

文章编号: 1674-7054(2013)03-0266-10

果实香气物质的研究进展

黎源^{1,2} 董涛¹

(1. 广东省农业科学院 果树研究所, 广东广州 510640; 2. 江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 对果实香气物质的研究方法、主要芳香物质鉴定、芳香物质生物合成途径、影响果实芳香物质形成的因素以及相关合成的分子调控机理等5个阶段进行了简要的概述与展望。

关键词: 果实香气; 芳香物质; 合成途径; 调控机理; 影响因素

中图分类号: Q 946

文献标志码: A

香气是果实风味品质的重要指标之一, 芳香的果品更能吸引消费者, 更具市场竞争力。随着国内外市场对果实品质要求的不断提高, 果实香气研究备受关注, 已成为果实品质研究的重要领域之一^[1-2]。果实芳香的气味能通过刺激人鼻腔内的上表皮毛使人产生愉快舒适的感觉, 香气对人体的生理机能和心理起平衡作用, 与人类健康、营养关系极其密切^[3]。通常人们将果实中所有可以测到的挥发性物质看作果实的香气物质, 但多数挥发性物质在果实中含量较低, 不能被人的嗅觉器官所感知。因此, 对于果实香气物质的研究, 主要集中在那些呈香性强且对人的嗅觉器官起作用的物质^[4]。香气值(Odor value, OV)是挥发性物质的浓度与其阈值之比(即香气值=香味物质的浓度/阈值)。可依据化合物的香气值来划分香气物质对果实香气的贡献。果实香气物质中具有比较高香气值的物质称为特征芳香物质, 特征香气物质含量越高, 果实的风味越浓郁^[5]。近年来, 随着精密仪器的出现和应用, 人们对果实芳香物质的研究也愈来愈深入。果实芳香物质的研究主要经历了不同组分分析、特征芳香物质鉴定、芳香物质生物合成途径、影响果实芳香物质的因素、基因调控等阶段^[1, 6-9]。随着分子生物学研究与先进香气检测技术的结合, 果实芳香物质合成相关的代谢途径及其相关的分子机理研究取得了一些突破。因此, 笔者对近年来果实香气物质的研究进行了综述, 旨在为果实香气理论研究提供参考。

1 果实香气物质的研究方法

果实香气因其看不见、摸不着, 所以其研究不同于其他品质因素的研究。比如, 对某样品进行化学分析, 通常包括挥发性物质的提取与收集、分离定性、定量统计分析等几个环节^[10]。为了使实验结果有较好的重现性和准确性, 其中每一个环节都至关重要。

1.1 果实香气物质的提取与收集 目前, 果实香气物质提取与收集的方法主要有: 同时蒸馏萃取法(Simultaneous Distillation Extraction, SDE)、溶剂萃取法(Solvent Extraction, SE)、顶空进样法(Headspace, HS)、超临界萃取法(Supercritical Fluid Extraction, SFE)和固相微萃取法(Solid Phase Microextraction, SPME)等, 其中目前使用最普遍的是固相微萃取法^[11]。20世纪90年代初, 由加拿大 Waterloo 大学的 ARHTURHE 和 PAWLISZYN 首创的 SPME 法, 经过近些年的发展, 这种新型的样品前处理技术, 已经被越

收稿日期: 2013-06-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201588); 广东省农业科学院院长基金项目(201209)

作者简介: 黎源(1988-), 男, 湖南株洲人, 江西农业大学农学院 2011 级硕士研究生。

通信作者: 董涛, 博士, E-mail: taod2004@163.com

来越多的分析工作者运用^[2]。SPME法具有操作简便、无需有机溶剂、便于实现自动化、分析范围广(几乎可用于气体、液体和固体等样品中各类挥发性或半挥发性物质的分析)、能与多种分析仪器联用等诸多优点,已在化学分析的各个领域中得到成功的应用^[1,10,12]。

在固相微萃取装置中关键部件是SPME萃取头上涂布的材料,可供SPME萃取头涂层选择的纤维材料有很多,其中已被应用到果实香气物质分析的纤维材料有:PA(聚丙烯酰胺)、PDMS(聚二甲基硅氧烷)、CAR-PDMS(羧化聚二甲基硅氧烷)、PDMS-DVB(聚二甲基硅氧烷、二苯乙烯)、CW/DVB(聚乙二醇/二乙烯基苯)、DVB/CAR/PDMS(二乙烯基苯/羧乙基/聚二甲基硅氧烷)等^[10,12-13]。不同涂布材料的萃取头对同种类挥发性物质的吸附性存在差异。2007年,朱虹等^[13]采用固相微萃取技术研究香蕉不同黄熟阶段的香气成分,结果发现:香蕉的绿熟阶段分析测定宜采用DVB/CAR/PDMS型萃取头,黄熟阶段采用PDMS型萃取头,过熟阶段采用CW/DVB型萃取头。

1.2 果实香气物质的鉴定与分析 果实香气物质的鉴定由定性和定量分析组成。根据实验的目的,在完成果实挥发性物质提取后,需选取适宜的分析仪器对其进行分析,如:气相色谱(GC)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)、液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)、气相色谱-嗅觉测量法(Gas Chromatography-Olfactometry, GC-O)等^[1,10]。其中GC-MS能实现多组分混合物的一次定性、定量分析,因此在挥发性成分的分析中占有十分重要的地位^[2,14]。目前,国内外的学者尝试了一些新技术对挥发性成分进行检测,例如:核磁共振、紫外光谱、全二维气相色谱(Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography, GC×GC)、气相色谱串联质谱(Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, GC-MS-MS)技术等^[2,14]。但是,目前果实香气物质的定性分析还是以GC-MS技术为主,GC-MS具有高灵敏度、分离效果好及量程宽等特点^[10]。

SPME与GC-MS技术联用,不仅可以作为挥发性物质的定性分析,而且还可以对其进行定量分析,且结果相对于光谱、质谱等现代分析仪器更准确。在运用SPME与GC-MS联用技术对挥发性物质进行定量分析时,通常有3种定量计算方法:即峰面积归一化法、内标法和外标法^[10,14]。目前,大多数科研工作者通常采用峰面积归一化法(即计算各香气组分的百分比),对某个香气物质进行相对定量;在没有标样或标样较少时,可采用内标法进行半定量分析,但应注意内标物与样品的挥发性相似,且不能与其发生任何化学反应;若能获得足够多的标样,采用外标法进行定量分析更准确^[14]。SPME与GC-MS联用技术已被广泛应用于果实香气物质研究中,例如:香蕉、猕猴桃、葡萄、芒果、番茄、桃、苹果、草莓等^[1-2,6,9]。

2 果实香气物质和几种水果主要香气成分

随着近代检测仪器和技术的发展,加快了鉴定挥发性物质种类及准确性的步伐。目前,从不同的果实中已鉴别出来的挥发性物质约有2000种,从化学结构的不同功能基团区分主要有:酯类、醇类、醛类、酚类、醚类、萜类以及部分含硫化合物等^[2]。例如,果香型苹果的果香由350多种挥发性物质组成,其中主要是醛类、醇类、酯类物质^[2]。

虽然一种果实香气有数百种挥发性物质,但只有其中的小部分高于嗅觉感知的最低值,即某物质的香气值大于 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11]。因此,对果实香气物质的研究主要集中在那些呈香性强且能被嗅觉器官感知的物质。不同的水果散发出不同的香气,人们仅通过香气便能识别是那一类水果,比如:榴莲的香气具有很高的识别度,甚至在较大的范围内都能闻到并识别出来。14种常见水果果实的主要香气物质见表1。

3 果实香气物质的主要合成途径及相关酶

绝大多数风味物质的形成都是在植物特定组织中进行的,分离植物组织亚细胞结构技术的发展对研究风味物质的合成及其调控具有重大的作用^[10]。果实香气物质属于果实次生代谢产物,主要以脂肪酸、氨基酸、碳水化合物等果实中基本物质为前体物质或底物,在果实生长和发育过程中经过一系列酶的作用形成的化合物^[2]。主要有以下3种:脂肪酸代谢途径、氨基酸代谢途径、碳水化合物代谢途径^[2,10]。在这3种代谢途径中,主要涉及3种关键性酶:甲基转移酶、乙酰基转移酶以及萜类合成酶^[2,10]。植物体内挥发性物质生物合成的主要途径见图1。

表 1 14 种常见果实的主要香气成分

Tab. 1 Main aroma components in several fruit trees of fruit

| 水果 Fruits | 挥发性成分种类 Kinds of volatile component | 香气种类 Aroma classification | 主要香气成分 Main aroma components | 感官效果 Sensory effect | 参考文献 Reference |
|------------------|---|---|---|--|-------------------|
| 苹果 Apple | 350 多种 Over 350 | 酯类 Esters 醛类 Aldehydes 醇类 Alcohols | 乙酸乙酯, 乙酸丁酯, 3-甲基丁酯, 乙酸异戊酯, 2-甲基丁酸乙酯, 丁酸乙酯, 己醛, 丙醇, 2-甲基丁醇, 正丁醇, 异丙醇, 2-甲基戊烷, 3-甲基戊烷, 丙酮 Ethyl acetate, Butyl acetate, 3-Methyl ester, Isoamyl acetate, Ethyl-2-methylbutyrate, Ethyl butyrate, Hexanal, 1-Propanol, 1-Butanol-2-methyl, Butyl alcohol, Isopropyl alcohol, Pentane-2-methyl, Pentane-3-methyl, Acetone | 果香型 Fruity type | [2, 15-19] |
| 柑橘 Citrus | 200 多种 Over 200 | 酚类 Phenols 醚类 ethers 酮类 Ketones 萜类 Terpenes | 麝香草酚, 三甲苄基甲基醚, 芳樟醇, 柠檬烯 Thymol, Trimethyl benzyl methyl ether, Linalool, 2-Propenoic acid | 果香型 Fruity type 花香型 Floral type | [2, 10, 18] |
| 葡萄 Grape | 460 多种 Over 460 | 酯类 Esters 萜类 Terpenes | 邻氨基苯甲酸甲酯, 甲酸乙酯, 芳樟醇, 香叶醇, 芹子烯, 橙花醇, 香茅醇, 金合欢醇, 乙酸乙酯, 己酸乙酯, 橙花醇乙酸酯, 乙酸苯乙酯, 异丁醇, 邻苯二甲酸二异辛酯, 谷甾醇, 反-2-己烯醛, 邻苯二甲酸二丁酯, N,N-二甲基甲酰胺, 十六碳酸, 17-三十五烯 Methyl anthranilate, Ethyl formate, Linalool, Geraniol, selinene, cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienol, Citronellol, (E,E)-Farnesol, Ethyl acetate, Ethyl caproate, Neryl acetate, Phenethyl acetate, 2-Methyl-1-propanol, Diisooctyl phthalate, Stigmat-5-en-3-ol, trans-2-Hexenal, Dibutyl phthalate, N,N-Dimethylformamide, Palmitic acid, 17-Pentatriacontene | 果香型 Fruity type 花香型 Floral type | [2, 20-21] |
| 香蕉 Banana | 230 多种 Over 230 | 酯类 Esters 醇类 Alcohols 羰基化合物 carbonyl compounds | 丁子香酚, 丁子香酚甲醚, 榄香素, 黄樟素, 乙酸戊酯, 乙酸丁酯, 异戊酸异戊酯 Eugenol, Eugenol methyl ether, Elemicin, Safrole, banana oil, Butyl acetate, Isopentyl isopentanoate | 果香型 Fruity type | [2, 18] |
| 桃 Peach | 110 多种 Over 110 | 醇类 Alcohols 醛类 Aldehydes 内酯类 Lactones | 叶醇, 反式-2-己烯醛, 苯甲醛, 乙酸己酯, 乙酸-(2反)-己烯酯, 己醇, 辛醇, γ -八内酯, γ -十内酯, δ -十内酯, δ -十一内酯 Leaf alcohol, trans-2-Hexenal, Benzaldehyde, Hexyl acetate, trans-2-Hexenyl acetate, Hexyl alcohol, Catalpol, γ -Octalactone, γ -Decalactone, δ -Decalactone, δ -Undecalactone | 青香型 Green type 甜香型 Sweet type | [2, 18, 22-24] |
| 芒果 Mango | 400 多种 Over 400 | 萜类 Terpenes | α -蒎烯, 异松油烯, β -萜烯, 顺式- β 罗勒烯, 柠檬烯, 苯甲醛, 二甲基苯乙烯, 乙酸乙酯, α -葎草烯, β -蒎烯, 苯乙酮 α -Pinene, Terpinolene, 3-Carene, cis- β -Ocimene, 2-Propenoic acid, Benzaldehyde, alpha,2-Dimethylstyrene, Ethyl acetate, α -Humulene, β -Selinene, Acetophenone | 花香型 Floral type | [18, 25-26] |
| 草莓 Strawberry | 200 多种 Over 200 | 酯类 Esters 醇类 Alcohols 醚类 ethers 羰基化合物 carbonyl compounds | 4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮, 4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮, 2-甲基丁酸乙酯, 己酸乙酯, 顺式-3-己烯醇, 芳樟醇, 4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮, 乙基-2-甲基丁酸酯, 乙基丙酸酯, 顺式-3-己烯醇, 柠檬烯 Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone, 4-Methoxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone, Ethyl-2-methylbutyrate, Ethyl caproate, Cis-3-Hexenol, Linalool | 果香型 Fruity type | [6, 18, 27] |

续表1 Continued

| 水果 Fruits | 挥发性成分种类 Kinds of volatile component | 香气种类 Aroma classification | 主要香气成分 Main aroma components | 感官效果 Sensory effect | 参考文献 Reference |
|----------------------|---|--|---|--|-------------------|
| 菠萝 Pineapple | 120 多种 Over 120 | 酯类 Esters | 己酸甲酯,己酸乙酯,3-甲硫基丙酸甲酯,3-甲硫基丙酸乙酯,3-羟基己酸甲酯 Methyl hexanoate, Ethyl caproate, Methyl-3-methylthiopropionate, Ethyl-3-methylthiopropionate, Methyl-3-hydroxycaproate | 果香型 Fruity type | [2,18] |
| 木瓜 Papaya | 50 多种 Over 50 | 萜类 Terpenes 酯类 Esters 内酯类 lactones | α -法呢烯,乙酸异丁酯,丁酸丁酯,己酸乙酯,辛酸异丁酯,己酸己酯,辛酸丁酯 α -farnesene, Isobutyl acetate, Butyl butyrate, Ethyl caproate, 2-Methylpropyl octanoate, Hexyl hexanoate, Butyl n-octanoate | 甜香型 Sweet type | [28] |
| 番茄 Tomato | 400 多种 Over 400 | 醇类 Alcohols 醛类 Aldehydes 内酯类 lactones | n-丁醇, n-戊醛,苯甲醛, γ -丁内酯, γ -辛内酯 n-Butanol, n-Amyl aldehyde, Benzaldehyde, γ -Butyrolactone, Gamma-octanoic lactone | 青香型 Green type 甜香型 Sweet type | [1-2] |
| 树莓 Raspberry | 200 多种 Over 200 | 萜类 Terpenes 酮类 Ketones 醛类 Aldehydes 酯类 Esters 醇类 Alcohols | 对-羟基苯基-2-丁酮(树莓酮),苯甲醛, α -紫罗酮, β -紫罗酮, α -蒎烯, β -石竹烯,香叶醇, γ -萜品烯,反式- β -罗勒烯,乙酸乙酯,庚酸乙酯,2-甲基丁醇 Raspberry ketone, Benzaldehyde, α -Ionone, β -Ionone, α -Pinene, β -Caryophyllene, Geraniol, γ -Terpinene, trans- β -Ocimene, Ethyl acetate, Ethyl heptanoate, 1-Butanol 2-methyl | | [7,29-30] |
| 杏 Apricot | 100 多种 Over 100 | 酯类 Esters 内酯类 lactones 醇类 Alcohols 醛类 Aldehydes 酮类 Ketones 酸类 Acids | 紫罗酮,芳樟醇,葵内酯,环柠檬醛,苯乙醛,辛内酯 Ionone, Linalool, Sunflower, Cyclociral, Phenylacetaldehyde, Caprylolactone | 果香型 Fruity type | [31-33] |
| 梨 Pear | 120 多种 Over 120 | 酯类 Esters 醇类 Alcohols 醛类 Aldehydes | 乙酸乙酯,丙酸乙酯,己醇,己醛,丁酸乙酯,乙酸丁酯,反式-2-己烯醛,乙酸己酯,2-甲基丁酸乙酯,癸酸乙酯,辛酸乙酯,己酸乙酯,乙酸辛酯,反-2-顺-4-癸二烯酸乙酯 Ethyl acetate, Ethyl propionate, Hexyl alcohol, Hexanal, Ethyl butyrate, Butyl acetate, trans-2-Hexenal, Hexyl acetate, Ethyl-2-methylbutyrate, Ethyl caprate, Ethyl octanoate, Ethyl caproate, Octyl acetate, Ethyl-2-trans-4-cis-decadienoate | 甜香型 Sweet type | [34-36] |
| 西番莲 Passionflower | 160 多种 Over 160 | 醇类 Alcohols 酚类 Phenols 酯类 Esters 萜类 Terpenes | 叶醇,芳樟醇,松油醇,麦芽酚,乙基麦芽酚,呋喃酮,十二酸甲酯,十四酸乙酯, β -突厥酮,乙酸乙酯,丁酸苄酯,乙酸苄酯,乙酸己酯,己酸己酯,己酸甲酯,乙酸异戊酯,丁酸丁酯,丁酸乙酯 Leaf alcohol, Linalool, Terpeneol, 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone, Ethyl maltol, Furanone, Methyl dodecanoate, Ethyl myristate, β -Damascone, Ethyl acetate, Benzyl butyrate, Benzyl acetate, Hexyl acetate, Hexyl hexanoate, Hexyl acetate, Isoamyl acetate, n-Butyl butyrate | 果香型 Fruity type 花香型 Floral type 甜香型 Sweet type 青香型 Green type | [37-41] |

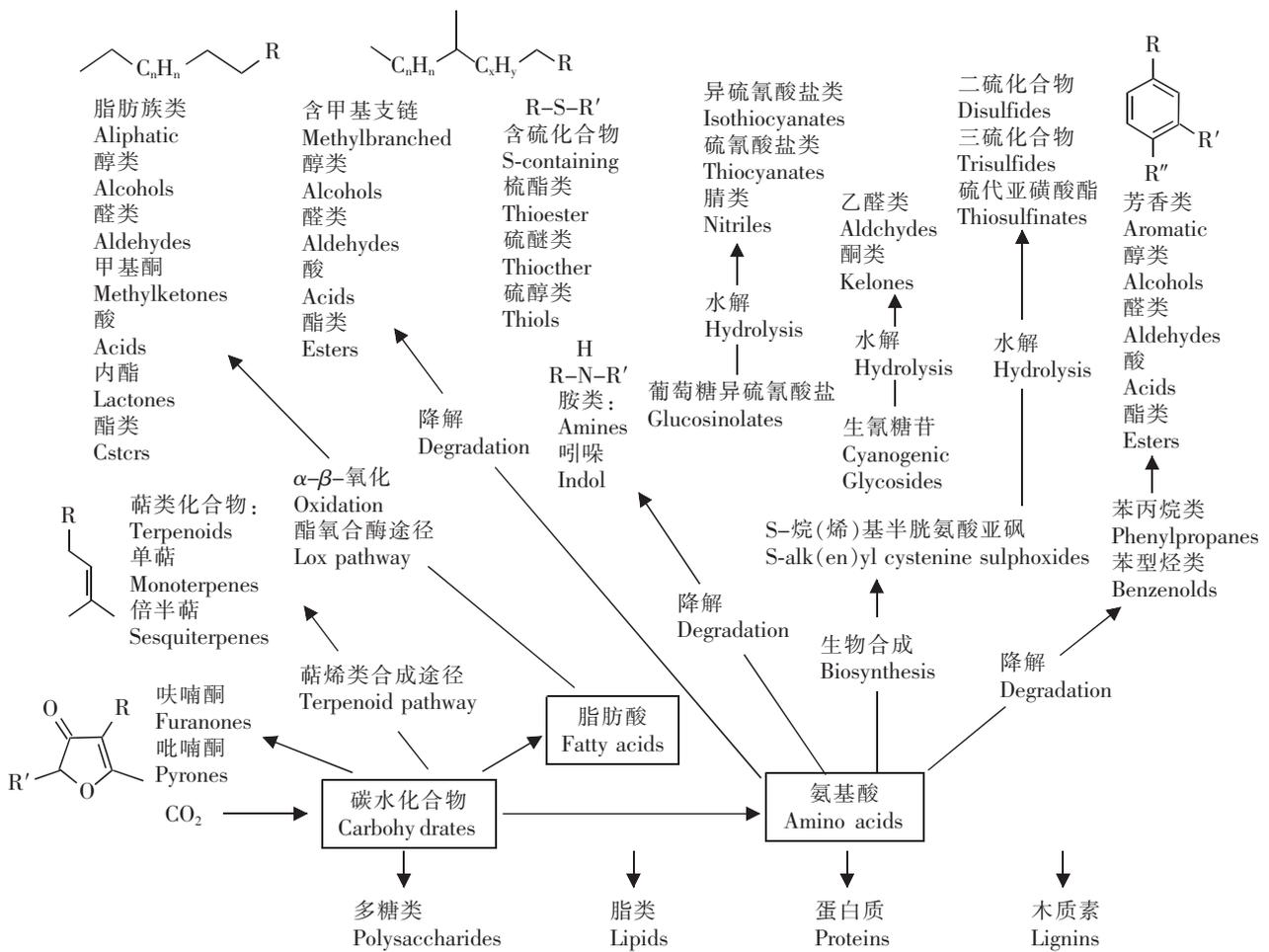


图 1 植物体内挥发性物质的生物合成途径^[8]

Fig. 1 The biosynthetic pathway of volatile compounds in plant^[8]

3.1 脂肪酸代谢途径 果实中支链脂肪族醇、醛、酮和酯类物质,主要来源于脂肪酸代谢途径。植物的脂肪酸代谢途径有脂氧合酶(LOX)途径、 α -氧化作用、 β -氧化作用和 γ -氧化作用等环节。其中,LOX途径是脂肪酸代谢过程中的重要环节^[2,10]。青香型果实香味主要是 C_6 、 C_9 的醛类和醇类物质组成,它们是由前体物质脂肪酸经LOX途径逐步过氧化、裂解和还原作用形成的^[2,10]。

LOX途径形成短支链的醇和醛类物质的过程中至少有脂氧合酶(Lipoxygenase, LOX)、氢过氧化物裂解酶(Hydroperoxid Lyase, HPL)和乙醇脱氢酶(Alcohol Dehydrogenase, ADH)这3种关键性酶参与反应^[2]。脂氧合酶(LOX)是含有非血红素离子的双加氧酶,只识别不饱和脂肪酸亚麻酸(Linolenic Acid)和亚油酸(Linoleic Acid)的1,4-异二烯结构,使其形成过氧羟基脂肪酸^[2,10,42-43]。果实在生长初期,LOX与亚麻酸和亚油酸这2种底物是分开的,果实在成熟过程中细胞膜及细胞壁的通透性增加,LOX催化氧化其底物,再经HPL分解LOX的产物形成含氧酸及 C_6 、 C_9 等挥发性醛类物质, C_6 、 C_9 等醛类物质继续被ADH作用生成相应的醇^[2,10,44],这些醇类物质又通过乙酰基转移酶(Alcohol Acetyl Transferase, AAT)代谢生成相应的酯类,这在橄榄、苹果的香气成分中得到了验证^[10]。

内酯(Lactone)也是脂肪酸代谢途径中一类重要的产物,约占脂肪酸形成的挥发性产物的1/3^[2]。内酯是一些果实中特征的香气成分,构成了其特殊的香味物质,例如芒果、桃、木瓜、草莓等果实^[2,6,26,28,45]。

3.2 氨基酸代谢途径 果实香气的挥发性成分中都含有碳素低的醇、酸和酯类等化合物。生物合成这些挥发性物质的底物有很大一部分是来自氨基酸。氨基酸代谢途径可产生脂肪族和支链芳香族的醇类,

以及羰基化合物、酯类和酸类。一些果实呈现果香型和酯香型的特征香气成分,多数是氨基酸代谢途径产生的。参与香气物质合成的氨基酸主要有丙氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和天冬氨酸等^[2,10,45]。

氨基酸经过转氨作用形成支链酮酸,再经脱羧或脱氢作用形成支链醇和酰基-CoA,最终再经过一系列酶催化反应形成各种酯类和酮类物质^[10]。转氨作用和脱羧基作用这两步反应涉及到的关键酶,分别是转氨酶和丙酮酸脱氢酶^[2,10]。氨基酸代谢合成途径中酶活性及底物的专一性,决定了果实香气物质在种类和含量上的差异^[2,10]。TRESSL和DRAWERT用¹⁴C标记香蕉果实,结果表明,亮氨酸转化为3-甲基丁酯、3-甲基-1-丁醇、3-甲基丁酸;缬氨酸转化为乙酸-2-甲基丙酯、2-甲基-1-丙醇、酮异戊酸^[2,10,17]。丁子香酚和丁子香甲醚等香蕉中的特征香气物质,是以芳香族氨基酸中的络氨酸和苯丙氨酸为前体物质形成的酚和醚,丁子香酚和丁子香甲醚的含量随香蕉成熟度的增加呈正相关性,苯丙氨酸含量变化则明显减小^[2]。ITAY等用苯丙氨酸饲喂跃变型和非跃变型甜瓜果实,结果显示,甜瓜果实中的苯乙醛和其他由苯丙氨酸代谢形成的香气物质含量显著增加^[46]。榄香素也是香蕉特征香气物质之一,其前体为5-甲基丁子香酚,草莓、葡萄香气成分中含有桂皮酸酯,它们则是以酪氨酸、苯丙氨酸等这类的芳香族氨基酸为前体生物合成的^[17]。草莓中氨基酸作为主要的前体物质,确保了草莓醇酰基转移酶(SAAT)的乙酰基供体多样,通过SAAT酶催化乙酰基和醇可以产生多种不同的香气物质,一般不同前体物质生成的香气成分也不同^[47]。PÉREZ在草莓离体培养的培养基中加入异亮氨酸,能促使2-甲基丁基酯类香气成分含量提高2倍^[47]。

3.3 碳水化合物代谢途径 经碳水化合物代谢途径产生的挥发性物质,主要是通过萜类合成途径完成,该途径合成的绝大多数单萜物质和部分半萜物质,都是很多花和果实香气成分的主要物质。呋喃酮也是碳水化合物代谢途径的典型代表,但目前只在少数几种植物中检测到,并且仅存在果实的挥发性物质中,例如葡萄果实^[2,8,10]。

萜类化合物包括开链萜和环萜,是柑橘、葡萄等果实中重要的香气成分^[2,10,48]。萜类合成途径可以产生初级代谢物和次级代谢物,这些代谢产物不仅对植物的生存和生长发育有着重要作用,而且与果实的品质有着密切的关系,关乎着果实香味物质的形成及果实品质的好坏。萜类物质是通过类异戊二烯途径产生的,甲羟戊酸(MVA)是单萜类生物合成的前体底物,再经一系列的反应最终通过脱羟酶作用生成萜类物质的基本单元C5-异戊烯焦磷酸(IPP)^[2]。萜类物质合成酶催化二甲基烯丙基二磷酸(Dimethylallyl Diphosphate, DMAPP)、法呢基二磷酸(Farnesyl Diphosphate, FPP)、牻牛儿基二磷酸(Geranyl Diphosphate, GPP)、牻牛儿酰牻牛儿基二磷酸(Geranylgeranyl Diphosphate, GGPP)4种物质,分别对应形成半萜类、倍半萜类、单萜类和双萜类化合物^[49]。单萜类和倍半萜类是植物挥发性物质中最常见的,在单萜合成过程中,MVA是第1前体底物,是由乙酰-CoA合成的,此途径中间产物GPP为单萜类物质的直接前体底物,GPP的环化作用是各种单萜形成的关键步骤^[2,10]。倍单萜物质与单萜物质的合成过程相类似,两者主要区别是:前者在细胞质基质中进行,后者在质体中进行。但它们之间存在串话(Crosstalk)现象,并非完全独立^[10]。柑橘果实中的倍单萜和单萜类物质主要存在于汁胞的油胞体和外果皮的油腺体中^[8]。葡萄果实中存在很多同工酶,前体物和产物也具有多样性,部分产物的含量比较低,较难做到精确定量,因此在葡萄果实中单萜物质的合成及调控机理,迄今仍有许多有待深入研究的领域。

4 影响果实香气物质形成的因素

影响果实挥发性物质形成的因素分为内部因素和外界环境因素。内部因素源于树种类型、品种、成熟度以及乙烯释放量的不同,其组分和含量也有所区别。影响果实香气物质的外部环境因素,如温度、光照、土壤环境,而栽培管理模式等也会影响果实香气组分种类和含量的差异。

4.1 内部因素——树种类型、品种、成熟度和乙烯的释放 树种不同的果实香气物质组分存在较大的差异,同种类的不同品种之间果实的香气物质组分和含量因基因的差异也表现不同。隋静等2007年研究了“丰香”和“罗莎”2个草莓品种果实的香气物质,结果发现,“丰香”果实香气物质中主要是酯类,其相对质量含量为32.18%,主要包括乙酸甲酯、乙酸乙酯和丁酸乙酯;还有酮类和醛类,其相对质量含量分别为

16.82%和19.55%;酮类以2,5-二甲基-4-甲氧基-3(2H)-呋喃酮(DMMF)和2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮(DMHF)为主;醛类主要是(E)-2-己烯醛($w=17.04\%$)。而“罗莎”果实香气物质中主要是酯类,质量含量只有23.25%,明显低于“丰香”,主要包括乙酸甲酯($w=5.42\%$)和丁酸甲酯($w=12.32\%$);酮类和醛类其相对质量含量分别为12.66%和41.15%;酮类中的DMMF($w=3.38\%$)和DMHF($w=0.31\%$),两者相对质量含量之和相当于“丰香”的1/3;醛类以2-己烯醛($w=32.36\%$)为主^[6]。2008年张运涛以5个草莓品种为材料研究其果实香气物质,结果表明,“栃乙女”以香叶醇5-辛基-二氢-2(3H)-呋喃酮为主,“章姬”以香叶酯、青叶醛等为主,“红颜”的香味主要是香味醇和香味酯,“卡姆罗莎”和“甜查理”两者的香气成分类似^[50]。苹果品种“Jubile belbar”,“Cox'S Pip-pin”,“Elstar”,“乔纳金”和“金冠”含较多的丁酸己酯及己醇;而“Jacques lebel”和“Boskoop”则含法呢烯和2-甲基丁酸己酯较多^[10]。温州蜜柑同一品种不同品系的果实香气物质也存在差异^[51]。

不同成熟度的果实,其挥发性物质的种类及含量都存在着不同程度的差异。一般来说,果实香气是伴随果实的成熟而产生的,在果实青色消退成熟后的果实香气最浓。采收果实的成熟度与果实品质有着非常重要的关联,香气的释放受果实成熟度的影响^[2,10,33]。成熟香蕉与未成熟香蕉挥发性物质的成分不完全相同,且同一种物质在含量上的差异也很大^[52]。香蕉采后当果皮为绿色时,(Z)-6-壬二烯醛和(E)-2-壬二烯醛含量多;黄熟后两者含量逐渐减少,同时(E)-2-己二烯醛的含量渐渐增多^[2]。香蕉在绿熟阶段绝大多数是醛类物质;黄熟阶段酯类物质明显增多,乙酸酯和丁酸酯也代表着黄熟阶段的特征香气;过熟阶段乙酸酯比例下降,丁酸酯比例上升^[13]。SCHREIER等研究表明,葡萄的特征是香气物质芳樟醇在未成熟时基本没有,其含量随着果实逐渐的成熟而增加^[2]。2005年陈美霞报道,杏果绿熟期只能检测到35种香气成分,商熟期能检测出45种,完熟期检测出44种;绿熟期和商熟期都是以醇和醛为主,完熟期则是以醇、酯和内酯为主^[33]。草莓、苹果、梨和桃等未成熟与成熟果实之间的香气物质组分和含量也存在差异^[2,6,10,17,53]。

对桃、梨、苹果、香蕉、芒果等呼吸跃变型果实来讲,乙烯同果实香气物质的合成与释放有密切关系^[2,10,53]。乙烯通过增强果实的呼吸作用为脂肪酸及氨基酸代谢提供能量和物质,从而促进挥发性物质的生成。SUSAN(2002)等用不同质量浓度的乙烯生成抑制剂1-MCP处理苹果果实,结果表明:1 mg·L⁻¹的1-MCP能较好地抑制乙烯的产生,从而使总香气组分中的醛类和醇类含量保持较高水平,而酯类含量较低^[54]。香蕉的香气物质出现在乙烯跃变之后,在采收前和绿熟阶段基本闻不到香蕉的香味,随着果皮从绿色向黄色转变的过程中逐渐能被嗅觉感知。FELLMAN等的研究结果表明,乙烯可能抑制了mRNA的转录和蛋白质的翻译过程^[55]。

4.2 外界环境的影响 外界环境对果实挥发性物质的形成有一定的影响。果实挥发性物质与果实成熟期间的光照条件也有一定的关系,采后贮藏条件也会影响果实的挥发性物质。MILLER等研究了果面光照强度对2个苹果品种(“Starkrimson”,“Topres”)挥发性物质含量的影响,结果表明,酯类物质在花后165 d受光照的影响比较小,在花后179 d酯类物质含量最高,在充分光照的条件下2个品种的酯类形成最多^[2,56]。适度的光照也有利于桃果实香气物质形成,过强或过弱的光照会使果实果香型成分的积累降低^[2]。采后贮藏保鲜环境对果实香气的形成也有一定影响,例如,贮藏湿度和气调气体的组分等都影响果实香气物质的合成及积累^[1-2,53]。

在日常的生产过程中,不同的栽培管理模式也会影响果实香气物质的形成。例如,苹果果实套袋会使其香气减少,矮化砧木可以显著增加果实香气^[57-58]。过量施用氮肥可以增加桃果实清香型物质成分的生成,减少甜香气味成分的浓度^[59]。嫁接的薄皮甜瓜果实香气变淡,其挥发性物质总量和特征酯类物质的相对含量均有所降低^[60]。

5 果实香气物质合成的相关分子机理

果实挥发性物质在生物合成过程中,各种关键性酶起着非常重要的作用,因此,利用酶学和相关的功能基因分析,能更好地解释果实香气物质的合成机理。果实挥发性物质是由多个基因位点调控的,还受气候环境、栽培条件、成熟度、呼吸强度、贮藏环境等诸多因素的影响。KOLOSOVA等认为,不应仅侧重于

单个基因的研究,还应加强对基因表达及其相应重要功能关系的研究,果实挥发性物质相关基因的表达有利于挥发性物质的释放,增强它的生理作用效果^[61]。目前,大量的有关香气物质合成的相关基因已陆续报道。BEEKWILDER等从香蕉果实中克隆出了乙醇乙酰基转移酶基因(Alcohol Acyltransferases, AATs)在大肠杆菌中的实验结果表明,果实挥发性物质在很大程度上取决于前体底物的供给^[62]。有研究表明,在葡萄的发育果实中克隆到3个ADH基因,分别是VvADH1, VvADH2, VvADH3,其中VvADH2基因的表达量与ADH的活性呈正相关性,且在进入转熟期后产生过量表达;但是VvADH1和VvADH3的mRNA只在果实发育早期出现短暂的积累^[9, 63]。宁文彬等从香蕉果实中提取得到乙醇脱氢酶基因,并证明了该基因的表达受外源乙烯的影响,但不受逆境因素影响,乙醇脱氢酶活性与乙烯代谢呈现正相关性,该基因可能参与了芳香物质的代谢过程^[9]。MORIGUCHI等对苹果的研究发现,ODO1的一个同源基因,也是MYB家族成员中MdMYBB转录因子,但它并未参与苹果果实香气物质合成途径的调控^[64]。

6 展 望

目前,果实香气成分的鉴定及含量测定的研究报道较多,但对香气物质形成以及代谢机理的研究并不多见。因此,在今后比较长的一段时期内,香气形成的动态变化和 Related 合成酶活性的变化规律仍然是研究的热点。目前,科学家发现并克隆到一些香气物质合成的相关基因,这为从分子水平上研究香气物质的调控机理提供了可能,也将成为另一个研究热点。利用分子生物学和生物信息学的技术,结合基因组等数据库、优良种质资源和杂交群体等资源,筛选目标基因并对其进行分析和验证将成为关键,这也为从分子水平上研究遗传改良果实风味品质提供了可能。

参考文献:

- [1] 刘明池,郝静,唐晓伟. 番茄果实芳香物质的研究进展[J]. 中国农业科学, 2008, 41(5): 1444 - 1451.
- [2] 张上隆,陈昆松. 果实品质形成于调控的分子生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [3] 洪荣,金幼菊. 日本芳香心理学研究进展[J]. 世界林业研究, 2001, 14(3): 60 - 65.
- [4] BALDWIN E A, SCOTT J W, SHEWMAKER C K, et al. Flavor trivia and tomato aroma: Biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components [J]. HortScience, 2000, 35(6): 1013 - 1022.
- [5] PEREZ A G, SANZ C, OLIAS R, et al. Aroma quality evaluation of strawberry cultivars in southern Spain [J]. Acta Horticulture, 1997, 439: 337 - 340.
- [6] 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.
- [7] 郭琳,于泽源,李兴国. 几种小浆果挥发性成分研究概述[J]. 园艺学报, 2008, 35(4): 611 - 617.
- [8] SCHWAB W, DAVIDOVICH-RIKANATI R, LEWINSOHN E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds [J]. The Plant Journal, 2008, 54(4): 712 - 732.
- [9] 宁文彬,刘菊华,贾彩虹,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.
- [10] 陈彬艳. 脐橙果实成熟过程中主要香气物质含量的变化及其关键基因的表达[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [11] 周志,徐永霞,胡昊,等. 顶空固相微萃取和同时蒸馏萃取应用于GC-MS分析野生刺梨汁挥发性成分的比较研究[J]. 食品科学, 2011, 32(16): 279 - 282.
- [12] 孙婕,张华,尹国友,等. 固相微萃取技术在食品分析领域中的应用[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(8): 154 - 158.
- [13] 朱虹,陈玉芬,李雪萍,等. 顶空固相微萃取气-质联用分析香蕉的香气成分[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 485 - 488.
- [14] 张义. 龙眼汁香气物质及其在加工和贮藏过程中的变化规律[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [15] DIXON J, HEWETT E W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review [J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2000, 28(3): 155 - 173.
- [16] 阎振立,张全军,过国南,等. 产地和砧木对华硕苹果芳香物质及风味的影响[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 263 - 267.
- [17] 王海波. 苹果早熟品种风味品质研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- [18] 汪秋安,廖头根,单扬. 水果特征香料与果香香精的调配[J]. 食品工业科技, 2003, 24(8): 78 - 80.
- [19] 张小燕,陈学森,彭勇,等. 新疆野苹果多酚物质的遗传多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1351 - 1356.
- [20] 涂正顺,薛洁,常伟,等. 吉林地区山葡萄果实香气成分的GC-MS分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(10): 66 - 70.

- [21] JAILLON O ,AURY J M ,NOEL B ,et al. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla [J]. *Nature* 2007 ,449(7161) : 463 - 467.
- [22] 李玲,王慧,张梅,等. 设施栽培桃果实芳香成分的 GC - MS 分析[J]. *山东农业大学学报: 自然科学版* 2011 ,42(1) : 41 - 48.
- [23] WANG Y ,YANG C ,LI S ,et al. Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP-SPME with GC-MS [J]. *Food Chemistry* 2009 ,116(1) : 356 - 364.
- [24] 张序,姜远茂,彭福田,等. “红灯”甜樱桃果实发育进程中香气成分的组成及其变化[J]. *中国农业科学* 2007 ,40(6) : 1222 - 1228.
- [25] 唐会周,胡建,程月皎,等. 成熟度对芒果果实挥发物的影响[J]. *食品科学* 2010 ,31(16) : 247 - 252.
- [26] 左俊,滕建文,余炼,等. 顶空固相微萃取-气质联用技术分析芒果的芳香成分[J]. *食品科技* 2008 ,33(5) : 229 - 232.
- [27] 张运涛,王桂霞,董静,等. 33 个欧美草莓品种果实挥发性物质的分析[J]. *果树学报* 2011 ,28(3) : 438 - 442.
- [28] 刘拉平,史亚歌,岳田利,等. 木瓜芳香物质固相微萃取 GC - MS 分析[J]. *园艺学报* 2006 ,33(6) : 1245 - 1246.
- [29] 张运涛. 树莓和蓝莓香味挥发物的构成及其影响因素[J]. *植物生理学通讯* 2003 ,39(4) : 377 - 379.
- [30] 任婧楠,荣茂,金瑶,等. 树莓汁中游离态和键合态香气物质的成分分析[J]. *食品科学* 2013 ,34(2) : 199 - 203.
- [31] 陈美霞,陈学森,王新国,等. “凯特”与“新世纪”杏杂种后代风味物质遗传的初步研究[J]. *园艺学报* 2006 ,33(5) : 942 - 946.
- [32] 张波,韩舜愈,蒋玉梅,等. 杏果挥发性风味成分分析[J]. *食品科学* 2008 ,29(12) : 559 - 563.
- [33] 陈美霞,陈学森,周杰,等. 杏果实不同发育阶段的香味组分及其变化[J]. *中国农业科学* 2005 ,38(6) : 1244 - 1249.
- [34] 陈计恋. 梨香气成分分析、变化及理化特征指标的研究[D]. 北京: 中国农业大学 2005.
- [35] 李国鹏,贾惠娟,王强,等. 油红梨(*Pyrus ussuriensis*) 果实后熟过程中香气成分的变化[J]. *果树学报* 2012 ,29(1) : 11 - 16.
- [36] 李国鹏,贾惠娟,王强,等. “小香水”梨果实后熟过程中挥发性组分分析[J]. *园艺学报* 2012 ,39(1) : 151 - 158.
- [37] 赵苹,焦懿,赵虹. 西番莲的研究现状及在中国的利用前景[J]. *资源科学* 1999 ,21(3) : 77 - 80.
- [38] 高朱玮. 西番莲食用香精的调配[J]. *香料香精化妆品* 2002(1) : 35 - 36.
- [39] 王文新,王璐,谢冰,等. 西双版纳西番莲果实挥发性香气成分研究[J]. *云南大学学报: 自然科学版* 2010 ,32(S1) : 60 - 67.
- [40] 孔永强,张弘,郑华,等. 云南产紫果西番莲果实挥发物的热脱附-气相色谱/质谱联用分析[J]. *广东农业科学* 2011 ,38(10) : 94 - 96.
- [41] 黄苇,黄琼,罗汝南,等. 西番莲香味及主要糖酸物质含量的季节性变化规律研究[J]. *华南农业大学学报: 自然科学版* 2003 ,24(4) : 84 - 87.
- [42] STUMPE M ,FEUSSNER I. Formation of oxylipins by CYP74 enzymes [J]. *Phytochemistry Reviews* 2006 ,5(2/3) : 347 - 357.
- [43] MATSUI K. Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism [J]. *Current opinion in plant biology* , 2006 ,9(3) : 274 - 280.
- [44] MANRÍQUEZ D ,EL-SHARKAWY I ,FLORES F B ,et al. Two highly divergent alcohol dehydrogenases of melon exhibit fruit ripening-specific expression and distinct biochemical characteristics [J]. *Plant molecular biology* 2006 ,61(4/5) : 675 - 685.
- [45] 张晓萌. 桃果实成熟过程中香气成分形成及其生理机制研究[D]. 杭州: 浙江大学 2005.
- [46] GONDA I ,BAR E ,PORTNOY V ,et al. Branched-chain and aromatic amino acid catabolism into aroma volatiles in *Cucumis melo* L. fruit [J]. *Journal of experimental botany* 2010 ,61(4) : 1111 - 1123.
- [47] PÉREZ A G ,OLÍAS R ,LUACES P ,et al. Biosynthesis of strawberry aroma compounds through amino acid metabolism [J]. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002 ,50(14) : 4037 - 4042.
- [48] 涂崔,潘秋红,朱保庆,等. 葡萄与葡萄酒单萜化合物的研究进展[J]. *园艺学报* 2011 ,38(7) : 1397 - 1406.
- [49] UEDA Y ,TSUDA ,BAI J H ,et al. Characteristic pattern of aroma ester formation from banana ,melon and strawberry with reference to the substrate specificity of ester synthase and alcohol contents in pulp [J]. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology* ,1992 ,39(2) : 183 - 187.
- [50] 张运涛,王桂霞,董静,等. 草莓 5 个品种的果实香味成分分析[J]. *园艺学报* 2008 ,35: 433 - 437.
- [51] 乔宇,谢笔钧,张妍,等. 三种温州蜜柑果实香气成分的研究[J]. *中国农业科学* 2008 ,41(5) : 1452 - 1458.
- [52] 申建梅,曾玲,胡黎明,等. 香蕉果实挥发物的化学成分比较分析[J]. *环境昆虫学报* 2011 ,33(2) : 277 - 281.
- [53] 隋静. 草莓果实发育过程和采后处理对其芳香物质和醇酰基转移酶活性影响研究[D]. 泰安: 山东农业大学 2007.

- [54] LURIE S ,PRE-AYMARD C ,RAVID U *et al.* Effect of 1-methylcyclopropene on volatile emission and aroma in cv. Anna apples [J]. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002 ,50(15) : 4251 – 4256.
- [55] FELLMAN J K ,MILLER T W ,MATTINSON D S *et al.* Factors that influence biosynthesis of volatile flavor compounds in apple fruits [J]. *HortScience* 2000 ,35(6) : 1026 – 1033.
- [56] MILLER T W ,FELLMAN J K ,MATTHEIS J P *et al.* Factors that influence volatile ester biosynthesis in “Delicious” apples [J]. *Acta horticulturae* ,1998(1) : 195 – 200.
- [57] 牛自勉 ,汪贤萍 ,孟玉萍. 不同砧木苹果品种果肉芳香物质的含量变化 [J]. *果树科学* ,1996 ,13(3) : 153 – 156.
- [58] 卜万锁 ,牛自勉. 套袋处理对苹果芳香物质含量及果实品质的影响 [J]. *中国农业科学* ,1998 ,31(6) : 88 – 90.
- [59] JIA H J. Studies on peach quality affected by orchard practices [D]. Japan: Doctor Thesis of Okayama University 2002.
- [60] 齐红岩 ,魏敏 ,刘圆. 嫁接对薄皮甜瓜果实香气物质影响的初步研究 [J]. *中国蔬菜* 2008(2) : 21 – 24.
- [61] KOLOSOVA N ,SHERMAN D ,KARLSON D *et al.* Cellular and subcellular localization of S-Adenosyl-L-Methionine: benzoic acid carboxyl methyltransferase ,the enzyme responsible for biosynthesis of the volatile ester methylbenzoate in snapdragon flowers [J]. *Plant physiology* 2001 ,126(3) : 956 – 964.
- [62] BEEKWILDER J ,ALVAREZ-HUERTA M ,NEEF E *et al.* Functional characterization of enzymes forming volatile esters from strawberry and banana [J]. *Plant Physiology* 2004 ,135(4) : 1865 – 1878.
- [63] TESNIERE C ,VERRIES C. Molecular cloning and expression of cDNAs encoding alcohol dehydrogenases from *Vitis vinifera* L. during berry development [J]. *Plant Sci.* 2000 ,157(1) : 77 – 88.
- [64] BAN Y ,BESSHO H ,MORIGUCHI T. A putative *PhODO1* homologous MYB transcription factor gene ,*MdMYBB* ,is not involved in the regulation of aroma volatile biosynthesis in apple [J]. *Biologia Plantarum* 2009 ,53(4) : 755 – 758.

Advances on Study of Fruit Aromatic Substances

LI Yuan^{1,2} , DONG Tao¹

(1. Pomology Research Institute ,Guangdong Academy of Agricultural Sciences ,Guangzhou 510640 ,China;

2. College of Agronomy ,Jiangxi Agricultural University ,Nanchang 330045 ,China)

Abstract: In this paper ,fruit aroma were briefly summarized and their prospects are expounded. Topics on the five research stages of fruit aroma ,including research methods ,main aromatic compounds identification ,aromatic substance pathway analysis ,affecting the formation of fruit aromatic substances and aromatic substances related enzymes and molecular regulatory mechanism ,were all touched.

Key words: Fruit aroma; Aromatic substance; Synthetic pathway; Regulatory mechanism; Influencing factors