

葡萄果实糖苷键合态萜烯物质的研究进展

问亚琴, 崔 婧, 潘秋红*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 葡萄与葡萄酒研究中心, 北京 100083)

摘 要: 萜烯是构成葡萄果实品种香气的重要成分, 主要以游离态和糖苷键合态形式存在。通常糖苷键合态萜烯的含量远远高于游离态, 是构成葡萄酒香气的重要前体物质。对葡萄果实中糖苷键合态萜烯物质的组成、含量及其影响因素, 催化糖苷键合态萜烯形成的糖基转移酶等的研究进展以及糖苷键合态香气物质的分析方法进行了综述。

关键词: 葡萄; 果实; 糖苷键合态萜烯; 萜烯糖基转移酶

中图分类号: S 663.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 09-1679-08

Research Progress of Glycosidically-bound Terpenes in Grapes

WEN Ya-qin, CUI Jing, and PAN Qiu-hong*

(Centre for Viticulture and Enology, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Terpenes, the main components of varietal aroma of grapes, exist in free volatile form and glycosidically-bound form as well. Generally, glycosidically-bound terpenes accumulate in much higher amounts than free forms in developing grape berries, and they are thus considered to be the important aroma precursors. The present paper summarizes the research progress of glycosidically-bound terpenes in grapes, including the composition and content of glycosidically-bound terpenes, the factors affecting the accumulation of these compounds, the study status concerning terpene-specific glycosyltransferases as well as the qualitative and quantitative methods of glycosidically-bound terpenes.

Key words: grape; fruit; glycosidically-bound terpene; terpene-specific glycosyltransferase

糖苷键合态香气物质是一类不具有挥发性的香气前体物质, 是果实中某些香气物质与糖类物质通过糖苷键连接形成的化合物。糖基化改变了受体分子的亲水性、化学稳定性、生物活性和亚细胞定位, 有助于其在细胞内的运输和贮藏 (Winterhalter & Skouroumounis, 1997)。

来源于葡萄果实的香气物质 (品种香) 主要有萜烯类、C13-降异戊二烯衍生物、甲氧基吡嗪和挥发性硫化物。葡萄酒的香气典型性主要取决于葡萄果实的香气物质, 萜烯类化合物感官阈值相当低, 具有浓郁的香味, 是麝香型葡萄及葡萄酒的典型香气。根据葡萄中游离态单萜物质的含量, 欧亚种葡萄划分为 3 个类型: 游离态单萜物质含量高于 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为麝香型, $1 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为非麝香芳香型, 含量更低的为非芳香型 (Mateo & Jiménez, 2000)。在葡萄果实中, 萜烯类香气物质通常

收稿日期: 2012-06-19; 修回日期: 2012-08-23

基金项目: 国家农业产业技术体系专项项目 (CARS-30)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: panqh@cau.edu.cn)

以游离态和糖苷键合态形式存在,在非麝香型葡萄中,糖苷键合态萜烯含量远远高于游离态。萜烯包括单萜、单萜和倍半萜等,在葡萄果实中以单萜含量最为丰富,主要存在于果皮中;单萜的种类、含量和组成比例受葡萄品种、果实成熟度、种植环境和栽培模式的影响。葡萄果实中以糖苷键合态存在的单萜是游离态的 2~8 倍 (Berger, 2007),这些糖苷键合态香气前体物可以在葡萄酒发酵过程中通过酶水解或者酸水解作用释放出具有挥发性的可以感知的游离态物质,进而共同贡献于葡萄酒品种香气 (Sefton et al., 1994; Cabrita et al., 2006)。因此,糖苷键合态香气物质是酿酒葡萄原料中潜在的非常重要的香气成分,对葡萄酒品质起着举足轻重的作用。

1 葡萄果实糖苷键合态萜烯物质的化学组成

1.1 糖基部分

糖苷键合态萜烯物质由糖基和配基两部分组成。葡萄果实中形成键合态萜烯物质的糖基主要有 $O-\beta-D$ -糖苷和 O -双糖苷,另外还检测到少量的三糖苷 (Winterhalter & Skouroumounis, 1997)。多数芳香物质都直接与 $\beta-D$ -吡喃葡萄糖连接,对于双糖苷,是在葡萄糖基础上再与另一个单糖连接。这些单糖包括 $\alpha-L$ -呋喃阿拉伯糖、 $\alpha-L$ -吡喃阿拉伯糖、 $\beta-D$ -吡喃葡萄糖、 $\beta-D$ -呋喃芹菜糖和 $\beta-D$ -吡喃木糖。迄今在葡萄中鉴定的糖基主要有 4 种,分别为 $\beta-D$ -吡喃葡萄糖苷 ($\beta-D$ -glucopyranosides)、 $6-O-(\alpha-L$ -吡喃鼠李糖基)- $\beta-D$ -吡喃葡萄糖苷 [$6-O-(\alpha-L$ -rhamnopyranosyl)- $\beta-D$ -glucopyranosides]、 $6-O-(\alpha-L$ -呋喃阿拉伯糖基)- $\beta-D$ -吡喃葡萄糖苷 [$6-O-(\alpha-L$ -arabinofuranosyl)- $\beta-D$ -glucopyranosides]、 $6-O-(\beta-D$ -呋喃芹菜糖基)- $\beta-D$ -吡喃葡萄糖苷 [$6-O-(\beta-D$ -apiofuranosyl)- $\beta-D$ -glucopyranosides] (Winterhalter & Skouroumounis, 1997; Sánchez Palomo et al., 2006)。在大多数麝香型葡萄中,糖苷键合态香气物质大多以双糖苷形式存在,单葡萄糖苷只占很少部分 (Bayonove et al., 1993)。

在大多数麝香型葡萄果实中,若仅考虑糖苷键合态香气物质,含量最丰富的是芹菜糖苷 (apiosylglycosides),在有些品种中高达 50%;其次是芸香糖苷 (rutinosides),占 6%~13%,葡萄糖苷占 4%~9% (Maicas & Mateo, 2005)。但并不是所有葡萄品种都含有上述所有糖苷,不同品种中其含量比例不尽相同 (Bayonove et al., 1993)。例如在麝香葡萄小粒麝香 (Muscat à Petit Grains) 中,含量最丰富的是葡萄糖苷和芹菜糖苷香气物质,分别为 37%和 35% (Sánchez Palomo et al., 2006)。

1.2 配基部分

葡萄中糖苷键合态香气物质的配基种类多而复杂,主要有萜醇、C13-降异戊二烯类、醇类、酸类和莽草酸途径代谢产物。萜烯基糖苷物质配基主要为萜醇 (terpenols) 及相应的氧化还原产物,也包括萜二醇 (terpenic diols)、萜三醇 (terpenic triols) 和里那醇氧化物等环氧化物 (Aryan et al., 1987; Gunata et al., 1990, 1998; Fernandez et al., 2003)。糖苷类单萜物质的种类因葡萄品种而异 (Mateo & Jiménez, 2000)。

2 葡萄果实中糖苷键合态萜烯的积累规律

2.1 葡萄果实中糖苷键合态萜烯的分布及积累

香气物质在葡萄果实各部位的分布并不均匀 (Wilson et al., 1986),萜烯类物质在果皮中含量最高,但在麝香型葡萄的果肉和果汁中也能检测到萜烯类物质 (Gunata et al., 1985b; Selli et al.,

2003)。所有葡萄品种都含有糖苷键合态萜烯，一般认为麝香型和非麝香芳香型葡萄中糖苷键合态萜烯含量高于非芳香品种 (Gunata et al., 1985a, 1985b; Rodriguez-Bencomo et al., 2008)。在葡萄果实中，糖苷键合态单萜含量显著高于游离态。糖苷键合态香气物质主要在葡萄果实成熟期大量积累 (Gunata et al., 1985b)，对欧亚种酿酒葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 来说，随着果实成熟，游离态和糖苷键合态单萜含量均逐渐增加 (Wilson et al., 1986; Fenoll et al., 2009)。一般来说，直至始熟期前，果实中除香叶醇外的其他萜类物质皆有所增加 (Fenoll et al., 2009)。单萜含量从坐果后就开始增加，至始熟期有所下降，在成熟期重新开始积累，在花后 17 周达到高峰，通常在商业采收期时单萜含量稍有降低 (Wilson et al., 1984)。

2.2 影响糖苷键合态萜烯物质形成的因素

2.2.1 品种

一般认为，非芳香型葡萄果实中也含有芳香型葡萄中大部分糖苷键合态萜烯香气物质，但是含量显著低于芳香型葡萄。Cabrita 等 (2006) 分析了 10 个葡萄牙非芳香型葡萄品种糖苷键合态香气物质，在白葡萄品种中均检测到了芳香型葡萄中主要的萜烯类物质香叶醇、里那醇和萜品醇，但在红葡萄品种中均没有检测到这些物质。在成熟的玫瑰香 (Muscat Hamburg) 葡萄中，除了里那醇、萜二醇 I 和萜二醇 II 外，其余糖苷键合态物质含量均远远高于游离态 (Fenoll et al., 2009)。在其他麝香型葡萄 (亚历山大麝香葡萄、奥东尼麝香葡萄和琼瑶浆) 中同样发现，成熟果实中除了里那醇外，其余主要萜烯的糖苷键合态含量均高于游离态 (Gunata et al., 1985a; Voirin et al., 1992b)。本实验室的研究表明，在麝香型品种 ‘小白玫瑰’ (Muscat Blanc à Petit Grain) 果实中，糖苷键合态单萜是最主要的糖苷键合态香气物质，含量高达 $3 \sim 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，约为相应游离态的 3~6 倍，其中糖苷键合态橙花醇含量最高，为 $2.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (涂崔, 2011)。Cabrita 等 (2006) 认为基因型的差异是造成萜烯物质组成差异的主要原因，而外界环境因素主要造成含量上的差异。

芳香型品种和非芳香型品种中糖苷键合态萜烯积累规律不同。在非芳香品种 ‘西拉’ (*Vitis vinifera* L. ‘Syrah’) 果实发育过程中，萜烯类物质呈现下降的趋势，果实发育早期含量是成熟后的 7~8 倍，糖苷键合态萜烯含量始终高于游离态含量；而在芳香型品种 ‘琼瑶浆’ (*Vitis vinifera* L. ‘Gewurztraminer’) 果实发育过程中，萜烯类物质呈先下降后上升的趋势，游离态萜烯和糖苷键合态萜烯的比例从果实发育早期的 2:1 逐渐变化到成熟的 3:11 (吴玉文, 2011)。

2.2.2 成熟度

糖苷键合态萜烯物质组成与果实成熟度有关 (Maicas & Mateo, 2005; Cabrita et al., 2006)，一般单萜类物质在转色后开始大量积累，总量与果实糖积累规律一致，但也有些研究者认为香气物质和糖积累可能是相互独立的，因为全遮光处理会明显延迟果实糖积累，但糖苷键合态萜烯积累却未受到影响 (Reynolds & Wardle, 1989; Robinson, 2011)。Vilanova 等 (2012) 的研究表明，除一些 C13 - 降异戊二烯类物质外，所有糖苷键合态香气物质都受果实成熟度的影响。在成熟早期，‘Agudelo’，‘B. Lexítimo’ 和 ‘Serradello’ 果实中糖苷键合态萜二醇 I (diendiol I) 含量最高，在成熟后期含量明显下降；而在 ‘Godello’ 和 ‘Agudelo’ 葡萄果实中，糖苷键合态香叶醇含量远远高于游离态，且随着果实成熟其含量逐渐增加 (Vilanova et al., 2012)。随着果实发育，玫瑰香果实中糖苷键合态橙花醇、里那醇和香茅醇含量均增加，但糖苷键合态柠檬醛在果实成熟后期含量降低 (Fenoll et al., 2009)。这些结果表明，随着果实成熟，不同种类的糖苷键合态单萜变化规律存在差异，成熟期延长反而会导致某些风味物质的损失。

2.2.3 光照和水分

随着光照的增加，葡萄果实中糖基化降异戊二烯类物质，单萜和其他非萜烯糖苷的含量也增加

(Gerdes et al., 2002, Schneider et al., 2002)。糖苷类香气物质的增加可能是由于温度和光照增加对参与果实代谢的酶活力影响的结果,但具体影响机制还不清楚(Gerdes et al., 2002)。相反,光照增加会降低果实游离态甲氧基吡嗪含量(Hashizume & Samuta, 1999)。对果穗遮阴处理可降低糖苷键合态萜烯的含量,尤其是糖苷键合态香叶醇和糖苷键合态香叶酸含量明显下降(Bureau et al., 2000)。半遮光处理的果实糖苷键合态萜烯总量高于遮光处理,但就具体萜烯物质而言,遮光处理对糖苷键合态含量的影响因葡萄品种而有差异(Belancic et al., 1997)。

许多欧洲国家禁止对葡萄园进行灌溉,认为灌溉会降低果实品质。大量研究也表明限制水分供给可以增加果实香气物质的含量(Koundouras et al., 2006),可能是因为缺水条件下,葡萄树长势较弱,可以增加果实光照进而影响到果实糖苷键合态香气物质的组成。控制产量(一种普遍采取的葡萄园管理措施)也可以增加糖苷键合态萜烯和脂肪酸的含量(Bureau et al., 2000)。

3 萜烯糖基转移酶的研究进展

糖基转移酶(Glycosyltransferases, GTs, EC 2.4.x.y)是催化糖基转移反应的一类酶,可将糖基从活化的供体分子转移到受体分子上。这类酶属于高分散多源性、多基因超家族,根据 GTs 氨基酸序列相似性、形成糖苷的立体化学结构和已知底物特异性,目前将之分为 91 个家族(http://www.cazy.org/fam/acc_GT.html)。催化植物次生代谢产物糖基化的糖基转移酶属于家族 I (GT I),由于其 C 末端含有 44 个氨基酸组成的共同序列(Vogt & Jones, 2000),而且这类糖基转移酶主要以尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)为糖基供体,故将其单独归为一个 UGTs 家族(Ross et al., 2001; Lim, 2005)。

由于 UGTs 类型繁多,特性各异,很难从植物体提取纯化某一种 UGTs 蛋白,故目前广泛采用原核表达蛋白来研究 UGTs 的酶学特性。应用该方法,已经从很多植物中鉴定出花青素和黄酮醇糖基转移酶(Yoshihara et al., 2005; Hall & Luca, 2007; Modolo et al., 2007)。而有关萜烯糖基转移酶的研究报道很少,第一个报道的萜烯 GT 是从藏红花柱头中克隆的 UGTCs2,原核表达的 UGTCs2 蛋白对番红花酸、番红花酸 β -D-葡萄糖酯和西红花苷都有葡萄糖基化活性(Bowles et al., 2005);在拟南芥 GT I 中,通过体外酶活实验发现 27 个 GTs 对萜烯类(包括单萜和倍半萜)具有葡萄糖基转移活性,其中 GT73C1 和 GT73C5 对单萜(萜品醇、里那醇、香茅醇、香叶醇和薄荷醇)表现出很高的糖基转移活性(Caputi et al., 2008)。Fan 等(2010)从甜橘‘Valencia’中克隆得到 3 条假定萜烯糖基转移酶,分别命名为 CsUGT1 (*Citrus sinensis* L., UGT)、CsUGT2 和 CsUGT3,同源性分析表明 CsUGT1 和 CsUGT3 属于 GT I 家族的 L 组,而 CsUGT2 属于 D 组。CsUGT1 在甜橘基因组有两个拷贝,而 CsUGT2 和 CsUGT3 至少有 7~9 个拷贝,推测萜烯糖基转移酶可能是以基因家族的形式存在(Fan et al., 2010)。

根据‘黑比诺’(Pinot Noir)葡萄基因组测序,预测得到 99 个 UGTs 全序列或部分序列信息(http://www.cazy.org/fam/acc_GT.html)。已鉴定功能的葡萄 UGTs 大多是催化花色素和黄酮醇 3-OH 的糖苷化。萜烯是葡萄果实主要风味物质,但迄今尚未有针对葡萄果实中以萜烯(主要是单萜)为糖基受体的糖基转移酶的报道。

4 糖苷键合态香气物质的分析方法

迄今分析糖苷键合态香气物质方法主要有 3 种:一是在酶和酸水解后,对得到的糖苷配基进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析(López-Tamames et al., 1997; Karagiannis et al., 2000; Rocha et

al., 2000; Fenoll et al., 2009), 目前大部分游离态香气物质都有标准品, 方便对水解后糖苷键合态物质的配基部分进行定性定量分析, 但是酶解和水解会造成双糖或寡糖的降解, 不利于双糖苷的鉴定, 另外糖苷键合态香气物质的衍生化会增加糖苷态物质的复杂性, 有些物质很难完全分离。二是对糖苷进行三氟乙酰化(trifluoroacetylation)或者硅烷基衍生化, 再进行 GC-MS 分析(Voirin et al., 1992a)。三是用高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)法直接分析糖苷键合态香气物质(Caputi et al., 2008), 但是目前市场上还没有糖苷键合态香气物质的标准品, 需要研究者自行制备糖苷键合态标准品才能进行定量分析。

4.1 糖苷水解 GC-MS 法

水解方式分为酸解和酶促水解(Ibarz et al., 2006)。酸解简单易行, 得到的水解产物更丰富, 但对产物影响较大。糖苷键合态萜烯经过酸水解后, 萜烯配基在酸性条件下可发生分子重排而转变为另外一种物质(Maicas & Mateo, 2005), 如在 pH 1.0 条件下, 在葡萄汁中所检测到的萜烯配基几乎皆为罗勒烯醇, 在 pH 3.0 条件下则可检测到里那醇、橙花醇和香叶醇(Williams et al., 1982), 而这几种萜烯物质都是葡萄汁中含量相对较高的游离态香气物质(Sarry & Günata, 2004), 因此, pH 3.0 适合葡萄汁中糖苷键合态香气物质的释放。葡萄酒在陈酿和瓶储过程中各种单萜化合物含量的变化主要由糖苷键合态萜烯酸解所引起(Maicas & Mateo, 2005)。

酶促水解所需条件较温和, 产物更接近实际。其中对糖苷键合态单萜而言, 需要相应的 β -D-葡萄糖苷酶作用, 去除糖配体。葡萄中糖苷键合态单萜多以双糖苷形式存在, 而对双糖苷类单萜化合物而言, 其酶促水解需经历两步: 首先在相应水解酶的作用下, 如 α -L-阿拉伯糖苷酶(α -L-arabinosidase)、 α -L-鼠李糖苷酶(α -L-rhamnosidase)或 β -D-洋芹糖苷酶(β -D-apiosidase), 形成 β -D-葡萄糖单糖苷, 然后在 β -D-葡萄糖单糖苷酶(β -D-glucosidase)作用下移除相应的糖配体(β -D-葡萄糖), 将其相应的糖苷配基释放出来(Palmeri & Spagna, 2007; 涂崔 等, 2011)。由此可见, 在整个酶促水解过程中, 其关键酶是 β -D-葡萄糖苷酶。目前在葡萄果实糖苷键合态香气物质的研究中大多采用酶水解法。利用此方法, 一些品种的糖苷结合态香气库已经建立, 如西拉、雷司令、麝香葡萄、黑比诺(Chassagne et al., 2000)。

4.2 糖苷衍生化 GC-MS 法

直接对得到的糖苷键合态香气物质进行衍生化后, 再进行 GC-MS 分析, 这种方法可以更准确地判断糖苷的结构, 特别是糖基的结构, 可以避免采用酸水解方法, 无法准确地判断糖苷糖基部分的组成。

糖苷键合态香气物质的衍生化主要有三氟乙酰化和三甲基硅烷化。Voirin 等(1992a)在建立葡萄和葡萄酒中单萜糖苷键合态分析方法中发现, 三氟乙酰化适合于单萜二糖苷的定性定量分析, 而三甲基硅烷化可以起到补充作用, 两者结合使单萜糖苷键合态的检测更为全面。利用三氟乙酰化的方法已经从很多植物中鉴定了糖苷键合态香气物质, 例如紫果西番莲、栎树等(范刚 等, 2010)。

4.3 HPLC-MS 法

采用高效液相色谱(HPLC)法可使糖苷键合态香气提取物有效分离, 通过与质谱联用, 可获取各组分的分子结构信息, 从色谱图上获得单个组分的定性数据, 用内标法作定量分析。尽管键合态糖苷极性较大, 与液相色谱分离柱的匹配性好, 但紫外吸收弱, 很难全部采用紫外检测器直接测定(吴新华 等, 2009)。目前随着质谱技术的进步, 液相色谱结合质谱检测技术(LC/ESI-MS, MALDI-TOF-MS)已应用于糖苷键合态萜烯物质的检测。Nasi 等(2008)利用 LC/ESI-MS 技

术从葡萄和葡萄酒中分离检测到多种糖苷键合态萜烯, 包括里那醇和香叶醇的葡萄糖苷、阿拉伯糖基葡萄糖苷和鼠李糖基葡萄糖苷。Caputi 等(2008)利用 QSTAR Pulsar I 型串联四极杆飞行时间液质联用仪, 建立了里那醇、香叶醇、萜品醇、薄荷醇的葡萄糖苷检测方法。

5 总结与展望

葡萄果实中香气物质主要是以无味的糖苷键合态形式存在, 在葡萄酒酿造过程中释放出挥发性香气物质, 从而对葡萄酒品质产生积极影响, 因此, 解析酿酒葡萄糖苷键合态香气物质的积累规律对于葡萄酒品质调控机理具有重要现实的意义。

酿酒葡萄基因组测序已经完成, 加上葡萄转录组学与代谢组学数据的迅速积累, 不断有参与酿酒葡萄香气物质代谢与调控的新基因和转录因子被挖掘和功能解析, 尽管植物次生代谢产物糖基转移酶研究开展得很多, 但迄今关于葡萄果实中以萜烯为受体的糖基转移酶的报道几乎没有, 借助这些新技术和不断释放的葡萄基因组学信息, 今后可重点关注: (1) 葡萄果实中萜烯糖基转移酶基因及其生物学功能研究; (2) 调控萜烯糖基转移酶基因表达的转录因子的鉴定。

影响葡萄果实糖苷键合态香气物质积累的因素很多, 目前研究主要集中于品种、果实成熟度、光照和水分管理等方面, 但产区、年份和整形等其他栽培手段对糖苷键合态香气物质的影响还不是很清楚, 以后需加强其他气候因子和栽培管理模式对葡萄果实中糖苷键合态萜烯积累的影响等的研究。另外, 外界因素对糖苷键合态键合萜烯香气代谢途径产生影响的机理如何, 对其他代谢途径又有何影响, 都很值得进一步研究, 以便系统地阐明环境因素对糖苷键合态香气物质生物合成的调控机制。

References

- Aryan A P, Wilson B, Strauss C R, Williams P J. 1987. The properties of glycosidases of *Vitis vinifera* and comparison of their β -glucosidase activity with that of exogenous enzymes. An assessment of possible applications in enology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38: 182 - 188.
- Bayonove C, Gunata Y, Sapis J C, Baumes R L, Dugelay I, Grassin C. 1993. L'aumento degli aromi nel vino mediante l'uso degli enzimi. *Vignevini*, 9: 33 - 36.
- Belancic A, Agosin E, Ibacache A, Bordeu E, Baumes R, Razungles A, Bayonove C. 1997. Influence of sun exposure on the aromatic composition of Chilean muscat grape cultivars moscatel de alejandria and moscatel rosada. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48 (2): 181 - 186.
- Berger R G. 2007. *Flavours and Fragrances*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer.
- Bowles D, Isayenkova J, Lim E K, Brigitte P. 2005. Glycosyltransferases: Managers of small molecules. *Current Opinion in Plant Biology*, 8: 254 - 263.
- Bureau S M, Razungles A J, Baumes R L. 2000. The aroma of muscat of Frontignan grapes: Effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 2012 - 2020.
- Cabrita M J, Freitas A M C, Laureano O, Di Stefano R. 2006. Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 922 - 931.
- Caputi L, Lim E K, Bowles D J. 2008. Discovery of new biocatalysts for the glycosylation of terpenoid scaffolds. *Chemistry-A European Journal*, 14: 6656 - 6662.
- Chassagne D, Alexandre H, Massoutier C, Salles C, Feuillat M. 2000. The aroma glycosides composition of Burgundy Pinot Nior must. *Vitis*, 39 (4): 177 - 178.
- Fan J, Chen C, Yu Q, Li Z G, Gmitter F G. 2010. Characterization of three terpenoid glycosyltransferase genes in 'Valencia' sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Genome*, 53: 816 - 823.
- Fan Gang, Wang Ke-xing, Pan Si-yi. 2010. Advances in research of glycosidically bound aroma compounds in fruits. *Scientia Agricultura Sinica*,

- 43 (24): 5100 – 5111. (in Chinese)
- 范 刚, 王可兴, 潘思轶. 2010. 水果中糖苷键合态香气物质的研究进展. 中国农业科学, 43 (24): 5100 – 5111.
- Fenoll J, Manso A, Hellín P, Ruiz L, Flores P. 2009. Changes in the aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Muscat Hamburg during ripening. Food Chemistry, 114: 420 – 428.
- Fernandez M, Di Stefano R, Briones A. 2003. Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from Muscat must by different yeast species. Food Microbiology, 20: 35 – 41.
- Gerdes S M, Winterhalter P, Ebeler S E. 2002. Effect of sunlight exposure on norisoprenoid formation in White Riesling grapes//Winterhalter P, Rouseff R. Carotenoid-derived aroma compounds, Washington DC: American Chemical Society: 262 – 272.
- Gunata Y Z, Bayonove C L, Baumes R L, Cordonnier R E. 1985a. The aroma of grapes. I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. Journal of Chromatography, 331: 83 – 90.
- Gunata Y Z, Bayonove C L, Baumes R L, Cordonnier R E. 1985b. The aroma of grapes. II. Localization and evolution of free and bound fractions of some grape aroma components cv. Muscat during first development and maturation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 36: 857 – 862.
- Gunata Y Z, Bayonove C L, Tapiero C, Cordonnier R E. 1990. Hydrolysis of grape monoterpenyl β -D-glucosides by various β -glucosidases. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38: 1232 – 1236.
- Gunata Y Z, Blondeel C L, Vallier M J, Lepoutre J P, Sapis J C, Watanabe N. 1998. An endoglycosidase from grape berry skin of cv. M. Alexandrie, hydrolysing potentially aromatic disaccharide glycosides. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 2748 – 2753.
- Hall D, Luca V D. 2007. Mesocarp localization of a bi-functional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase of Concord grape (*Vitis labrusca*). The Plant Journal, 49: 579 – 591.
- Hashizume K, Samuta T. 1999. Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration. American Journal of Enology and Viticulture, 50: 194 – 198.
- Ibarz M J, Ferreira V, Hernández-Orte P, Loscos N, Cacho J. 2006. Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes. Journal of Chromatography A, 1116: 217 – 229.
- Karagiannis S, Economou A, Lanaridis, P. 2000. Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko grapes from the island of Samos. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 5369 – 5375.
- Koundouras S, Marinos V, Gkouliti A, Kotseridis Y, van Leeuwen O. 2006. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54 (14): 5077 – 5086.
- Lim E K. 2005. Plant glycosyltransferases: Their potential as novel biocatalysts. Chemistry-A European Journal, 11: 5486 – 5494.
- López-Tamames E, Carro-Mariño N, Gunata Y Z, Sapis C, Baumes R, Bayonove C. 1997. Potential aroma in several varieties of Spanish grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 1729 – 1735.
- Maicas S, Mateo J J. 2005. Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: A review. Applied Microbiology and Biotechnology, 67: 322 – 335.
- Mateo J J, Jiménez M. 2000. Monoterpenes in grape juice and wines. Journal of Chromatography A, 881: 557 – 567.
- Modolo L V, Blount J W, Achnine L, Naoumkina M A, Wang X, Dixon R A. 2007. A functional genomics approach to (iso) flavonoid glycosylation in the model legume *Medicago truncatula*. Plant Molecular Biology, 64: 499 – 518.
- Nasi A, Ferranti P, Amato S, Chianese L. 2008. Identification of free and bound volatile compounds as typicalness and authenticity markers of non-aromatic grapes and wines through a combined use of mass spectrometric techniques. Food Chemistry, 110: 762 – 768.
- Palmeri R, Spagna G. 2007. β -glucosidase in cellular and acellular form for wine making application. Enzyme and Microbial Technology, 40 (3): 382 – 389.
- Reynolds A G, Wardle D A. 1989. Influence of fruit microclimate on monoterpene levels of Gewurztraminer. American Journal of Enology and Viticulture, 40: 149 – 154.
- Robinson A L. 2011. Environmental influences on grape aroma potential [Ph. D. Dissertation]. Perth: Murdoch University.

- Rocha S, Coutinho P, Barros A, Coimbra M A, Delgadillo I, Cardoso A D. 2000. Aroma potential of two Bairrada white grape varieties: Maria Gomes and Bical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4802 – 4807.
- Rodriguez-Bencomo J J, Mendez-Siverio J J, Pérez-Trujillo J P, Cacho J. 2008. Effect of skin contact on bound aroma and free volatiles of Listanblanco wine. *Food Chemistry*, 110: 214 – 225.
- Ross J, Li Y, Lim E K, Bowles D J. 2001. High plant glycosyltransferases. *Genome Biology*, 2: 3004.1 – 3004.6.
- Sánchez Palomo E, Pérez-Coello M S, Díaz-Maroto M C, González Vinas M A, Cabezedo M D. 2006. Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of Muscat “a petit grains” wines and effect of skin contact. *Food Chemistry*, 95: 279 – 289.
- Sarry J E, Günata Z. 2004. Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors. *Food Chemistry*, 87: 509 – 521.
- Schneider R, Razungles A, Charrier F, Baumes R. 2002. The effect of the site, maturity and lighting of grape bunches on the aromatic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. berries in Muscadet vineyards. *Bulletin de l'OIV*, 75: 269 – 282.
- Sefton M A, Francis I L, Williams P J. 1994. Free and bound volatile secondary metabolites of *Vitis vinifera* grape cv. Sauvignon Blanc. *Journal of Food Science*, 59: 142 – 147.
- Selli S, Cabaroğlu T, Canbas A, Erten H, Nurgel C. 2003. Effect of skin contact on the aroma composition of the musts of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Bornova and Narince grown in Turkey. *Food Chemistry*, 81 (3): 341 – 347.
- Tu Cui. 2011. Evolution of free and glycosidically-bound volatile compounds during the development of ‘Muscat Blanc à Petit Grain’ grapes (*Vitis vinifera* L.) [M. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 涂 崔. 2011. 小白玫瑰葡萄果实发育过程中游离态和糖苷结合态香气的变化[硕士论文]. 北京: 中国农业大学.
- Tu Cui, Pan Qiu-hong, Zhu Bao-qing, Wu Yu-wen, Wang Zhi-qun, Duan Chang-qing. 2011. Progress in study of monoterpene compounds in grape and wine. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (7): 1397 – 1406. (in Chinese)
- 涂 崔, 潘秋红, 朱保庆, 吴玉文, 王志群, 段长青. 2011. 葡萄与葡萄酒单萜化合物的研究进展. *园艺学报*, 38 (7): 1397 – 1406.
- Vilanova M, Genisheva Z, Bescansa L, Masa A, Oliveira J M. 2012. Changes in free and bound fractions of aroma compounds of four *Vitis vinifera* cultivars at the last ripening stages. *Phytochemistry*, 74: 196 – 205.
- Vogt T, Jones P. 2000. Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: Characterization of a supergene family. *Trends in Plant Science*, 5 (9): 1360 – 1385.
- Voirin S G, Baumes R L, Gunata Z Y, Bittner S M, Bayonove C L. 1992a. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine. I. XAD-2 extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of synthetic glycosides. *Journal of Chromatography*, 590: 313 – 328.
- Voirin S G, Baumes R, Sapis C L, Bayonove C. 1992b. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine II. Qualitative and quantitative determination of monoterpene glycosides in grape. *Journal of Chromatography*, 595: 269 – 281.
- Williams P J, Strauss C R, Wilson B, Massy-Westropp P A. 1982. Use of C18 reversed-phase liquid chromatography for the isolation of monoterpene glycosides and nor-isoprenoid precursors from grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*, 235: 471 – 480.
- Wilson B, Strauss C R, Williams P J. 1984. Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing Muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32 (4): 919 – 924.
- Wilson B, Strauss C R, Williams P J. 1986. The distribution of free and glycosidically bound monoterpenes among skin, juice and pulp fractions of some white grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37: 107 – 111.
- Winterhalter P, Skouroumounis G K. 1997. Glycoconjugated aroma compounds: Occurrence, role and biotechnological transformation. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 55: 74 – 100.
- Wu Xin-hua, Zhu Rui-zhi, Ni Chao-min, Wang Yi, Miao Ming-ming. 2009. Research advance of glycosides from tobacco as flavor precursors. *Yunnan Chemical Technology*, 36 (1): 62 – 65. (in Chinese)
- 吴新华, 朱瑞芝, 倪朝敏, 王 毅, 缪明明. 2009. 烟草中糖苷类香味前体物质研究进展. *云南化工*, 36 (1): 62 – 65.
- Wu Yu-wen. 2011. GC-MS-AMDIS analysis on varietal aroma compounds of grape and litchi fruits and wines [Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 吴玉文. 2011. 葡萄、荔枝果酒品种香气成分的 GC – MS – AMDIS 分析[博士论文]. 北京: 中国农业大学.
- Yoshihara N, Imayama T, Fukuchi-Mizutani M, Okuhara H, Tanaka Y, Ino I, Yabuya T. 2005. cDNA cloning and characterization of UDP-glucose: Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase in *Iris hollandica*. *Plant Science*, 169: 496 – 501.