourceful chemical compositions in different parts of *Zanthoxylum bungeanum* fruit and its seed oil[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(15): 2781-2789.]
- [45] 周孟焦. 竹叶花椒中黄酮类物质提取及抗氧化性研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2021. [ZHOU Mengjiao. Study on extraction of flavonoids from *Zanthoxylum armatum* DC. and its antioxidant activity[D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2021.]
- [46] 周孟焦, 何鑫柱, 李朝俊, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的竹叶花椒果皮中黄酮类成分分析[J]. *食品工业*, 2023, 44(2): 308-311. [ZHOU Mengjiao, HE Xinzhu, LI Chaojun, et al. Analysis of flavonoids in the peel of *Zanthoxylum armatum* DC. by UPLC-Q-TOF-MS[J]. *The Food Industry*, 2023, 44(2): 308-311.]
- [47] Bitchagno G T M, Tankeo S B, Tsopmo A, et al. Lemairones A and B: Two new antibacterial tetraflavonoids from the leaves of *Zanthoxylum lemairei* (Rutaceae)[J]. *Phytochemistry Letters*, 2015, 14: 1-7.
- [48] Hu H C, Fei X T, He B B, et al. Integrated analysis of metabolome and transcriptome data for uncovering flavonoid components of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaves under drought stress[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 8: 801244.
- [49] Karanjalkar G R, Karanjalkar A G, Waman A A. Profiling of phenolic compounds in fruit pericarp of *Zanthoxylum rhetsa* (roxb.) DC[J]. *National Academy Science Letters*, 2022, 45(4): 307-310.
- [50] 翟小雪. 竹叶花椒和中药阿魏的化学成分及生物活性研究[D]. 兰州: 西北民族大学, 2023. [ZHAI Xiaoxue. Studies on chemical constituents and biological activities of *Zanthoxylum armatum* DC. and asafetida[D]. Lanzhou: Northwest University for Nationalities, 2023.]
- [51] 边甜甜, 辛二旦, 张爱霞, 等. 花椒生物碱提取、含量测定及药理作用研究概述[J]. *中国中医药信息杂志*, 2018, 25(11): 135-137. [BIAN Tiantian, XIN Erdan, ZHANG Aixia, et al. Review of extraction, content determination and physiological activity of alkaloids from *Zanthoxyli* pericarpium[J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2018, 25(11): 135-137.]
- [52] 孟亚琴, 王雅, 郭涛. 花椒生物碱活性成分研究现状[J]. *中国食品工业*, 2022(10): 110-113.
- [53] 袁海梅, 邱露, 谢贞建, 等. 花椒属植物生物碱类成分及其药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(23): 4573-4584. [YUAN Haimei, QIU Lu, XIE Zhenjian, et al. Research progress on alkaloids constituents from *Zanthoxylum* and their pharmacological activities[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(23): 4573-4584.]
- [54] 刘锁兰, 魏璐雪, 王动, 等. 青花椒化学成分的研究[J]. *药学学报*, 1991, 26(11): 836-840. [LIU Suolan, WEI Luxue, WANG Dong, et al. Studies on the chemical constituents from the peel of *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc.[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1991, 26(11): 836-840.]
- [55] 任振华. 不同种质花椒生物碱的含量分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013. [REN Zhenhua. Analysis of alkaloids in different germplasms of *Zanthoxylum bungeanus*[D]. Xianyang: Northwest Agriculture and Forestry University, 2013.]
- [56] Osborne T B. The vegetable proteins[M]. 2d ed. London: Longmans, Green and co., 1924: 154-156.
- [57] 瞿瑗, 余国贤, 黎杉珊, 等. Osborne 法分级提取青花椒籽蛋白质及其理化性质研究[J]. *核农学报*, 2018, 32(12): 2373-2379. [QU Yuan, YU Guoxian, LI Shanshan, et al. Physicochemical properties of proteins isolated from *Zanthoxylum armatum* DC. seed using Osborne extract method[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(12): 2373-2379.]
- [58] 李超. 花椒籽仁分离蛋白的制备及性质研究[D]. 雅安: 四川农业大学 2019. [LI Chao. Study on pre-

- paration and properties of protein isolate from *Zanthoxylum bungeanum* seed kernel[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2019.]
- [59] 吕俊霞. 花椒籽蛋白提取及体外模拟消化产物的鉴定与分析 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2023. [LÜ Junxia. Extraction of *Zanthoxylum* seed protein and identification and analysis of simulated digested products *in vitro*[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2023.]
- [60] 吴红洋. 花椒籽蛋白降血压肽的制备及性质研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2015. [WU Hongyang. The research on preparation and characterization of antihypertensive peptides from prickly ash (*Zanthoxylum bungeanum*) seed-protein[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2015.]
- [61] 姜太玲. 花椒籽蛋白抗菌肽的制备及其性质研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2015. [JIANG Tailong. Preparation and characteristics of antimicrobial peptides from prickly ash (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.) seed protein[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2015.]
- [62] 杨秀芳, 龙园园, 吴妍, 等. 花椒属植物活性成分的研究进展 [J]. *食品科学*, 2018, 39(19): 303-312. [YANG Xiufang, LONG Yuanyuan, WU Yan, et al. Recent progress in research on active components of *Zanthoxylum* L.[J]. *Food Science*, 2018, 39(19): 303-312.]
- [63] 张涛, 吕双, 贾红梅, 等. 花椒果皮中糖苷类化学成分研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2021, 56(8): 626-632. [ZHANG Tao, LÜ Shuang, JIA Hongmei, et al. Glycosides from the pericarps of *Zanthoxylum bungeanum*[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2021, 56(8): 626-632.]
- [64] 刘子怡. 花椒多糖的分离纯化及抗氧化活性的研究 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2023. [LIU Ziyi. Fractionation and antioxidant activities of the water-soluble polysaccharides from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2023.]
- [65] 王文君, 刘继华, 侯志华, 等. 河南花椒主产区花椒质量评价 [J]. *河南林业科技*, 2023, 43(3): 5-8. [WANG Wenjun, LIU Jihua, HOU Zhihua, et al. Quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* in the main production areas of Henan *Zanthoxylum bungeanum*[J]. *Journal of Henan Forestry Science and Technology*, 2023, 43(3): 5-8.]
- [66] 国家林业局. 花椒质量等级: LY/T 1652—2005[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006. [State Forestry Administration of the People's Republic of China. Quality classify of prickly ash: LY/T 1652—2005[S]. Beijing: Standards Press of China, 2006.]
- [67] 郭伟珍, 赵京献, 李军集. 花椒产品质量分级标准研究 [J]. *林业科技*, 2020, 45(5): 45-48. [GUO Weizhen, ZHAO Jingxian, LI Junji. Study on the quality grading standard of *Zanthoxylum bungeanum* products[J]. *Forestry Science & Technology*, 2020, 45(5): 45-48.]
- [68] 董静, 吕肖楠. 紫外分光光度法在食品检测及食品安全分析中的应用 [J]. *食品安全导刊*, 2022(2): 151-153. [DONG Jing, LÜ Xiaonan. Application of ultraviolet spectrophotometry in food detection and food safety analysis[J]. *China Food Safety Magazine*, 2022(2): 151-153.]
- [69] 马伟, 钟慈平, 何成军, 等. 花椒及花椒制品中羟基- α -山椒素检测方法 [J]. *食品工业*, 2022, 43(9): 65-70. [MA Wei, ZHONG Ciping, HE Chengjun, et al. The determination of hydroxyl- α -santhoxylin in *Zanthoxylum* and its products[J]. *The Food Industry*, 2022, 43(9): 65-70.]
- [70] 陈茜. 竹叶花椒质量标准研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019. [CHEN Xi. Research on the quality standard of *Pericarpium Zanthoxyli armati*[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019.]
- [71] 汪洋. 紫外可见分光光度计波长检定中问题的探究 [J]. *技术与市场*, 2020, 27(8): 92, 94.
- [72] 宝泉, 包沙日勒敖都, 马俊杰, 等. 高效液相色谱仪在食品检测中的应用 [J]. *现代食品*, 2023, 29(16): 42-44. [BAO Quan, BAO Sharileaoodu, MA Junjie, et al. Application of high performance liquid chromatography in food detection[J]. *Modern Food*, 2023, 29(16): 42-44.]
- [73] 祝磊, 陈茜, 黎江华, 等. 不同藤椒商品风味成分的分析研究 [J]. *中国调味品*, 2019, 44(1): 141-146. [ZHU Lei, CHEN Xi, LI Jianghua, et al. Analysis and research on the flavor components of different *Zanthoxylum armatum* DC. commodities[J]. *China Condiment*, 2019, 44(1): 141-146.]
- [74] 杨清山, 翟彦伟, 栗星, 等. 花椒及其提取物中花椒麻素的 HPLC 测定方法 [J]. *食品工业*, 2019, 40(8): 328-332. [YANG Qingshan, ZHAI Yanwei, LI Xing, et al. The determination method of sanshool in Sichuan pepper and its extract by HPLC[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(8): 328-332.]

- [75] 杨慧. 高效液相色谱仪在食品检测中的应用[J]. 中国食品工业, 2023(18): 82-84, 87.
- [76] 王多加, 周向阳, 金同铭, 等. 近红外光谱检测技术在农业和食品分析上的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(4): 447-450. [WANG Duoia, ZHOU Xiangyang, JIN Tongming, et al. Application of near-infrared spectroscopy to agriculture and food analysis[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2004, 24(4): 447-450.]
- [77] 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(5): 122-125. [LI Yang, WEI Anzhi, YANG Tuxi, et al. Nondestructive detection of alkaloids and volatile oil content in *Zanthoxylum bungeagum* Maxim. by near infrared spectroscopy[J]. The Food Industry, 2012(5): 122-125.]
- [78] 范林宏. 基于便携式近红外光谱仪的川产道地药材川贝母及花椒质量快速评价研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2021. [FAN Linhong. The research on rapid quality evaluation of Sichuan genuine medicinal materials *Fritillariae Cirrhosae* and *Zanthoxyli pericarpium* based on portable near-infrared spectrometer[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2021.]
- [79] 吴任之, 何小容, 陈波, 等. 近红外光谱技术检测粮食中真菌毒素的研究进展[J]. 粮食问题研究, 2024(2): 22-26.
- [80] 陈小姝, 吕永超, 李美君, 等. 基于电子舌技术的鲜食花生籽仁味觉智能分析[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(5): 896-906. [CHEN Xiaoshu, LÜ Yongchao, LI Meijun, et al. Taste intelligence analysis of fresh edible peanut kernel based on electronic tongue technology[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2023, 45(5): 896-906.]
- [81] 张擎, 杨晓婧, 金鑫宁, 等. 基于电子鼻和电子舌与1D-CNN-LSTM模型的花椒产地快速溯源检测[J]. 传感技术学报, 2024, 37(5): 904-912. [ZHANG Qing, YANG Xiaojing, JIN Xinning, et al. Rapid traceability detection of *Zanthoxylum bungeanum* origin based on electronic nose and electronic tongue with 1D-CNN-LSTM model[J]. Chinese Journal of Sensors and Actuators, 2024, 37(5): 904-912.]
- [82] 白杰, 高利利, 张志勤, 等. 电子舌技术的原理及在中药领域的应用[J]. 中南药学, 2021, 19(1): 78-84. [BAI Jie, GAO Lili, ZHANG Zhiqin, et al. Application and related mechanism of electronic tongue technology in traditional Chinese medicine[J]. Central South Pharmacy, 2021, 19(1): 78-84.]
- [83] 袁小钧, 钟世荣, 易宇文, 等. 花椒水煮过程麻味变化评价研究[J]. 食品科技, 2020, 45(3): 285-290. [YUAN Xiaojun, ZHONG Shirong, YI Yuwen, et al. Study on numbing taste changes of Chinese prickly ash during boiling[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(3): 285-290.]
- [84] 王素霞. 花椒酰胺电子舌响应规律及其应用研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2014. [WANG Suxia. Exploration and application to response rules of alkylamides in *Zanthoxylum bungeanum* based on electronic tongue[D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2014.]
- [85] Gao L, Shi B L, Zhao L, et al. Aroma characteristics of green Huajiao in Sichuan and Chongqing area using sensory analysis combined with GC-MS[J]. Foods, 2024, 13(6): 836.
- [86] 范鑫玉, 吉田, 笔雪艳, 等. 中药指纹图谱分类及评价概述[J]. 黑龙江医药, 2023, 36(6): 1254-1258. [FAN Xinyu, JI Tian, BI Xueyan, et al. Overview of the classification and evaluation of fingerprints of traditional Chinese medicines[J]. Heilongjiang Medicine Journal, 2023, 36(6): 1254-1258.]
- [87] 迟东泽, 马玉芯, 郭鑫. 指纹图谱技术在动物药质量评价中的应用进展[J]. 人参研究, 2023, 35(6): 52-55. [CHI Dongze, MA Yuxin, GUO Xin. Application progress of fingerprint technology in quality evaluation of animal drugs[J]. Ginseng Research, 2023, 35(6): 52-55.]
- [88] 唐文文. 多指标成分与生物活性相结合的当归品质综合评价[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023. [TANG Wenwen. Comprehensive evaluation for quality of *angelicae sinensis radix* by combining multiple indicator components and biological activities[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023.]
- [89] 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 Tiantian, SI Xinlei, NIU Jiangtao, et al. GC-MS fingerprint and quantitative analysis of different processed products of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2021, 36(4): 2050-2056.]
- [90] 娄丽, 胡伯凯, 王忠伟, 等. 基于高效液相色谱法构建贵州青花椒指纹图谱及聚类分析[J]. 中国食品

- 添加剂, 2023, 34(8): 253-260. [LOU Li, HU Bokai, WANG Zhongwei, et al. Establishment of HPLC fingerprints and cluster analysis of *Zanthoxylum armatum* from Guizhou[J]. China Food Additives, 2023, 34(8): 253-260.]
- [91] 叶洵. 花椒质量评价及保质期研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2022. [YE Xun. Study on quality evaluation and shelf life of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2022.]
- [92] Kasimu N, Yu D M, Sun L W, et al. Development of 1H-NMR methods for quantitative determination of alkylamides in *Zanthoxylum bungeanum* and quality evaluation based on its fingerprint[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(9): 3951-3963.
- [93] Chen J, Sun M, Peng H. Analysis and discussion on influencing factors of Prickly ash quality[J]. *Modern Food*, 2019(2): 74-76.
- [94] He P Y, Zhang C L, Yang Y S, et al. Spectrum-effect relationships as an effective approach for quality control of natural products: a review[J]. *Molecules*, 2023, 28(20): 7011.
- [95] 杨悦, 冯靖雯, 陈鸿平, 等. 竹叶花椒黄酮类成分含量及抗氧化活性相关性分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1809-1817, 1935. [YANG Yue, FENG Jingwen, CHEN Hongping, et al. Correlation analysis of flavonoids content and antioxidant activity of *Zanthoxylum armatum* DC.[J]. Natural Product Research and Development, 2021, 33(11): 1809-1817, 1935.]
- [96] 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]. 绵阳: 西南科技大学, 2022. [HE Xinzhu. Study on spectrum-effect relationship of antioxidant activity of flavonoids from *Zanthoxylum armatum* DC.[D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2022.]
- [97] 赵容, 张萌萌, 陈茜, 等. 基于 DPPH、ABTS 法的竹叶花椒抗氧化谱效关系研究 [J]. *中国调味品*, 2020, 45(5): 7-12. [ZHAO Rong, ZHANG Mengmeng, CHEN Xi, et al. Research on spectra-effect relationship of antioxidant activity of *Zanthoxylum armatum* DC. based on DPPH and ABTS methods[J]. *China Condiment*, 2020, 45(5): 7-12.]
- [98] 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 Shengnan. Antitumor active ingredients identification from *Zanthoxylum* essential oil based on composition-activity relationship[D]. Tianjin: Tianjin University, 2014.]
- [99] 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 Linlin, NIU Chendong, LU Yiran, et al. Research progress on the spectrum-effect relationships of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Qiqihar Medical University*, 2022, 43(4): 379-383.]
- [100] Xu G L, Xie M, Yang X Y, et al. Spectrum-effect relationships as a systematic approach to traditional Chinese medicine research: current status and future perspectives[J]. *Molecules*, 2014, 19(11): 17897-17925.