

鼓槌石斛不同花期香气成分及盛花期香气 日变化规律研究

黄昕蕾, 郑宝强, 王雁*

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘要: [目的] 本研究明确鼓槌石斛花朵挥发性成分及其释放量变化, 阐明其花香气形成的物质基础, 为石斛属植物花香研究提供理论基础。[方法] 以鼓槌石斛原生种为材料, 运用固相微萃取 (SPME) 结合 GC-MS 技术测定鼓槌石斛不同花期及盛花期时一天中不同时段花朵挥发性成分及其释放量变化。[结果] 从鼓槌石斛花朵释放的花香中共鉴定出花香成分 33 种, 其中, 萜烯类 15 种, 酯类 7 种, 醇类 6 种, 芳香族化合物 2 种, 酮类 2 种, 醛类 1 种; 鼓槌石斛花香成分主要为酯类和萜烯类, 其释放量占总香气成分的 80% 以上。鼓槌石斛盛花期花朵随一天中开放时段的不同, 香气成分种类和释放量皆呈先上升后下降的趋势, 其中, 香气种类和释放量均在 14:00 时达到最高。鼓槌石斛不同花期挥发性成分中的酯类、萜烯类、醛类、醇类、酮类和芳香族化合物的种类和释放量皆呈先上升后下降的趋势, 在盛花期达到最高。[结论] 本研究明确鼓槌石斛花朵不同花期及盛花期一天中的不同时段挥发性成分及释放量差异明显, 乙酸辛酯、 β -罗勒烯、 α -蒎烯和苯甲醛是影响鼓槌石斛香气的主要物质, 为探讨石斛兰香气形成机制和香花型石斛兰育种提供参考。

关键词: 鼓槌石斛; 花期; 日变化; 花香; GC/MS 技术

中图分类号: S682.31

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2018)04-0142-08

Study of Aroma Compounds in Flowers of *Dendrobium chrysotoxum* in Different Florescence Stages and Diurnal Variation of Full Blooming Stage

HUANG Xin-lei, ZHENG Bao-qiang, WANG Yan

(Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: [Objective] To analyze the aroma compounds in flowers of *Dendrobium chrysotoxum*, in order to clarify the material basis of floral scents formation and provide reference for breeding. [Method] The aromatic component categories and their release amounts in flowers of native *Den. chrysotoxum* in different florescence stages were detected and the diurnal variation of full blooming stage were determined by solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). [Result] The floral scents of 33 volatiles were identified as scent components in *Den. chrysotoxum*, including 15 terpenes, 7 esters, 6 alcohols, 2 aromatic compounds, 2 ketones and 1 aldehydes. Ester and terpenoids were the dominant components of these scents, composing exceed 80% to all detected compounds. The aromatic component categories and their release amounts at full blossoming stage increased at first and then decreased at different sampling time, and reached the maximum at 2:00 p. m. In different blooming stages, the contents of terpenes, esters, alcohols, aromatic compounds, aldehydes and ketones

收稿日期: 2017-08-31

基金项目: 国家科技支撑计划(2013BAD01B0703)

作者简介: 黄昕蕾(1985—), 女, 博士, 主要研究方向为花卉遗传改良。E-mail: 360449284@qq.com

* 通讯作者: 王雁(1969—), 女, 博士, 研究员。E-mail: chwy8915@sina.com

increase and then decrease, and reached the highest at full opening stage. [**Conclusion**] The aroma compounds and their release amounts are distinctly different at different florescence stages and show a diurnal variation in full blooming of *Den. chrysotoxum*. Octyl acetate, β -ocimene, α -pinene and benzeneacetaldehyde are the main substances responsible for the floral scent formation in *Den. chrysotoxum*.

Keywords: *Dendrobium chrysotoxum*; florescence; diurnal variation; aroma component; GC/MS

石斛兰 (*Dendrobium* Sw.) 隶属兰科 (Orchidaceae) 树兰亚科 (Epidendreae Humb.), 与卡特兰 (*Cattleya* Lindl.)、蝴蝶兰 (*Phalaenopsis* Bl.) 和文心兰 (*Oncidium* Lindl.) 并称为世界四大观赏洋兰^[1-2]。石斛兰因其花大、花形奇特、花色鲜艳等特点, 是重要的新花卉作物资源^[1]。

花香是评价观赏植物和切花的重要观赏性状之一, 香花育种一直是重要的育种目标^[3]。长期以来, 石斛兰杂交育种忽略了对花香性状的选择, 导致众多商品石斛兰不具有香气, 培育芳香型品种成为国际石斛兰育种的重要趋势之一^[1]。

关于石斛属植物花香的研究报道较少, 张莹等^[4]分析了4种商品石斛兰鲜花的香气成分, 丁灵等^[5]测定了7种秋石斛鲜花的挥发性成分, 李崇晖等^[6]调查了4种石斛原生种鲜花的香气组分, 吕素华等^[7]分析了11个铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 杂交家系鲜花的挥发性, 这些研究认为, 萜烯类、酯类、醇类和醛类对石斛的花香起着重要的作用。目前, 未见石斛兰鲜花挥发性成分和含量的日动态变化分析, 也未见不同开花阶段挥发性成分变化的研究报道。鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum* Lindl.) 开花性好, 香气迷人, 是著名的春石斛观赏种, 也是灯笼石斛组的重要育种亲本之一^[1-2]。

固相微萃取技术 (SPME) 已广泛应用于花卉^[4-7]、果蔬^[8-9]、食品^[10]等的挥发性成分检测, 具

有操作简便、灵敏度高等优点。65 μ m PDMS/DVB 萃取头对较高沸点的极性挥发性物质灵敏度更大一些, 较多的应用于花朵香气成分分析^[4-5, 11-13]。本研究运用固相微萃取结合 GC/MS 联用技术定性、定量分析鼓槌石斛开花过程中香气成分变化以及盛花期香气日动态变化, 明确鼓槌石斛花的特征香气来源, 为探讨石斛兰香气形成机制和香花型石斛兰育种提供参考。

1 试验材料

试验用的鼓槌石斛原生种引种自云南, 种植于中国林业科学研究院科研温室。根据其释香过程分为4个花期(图1): 花蕾期、半开期、盛开期和衰败期。选择生长、开花正常的3株鼓槌石斛作为采集对象, 每个花期各采集1朵, 重复采样3次, 进行香气测定。香气日变化规律测定的采样时间设为5个, 分别为8:00、11:00、14:00、17:00和20:00, 选择生长势一致的3株盛开期鼓槌石斛作为采集对象, 每个取样时间采集1朵, 每株重复采样3次, 进行香气分析。将采集的花朵迅速置于20 mL 顶空进样瓶中, 设置空白顶空进样瓶为对照。花香气采集利用固相微萃取法, 40 $^{\circ}$ C下, 65 μ m PDMS/DVB 萃取纤维头(美国Supelco公司)插入进样瓶顶空萃取30 min后进样^[4, 11-14]。萃取纤维头首次使用前, 须在250 $^{\circ}$ C下老化1 h。



I: 花蕾期 Budding stage; II: 半开期 Half opening stage; III: 盛开期 Full opening; IV: 衰败期 Withering stage

图1 鼓槌石斛不同花期的形态特征

Fig. 1 The morphological characteristics of *Den. chrysotoxum* flower at different blooming stages

2 研究方法

2.1 GC-MS 分析

花香分析采用美国安捷伦公司的 Agilent 7890A/5795C 气相色谱-质谱联用仪,色谱柱为 HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 石英毛细管柱。GC/MS 分析色谱条件为:进样口温度 250℃,柱温 50℃ 保持 2 min,以 3℃ · min⁻¹ 升至 180℃,再以 15℃ · min⁻¹ 升至 250℃。质谱条件:电离方式 EI,电子能量 70 eV,四级杆温度 150℃,离子源温度 230℃,接口温度 280℃;扫描质量范围 30 ~ 500 amu。

2.2 数据分析

鼓槌石斛花香中的不同挥发性组分经气相色谱分离,形成各自的色谱峰,通过 NIST 图谱库检索及相关文献^[15] 辅助质谱检索定性,确认鼓槌石斛花香中的各种挥发性成分。在顶空萃取前,加入 1 μL 甲醇稀释的月桂酸甲酯(0.87 g · mL⁻¹) 作内标,依据各色谱峰的峰面积计算香气各组分的相对释放量^[16]。

香气各组分相对释放量 (nmol · flower⁻¹) = 各组分峰面积/内标峰面积 × 内标浓度 (mg · mL⁻¹) × 内标体积 (μL) × 1 000 / 内标摩尔质量 (g · mol⁻¹)

3 结果与分析

3.1 鼓槌石斛不同花期香气变化规律分析

经 GC/MS 分析,鼓槌石斛花蕾期、初开期、盛花期和衰败期的花朵中共鉴定出挥发性成分 33 种(图 2,表 1)。在开花过程中,总香气成分的释放量变化差异很大,花蕾期的香气成分最少,仅为每花 5.2 nmol,初开期略有上升,为每花 13.48 nmol,随着花朵开放总香气成分迅速上升到盛花期时的每花 167.48 nmol,之后随着花朵的衰败下降到每花 10.36 nmol。

整个花期释放的香气成分可划分为 6 类,包括酯类、醛类、醇类、酮类、芳香族化合物和萜烯类。蕾期的香气成分极少,只有 3 种,主要是萜烯类。初花期增加到 6 种,为酯类和萜烯类,分别占总香气含量的 44.2% 和 55.8%,进入盛花期后,酯类、醛类、醇类、酮类、芳香族化合物和萜烯类都有检测到,组分也增加到 31 种,以酯类和萜烯类为主,占总香气成分的 53.6% 和 30.2%。衰败期,香气组分迅速下降为 5 种,以萜烯类为主(93.3%),还检测到极少量的醇类。鼓槌石斛不同开放期花香成分的酯类、醛类、醇类、酮类、芳香族化合物和萜烯类释放量皆呈先上升后下降的趋势,在盛花期的含量达到最高。

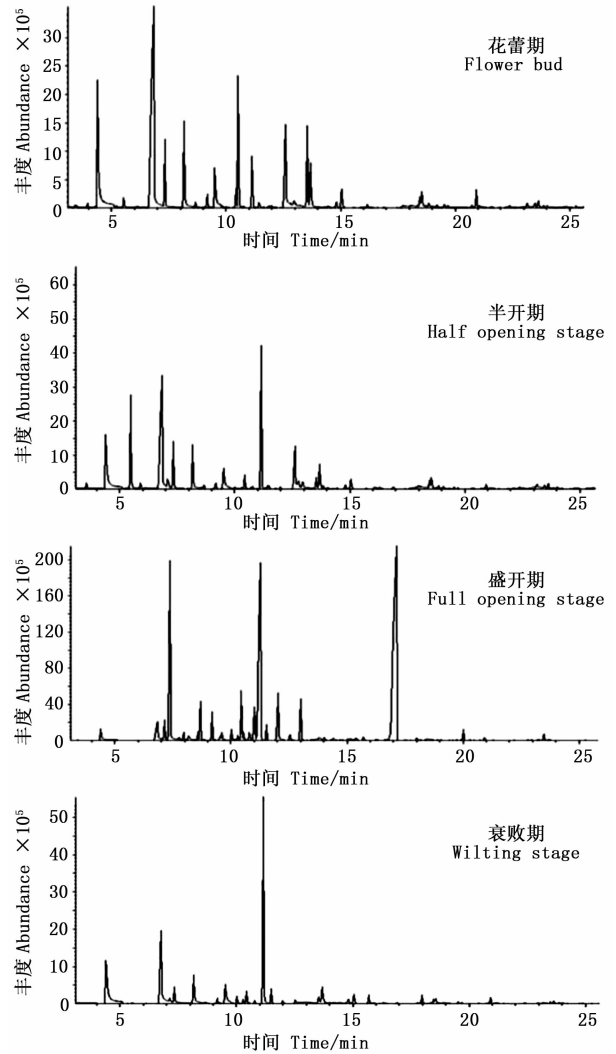


图 2 鼓槌石斛不同花期香气成分总离子流图

Fig. 2 The TIC of VOCs emitted from flowers of *Den. chrysotoxum* at different blooming stages

3.2 鼓槌石斛盛花期花香日变化规律分析

图 3 为鼓槌石斛盛花期 1 d 中 5 个时期花香释放的总离子流图,扣除本底杂质后,从鼓槌石斛盛花期花朵释放的花香中共鉴定出挥发性成分 31 种(表 2),其中,萜烯类 15 种,酯类 5 种,醇类 6 种,以及少量的醛类、酮类和芳香族化合物。鼓槌石斛一天中不同时间段花香的总释放量存在明显差异,8:00 时测定的总释放量为每花 99.08 nmol,随后总释放量逐渐上升,11:00 时,增加到每花 122.86 nmol,14:00 时达到最高(每花 167.48 nmol),之后总释放量迅速下降,17:00 时,减少为每花 56.3 nmol,20:00 时总释放量最少,仅为每花 25.07 nmol。鼓槌石斛盛花期花香总释放量在日变化中呈先上升后下降的趋势,在 14:00 时达到最大值。

表1 鼓槌石斛不同花期香气成分种类及释放量

Table 1 Aromatic component categories and their contents at different blooming stages of *Den. chrysotoxum* flower

化合物 Compound	保留时间 Retain time/ min	释放量/(nmol·flower ⁻¹)				
		蕾期 Flower bud	半开期 Half opening stage	盛花期 Full opening stage	衰败期 Wilting stage	
酯类 Ester	异戊酸辛酯 octyl3-methylbutanoate	3.549	-	0.14 ± 0.02	-	
	2-甲基丁烯酸甲酯 Methyl Angelate	5.472	-	5.56 ± 1.14	-	
	4-苯甲基戊酯 4-Ethylbenzoic acid, cyclopentyl easter	6.781	-	-	10.62 ± 2.10	
	乙酸辛酯 Octyl acetate	7.077	-	0.26 ± 0.09	76.71 ± 2.91	
	2-苯乙醇乙酸酯 2-Acetic acid, 2-phenylethyl ester	17.047	-	-	0.61 ± 0.06	
	癸酸甲酯 Methyl caprate	20.719	-	-	1.39 ± 0.04	
	乙酸月桂酯 Lauryl acetate	23.479	-	-	0.45 ± 0.02	
合计 Total			5.96	89.78		
醛类 Aldehyde	苯乙醛 Benzeneacetaldehydo	11.001	-	-	14.73 ± 1.47	
	合计 Total		-	-	14.73	
醇类 Alcohol	辛醇 1-Octanol	11.994	-	-	5.43 ± 0.77	
	芳樟醇 Linalyl acetate	12.972	-	-	0.50 ± 0.04	
	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	13.480	-	-	0.59 ± 0.06	
	马鞭草烯醇 Verbenone	15.366	-	-	0.52 ± 0.04	
	松油烯-4-醇 Terpinen-4-ol	15.701	-	-	1.03 ± 0.14	0.69 ± 0.10
	木焦油醇 Creosol	16.268	-	-	0.60 ± 0.06	-
合计 Total				8.67	0.69	
酮类 Ketone	1-薄荷酮 1-Menthone	20.011	-	-	0.63 ± 0.04	
	环己酮 Cyclohexanone	20.015	-	-	1.57 ± 0.03	
	合计 Total				2.2	
芳香族 化合物 Aromatic	O-甲基异丙基苯 O-Cymene	10.298	-	-	0.44 ± 0.02	
	叔丁基对苯二酚 t-Butylhydroquinone	17.991	-	-	1.01 ± 0.04	
	合计 Total				1.45	
萜烯类 Terpene	α-水芹烯 α-Phellandrene	7.135	-	-	1.20 ± 0.12	
	α-蒎烯 α-Pinene	7.339	1.22 ± 0.15	1.87 ± 0.21	11.37 ± 1.10	0.66 ± 0.27
	崖柏烯 Thujene	7.963	-	-	0.61 ± 0.15	-
	β-蒎烯 β-Pinene	8.679	-	-	1.46 ± 0.06	-
	L-β-蒎烯 L-β-Myrcene	9.183	-	-	1.39 ± 0.28	-
	1,3,8-对-薄荷三烯 1,3,8-P-Menthatriene	9.623	-	-	0.42 ± 0.02	-
	α-松油烯 α-Terpinene	10.024	-	-	0.61 ± 0.11	0.57 ± 0.07
	对伞花烃 O-Cymene	10.288	-	-	0.48 ± 0.06	-
	D-柠檬烯 D-Limoene	10.439	-	0.59 ± 0.08	3.72 ± 0.30	-
	桉油精 Eucalyptol	10.531	2.80 ± 0.69	-	1.02 ± 0.74	-
	顺-β-罗勒烯 Trans-β-Ocimene	10.785	-	-	0.75 ± 0.29	-
	β-罗勒烯 β-Ocimene	11.182	1.18 ± 0.16	5.06 ± 2.32	25.40 ± 2.40	7.98 ± 2.16
	γ-松油烯 γ-Terpinene	11.501	-	-	0.88 ± 0.26	0.46 ± 0.03
	2-萜烯 2-Carene	12.540	-	-	0.48 ± 0.03	-
	3-萜烯 3-Carene	14.420	-	-	0.86 ± 0.13	-
合计 Total		5.2	7.52	50.65	9.67	

注:“-”:未检测到或不存在。Note:“-”:Not detected or not existed.

鼓槌石斛盛花期花朵挥发性成分的种类和释放量在日变化中差异较大,8:00时测定的挥发性成分为14种,以酯类、萜烯类和醛类为主,其释放量分别占总香气成分的53.0%、32.2%和8.6%。随后,在11:00时,挥发性组分的种类开始增多(23种),萜烯类和醇类的种类明显增加,它们的释放量也分别增加到37.2%和5.4%(占总香气成分的)。14:00时,挥发性成分的种类达到最多(31种),香气各组

分的释放量在此时也达到最大值,酯类、萜烯类和醛类分别占总香气成分的53.6%、30.2%和5.2%。17:00时,醇类和萜烯类组分明减少,它们占总香气成分的含量也降为11.8%和5.0%。20:00时测定的挥发性成分最少,只有6种,以酯类为主,释放量占总香气成分的80.1%。香气成分种类和释放量在日变化中皆呈先上升后下降的趋势,其中,香气种类和释放量在14:00时达到最大值。鼓槌石斛盛

表2 鼓槌石斛盛花期不同采样时间香气成分种类及释放量

Table 2 Aromatic component categories and their contents from full blossoming stage of *Den. chrysotoxum* at different sampling time

化合物 Compound	保留时间 Retain time/min	释放量/(nmol·flower ⁻¹)					
		8:00	11:00	14:00	17:00	20:00	
酯类 Ester	4-苯甲基戊酯 4-Ethylbenzoic acid, cyclopentyl ester	6.781	5.48 ± 1.39	4.43 ± 0.52	10.62 ± 2.10	8.88 ± 0.90	8.71 ± 0.88
	乙酸辛酯 Octyl acetate	17.047	46.07 ± 4.74	52.75 ± 8.11	76.71 ± 2.91	32.69 ± 3.15	11.37 ± 2.31
	2-苯乙醇乙酸酯 2-Acetic acid, 2-phenylethyl ester	18.461	1.01 ± 0.02	-	0.61 ± 0.06	-	-
	癸酸甲酯 Methyl caprate	20.719	-	0.54 ± 0.02	1.39 ± 0.04	1.97 ± 0.62	-
	乙酸月桂酯 Lauryl acetate	23.479	-	0.31 ± 0.01	0.45 ± 0.02	-	-
	合计 Total		52.56	58.03	89.78	43.54	20.08
醛类 Aldehyde	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	11.001	8.56 ± 0.90	9.19 ± 1.11	14.73 ± 1.47	3.32 ± 0.18	-
	合计 Total		8.56	9.19	14.73	3.32	-
醇类 Alcohol	辛醇 1-Octanol	11.994	4.46 ± 0.44	4.07 ± 1.05	5.43 ± 0.77	2.81 ± 0.31	1.44 ± 0.08
	芳樟醇 Linalyl acetate	12.972	-	-	0.50 ± 0.04	-	-
	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	13.480	-	0.82 ± 0.12	0.59 ± 0.06	-	-
	马鞭草烯醇 Verbenone	15.366	-	-	0.52 ± 0.04	-	-
	松油烯-4-醇 Terpinen-4-ol	15.701	-	0.93 ± 0.10	1.03 ± 0.14	-	-
	木焦油醇 Creosol	16.268	-	0.78 ± 0.29	0.60 ± 0.06	-	-
	合计 Total		4.46	6.60	8.67	2.81	1.44
酮类 Ketone	1-薄荷酮 1-Menthone	20.011	0.41 ± 0.02	0.52 ± 0.04	0.63 ± 0.04	-	-
	环己酮 Cyclohexanone	20.015	1.23 ± 0.82	1.61 ± 0.32	1.57 ± 0.03	-	-
	合计 Total		1.64	2.13	2.20	-	-
芳香族 化合物 Aromatic	O-甲基异丙基苯 O-Cymene	10.298	-	0.61 ± 0.04	0.44 ± 0.02	-	-
	叔丁基对苯二酚 t-Butylhydroquinone	17.991	-	0.65 ± 0.16	1.01 ± 0.04	-	-
	合计 Total			1.26	1.45		
萜烯类 Terpene	α-水芹烯 α-Phellandrene	7.135	1.36 ± 0.16	-	1.20 ± 0.12	-	-
	α-蒎烯 α-Pinene	7.339	9.04 ± 0.13	14.81 ± 6.85	11.37 ± 1.10	0.79 ± 0.24	0.36 ± 0.04
	崖柏烯 Thujene	7.963	-	-	0.61 ± 0.15	-	-
	β-蒎烯 β-Pinene	8.679	1.36 ± 0.27	2.05 ± 0.86	1.46 ± 0.06	-	-
	L-β-蒎烯 L-β-Myrcene	9.183	1.15 ± 0.17	1.23 ± 0.06	1.39 ± 0.28	-	-
	1,3,8-对-薄荷三烯 1,3,8-P-Menthatriene	9.623	-	0.31 ± 0.04	0.42 ± 0.02	-	-
	α-松油烯 α-Terpinene	10.024	-	-	0.61 ± 0.11	-	-
	对伞花烃 O-Cymene	10.288	-	-	0.48 ± 0.06	-	-
	D-柠檬烯 D-Limonene	10.439	1.69 ± 0.17	2.69 ± 0.23	3.72 ± 0.30	0.55 ± 0.10	-
	桉油精 Eucalyptol	10.531	-	0.62 ± 0.17	1.02 ± 0.74	-	-
	顺-β-罗勒烯 trans-β-Ocimene	10.785	-	-	0.75 ± 0.29	-	-
	β-罗勒烯 β-Ocimene	11.182	16.04 ± 2.55	21.65 ± 1.25	25.40 ± 2.40	4.83 ± 0.88	2.51 ± 0.81
	γ-松油烯 γ-Terpinene	11.501	1.22 ± 0.12	1.01 ± 0.29	0.88 ± 0.26	0.46 ± 0.03	0.68 ± 0.22
	2-萜烯 2-Carene	12.540	-	0.41 ± 0.04	0.48 ± 0.03	-	-
	3-萜烯 3-Carene	14.420	-	0.87 ± 0.14	0.86 ± 0.13	-	-
	合计 Total		31.86	45.65	50.65	6.63	3.55

注：“-”：未检测到或不存在。Note：“-”：Not detected or not existed.

花期花香中的酯类、萜烯类、醛类、醇类酮类和芳香族化合物释放量呈先升高后降低的趋势。

鼓槌石斛盛花期主要花香成分乙酸辛酯、β-罗勒烯、α-蒎烯和苯乙醛释放量的日变化差异明显。乙酸辛酯是一天中各个时段释放量最高的挥发性组分，其释放量呈先上升后下降的趋势；β-罗勒烯和α-蒎烯这两类萜烯类物质释放量也比较高，其中，β-罗勒烯在14:00时释放量最大，而α-蒎烯在11:00时释放量最大；苯乙醛在20:00时未检测到，其它时间

段释放量也是先上升后下降。可以看出，酯类、萜烯类和醛类是鼓槌石斛花香的主要成分，而其它醇类和芳香族化合物也是鼓槌石斛花香的重要组成部分。

4 讨论

前人研究表明，随着花的开放和凋谢，观赏植物挥发性成分的种类和释放量均有显著变化。本试验结果显示，从鼓槌石斛的花蕾期到凋谢期，香气成分

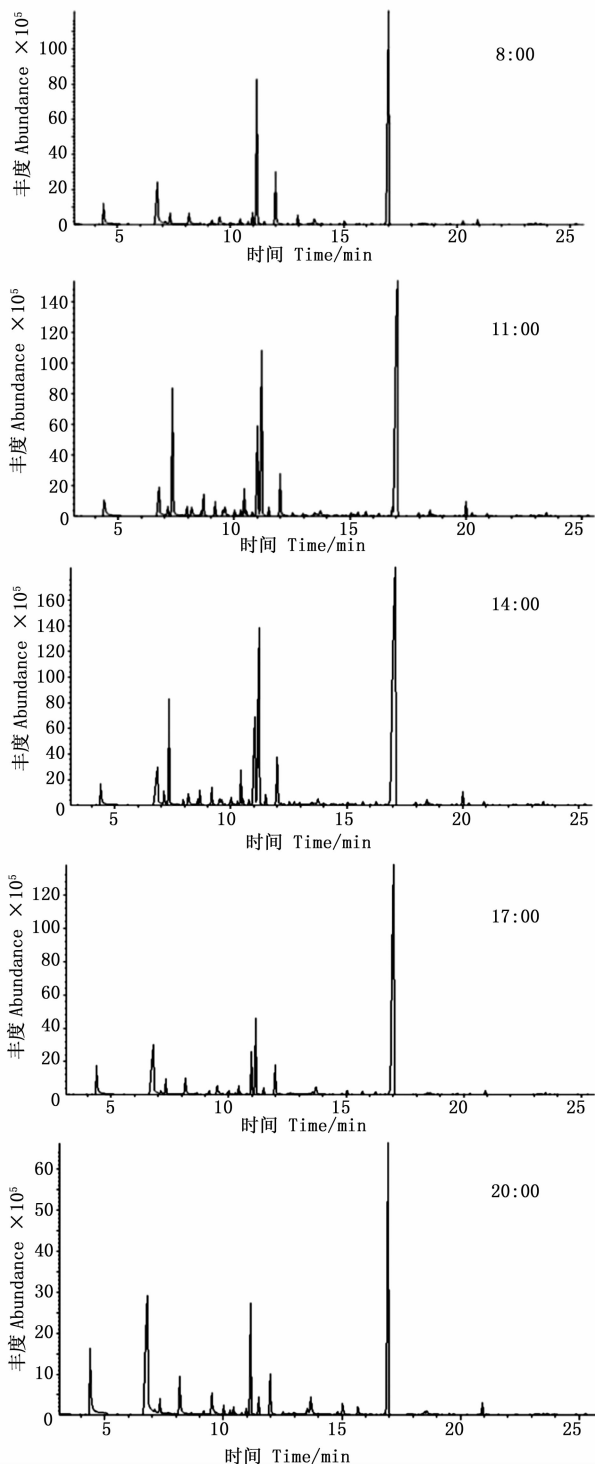


图3 鼓槌石斛盛花期不同采样时间香气成分总离子流图

Fig. 3 The TIC of VOCs emitted from full blossoming stage of *Den. chrysotoxum* at different sampling time

morifolium (Ramat.) Tzvel.)^[20]和双瓣茉莉(*Jasminum sambac* (L.) Ait.)^[21]等的研究结果一致。感官体验上,鼓槌石斛花香型也由初花期的略有香气转变为盛花期的浓郁花香。鼓槌石斛在盛花期的挥发性组分和含量最多,以萜烯类和酯类为主,这与大花蕙兰(*Cymbidium hybrid*)^[22]、蝴蝶兰^[23]、秋石斛^[5]、双瓣茉莉^[21]和黄兰^[19]等的香气构成相一致,与李崇晖等^[6]的淡香型鼓槌石斛挥发性组分以萜烯类化合物为主的结果不同,可能是与鼓槌石斛种质资源性状差异较大相关^[24]。不同原生种及品种间香气主成分往往差异明显,石斛兰中也有类似现象^[4-7,25-26],如GC/MS测定罗河石斛(*Den. lohohense* T. Tang et F. T. Wang)花挥发性成分以酯类为主^[6],密花石斛(*Den. densiflorum* Lindl.)香气构成以烷类为主^[6],细叶石斛(*Den. hancockii* Rolfe)的香气主要是萜烯类化合物^[6],而铁皮石斛香气成分主要是萜类和脂肪族类^[7]。

植物花香释放的规律性变化与环境因素尤其是环境温度密切相关,GC/MS分析结果显示,鼓槌石斛一天中各时段挥发性成分及释放量均不同,随着时间的变化,花香物质的种类及总释放量均呈先增多后减少的趋势,香气种类和总释放量均在14:00时达到最高,这可能是因为在同一天中温度较高、光照充足的时段花香更容易释放。在香水文心兰和万代兰的香气变化规律研究中也存在类似发现,随温度升高,文心兰花香成分的数量和相对释放量都明显增高^[27]。万代兰‘Mini Plame’24 h香气变化规律的研究中,萜类化合物和苯类/苯丙素类化合物在6:00开始检测到,14:00时达到释香高峰,在18:00后香气释放量为0^[17]。有关环境温度及昼夜节律对石斛兰香气形成和释放的影响机制尚待进一步的深入研究。

花香是由各种挥发性成分共同作用形成的,各成分对花香的贡献可以通过其香气值(含量/嗅感阈值)衡量,具有较高香气值的成分可作为花的特征香气^[28-29]。鼓槌石斛在盛花期花香浓郁,相较于花蕾期和衰败期,酯类和萜烯类的组分和释放量都有明显增加。相关文献报道,酯类和萜烯类的嗅感阈值都比较低^[30-32],因此,乙酸辛酯、 β -罗勒烯、 α -蒎烯和苯乙醛是影响鼓槌石斛花香的特征香气物质,其中,乙酸辛酯为水果香型, α -蒎烯具有强烈的松木香气,而苯乙醛是强烈的风信子香型^[30-32],这可能是盛花期香味呈现混合的松脂和水果香的原因。鼓槌

的种类和释放量先增多后减少,这与文心兰^[13]、卡特兰^[12]、万代兰(*Vanda* W. Jones ex R. Br.)^[17]、大彗星风兰(*Angraecum sesquipedale* Darwin)^[18]、黄兰(*Michelia champaca* Linn.)^[19]、菊花(*Dendranthema*

石斛花香中含有很多气味独特且阈值低的化合物,如强烈松木香气的 α -蒎烯、 β -蒎烯,具有柠檬香气的D-柠檬烯和具有清新橙香的乙酸辛酯^[30-32],如果能提高这些香气成分的含量,也许可以丰富石斛的花香性状。

目前,香花石斛兰育种主要依赖于传统的杂交育种。我国原产的80余种石斛兰,不乏香味浓郁、香型佳的原生种香花石斛兰,这些在香花石斛兰育种中具有重要的育种价值。如黑毛石斛组里具有甜美脂粉香的粗舌石斛(*Den. scabrilingue* Lindl.)和翅梗石斛(*Den. trigonopus* Rehb. f.),它们的一些子代中印证了花香味的优良传统^[2]。随着花香分子生物学的研究进展,分子育种已成为改良植物花香的重要途径。目前,有关植物花香化合物的主要代谢途径、代谢中间产物及参与合成的关键酶和基因已基本明确^[33-36]。一些花香合成相关途径的关键基因也已经被分离鉴定,如萜类合成途径的关键基因GPPS、DXS和DXR等^[34-36]。这为通过导入外源基因或阻断其相关代谢途径来进行花香遗传改良提供了极大可能。

5 结论

本研究运用固相微萃取(SPME)和气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对鼓槌石斛不同花期及盛花期时不同时段花朵挥发性成分及其释放量变化进行分析,共鉴定出花香组分33种,其中,萜烯类15种,酯类7种,醇类6种,以及少量的醛类、酮类和芳香族化合物。鼓槌石斛花香成分主要为酯类和萜烯类,释放量占总香气成分的80%以上。鼓槌石斛不同花期挥发性成分中的酯类、萜烯类、醛类、醇类、酮类和芳香族化合物的种类和释放量皆呈先上升后下降的趋势,在盛花期达到最高。盛花期花朵随一天中开放时段的不同,香气成分种类和释放量皆呈先上升后下降的趋势。本研究明确了鼓槌石斛花朵挥发性物质基础,为培育香花型石斛兰品种提供参考。

参考文献:

[1] 王雁,李振坚,彭红明,等. 石斛兰—资源. 生产. 应用[M]. 北京:中国林业出版社,2007.

[2] 王雁,周进昌,郑宝强,等. 石斛兰[M]. 北京:中国林业出版社,2014.

[3] Pichersky E, Dudareva N. Scent engineering: toward the goal of controlling how flowers smell[J]. Trends in Biotechnology, 2007, 25(3):105-110.

[4] 张莹,王雁,李振坚,等. 不同石斛兰香气成分的GC-MS分析[J]. 广西植物,2011,31(3):422-426.

[5] 丁灵,李崇晖,尹俊梅. 七种秋石斛鲜花挥发性成分差异性分析[J]. 广西植物,2016,36(3):361-368.

[6] 李崇晖,黄明忠,黄少华,等. 4种石斛属植物花朵挥发性成分分析[J]. 热带亚热带植物学报,2015,23(4):454-462.

[7] 吕素华,徐萌,张新风,等. 11个铁皮石斛杂交家系鲜花的挥发性成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(6):52-57.

[8] 陈翰,罗安伟,陈旭蕊,等. 青椒新鲜度与其挥发性气味成分的关系[J]. 食品科学,2016,37(7):66-71.

[9] 张鹏,邵丹,李江阔,等. 葡萄冷藏时间对贮藏货架期芳香物质的影响[J]. 食品科学,2016,37(2):218-224.

[10] 杨阳,施文正,汪之和,等. 加热温度对南美白对虾挥发性成分的影响[J]. 食品科学,2015,36(22):126-130.

[11] 郑宝强,王雁,郭欣,等. 杂种卡特兰‘3G’不同花期香气成分的GC/MS分析[J]. 东北林业大学学报,2014,42(3):33-36.

[12] 郑宝强,赵志国,任建武,等. 卡特兰不同花期的香气成分及其变化[J]. 林业科学研究,2014,27(5):651-656.

[13] 张莹,李辛雷,王雁,等. 文心兰不同花期及花朵不同部位香气成分的变化[J]. 中国农业科学,2011,44(1):110-117.

[14] 刘建民,贾波,曹帮华,等. 山东主栽光皮木瓜品种香气成分的研究[J]. 林业科学研究,2010,23(4):597-601.

[15] Standards NIO. NIST Chemistry WebBook[M]. Gaithersburg, MD: NIST Standard Reference Database,2004.

[16] 刘倩,孙国峰,张金政,等. 玉簪属植物花香研究[J]. 中国农业科学,2015,48(21):4323-4334.

[17] Mohd-Hairul A R, Namasivayam P, Lian G E C, et al. Terpenoid, benzenoid, and phenylpropanoid compounds in the floral scent of Vanda Mimi Palmer[J]. Journal of Plant Biology, 2010, 53(5):358-366.

[18] Nielsen L J, Møller B L. Scent emission profiles from Darwin's orchid-Angraecum sesquipedale: Investigation of the aldoxime metabolism using clustering analysis[J]. Phytochemistry, 2015, 120(1):3-18.

[19] 蒋冬月,李永红,何防,等. 黄兰开花过程中挥发性有机成分及变化规律[J]. 中国农业科学,2012,45(6):1215-1225.

[20] 徐瑾,李莹莹,郑成淑,等. 菊花不同花期及花序不同部位香气成分和挥发研究[J]. 西北植物学报,2012,32(4):722-730.

[21] 张芊,邵祥雄,王平. 双瓣茉莉5个花期挥发性成分GC-MS分析[J]. 热带作物学报,2015,36(4):792-797.

[22] 张莹,李辛雷,田敏,等. 大花蕙兰鲜花香气成分的研究[J]. 植物科学学报,2010,28(3):381-384.

[23] 杨淑珍,范燕萍. 蝴蝶兰2个品种挥发性成分差异性分析[J]. 华南农业大学学报,2008,29(1):114-116.

[24] 唐德英,马洁,张丽霞,等. 鼓槌石斛种质资源调查研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(12):1529-1532.

[25] 金荷仙,郑华,金幼菊,等. 杭州满陇桂雨公园4个桂花品种香气组分的研究[J]. 林业科学研究,2006,19(5):612-615.

[26] 范正琪,李纪元,田敏,等. 山茶品种‘克瑞墨大牡丹’香气成分分析[J]. 林业科学研究,2005,18(4):412-415.

[27] 张莹,田敏,王彩霞,等. 不同温度条件下香水文心兰花香

- 气的成分分析及感官评定[J]. 植物资源与环境学报,2015,24(2):112-114.
- [28] Kai L. The scent of orchids: olfactory and chemical investigations [J]. Phytochemistry,1993,14(3):302-302.
- [29] Teranishi R,Issenberg P,Hornstein I,*et al.* Flavor research:Principles and techniques[M]. New York: Marcel Dekker Inc,1971.
- [30] Minh Tu N T,Onishi Y,Choi H,*et al.* Characteristic odor components of *Citrus sphaerocarpa* Tanaka (Kabosu) cold-pressed peel oil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2002,50(10):2908-2913.
- [31] Krist S,Unterweger H,Bandion F,*et al.* Volatile compound analysis of SPME headspace and extract samples from roasted Italian chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) using GC-MS[J]. European Food Research and Technology,2004,219(5):470-473.
- [32] Pino J A,Marbot R,Vázquez C. Characterization of Volatiles in Strawberry Guava (*Psidium cattleianum* Sabine) Fruit[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry,2001,49(12):5883-5887.
- [33] 梁宗锁,方誉民,杨东风. 植物萜类化合物生物合成与调控及其代谢工程研究进展[J]. 浙江理工大学学报,2017,37(2):255-264.
- [34] Vranová E,Coman D,Gruissem W. Network analysis of the MVA and MEP pathways for isoprenoid synthesis[J]. Annual Review of Plant Biology,2013,64(1):665-700.
- [35] Wang H,Yao L. Cloning and expression profile of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase gene from an oilbearing rose[J]. Russian Journal of Plant Physiology,2014,61(4):548-555.
- [36] Jadaun J S,Sangwan N S,Narmoliya L K,*et al.* Over-expression of DXS gene enhances terpenoidal secondary metabolite accumulation in rose - scented *Geranium* and *Withania somnifera*; Active involvement of plastid isoprenogenic pathway in their biosynthesis [J]. Physiol Plant,2017,159(4):381-400.

(责任编辑:徐玉秀)