

青梅果实成熟期间特征性主香成分的积累分析

刘敏欣¹, 刘畅¹, 王鹰翔², 杨丽丽³, 李方坤², 李景明^{1,*}

(1.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2.四川梅鹤酒业有限公司, 四川 成都 611330;
3.北京市昌平职业学校, 北京 102206)

摘要:以四川省大邑县大青梅为研究对象, 利用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术和香气活性值分析确定其特征性主香, 结合香气前体和气候因子关联分析, 探究主香成分在成熟期间的积累规律。结果显示, 丁酸乙酯、 β -月桂烯、3-甲基-丁酸乙酯、苯甲醛和壬醛是四川大邑地区大青梅的主要特征香气物质; C_6 、 C_9 类化合物是其特征性主香成分, C_6 类香气物质与不饱和脂肪酸前体的相关性较高, 且 C_6 和 C_9 类香气物质合成存在正相关。气候显著影响果实成熟期间的香气积累, 果实成熟前期降水量是 C_6 类物质含量的关键影响因素, 主要影响结合态己烯醇类物质的积累; 成熟后期气温对己醇、己酸等游离态物质含量影响较大。研究结果为后续开展青梅精深加工中风味、品质分析, 探究气候因素对青梅及其产品的影响, 为风味检测实现原料、加工产品的产区判别, 积累基础。

关键词: 青梅; 香气; 果实成熟; 香气前体物质; 气候

Analysis of the Accumulation of Major Aroma Components in Japanese Apricot Fruit (*Prunus mume* Siebold et Zucc.) during Ripening

LIU Minxin¹, LIU Chang¹, WANG Yingxiang², YANG Lili³, LI Fangkun², LI Jingming^{1,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;
2. Sichuan Mehe Wine Industry Co. Ltd., Chengdu 611330, China; 3. Beijing Changping Vocational School, Beijing 102206, China)

Abstract: The major characteristic aroma components of Japanese apricot fruit grown in Dayi county, Sichuan Province were determined by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) based on odor activity values (OAVs). The pattern of accumulation of the major aroma components was investigated by analysis of aroma precursors and their correlation with climate factors was analyzed. The results showed that ethyl butyrate, β -myrcene, ethyl 3-methyl-butylate, benzaldehyde and nonanal were the major characteristic aroma substances of Japanese apricot fruit, and C_6 and C_9 compounds were the major aroma components. C_6 aroma substances had a high correlation with unsaturated fatty acid precursors. There was a positive correlation between the synthesis of C_6 and C_9 aroma substances. Climate significantly affected aroma accumulation during fruit ripening. Precipitation was the key factor affecting the content of C_6 substances in the early ripening stage, mainly affecting the accumulation of bound hexenol. At the late stage of maturity, air temperature had a great influence on the content of free substances such as hexanol and hexanoic acid. These results provide a basis for follow-up research to analyze the flavor and quality of processed Japanese apricot fruit, explore the effects of climate factors on Japanese apricot fruit and its products, and identify the production region of raw materials and processed products for flavor evaluation.

Keywords: Japanese apricot fruit; aroma; fruit ripening; aroma precursors; climate

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220915-144

中图分类号: TS255.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 14-0344-08

引文格式:

刘敏欣, 刘畅, 王鹰翔, 等. 青梅果实成熟期间特征性主香成分的积累分析[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 344-351.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220915-144. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Minxin, LIU Chang, WANG Yingxiang, et al. Analysis of the accumulation of major aroma components in Japanese apricot fruit (*Prunus mume* Siebold et Zucc.) during ripening[J]. Food Science, 2023, 44(14): 344-351. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220915-144. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2022-09-15

第一作者简介: 刘敏欣 (1999—) (ORCID: 0000-0001-6153-942X), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品风味。

E-mail: ancientmise@163.com

*通信作者简介: 李景明 (1969—) (ORCID: 0000-0001-9026-8817), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品风味、天然产物开发与利用。E-mail: lijingming@can.edu.cn

青梅 (*Prunus mume* Siebold et Zucc.) 又称梅、果梅, 是蔷薇科 (Rosaceae) 李属乔木, 原产于我国南方, 在我国已有三千多年的栽培历史, 作为观赏植物和经济果树广泛种植于中国、日本和韩国^[1-2]。青梅营养物质丰富, 具有较高的食用和药用价值, 富含柠檬酸、苹果酸等多种有机酸和表儿茶素、绿原酸等酚酸类化合物, 是典型的高酸低糖型水果, 具有养胃护肠、改善血液流动的功效^[3]。

香气是水果的重要感官性状, 能直观地反映水果的品种、产地、生长成熟度、采后贮藏的状态等属性。本实验拟确定四川大邑青梅果实主要香气成分, 并探知在果实发育过程中的积累变化和与气候因子的关系, 为后续开展青梅精深加工中风味、品质分析, 探究气候因素对青梅及其产品的影响, 为风味检测实现原料、加工产品的产区判别, 积累必要的基础和铺垫。近年来, 随着青梅加工不断深入, 关于青梅香气的研究报道日渐增加, 但主要针对较成熟样品进行。目前报道中常见的青梅 (产品) 特征性香气包括反-2-己烯醛、苯甲醛、苯甲醇、 γ -癸内酯、丁酸乙酯、己酸乙酯等, 呈现青草、杏仁、花朵、桃子等的特征^[4-6]。已有研究指出, 亚麻酸、亚油酸等不饱和脂肪酸是反-2-己烯醛、 γ -癸内酯、己酸乙酯等香气物质的前体。当果实受到环境刺激时, 不饱和脂肪酸大量转化, 形成具有刺激性气味的代谢产物, 提升植物的防御能力^[7]。除环境刺激, 青梅果实的香气品质还受品种、成熟度、产地产区等多种因素的影响^[8], 直接关系到最终的产品质量。青梅含糖量低, 含酸量高, 对其成熟度和采摘时间的判断普遍依据生长时间或简单感官特征^[4], 而非传统水果成熟度判别方式中的糖酸比等指标。例如四川大邑青梅通常于雨水左右开花、芒种左右收获, 采收期为花后100 d。此外, 实际生产中, 为了保持良好的药效、风味、果形和加工特性, 往往凭经验提前采收, 同时, 国内外缺乏相关研究, 更导致青梅采收期判别的不准确, 造成青梅及加工产品品质具有很大的不确定性。

同时, 水果及其加工产品的风味品质具有显著的地理特征性, 这种地理特征性在葡萄酒行业认知最为系统、深刻, 并被赋予“风土”专有属性。我国实行的“地理标志产品”也是为了突出展示产地独特地理属性。这种风味的地理属性, 不单包括其地理位置, 更是农产品生产地土壤、气温、光照、降雨等环境变化的综合影响。这其中气候因子是风土的重要组成部分, 对萜烯类、 C_6/C_9 类、类苯类、降异戊二烯类香气物质的积累起到关键作用^[9-10]。故分析果实发育过程中香气变化、并与气候因子进行关联, 具有提升青梅 (产品) 品质的实际意义。

因此, 精准分析青梅成熟期间结合态与游离态香气的积累, 并挖掘其形成与气候因子之间的关联, 不仅为青梅原料采收时间判别提供准确的指导, 对稳定青梅加工产品风味品质具有指导意义, 更可以通过香气品质对青梅原料

的产地属性加以判别, 有助于对优质青梅加工产品的地理标志性特征展开识别。

以四川大邑产区不同生长期的青梅果实为原料, 聚焦果实发育、成熟过程中香气的形成与积累, 以确定该产区青梅果实主要香气成分, 并探知在果实发育过程中的积累变化和与气候因子的关系, 为后续开展青梅精深加工中风味、品质分析, 探究气候因素对青梅及其产品的影响, 风味检测实现原料、加工产品的产区判别, 积累必要的基础和铺垫。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青梅 (*Prunus mume* Sieb.) 果实样品采自2020年四川省成都市大邑县星火村, 品种为‘大青梅’。自花后30 d开始采样, 根据青梅生长特点, 每15~25 d采集一次。采样时遵循随机取样原则, 消除边际效应, 每次取样随机选取15~20株生长状态良好的青梅果树。取样时兼顾果树上中下部、阴阳面, 每次取样不重复树体, 每次取样所选样品成熟度均匀, 无明显病虫害。采样后除去果柄, 计数、称质量、按采收日期标记后置于-40℃冷冻保存。提取果园附近的气象资料 (包括降水量、日均温、日照时间和蒸散量), 气象数据来自中国气象科学数据中心 (<http://data.cma.cn/>)^[11]。

D-葡萄糖酸内酯 (BR 99%) 上海源叶生物科技有限公司; 聚乙烯基吡咯烷酮 (poly(vinylpyrrolidone), PVPP) 北京拜尔迪生物技术有限公司; 正构烷烃 ($C_7\sim C_{40}$), 甲醇、乙醇 (均为色谱级) 上海安谱实验科技有限公司; 氯化钠、氢氧化钾 (均为分析级) 北京索莱宝科技有限公司; 石油醚、苯 (均为色谱级) 上海麦克林生化科技有限公司; 氯仿、正己烷 (均为色谱级) 国药集团化学试剂有限公司; 4-甲基-2-戊醇、乙酸乙酯、己丁酸乙酯、异戊酸乙酯、辛酸、2-丁醇、3-甲基-1-丁醇、顺-3-己烯-1-醇、1-辛烯-3-醇、乙酸、 α -紫罗兰醇、D-柠檬烯、苯甲醇、苯甲醛、2-苯乙醇、己酸乙酯、2-壬醇、 γ -癸内酯、 γ -己内酯标准品 美国Sigma Aldrich公司; 亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯、油酸甲酯、十七烷酸甲酯等标准品百灵威科技有限公司。

1.2 仪器与设备

7890B型气相色谱仪、5977B型质谱仪、HP-INNOWAX毛细管色谱柱 (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m)、DB-FFAP毛细管色谱柱 (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m) 美国Agilent公司; PDMS/CAR/DVB萃取头 美国Supelco公司; 200 mg/6 mL PEP固相萃取柱 天津博纳艾杰尔科技有限公司; Scion 456-GC气相色谱仪 美国Bruker公司。

1.3 方法

1.3.1 香气化合物的分析

青梅果实游离态和游离态香气物质的提取参照Chen Kai等^[12]的方法,每个样品做3次独立重复实验。

采用邱爽等^[13]的方法,利用顶空固相微萃取方法对青梅果实香气进行分析:取5 mL果实香气提取液、2 g NaCl和10 μ L内标(4-甲基-2-戊醇,522.5 mg/L)于15 mL固相微萃取专用玻璃样品瓶中,加入磁力搅拌转子。立即拧紧瓶盖,置于磁力搅拌加热台(45 $^{\circ}$ C、360 r/min)平衡30 min。平衡完成后将已活化的PDMS/CAR/DVB萃取头插入样品瓶顶空部分,萃取头下端距离液面约1 cm,在平衡条件下吸附30 min。吸附完成后,拔出萃取头,立即插入气相色谱进样口进行香气物质分析。每个样品做3次独立重复实验。

青梅果实游离态和游离态香气物质的检测参照Chen Kai等^[12]的方法:以高纯氦气(>99.999%)为载气,气体流速1 mL/min;采用固相微萃取手动进样,不分流进样。进样口温度250 $^{\circ}$ C,热解吸时间8 min。升温程序:40 $^{\circ}$ C保持5 min,然后以3 $^{\circ}$ C/min的升温至200 $^{\circ}$ C,保持2 min。电子电离源;离子源温度230 $^{\circ}$ C;电离能为70 eV;四极杆温度150 $^{\circ}$ C;质谱接口温度280 $^{\circ}$ C;质量扫描范围30~350 u。每个样品做3次重复。

定性分析采用Aglient化学工作站(Aglient Technologies Inc.),将谱图与同条件下标样的保留指数(retention index, RI)、全离子扫描图谱及NIST 11标准谱库进行匹配,保留指数采用正构烷烃(C₇~C₄₀)并通过AMDIS自动质谱解卷积软件计算得到。对于有标准品的物质,采用外标法,建立标准曲线进行准确定量;对于没有标准品的物质,使用具有类似化学结构和碳原子数的标准品实现定量。

1.3.2 不饱和脂肪酸的分析

不饱和脂肪酸的提取和甲酯化参照Chen Kai等^[14]的方法并加以修改。

向2 g果实冻干粉中加入20 mL氯仿-甲醇(1:2, V/V),摇床300 r/min振荡提取20 min,离心取上清液,残渣再用5 mL氯仿-甲醇混合液二次提取、离心,合并上层甲醇清液。向上清液中加入10 mL氯化钠溶液(0.76 g/L),振荡15 min,除去水相。将有机相旋转蒸发浓缩脂类物质。向提取物中加入1 mL苯-石油醚混合物(1:1, V/V)和1 mL氢氧化钾甲醇溶液(22.4 g/L),振荡15 min。向混合液中加入5 mL超纯水并转移至分液漏斗。用1 mL正己烷萃取脂肪酸甲酯萃取一次。取上层有机相,待检测。

不饱和脂肪酸的分析参考Ma Yao等^[15]的方法,柱箱起始温度80 $^{\circ}$ C,保持1 min后以50 $^{\circ}$ C/min升温至175 $^{\circ}$ C,而后以5 $^{\circ}$ C/min升温至200 $^{\circ}$ C,保持1 min,再以2 $^{\circ}$ C/min升温至210 $^{\circ}$ C,最后以5 $^{\circ}$ C/min升温至230 $^{\circ}$ C,并保持

10 min。色谱柱运行条件如下:进样体积1 μ L;分流比5:1;进样温度260 $^{\circ}$ C;检测器温度280 $^{\circ}$ C。以油酸、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯标准品混合物进行不饱和脂肪酸组分鉴定,根据峰面积进行外标法定量,结果以冻干果实质量计算(mg/kg)。

1.4 数据处理

采用MetaboAnalyst 5.0(<https://www.metaboanalyst.ca/>)进行主成分分析(principal component analysis, PCA);采用R 4.1.2软件进行Pearson相关性系数分析及图片绘制;采用Canoco 5软件进行冗余分析(redundancy analysis, RDA);其他图片采用Origin 2019软件绘制。

2 结果与分析

2.1 青梅香气成分分析

2.1.1 青梅果实主香成分的分析

尽管果实中香气种类很多,但真正对整体香气形成贡献、被称为“主要香气”的成分并不多,香气研究中多针对这些有突出贡献的主香成分开展分析。确定食品主要香气成分的方法有多种,如香气活性值(odor activity value, OAV)^[16-17]、气相色谱-嗅闻(gas chromatography-olfactometry, GC-O)技术^[18]等,其中OAV方法对大多数食品而言较为简便,被广泛使用。该方法以实际检测到的香气含量与其相同或相似基质中感知阈值的比值,作为该香气物质对整体香气的贡献值。一般认为当某种香气物质OAV大于1时,该成分对整体香气感知已产生贡献。

研究发现构成水果香气特征性的成分,来自于两类,一类可以被直接感知到,被称为游离态香气,另一类在果实中以糖苷态化合物形式存在,虽然不能直接被感知,但在某些加工条件下(酸、加热、酶处理等)可水解糖苷键释放出游离态香气而被感知。在某些水果中结合态香气成分种类和含量高于游离态香气,因此结合态香气对果实贮藏和加工中的香气、风味变化有重要作用。本实验通过检测青梅果实结合态和游离态香气,在青梅果实中发现77种香气成分。按照香气成分的种类分析,共检测到游离态物质47种,结合态香气物质48种,二者在酯类和醇类香气成分种类上差异较大。因此,二者对青梅及其加工产品的香气特征性贡献同样重要,应在研究中给予同等的重视。

在上述结果基础上,采用OAV方法鉴定了青梅果实中的主要香气成分,并在后续研究中,针对这些主要香气成分,探究发育过程中香气的积累变化,共发现对香气有贡献的物质26种(表1)。其中对青梅感官贡献最大的是丁酸乙酯(菠萝)、 β -月桂烯(柑橘)、3-甲基-丁酸乙酯(苹果、香蕉)和苯甲醛(杏仁)。

表1 青梅游离态香气OAV和气味描述

Table 1 Odor activity values and aroma descriptions of free volatile compounds in Japanese apricot fruit

序号	香气化合物	阈值/ ($\mu\text{g/L}$) ^[19]	气味描述 ^[20]	花后时间/d					
				30	45	60	80	100	125
酯类									
1	乙酸乙酯	5	菠萝	7.65	7.62	7.77	9.28	7.82	8.14
2	乙酸异丁酯	10	梨	<1	1.55	6.03	14.17	23.17	27.94
3	丁酸乙酯	0.13	菠萝	96.67	101.58	464.70	782.65	229.59	680.71
4	3-甲基丁酸乙酯	0.1	苹果、香蕉	322.89	620.97	292.22	207.47	ND	ND
5	己酸乙酯	36	菠萝	2.35	2.35	2.36	2.42	2.41	2.49
6	乙酸己酯	2	苹果、梨	<1	<1	<1	12.44	1.39	112.09
7	辛酸乙酯	194	杏子	4.39	4.39	4.39	4.40	4.40	4.43
8	γ -癸内酯	0.7	桃子	ND	ND	ND	7.35	<1	23.58
9	异戊酸己酯	4	香蕉、辛辣味	1.76	1.49	1.48	3.73	18.00	11.88
醇类									
10	正己醇	5.6	青草、树脂	1.00	<1	<1	1.22	1.51	4.41
11	顺-3-己烯-1-醇	3.9	青草	<1	<1	1.09	1.05	1.10	<1
芳香族									
12	苯甲醛	24	杏仁	25.12	35.14	58.91	10.62	9.06	3.91
13	苯乙醛	4	蜂蜜	24.58	10.68	11.61	1.39	9.34	4.55
萜烯类									
14	β -蒎烯	6	树脂、松脂	7.10	7.23	7.21	7.91	7.45	10.07
15	β -月桂烯	1.2	柑橘	38.66	70.47	59.26	244.73	127.82	788.85
16	芳樟醇	6	花香、薰衣草	2.21	5.21	3.76	17.27	20.91	35.38
17	L-薄荷醇	100	薄荷	<1	1.23	1.27	1.41	1.14	7.30
18	α -松油醇	4.6	薄荷	2.13	5.60	3.51	25.98	11.21	34.95
19	香叶醇	10	玫瑰	<1	2.07	1.66	16.02	15.02	34.04
酸类									
	丁酸	240	汗臭味	<1	<1	<1	1.02	<1	2.33
21	2-甲基丁酸	10	干酪、果香	<1	<1	<1	7.24	1.40	3.29
22	己酸	93	汗臭味	<1	<1	<1	1.16	<1	1.83
醛类									
23	戊醛	2.7	杏仁	32.97	23.21	27.10	32.96	14.43	15.31
24	壬醛	260	柑橘	5.91	5.91	5.92	5.92	5.92	5.93
25	反-2-辛烯醛	3	青草	4.67	4.62	4.87	5.08	4.75	5.62
26	正癸醛	245	柑橘	6.31	6.34	6.31	6.39	6.33	6.51

注: ND.未检出。

选取对青梅果实香气有重要贡献(即OAV>10)的香气成分,并通过数对数标准化处理^[21],绘制青梅果实成熟期间OAV轮廓图(图1)以便直观、清晰反映青梅果实生长成熟过程中果实香气典型性的变化。青梅果实发育前期(花后30~60 d),果实香气以苹果、梨样香气为主,总体香气强度较弱,杏仁和菠萝香气逐渐增强;果实发育后期(花后80~125 d),苹果香和杏仁味减弱,菠萝、柑橘、桃子香气逐渐突显。简言之,青梅果实发育过程中,果实香气由苹果香转向杏仁香,再转变为菠萝、柑橘等果实香气。

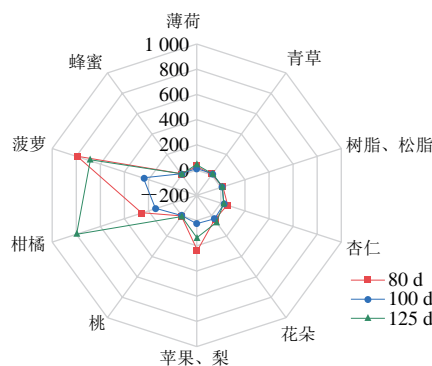
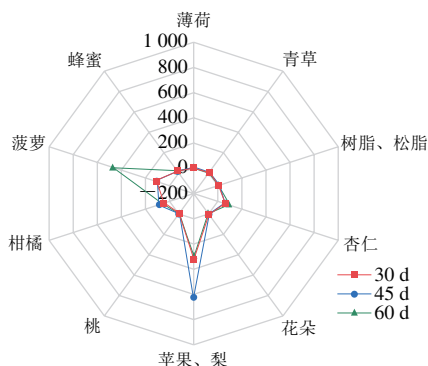


图1 青梅果实成熟期间特征香气轮廓图
Fig. 1 Characteristic aroma profiles of Japanese apricot fruit during ripening

2.1.2 青梅关键性香气PCA

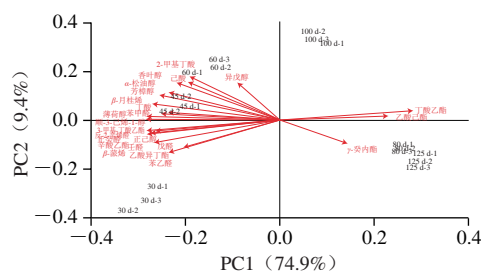


图2 青梅果实有贡献香气OAV PCA
Fig. 2 PCA Biplot of OAVs of aroma components in Japanese apricot fruit during ripening

青梅成熟期间香气特征性变化较大,为进一步揭示在此过程中发挥作用的关键性香气,本研究进一步对OAV>1的香气物质的OAV进行PCA。如图2所示,PC1和PC2分别代表原始变量74.9%和9.4%的信息,累计达84.3%。PC1能较好将成熟前期(花后30~60 d)和成熟后期(花后80~125 d)的果实进行区分,而PC2能对这2个时期中的不同样品进行区分。说明可利用OAV大于1的香气物质对不同生长阶段的青梅果实加以区分。

不同样品间的关系具有一定关系,花后45 d和花后60 d的样品相似程度较高,花后80 d和125 d的相似程度较高,说明采用这些特征性香气成分所开展的分析结果,符合果实发育顺序,有望作为不同生长阶段、不同成熟度青梅的判别依据。

不同时间样品和香气物质之间存在一定位置关系。花后30 d样品与苯乙醛、乙酸异丁酯、戊醛呈正相关,与乙酸己酯呈负相关;花后45 d样品与顺-3-己烯-1-醇、苯甲醛、 β -月桂烯相关性显著;花后60 d果实与己酸、异戊酸己酯、香叶醇呈显著正相关;花后80 d和100 d的样品与 γ -癸内酯相关性较强,与己酸、异戊酸己酯等物质呈负相关。说明通过特征性香气的检测,有望实现对果实成熟情况的准确判定。

之所以能够利用关键性香气成分开展PCA, 实现对不同生长阶段的青梅果实加以区分, 是基于这些香气成分伴随着青梅的成熟, 通过各自的生物合成途径积累。例如, 己酸、己酸乙酯、异戊酸己酯等由十八碳脂肪酸经由脂氧合酶途径合成、具有6个碳的醇、醛、酸及其酯, 称为C₆类化合物^[10,22]。这些化合物在植物茎、叶、果实等部位均有合成, 受到植物生长发育阶段和外界环境的影响^[23], 在植物防御中起到重要作用。与C₆类物质相似, 壬醛等含有9个碳原子的化合物同样来源于脂氧合酶途径, 称为C₉类化合物。Tian Tiantian等^[6]利用GC-O对市售20种浸泡型或发酵型青梅酒进行检测, 发现壬醛、己酸乙酯等13种化合物是青梅酒香气的主要贡献者, 且在不同样品中有明显差异。在3种发酵型青梅酒中检测到己酸甲酯、己酸乙酯、壬酸乙酯等8种C₆、C₉类化合物^[24]。在青梅果脯、果干的制作过程中, C₆、C₉类物质也不断变化。新鲜青梅中, 己醇、2-乙基己醇、乙酸己酯含量较高, 提供新鲜的水果香气; 经过腌渍、烘干后制成的咸水梅、梅坯中, 则以C₆醛、C₉醛为主, 具有玫瑰、柑橘等香气^[5]。说明果实加工中C₆、C₉类物质被还原, 原料中C₆、C₉类物质含量对之后的加工产品风味存在影响。上述对香气物质生物合成的认知, 成为实现“青梅果实不同生长阶段区别”的内在原因。

综上所述, 以己酸乙酯、正己醇、壬醛为代表的C₆、C₉类化合物在果实成熟各时期均有贡献, 是青梅发育过程中的关键性香气物质。在果实发育的不同时期, C₆、C₉类化合物的含量和种类各不相同, 所提供的香气特征也不同。可通过对C₆、C₉类化合物的检测和感知, 对果实成熟度进行判断。

2.2 青梅主要香气前体物质分析

C₆、C₉化合物是青梅整体香气的贡献者, 提供柑橘、奶油、绿叶、青草的香味。不饱和脂肪酸是食品风味的重要前体物质, 其中亚麻酸、亚油酸、油酸、棕榈油酸等是奶酪、水果的重要风味前体。在葡萄、青梅、桃子等水果香气的研究中, 壬醇、己醛、己醇、己烯醇等C₆、C₉类物质以其低感知阈值成为主香成分, 表现为青绿、柑橘、菠萝等特征性香气, 这些C₆、C₉类香气成分物质的主要前体物质来源是油酸、亚麻酸和亚油酸^[25-27]。脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)途径是果实C₆、C₉类化合物的主要合成途径。亚油酸或亚麻酸在LOX的作用下形成13-氢过氧化物和9-氢过氧化物, 再在氢过氧化物裂解酶(hydroperoxide lyase, HPL)的作用下生成多种己烯醛、壬烯醛, 并进一步分解为己醇或己烯醇, 提供绿叶、果实香气^[14]。故而对青梅中亚麻酸、亚油酸和油酸进行测定, 探究不饱和脂肪酸前体物质与C₆、C₉类香气物质的关系。

如图3所示, 不同生长时期青梅3种不饱和脂肪酸中亚油酸含量最高。果实中的亚油酸和亚麻酸含量于花后30 d最高, 于花后80 d时上升; 油酸在花后45 d时最高; 3种不饱和脂肪酸均在成熟后期(100~125 d)含量有所回升。

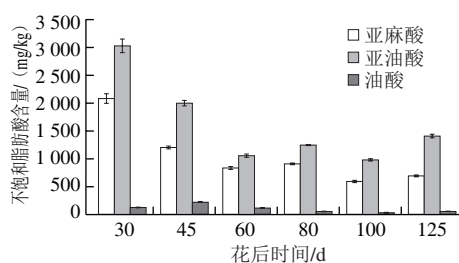
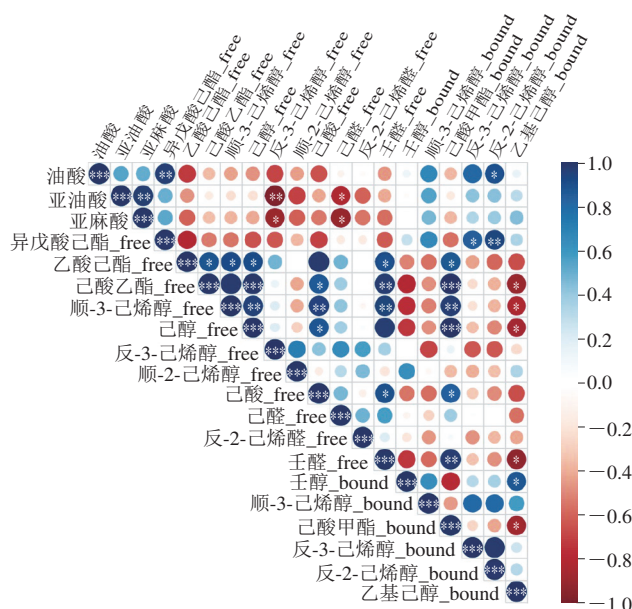


图3 不同生长时期青梅3种不饱和脂肪酸含量

Fig. 3 Contents of three unsaturated fatty acids in Japanese apricot fruit during different growth periods



free、bound分别表示游离态和结合态;

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$ 。

图4 不饱和脂肪酸及其有关香气物质的相关性

Fig. 4 Correlation analysis of unsaturated fatty acids and related aroma substances

为进一步探究果实成熟过程中不饱和脂肪酸和香气物质之间的关系, 对3种不饱和脂肪酸和主要C₆、C₉类物质进行双变量相关性分析。如图4所示, 青梅果实C₆类香气物质中, 游离态异戊酸己酯、结合态反-2-己烯-1-醇和反-3-己烯-1-醇与油酸呈显著正相关。目前油酸与果实香气相关性的报道较少。刘沛通等^[28]研究发现, 葡萄酒发酵时添加油酸能有效促进酿酒酵母产生酸类、酯类和高级醇类香气物质的含量, 说明油酸对这部分香气物质产生有促进作用。游离态反-3-己烯-1-醇和己醛与亚油酸、亚麻酸呈显著负相关, 但3种C₉类香气化合物与不饱和脂肪酸相关性不显著, 说明青梅果实中C₆类香气物质的产生与LOX途径相关性较高, 而C₉类香气物质并非不饱和脂肪酸的主要代谢产物。各C₆、C₉类香气物质之间存在普遍相关性, 其中壬醛与己酸乙酯、乙酸己酯、己酸甲酯等均呈现显著或极显著正相关; 己烯

醇与己醇、己醇酯、己酸酯等化合物呈显著正相关,说明亚麻酸和亚油酸的LOX降解存在相关性,这与Ma Zonghuan等^[29]对马瑟兰葡萄的研究结论相符,己烯醇合成的基因上调时,控制己醇、壬醇的lox基因将下调。由此推断9-LOX和13-LOX可能受同一段基因调控且二者呈正相关。

综上所述,C₆类香气物质与不饱和脂肪酸代谢关系密切,各C₆、C₉类香气含量变化存在一定相关性。可以将C₆类香气物质作为判断青梅果实成熟度的指示性香气物质,以便根据生产需要确定适宜的成熟度和采收时间。此外,还可通过调节青梅植株脂肪酸代谢,对香气物质进行把控。

2.3 青梅C₆类香气化合物与气候因子的相关性分析

风土是指一个地区同类产品所共有独特风味和特质,是产地(区)气候、土壤、微生态等共同决定^[30-31]。果实具有风土特征性,其特征性香气品质是具有可辨识度的指标,因此最终加工产品具有产区识别特性,有助于特色产区、优质产地的宣传、品牌建设和质量提升。这一概念最早诞生于葡萄酒中,后逐步扩大到咖啡、啤酒、巧克力等其他食品产业中^[32-33]。青梅属多年生乔木,对气候要求相对较为严格,导致果实风味和品质差异较大^[34]。将C₆类香气物质与气候因子进行关联,有助于在不同年份和气候条件下预测青梅成熟期和果实品质,更有助于明确大邑产区特色,发掘大邑青梅的品牌价值。

为探究果实成熟度与气候因子之间的联系,明确大邑青梅的“风土”,将青梅C₆类香气物质与气候因子进行Pearson线性相关分析,结果如表2所示。

表2 青梅果实C₆类香气化合物与气候因子间Pearson相关系数
Table 2 Pearson correlation coefficients between C₆ aroma compounds and environmental ecological factors

香气化合物	编号	气温	降水量	日照时数	蒸散量
游离态					
异戊酸己酯	F1	-0.903*	-0.972*	-0.866	-0.980**
乙酸己酯	F2	0.950*	0.993**	0.92*	0.993**
己酸乙酯	F3	0.776	0.889	0.723	0.904*
顺-3-己烯醇	F4	0.89	0.963*	0.849	0.969*
己醇	F5	0.751	0.871	0.696	0.887
反-3-己烯醇	F6	0.516	0.436	0.58	0.447
顺-2-己烯醇	F7	-0.067	-0.192	0.021	-0.187
己酸	F8	0.982**	0.995**	0.960*	0.989**
己醛	F9	0.743	0.724	0.776	0.740
反-2-己烯醛	F10	-0.141	-0.074	-0.114	-0.026
结合态					
顺-3-己烯醇	B1	-0.519	-0.526	-0.555	-0.555
己酸甲酯	B2	0.725	0.851	0.669	0.870
反-3-己烯醇	B3	0.093	-0.028	0.094	-0.081
反-2-己烯醇	B4	-0.445	-0.586	-0.416	-0.628
乙基己醇	B5	-0.601	-0.728	-0.570	-0.764

注:*.在0.05水平(双尾)显著相关;**.在0.01水平(双尾)显著相关。

由表2可知,游离态香气中,除异戊酸己酯外,乙酸己酯、己酸乙酯、顺-3-己烯醇等游离态香气大都与上述环境因子呈正相关;结合态C₆化合物与所述环境因子不具有显著相关性,但己醛、己酸乙酯与环境因子的相关性相对较高。

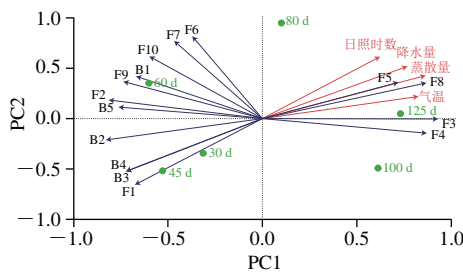
温度是植物生长和果实成熟的关键。分析显示,游离态异戊酸己酯与平均气温呈现显著负相关;除3-己烯醇外,青梅中的己烯类香气物质均与气温呈现负相关,这与Talaverano等^[35]对赤霞珠的研究相似,说明气温可能对HPL催化生成己烯醛存在影响。游离态乙酸己酯和己酸与平均气温呈现显著正相关,其余游离态酯类和醇类香气物质均与气温呈现正相关。先前研究表明,高温对果实中的不饱和脂肪酸合成有促进作用,低温对其有抑制作用,从而影响了异戊酸己酯、3-己烯-1-醇、己醇等香气物质^[35-36]。

降水量与各香气物质的相关性与温度类似,可能与产地雨热同期的气候特点有关。有研究表明,灌溉可增加植物油脂中不饱和脂肪酸的比例^[37],由此可提供更多的LOX途径前体物质,增加C₆类物质的合成。此外,植物防御也可能是果实中C₆类物质增加的原因。青梅果实成熟前期雨热增多^[11],是虫害、螨害的高峰期^[38]。植株可通过茉莉酸(甲酯)调控植物防御,促进lox基因表达^[29,39],通过提高植物体内各C₆类化合物含量,达到驱赶害虫,或防止害虫进一步侵食的防御目的^[39]。

日照时数与游离态己烯醇呈正相关,与结合态己烯醇呈负相关,这与邱爽等^[13]对‘红灯’樱桃游离态香气的研究相符。对于其他C₆类香气物质,除游离态异戊酸己酯和结合态乙基己醇外,均与日照时数呈正相关,有研究表明,一定时长的日照可有效提升游离态己烯醇含量,但日照时数过久,则会降低其含量。相关组学结果显示,日照对LOX2.1和HPL基因的表达有上调作用,但在一定剂量后该上调作用降低^[40]。由此推测,日照可促进结合态己烯醇类物质的水解,产生更多的游离态己烯醇,同时促进己烯醇更多的转化为己醇、己醛等物质。

蒸散量是土壤蒸发和植物蒸腾的总称,对于同一片林地,蒸散量可作为降水、辐射、温度和风力的综合指标。蒸散量与53.3%的香气物质呈正相关,与乙酸己酯、己酸乙酯、顺-3-己烯醇和乙酸呈显著或极显著正相关,与乙酸酯、己烯醇和大多数己醇酯呈负相关,这与上述3个环境因子与青梅C₆类果实香气的相关性分析相符。由此可见,气候因子对青梅香气物质之间具有一定相关性。

为直观展示气候因子与样品和香气三者或两两之间的关系,对青梅果实中C₆化合物进行RDA,结果如图5所示。



香气物质编号与表2一致。

图5 青梅C₆类香气物质与气候因子间RDA

Fig. 5 RDA analysis between C₆ aroma compounds and environmental ecological factors

由图5可知,平均日照时数、降水量、平均气温、蒸散量与各香气物质之间相关性相似,与游离态己醇和己酸等呈正相关,其中己酸的响应程度最高,其次为己醇、己酸乙酯和顺-3-己烯醇;与游离态异戊酸己酯、结合态顺-3-己烯醇、己烯甲酯和反-3-己烯醇呈显著负相关。

观察成熟度、香气物质和气候因子三者之间的关系,发现在花后30~45 d,果实中结合态反-3-己烯醇和反-2-己烯醇含量最高,此时期产地日照时间和蒸散量变化较小,但降水量发生倍变化,认为降水是果实成熟前期关键影响因素。花后60~80 d,果实中的游离态C₆香气的种类和含量开始增加,结合态香气物质开始减少。花后60 d时,果实中结合态顺-3-己烯醇和游离态己醇含量最高;花后80 d时,果实中游离态反-3-己烯醇含量最高,此时气温对香气转变贡献度较大。花后100~125 d,果实进入成熟期,果实中主要C₆类物质为游离态己酸乙酯、顺-3-己烯醇、己酸和己醇,与4个气候因子均呈正相关,其中气温对己酸乙酯、顺-3-己烯醇、己酸影响较大,蒸散量对己醇变化贡献较大。

综上所述,青梅果实成熟过程中,C₆类物质由以结合态为主转变为以游离态为主,物质种类不断丰富,高温和降雨均可促进果实成熟。果实成熟前期,降水量对果实成熟的影响较大:降水量对果实中部分游离态物质呈正相关,与所有结合态C₆类物质的积累呈负相关;果实成熟后期,温度对果实成熟的影响较大,温度和蒸散量与果实游离态C₆类物质积累具有显著相关性。

3 结论

对2020年成熟过程中的四川大邑大青梅香气物质进行气相色谱-质谱检测,共检测到游离态香气47种,结合态香气48种。通过OAV分析,确定丁酸乙酯、β-月桂烯、3-甲基丁酸乙酯、苯甲醛和壬醛是四川大邑大青梅的主要特征香气物质;通过PCA,发现壬醇、己醛、己醇、己烯醇等C₆、C₉类物质与果实成熟度相关性最高,在果实成熟前期和中期积累较多,呈现水果、绿叶的

风味特征。C₆类香气物质与不饱和脂肪酸前体呈强正相关,C₆与C₉类香气物质呈正相关,认为C₆类物质是判断青梅果实成熟度的指示性香气物质。

气候因素显著影响青梅果实成熟过程香气物质积累,降水和高温都会促进果实成熟,日照时数影响果实香气积累。果实成熟前期,降水量对果实成熟度影响较大,尤其是对果实中游离态己酸乙酯、己醇、己酸等具有显著正相关,与结合态C₆类物质的积累具有显著负相关;果实成熟后期,温度对果实成熟度影响较大,温度和蒸散量与果实游离态C₆类物质积累具有显著相关性。通过气候因子与典型风味成分的关联探究,明确游离态己醇、己酸和结合态己烯醇与气温和降水因子相关联,继而存在可能性,通过当年气温和降水数据预测果实成熟状况和采收期。未来应对其他产区青梅及气候展开分析,构建青梅产地特征性判别分析模型,实现根据特征性香气,对青梅产区进行判断。

参考文献:

- [1] 姜翠翠,叶新福,方智振,等.我国果梅研究进展概述[J].东南园艺,2017,5(5):26-31.
- [2] BAILLY C. Anticancer properties of *Prunus mume* extracts (Chinese plum, Japanese apricot)[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 246: 1-7. DOI:10.1016/j.jep.2019.112215.
- [3] CHUDA Y, ONO H, OHNISHI-KAMEYAMA M, et al. Mumeformal, citric acid derivative improving blood fluidity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(3): 828-831. DOI:10.1021/jf980960t.
- [4] 贾卫民,王在建,吴晓红,等.梅果挥发性成分分析[J].精细化工,2011,28(10):987-990. DOI:10.13550/j.jxhg.2011.10.023.
- [5] 赵笑梅,吴青,陈宇,等.青梅在梅坯制作过程中的香气成分变化[J].现代食品科技,2013,29(4):885-889. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2013.04.043.
- [6] TIAN T T, SUN J Y, WU D H, et al. Objective measures of greengage wine quality: from taste-active compound and aroma-active compound to sensory profiles[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 128179. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128179.
- [7] LUO M L, ZHOU X, HAO Y, et al. Methyl jasmonate pretreatment improves aroma quality of cold-stored 'Nanguo' pears by promoting ester biosynthesis[J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127846. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127846.
- [8] 李甄.梅果实和浸渍酒香气物质的鉴定及变化规律分析[D].南京:南京农业大学,2015.
- [9] KOVALENKO Y, TINDJAU R, MADILAO L L, et al. Regulated deficit irrigation strategies affect the terpene accumulation in Gewürztraminer (*Vitis vinifera* L.) grapes grown in the Okanagan Valley[J]. Food Chemistry, 2021, 341: 128172. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128172.
- [10] HE L, XU X Q, WANG Y, et al. Modulation of volatile compound metabolome and transcriptome in grape berries exposed to sunlight under dry-hot climate[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 59. DOI:10.1186/s12870-020-2268-y.
- [11] 国家气象信息中心.国家气象科学数据中心[EB/OL].(2022-05-18)[2022-05-18].http://data.cma.cn/DataCollect/index.html.

- [12] CHEN K, WEN J F, MA L Y, et al. Dynamic changes in norisoprenoids and phenylalanine-derived volatiles in off-vine Vidal blanc grape during late harvest[J]. Food Chemistry, 2019, 289: 645-656. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.03.101.
- [13] 邱爽, 刘畅, 谢美林, 等. 不同产区‘红灯’樱桃香气成分与产地生态因子相关性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 42(11): 240-247. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020070389.
- [14] CHEN X, FEDRIZZI B, KILMARTIN P A, et al. Development of volatile organic compounds and their glycosylated precursors in tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) during fruit ripening: a prediction of biochemical pathway[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128046. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128046.
- [15] MA Y, TIAN J Y, WANG X N, et al. Fatty acid profiling and chemometric analyses for zanthoxylum pericarps from different geographic origin and genotype[J]. Foods, 2020, 9: 1676. DOI:10.3390/foods9111676.
- [16] WANG Y H, ZHAO J W, XU F, et al. GC-MS, GC-O and OAV analyses of key aroma compounds in Jiaozi steamed bread[J]. Grain & Oil Science and Technology, 2020, 3(1): 9-17. DOI:10.1016/j.gaost.2019.11.003.
- [17] 谭伟, 许明秀, 谢思琦, 等. ‘赤霞珠’‘梅鹿辄’和‘品丽珠’不同营养系果实与葡萄酒挥发性香气成分分析[J]. 果树学报, 2021, 38(1): 107-120. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20200298.
- [18] JIA X, WANG L F, ZHENG C, et al. Key odorant differences in fragrant *Brassica napus* and *Brassica juncea* oils revealed by gas chromatography-olfactometry, odor activity values, and aroma recombination[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(50): 14950-14960. DOI:10.1021/acs.jafc.0c05944.
- [19] VAN GEMERT L J. Odour thresholds: compilations of odour threshold values in air, water and other media[M]. The Netherlands: Oliemans Punter & Partners BV, 2011.
- [20] TERRY ACREE H A. Flavornet and human odor space[EB/OL]. (2004-06-25) [2021-05-12]. <http://www.flavornet.org/>.
- [21] GUO X Y, HO C, SCHWAB W, et al. Aroma profiles of green tea made with fresh tea leaves plucked in summer[J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130328. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130328.
- [22] ZHANG Z Z, QIAO D, HE L, et al. Effects of vine top shading on the accumulation of C₆/C₉ compounds in ‘Cabernet Sauvignon’ (*Vitis vinifera* L.) grape berries in northwestern China[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(5): 1862-1871. DOI:10.1002/jsfa.11522.
- [23] 孙海峰, 李震宇, 武滨, 等. 绿叶挥发物产生特征及其生态生理作用研究进展[J]. 植物生态学报, 2013, 37(3): 268-275.
- [24] TIAN T T, YANG H, YANG F, et al. Optimization of fermentation conditions and comparison of flavor compounds for three fermented greengage wines[J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 89: 542-550. DOI:10.1016/j.lwt.2017.11.006.
- [25] 章秋平, 刘威生, 刘家成. 3种不同基因型杏果实的主要香气物质分析[J]. 北方果树, 2020(4): 10-13. DOI:10.16376/j.cnki.bfgs.2020.04.003.
- [26] SIEBERT T E, BARKER A, PEARSON W, et al. Volatile compounds related to ‘Stone Fruit’ aroma attributes in viognier and chardonnay wines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(11): 2838-2850. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05343.
- [27] WANG X B, ZHANG C L, MIAO Y L, et al. Interaction between PpERF5 and PpERF7 enhances peach fruit aroma by upregulating PpLOX4 expression[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 185: 378-389. DOI:10.1016/j.plaphy.2022.06.024.
- [28] 刘沛通, 段长青, 燕国梁. 油酸或 α -亚麻酸对葡萄酒酵母发酵活力和香气的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 154-161. DOI:10.16429/j.1009-7848.2020.08.018.
- [29] MA Z H, YANG S J, MAO J, et al. Effects of shading on the synthesis of volatile organic compounds in ‘Marselan’ grape berries (*Vitis vinifera* L.)[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2021, 40(2): 679-693. DOI:10.1007/s00344-020-10123-2.
- [30] VILANOVA M, FANDINO M, FRUTOS-PUERTO S, et al. Assessment fertigation effects on chemical composition of *Vitis vinifera* L. cv. Albarino[J]. Food Chemistry, 2019, 278: 636-643. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.11.105.
- [31] CRESPO J, RIGOU P, ROMERO V, et al. Effect of seasonal climate fluctuations on the evolution of glycoconjugates during the ripening period of grapevine cv. Muscat à petits grains blancs berries[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(5): 1803-1812. DOI:10.1002/jsfa.8656.
- [32] WILLIAMS S D, BARKLA B J, ROSE T J, et al. Does coffee have terroir and how should it be assessed?[J]. Foods, 2022, 11(13): 1907. DOI:10.3390/foods11131907.
- [33] CARBONE K, BIANCHI G, PETROZZIELLO M, et al. Tasting the Italian terroir through craft beer: quality and sensory assessment of cascade hops grown in central Italy and derived monovarietal beers[J]. Foods, 2021, 10(9): 2085. DOI:10.3390/foods10092085.
- [34] 胡永柱. 安徽柳桥镇青梅栽培现状与丰产要点[J]. 农业工程技术, 2021, 41(35): 83-85. DOI:10.16815/j.cnki.11-5436/s.2021.35.049.
- [35] TALAVERANO I, UBEDA C, CÁCERES-MELLA A, et al. Water stress and ripeness effects on the volatile composition of Cabernet Sauvignon wines[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(3): 1140-1152. DOI:10.1002/jsfa.8565.
- [36] SHI F, ZHOU X, YAO M M, et al. Low-temperature stress-induced aroma loss by regulating fatty acid metabolism pathway in ‘Nanguo’ pear[J]. Food Chemistry, 2019, 297: 124927. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.201.
- [37] FREIHAT N M, SHANNAG H K, ALKELANI M A. Effects of supplementary irrigation on performance of ‘Nabali’ and ‘Grossa de Spain’ olives under semi-arid conditions in Jordan[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 275: 109696. DOI:10.1016/j.scienta.2020.109696.
- [38] 刘佳, 李靖, 李菊. 四川地区杏病虫害绿色防控技术[J]. 四川农业科技, 2017(4): 32-33.
- [39] DUDAREVA N, NEGRE F, NAGEGOWDA D A, et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2006, 25(5): 417-440. DOI:10.1080/07352680600899973.
- [40] DENG H L, CHEN S S, ZHOU Z W, et al. Transcriptome analysis reveals the effect of short-term sunlight on aroma metabolism in postharvest leaves of oolong tea (*Camelliasinensis*) [J]. Food Research International, 2020, 137: 109347. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109347.