

葱属蔬菜植物风味前体物质的合成途径及调节机制

许真 严永哲¹ 卢钢 金千焕¹ 郭得平*(浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029; ¹韩国农村振兴厅暖地农业研究所园艺部, 济州 690-150)

摘要 葱属蔬菜植物风味前体物质 S- 烷基半胱氨酸亚砷是一类非蛋白含硫氨基酸(蒜氨酸类物质), 在蒜氨酸酶的作用下形成独特的刺激性风味成分。现对风味前体物质的种类、功能、组织和亚细胞定位以及合成途径及合成过程的调控等方面的研究进展给予概述。

关键词 风味前体物质; 葱属植物; S- 烷基半胱氨酸亚砷

洋葱、大蒜等葱属蔬菜植物独特的辛辣气味来源于一类性质稳定、无味的风味前体蒜氨酸(alliin)类物质(S- 烷基半胱氨酸亚砷)(cysteine sulphoxide, CSOs)。CSOs 在植物受到损伤后与蒜氨酸酶(alliinase)等酶类反应, 生成易挥发、具有刺激性气味的含硫化合物——风味物质[大蒜素(allicin)等]。有关风味物质的种类及功能的国内外研究报道较多, 但对于 CSOs 的报道很少, 本文就 CSOs 的研究进展概况作一系统介绍。

1 风味前体物质的种类及风味化合物对植物本身的功能

1.1 种类

葱属蔬菜植物的 CSOs 无气味, 难挥发, 目前研究较多的主要有四种(表 1)。S- 烯丙基-L- 半胱氨酸亚砷(ACSO)是最早发现的大蒜的主要风味物质, 之后相继发现了 S- 甲基- 半胱氨酸亚砷(MCSO), S- 丙基- 半胱氨酸亚砷(PCSO)和 S-1- 丙烯基-L- 半胱氨酸亚砷(PeCSO)。

除葱属植物外的其他生物(如一些热带植物、真菌等)也存在含量较低的 CSOs, 如: S- 乙基- 半胱氨酸亚砷、S- 丁基半胱氨酸亚砷, S- 甲硫甲基半胱氨酸亚砷, S- 苜基半胱氨酸亚砷等。它们在蒜氨酸酶的作用下也可释放出风味物质。

植物受到损伤时, CSOs 与蒜氨酸酶反应, 生成丙酮酸盐、氨和含硫化合物, 后者进一步降解生成有气味、易挥发的风味物质。CSOs 不同, 形成的风味也有区别。如 MCSO 降解后发出洋葱或甘蓝的味道, ACSO 生成独特的大蒜气味。洋葱的催泪效果过去认为是丙基硫氧化物所致, 然而, 最近发现是蒜氨酸酶催化 PeCSO 后, 在催泪因子合成酶的作用下

产生^[2]。

γ 谷氨酰胺(γ GPs)类物质是形成 CSOs 的中间产物, 主要由谷胱甘肽衍生而来, 也作为 N 或 S 的库源。

1.2 风味化合物的功能

风味化合物在葱属蔬菜植物中的作用一直是一个诱人的研究课题。不参与蛋白质合成的半胱氨酸和谷胱甘肽衍生物占葱属蔬菜植物干重的 1%~5%^[3], 是葱属植物体内的主要物质之一。其作用主要有两个方面: 一是防止害虫侵食植株, 特别是对越冬鳞茎; 二是用于 N、C、S 的贮藏和运输。有关风味化合物的抗菌作用可参见文献^[4,5]。CSOs 在抗病性中的作用目前的报道较少。洋葱鳞茎中的干物质和糖分含量与耐贮性的关系较大。不同品种的干物质和糖分含量不同, 干物质低者可小于 10%, 高者可达 12% 以上, 一般干物质高其含糖量相应也高。干物质和含糖高的品种, 腐烂率低, 贮藏效果良好。总的来看, 气味较淡的洋葱的耐贮性较差, 可能与其干物质含量相对较低有关。

然而, 葱属蔬菜植物的特殊挥发性气味对于一些昆虫和病原菌又具有一定的引诱作用。严重影响洋葱、大蒜生长的真菌性病害——白腐病的结核菌孢子萌发强烈依赖挥发性风味物质。同样, 韭菜的韭蛆和洋葱的葱蝇都受它们各自宿主植物特有气味的吸引^[6]。

激发子可诱发植物产生防御物质, 但激发子或信号分子(如水杨酸)却抑制洋葱愈伤组织形成 CSOs^[7], 这与风味物质参与植物防御反应的预期相反。

收稿日期: 2006-10-25 接受日期: 2007-04-12

韩国农村振兴厅(RDA)资助项目(No.200618)

* 通讯作者。Tel: 0571-86971121, E-mail: dpguo@zju.edu.cn

表 1 葱属植物的主要风味前体物质^[1]

名称	缩写	结构式	存在植物
S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砷(蒜氨酸)	ACSO	CH ₂ =CH-CH ₂ -R	大蒜
S-甲基-半胱氨酸亚砷	MCSO	CH ₃ -R	葱属、芸薹属
S-丙基-半胱氨酸亚砷	PCSO	CH ₃ -CH-CH ₂ -R	洋葱
S-1-丙烯基-L-半胱氨酸亚砷(异蒜氨酸)	PeCSO	CH ₃ -CH=CH-R	洋葱

表 1 中 R= $\begin{matrix} \text{O NH}_2 \\ | \\ \text{S-CH}_2\text{-CH-COOH} \end{matrix}$ 。

2 葱属蔬菜植物风味前体物质的合成途径

2.1 合成途径

以γGPs作为中间物质的CSOs合成途径可能有两种^[4]。一是谷胱甘肽中的半胱氨酸被烃基化, 然后经过一系列步骤, 形成CSOs。此过程同时伴随谷胱甘肽的降解^[8]。另一途径是, 谷胱甘肽不参与反应, 而是直接把半胱氨酸烃基化或O-乙酰丝氨酸硫化, 然后氧化生成S-烃基半胱氨酸, 最后合成CSOs(图1)^[3,9]。目前对两种不同合成途径中的少数合成酶进行了详细研究, 也阐明了相应的生物学功能, 但两种合成途径在不同组织和发育阶段中所起的作用仍不清楚。

2.2 合成过程中的相关物质

2.2.1 γGPs在风味前体物质合成过程中的作用 通过放射性示踪研究^[35S]-硫酸盐在葱属蔬菜植物组织中的变化, 发现硫元素最先整合到谷胱甘肽, 然后是γGPs, 最后是CSOs, 说明γGPs是CSOs合成的中间物质^[3]。示踪 15 min 后, ³⁵S 在谷胱甘肽、γ谷氨酰半胱氨酸、γ谷氨酰烯丙基半胱氨酸亚砷、甲基谷胱甘肽、S-2-羧丙基谷胱甘肽及一些未知化合物中出现。6 h 后, 在CSOs 中出现。示踪试验 7 天后, 洋葱叶片中 MCSO 含量没有变化, 而 PCSO 含量增加了 8 倍, PCSO 增加了 5 倍。³⁵S 标记的 S-2-

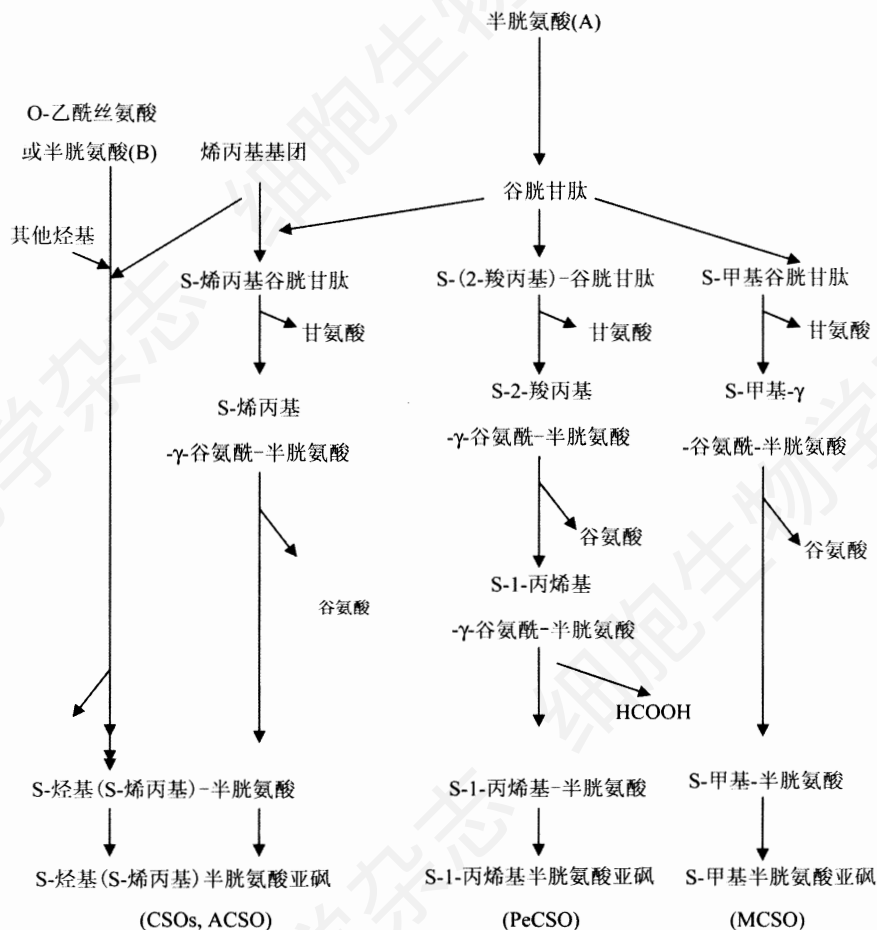


图 1 风味前体物质 S-烃基-半胱氨酸亚砷的两种可能合成途径^[3,9]

羧丙基谷胱甘肽可以在洋葱和大蒜中出现,而在观赏植物 *Allium siculum* 中不存在,说明 S-2-羧丙基谷胱甘肽是 CSOs 中烯丙基、丙烯基、丙基等基团形成的中间产物^[9](图 2)。完整植株与离体植株中 CSOs 的合成途径可能不同,完整植株的 ³⁵S 标记物大部分出现在 CSOs 中,在 CSOs 之前几乎不在 γ GPs 中出现^[8]。上述研究初步阐明了 γ GPs 与 CSOs 合成的关系,但在某些具体方面仍需进一步研究,如:该合成过程在不同组织、不同生长阶段是否相同,合成过程中烷基类物质的来源等。

2.2.2 半胱氨酸与风味前体物质的关系 半胱氨酸是葱属蔬菜植物合成 CSOs 的底物。葱属蔬菜植物中含有高水平的半胱氨酸,可能是由于其调节半胱氨酸合成的机制不同于其他植物。半胱氨酸合成是在丝氨酸乙酰转移酶(SAT)和半胱氨酸合成酶依次催化下完成的,该过程把无机硫元素整合到有机硫化物中,同时伴随碳和氮的同化。经 SAT 催化后, O-乙酰基添加到丝氨酸中,生成 O-乙酰丝氨酸的氨基丙酸盐化合物,其在半胱氨酸合酶(CS)的作用下与硫化物反应,生成 S-烷基半胱氨酸^[10]。

半胱氨酸合酶有很广泛的作用底物,它属于 β 取代基丙氨酸合成酶家族。当它与合适的底物结合时,就会合成 S-甲基(烯丙基或羧甲基等)半胱氨酸,其合成速率是半胱氨酸合成速率的 1%~72%^[7]。

2.2.3 烷基的形成与来源 烷基类物质是 CSOs 合成中不可缺少的基团。半胱氨酸与甲基丙烯酸反应,生成 S-2-羧基丙烯半胱氨酸,为 ACSO、PeCSO 和 PCSO 的合成提供了烷基基团。CSOs 的所有烷基侧链(甲基除外)都来自于 S-2-羧丙基类物质,这类物质经脱羧和还原反应,生成各种烷基(图 2)。

在洋葱中, S-2-羧丙基半胱氨酸能迅速转变成 PeCSO。此步骤涉及 S-2-氧化脱羧过程。在脱羧

过程中, 3-酮-S-2-羧丙基半胱氨酸衍生物并非中间产物。S 参与 CSOs 的形成并最后氧化为硫化物需要酶的催化。在半胱氨酸合酶的作用下,通过合成反应把 S 添加到 O-乙酰丝氨酸形成半胱氨酸,而且形成的半胱氨酸可进一步烷基化。S-烷基半胱氨酸氧化后会形成相应的硫化物^[11]。

¹⁴C-丝氨酸和 ¹⁴C-半胱氨酸饲喂洋葱叶子可全部参与 PeCSO 和 MCSO 的合成。半胱氨酸能促进 PeCSO 的快速合成,说明半胱氨酸可能是 PeCSO 的直接来源。向洋葱的根部添加丝氨酸、2-丙烯硫醇或乙硫醇,可产生洋葱自身并不合成的 ACSO 和 S-乙基 CSO^[12]。因此, CSOs 的合成受多种因素影响。

S-烷基半胱氨酸经氧化可生成相应的亚砷类物质。洋葱叶组织中的 S-甲基半胱氨酸、S-乙基半胱氨酸、S-丙基半胱氨酸、S-丙烯基半胱氨酸等都可被氧化成亚砷类物质。有趣的是,洋葱鳞茎及大葱组织中,还可把 S-烯丙基半胱氨酸转化成 ACSO,这可能与参与氧化的酶的立体专一性有关^[11],因为洋葱本身并不合成 ACSO。

细胞中缬氨酸脂肪侧链的断裂是形成甲基丙烯酸的基础。反应的中间产物甲基丙烯酰-CoA 可与游离的硫醇反应^[13]。该反应受来自于半胱氨酸或谷胱甘肽的硫醇含量水平的调节。

烯丙基的另一个可能来源是植物次生代谢产物葡萄糖硫苷^[14]。尽管其中的详细步骤有待进一步明确,但其在葱属植物 CSOs 合成中的作用已引起注意。

2.2.4 参与风味前体物质代谢的酶 目前对参与葱属蔬菜植物 CSOs 合成的部分酶的功能还不大清楚。这里主要介绍转肽酶、转移酶和 C-S 裂解酶(蒜氨酸酶)。

γ GPs 是烷基半胱氨酸亚砷的合成前体物质^[3],其合成过程中需要转肽酶把甘氨酸基和 γ 谷氨酰胺残基从烷基亚砷中去除。 γ 谷氨酰胺转肽酶催化 γ 谷氨酰胺基团从 γ GPs 转移到其他多肽或氨基酸中。 γ 谷氨酰胺转肽酶的活性在 pH \geq 8.0 时快速增高。该酶的 K_m 在以谷氨酰胺衍生物为底物时为 0.4~2.0 mmol/L,谷胱甘肽为底物时为 5 mmol/L。其作用底物有: γ 谷氨酰胺甲基半胱氨酸、 γ 谷氨酰胺丙烯基半胱氨酸、2-羧基谷胱甘肽、 γ 谷氨酰胺丙基半胱氨酸亚砷。

谷胱甘肽-S-转移酶位于植物胞液和微体中,它能从液泡转移到细胞质和细胞核,该酶特性的差异与其在细胞内存在区间有关^[15]。当植物生长、细胞分

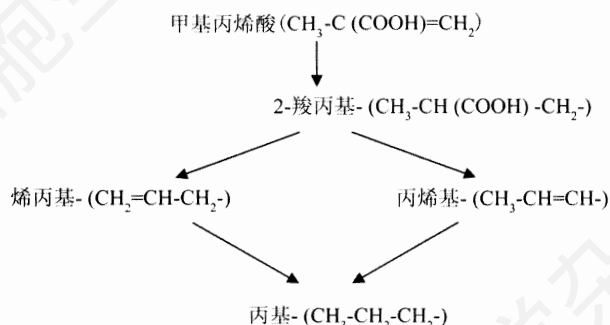


图 2 烷基合成途径^[9]

裂和衰老时, 此类酶的表达显著不同。此酶与其他酶一起与谷胱甘肽结合可增加自身水溶性, 发挥去毒作用。

在蒜氨酸酶作用下, CSOs 经裂解后形成风味物质。蒜氨酸酶一般由约包含 2 200 个核苷酸的 mRNA 翻译而成。大蒜的蒜氨酸酶含 448 个氨基酸, 洋葱的蒜氨酸酶含 445 个氨基酸^[16]。蒜氨酸酶有三个结构域: 中心和 C 末端含有 C-S 裂解酶和转氨酶的典型折叠结构, 中心区域含 5' 磷酸吡哆醛活性位点; N 末端有不同于其他 C-S 裂解酶和转氨酶的类型 EGF 区域, 利于半胱氨酸残基之间形成二硫化物。

3 风味前体物质合成的组织和亚细胞定位

谷胱甘肽存在于洋葱鳞茎表皮细胞的叶绿体和细胞质中, 而 γ GPs 和 CSOs 仅存在于细胞质中, γ 谷氨酰胺半胱氨酸则位于叶绿体中^[3]。参与 CSOs 合成的一些酶类也有不同的分布, 如负责谷胱甘肽合成的一些酶类也有不同的分布, 如负责谷胱甘肽合成的 γ 谷氨酰胺半胱氨酸合成酶存在于叶绿体, 而 γ 谷氨酰胺转氨酶则存在于细胞质, 极少部分分布于过氧化体中。

洋葱的贮藏器官形成于膨大的叶基部, 大蒜的贮藏器官是由膨大的侧芽形成。洋葱的蒜氨酸酶存在于细胞液泡^[7], CSOs 分布在细胞质。与洋葱不同, 大蒜的蒜氨酸酶存在于特定类型的细胞中。蒜瓣含有高度液泡化的有导管束分布的薄壁细胞。把新鲜的蒜瓣切片置于蓝色光下, 叶鞘细胞束会发出强烈的黄绿色荧光, 而其他类型的细胞却没有, 这种荧光现象是由蒜氨酸酶中的 5-磷酸-吡哆醛盐所产生^[17]。因此, 大蒜的蒜氨酸酶存在于叶鞘细胞的液泡中。

洋葱鳞茎形成期 CSOs 从叶片上部向基部运输。在鳞茎形成之前, 叶上部含有大量三种 CSOs (PeCSO、MCSO 和 PCSO)(PeCSO 是洋葱主要的 CSOs), 但当鳞茎形成后, PeCSO 和 MCSO 含量降低了约 90%, 只有 PCSO 继续保持高水平。随着鳞茎的逐渐成熟, 外部衰老鳞片 CSOs 含量降低, 而内部鳞片的 PCSO 含量会增加。0~0.5 °C 下贮藏 6 个月, CSOs 在内部鳞片和鳞茎顶部及底部含量增加并高于外层鳞片^[18]。

4 风味前体物质合成的调控

4.1 组织培养过程中的合成

CSOs 的合成并不局限于特定的组织或细胞中, 但未分化细胞中合成次生代谢产物的量远远低于完

整植株, 通过改变生长条件可显著增加次生代谢产物的合成。

不同葱属植物在组织培养过程中合成 CSOs 的途径不同: 未分化、无色的洋葱愈伤组织中 CSOs 含量不及鳞茎的 10%, 并且几乎都是 MCSO, 而 PeCSO 的合成非常少。未分化的大蒜愈伤组织含有少量的 ACSO 和 PCSO。细香葱愈伤组织中存在微量的 PCSO 和 PeCSO。当愈伤组织在光条件下再分化形成绿芽或根后, 就恢复合成全部 CSOs 的能力^[3]。

组织培养过程中, 外加 S- 烃基供体或中间物质能促进 CSOs 的合成。当大蒜愈伤组织分化芽时, 能合成很少量的 MCSO、ACSO, 并含有痕量的 S- 烯丙基半胱氨酸和 S- 甲基半胱氨酸^[11], 但若加入 2- 丙烯硫醇, 会很快形成 S- 烯丙基半胱氨酸和 ACSO。向洋葱或大蒜组织培养基中添加 2- 丙烯硫醇、烯丙基硫醇或者 S- 烯丙基-L- 半胱氨酸, 能促进 ACSO 合成。添加丙基硫醇或 S- 丙基-L- 半胱氨酸, 能促进 PCSO 合成。向洋葱愈伤培养基中添加 S-2- 羧丙基半胱氨酸或 S- 丙烯基半胱氨酸, 可恢复组织合成 PeCSO 的能力^[19]。添加丝氨酸、半胱氨酸、烯丙基谷胱甘肽都有促进 CSOs 合成的作用。以上结果表明, 组织培养过程中, 可通过外加烃基半胱氨酸或 S- 烃基谷胱甘肽类物质诱导 CSOs 合成, 但这两种途径是否在所有组织中同时发挥作用还有待进一步研究。

4.2 硫和氮素的影响

硫和氮元素在 CSOs 合成过程中具有重要的调控作用。硫是构成葱属植物风味成分的重要成分, 植物早期对硫的吸收和同化是形成风味的基础, 硫的利用效率高其风味就比较浓。氮可能会影响硫的吸收进而影响 CSOs 的合成。硫的代谢与氮的代谢密切相关, 如半胱氨酸的合成需要硫和氮同时参与。施用硫和氮肥可以提高 CSOs 的含量^[20]。

PeCSO 是洋葱的主要 CSOs, 但通过改变生长环境(如低硫、高氮水平), 可以提高其中 MCSO 的含量。种植在高硫条件下, 洋葱鳞茎中 CSOs 含量较高, 但其含量与土壤含硫量并不成正比^[21]。进一步研究发现, 植株表现缺硫症状时, 几乎 95% 的硫都用于合成 CSOs(PeCSO、MCSO 和 PCSO)和 γ 谷氨酰胺丙烷基半胱氨酸亚砷, 表明 CSOs 合成时需要大量的硫。硫含量很高时, 鳞茎中不到 40% 的硫用于合成 CSOs, 其余的硫可能存在于风味前体物合成期间的其他中间产物中或其他有机硫化物^[20]。

氮的供应会影响硫的吸收和 CSOs 的形成,但可能不影响鳞茎中无机硫的含量。随着氮含量增加,洋葱鳞茎中有机硫含量不断上升,无机硫含量变化不大;当环境中氮含量达到 80 mg/L 时,有机硫含量下降^[22]。对 CSOs 和 γ GPs 含量分析显示: γ 谷氨酰胺丙烯基半胱氨酸亚砷含量受氮影响较大,当外界氮含量达到 80 mg/L 时,其含量增加大约 10 倍,之后随氮含量增加而下降。PCSO 不受氮增加影响,MCSO 随外界氮含量的增加而增加,PeCSO 随氮含量增加而缓慢增加,当氮含量超过 80 mg/L 后,其含量随氮增加而缓慢下降。氮含量较低时(20~50 mg/L),PeCSO 是洋葱主要 CSOs,氮含量高于 80 mg/L 时,MCSO 为主要 CSOs。这可能与 γ GPs 类物质含量有关。

外界氮量低时,洋葱表现出明显的缺氮症状,叶发黄、鳞茎小,除 PeCSO 外,MCSO、PCSO、 γ GPs 含量很低,且不受硫变化的影响^[23]。当硫含量缺乏时,PeCSO 含量在缺氮时比氮含量适中时还要高,且 MCSO 含量一直高于 PeCSO。这表明,氮对 MCSO 合成的影响比硫大。硫对 PeCSO 和 γ GPs 合成的不同影响表明 PeCSO 和 γ GPs 的合成受不同途径的控制。

5 展望

葱属蔬菜植物中 CSOs 含量的多少、各种 CSOs 所占的比例对葱属植物风味的形成有很大影响。因此,了解 CSOs 的种类、合成机制及相关影响因素对培育大蒜的优良品种和大蒜精深加工等具有重要意义。目前,已对葱属植物 CSOs 的种类、合成机制及相关因子之间的关系、分析方法等方面有了初步

的研究和认识^[7,24],但在某些具体方面,例如:CSOs 合成过程发生的植物生长阶段及部位、 γ GPs 参与 CSOs 合成的途径在不同组织或器官中是否相同、各种烃基类物质的来源、参与合成的酶的种类、特性及作用方式等问题尚不明确,有待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] Whitaker JR. *Adv Food Res*, 1976, **22**: 73
- [2] Imai S *et al. Nature*, 2002, **419**: 685
- [3] Lancaster JE *et al. In: Rabinowitch H et al. (eds.) Alliums and Allied Crops*, Vol. III. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990, 33
- [4] Ankri S. *Microbes Infect*, 1999, **1**: 125
- [5] Davis SR *et al. Mycoses*, 2005, **48**: 95
- [6] Romeis J *et al. J Chem Ecol*, 2003, **29**: 2131
- [7] Jones MJ *et al. J Exp Bot*, 2004, **55**: 1903
- [8] Leustek T *et al. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, **51**: 141
- [9] Lawson LD. *In: Koch HP et al. (eds.) Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1996, 37
- [10] Warrilow AGS. *J Exp Bot*, 2002, **53**: 439
- [11] Ohsumi C *et al. Phytochem*, 1993, **33**: 107
- [12] Prince CL *et al. Biotech Prog*, 1997, **13**: 506
- [13] Zolman BK *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 31037
- [14] Wittstock U *et al. Trends Plant Sci*, 2002, **7**: 263
- [15] Schroder P *et al. Zeitschrift fur Naturforschung*, 1999, **54**: 1033
- [16] 程龙军等. *植物生理学通讯*, 2001, **37**: 471
- [17] Ellmore GS *et al. Amer J Bot*, 1994, **81**: 89
- [18] Bacon JR *et al. Food Chem*, 1999, **64**: 257
- [19] Hughes J *et al. Phytochem*, 2005, **66**: 187
- [20] Abbey L *et al. Ann App Biol*, 2004, **145**: 41
- [21] Randle WM *et al. J Amer Soc Hortic Sci*, 1993, **118**: 770
- [22] Coolong TW *et al. J Sci Food Agric*, 2003, **83**: 477
- [23] Coolong TW *et al. J Amer Soc Hortic Sci*, 2003, **128**: 776
- [24] 曹庆穗等. *江苏农业科学*, 2006, (3): 171

The Biosynthetic Pathways of Flavor Precursors and Its Control in Alliums

Zhen Xu, Yeong-Cheol Um¹, Gang Lu, Chun-Hwan Kim¹, De-Ping Guo*

(Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ¹Subtropical Horticulture Division, National Institute of Subtropical Agriculture, Rural Development Administration, Jeju 690-150, Korea)

Abstract Flavor precursors in alliums, S-alk(en)yl-cysteine sulphoxides, are classes of non-protein sulfur-containing amino acids, which can be transformed enzymatically into flavors and odours by the enzyme allinase. The recent development in classes, role and control of the biosynthesis of flavor precursors in alliums are reviewed in this paper.

Key words flavor precursor; alliums; S-alk(en)yl-cysteine sulphoxide

Received: October 25, 2006 Accepted: April 12, 2007

This work was supported by the Rural Development Administration, Republic of Korea (No.200618)

* Corresponding author. Tel: 86-571-86971121, E-mail: dpguo@zju.edu.cn