

DOI:10.11937/bfyy.201711005

# 摘叶处理对“赤霞珠”葡萄 3-异丁基-2-甲氧基吡嗪积累的影响

吕佳恒<sup>1,2,3</sup>, 管雪强<sup>2,3</sup>, 孙玉霞<sup>2,3</sup>, 王世平<sup>2,3</sup>, 王恒振<sup>2,3</sup>

(1. 山东农业大学 食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018; 2. 山东省农产品精深加工技术重点实验室, 山东 济南 250100; 3. 山东省农业科学院 农产品研究所, 山东 济南 250100)

**摘要:**以5年生“赤霞珠”葡萄为试材,通过果穗周围叶片全部摘除的方式,采用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气质联用(GC-MS)技术,利用稳定同位素做内标来检测葡萄果实中3-异丁基-2-甲氧基吡嗪(IBMP)的含量,确定最佳摘叶处理的时间以有效降低烟台“赤霞珠”葡萄中IBMP的含量。结果表明:花前摘叶处理可以明显降低葡萄果实中IBMP的含量,而转色期摘叶不会影响葡萄果实中IBMP的含量;HS-SPME结合GC-MS,利用稳定同位素做内标的方法具有较低检测限和定量限。花前摘叶处理能有效降低“赤霞珠”葡萄IBMP的含量,进而可以改善胶东“赤霞珠”葡萄酒香气。

**关键词:**摘叶;“赤霞珠”葡萄;3-异丁基-2-甲氧基吡嗪;顶空固相微萃取

**中图分类号:**S 663.105<sup>+</sup>.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)11-0023-06

3-烷基-2-甲氧基吡嗪(MPs)是一种广泛存在于植物界的香气化合物,具有强烈的“青椒”或“蔬菜”味道,也存在于不少酿酒葡萄中<sup>[1]</sup>。在“赤霞珠”葡萄酒中,3-异丁基-2-甲氧基吡嗪(3-isobutyl-2-methoxypyrazine, IBMP)是赋予葡萄酒“青椒”“蔬菜”味道最主要的一种吡嗪化合物<sup>[2]</sup>。IBMP的感官阈值极低,在水中达到1~2 ng·L<sup>-1</sup>浓度就可以被人的鼻子感受到<sup>[3]</sup>,而在葡萄酒中的阈值也只有10 ng·L<sup>-1</sup><sup>[4]</sup>。“赤霞珠”葡萄通常含有较高含量的IBMP<sup>[5]</sup>,因此“赤霞珠”葡萄酒香气中常常伴随着过重的“青椒”和“蔬菜”的味道,破坏了葡萄酒整体的感官风味<sup>[6]</sup>。通过改变发酵工艺或添加澄清剂等方式可以降低葡萄酒中的MPs<sup>[7]</sup>,但葡萄酒中其它的

香气物质也会改变。因此,葡萄酒中MPs很难移除,所以通过田间栽培措施来控制采收期葡萄果实中的MPs含量对于提升葡萄酒品质极为重要。MPs在葡萄果实早期生长过程中积累,成熟期后可能受光降解影响含量迅速下降<sup>[8]</sup>。葡萄果实成熟过程中,气候与环境条件、葡萄林冠修整、林冠间的微环境等方面都会影响光照和温度条件,从而影响葡萄果实中的MPs含量<sup>[9-10]</sup>。

MPs在葡萄中含量极低,葡萄中香气组分又特别复杂,如何从葡萄中提取MPs并分析难度较大。近年来,顶空固相微萃取(Headspace solid phase microextraction, HS-SPME)结合气相色谱-质谱来分析食品中香气成分的应用越来越广泛<sup>[11]</sup>。同位素作为内标可以极大增加定量的准确性<sup>[12]</sup>,虽然选择同位素内标成本较高,但是MPs在葡萄和葡萄酒中含量极低,越来越多人使用同位素内标来检测定量MPs<sup>[13]</sup>。KOCH等<sup>[14]</sup>通过使用稳定同位素作为内标并选择离子模式,可以使检测限和定量限分别达到0.1 ng·L<sup>-1</sup>和2.0 ng·L<sup>-1</sup>。该研究也将借助HS-SPME和气相色谱-质谱-选择离子模式来分析定量葡萄中的MPs。

最近相关研究发现,在转色前期曝光和避光处理对影响葡萄果实IBMP含量作用明显,而转色期

**第一作者简介:**吕佳恒(1992-),男,硕士研究生,研究方向为微域环境对葡萄与葡萄酒的影响。E-mail:15605451493@163.com

**责任作者:**王恒振(1978-),男,硕士,助理研究员,现主要从事葡萄栽培技术与生理等研究工作。E-mail:chinajinan@163.com

**基金项目:**山东省农业科学院青年基金资助项目(2016YQN50);泰山学者特聘专家资助项目;山东省农业重大应用技术创新课题资助项目。

**收稿日期:**2017-02-28

后的各种处理效果并不明显<sup>[15]</sup>。摘叶处理作为简单有效的田间处理方式,可以明显增加葡萄果实的曝光,从而影响葡萄果实 IBMP 含量的积累<sup>[16]</sup>。由于不同地区的气候条件各不相同,所以选择何时进行摘叶能有效降低葡萄果实中 IBMP 的含量极为重要。胶东“赤霞珠”葡萄酒具有典型的“青椒”气味,严重的甚至是“泥土”气味。该研究通过确定最佳的摘叶时期,使采收期“赤霞珠”葡萄果实中 IBMP 含量降低,从而减少“赤霞珠”葡萄酒“青椒”气味,以期改善胶东“赤霞珠”葡萄酒的香气。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选择烟台蓬莱中粮长城葡萄园为试验田,单干单臂树形,植株行距 2.5 m×0.8 m,以 5 年生的“赤霞珠”葡萄为供试材料,栽培管理良好。2015 年蓬莱 6、7、8 月平均温度为 22、25、25 °C;日均最高温度为 26、28、28 °C;日均最低温度为 18、22、22 °C。平均降水总量为 70、181、162 mm。

3-异丁基-2-甲氧基吡嗪(IBMP)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,纯度 99.0%;同位素内标(<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]IBMP)购自加拿大 CDN Isotopes 公司,纯度 99.0%。

安捷伦气相色谱质谱联用(7890B-5977A)(美国安捷伦公司);自动进样器(瑞士 CTC 公司);固相微萃取头 50/30 mm CAR/DVB/PDMS (2 cm) 24 Ga(美国 Supelco 公司)。研磨机(德国 IKA 公司);手持糖度计(德国 SCHMIDT+HAENSCH 公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 通过果穗叶片周围全部摘除的方式,分别在花前(LR-pf)、转色期(LR-v)后进行摘叶处理、对照处理(Control)不摘叶。并在幼果期进行避光套袋(Shaded),作极性对照。所有处理采用统一的管理方式。采用随机区组设计,5 次重复,每个处理 1 个杆空(约 6 m,12 株葡萄树)。分别在花后 4、7、9、11、14 周在每个杆空随机采样,所有采摘的样品在重复的试验田进行 3 次平行取样,每组平行随机采摘 20~30 粒果实。采摘后的样品立即放入液氮冷冻,然后存放在-80 °C 冰箱。

1.2.2 葡萄果实 IBMP 的提取和溶液配制 每组平行选取 30 g 去籽葡萄果实,液氮完全冻透后,放入超微研磨机中,彻底粉碎后,将样品放入 50 mL 离心管中,并加入 10 mL 浓度为 80 mg·L<sup>-1</sup> 的 NaF 溶液(混合溶液密度接近 1.0 g·mL<sup>-1</sup>),并含有 200 ng·L<sup>-1</sup> 内标(<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]IBMP)。通过漩涡振荡器将样品充分混匀后,4 °C 下 5 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 7 min,然后取 10 mL

上清液加入到 20 mL 的棕色顶空进样瓶中,加入 3 g NaCl,盖上顶空盖子。所有操作在较低温度下快速完成,通过液氮迅速冷冻葡萄样品,经过超微研磨成粉,相对于使用破碎机可以更高效地提取葡萄果实中的 IBMP<sup>[17]</sup>,并且在较低温度下快速提取能够减少损失。模拟葡萄汁:分别用 1 L 超纯水溶解 90 g 果糖和 90 g 葡萄糖,并调节 pH 3.3。标准溶液:IBMP 标准品和内标分别用色谱级乙醇配制成 200 mg·L<sup>-1</sup> 贮备液,置于-20 °C 冰箱中避光保存。

1.2.3 HS-SPME 和 GC-MS 条件 HJELMELAND 等<sup>[18]</sup> 分析比较了几种不同材料的萃取头的萃取效果,发现 CAR/DVB/PDMS 萃取头萃取效果最好,以该萃取头进行萃取。萃取之前,顶空瓶在 40 °C 条件下震荡 30 min,将样品中 IBMP 完全挥发在上方空气中并保持平衡。然后在 40 °C 条件下,萃取 30 min。萃取完成后,插入到温度为 260 °C 进样口,不分流模式下解吸附 8 min。选择 HP-5MS 色谱柱(30 mm×0.25 mm×0.25 μm)。升温程序:40 °C 保持 5 min,3 °C·min<sup>-1</sup> 升至 100 °C,保持 1 min,再以 25 °C·min<sup>-1</sup> 升至 230 °C,氦气流速为 1.2 mL·min<sup>-1</sup>。质谱保持在 250 °C,离子源发射温度为 200 °C。选择离子模式(SIM)下,选择 IBMP 的质荷比(m/z)为 94 和 124,<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]IBMP 的 m/z 为 127 和 154。其中 m/z 124 和 127 分别为 IBMP 和 <sup>2</sup>H<sub>3</sub>]IBMP 的特征离子,可以用来定量分析(图 1)。

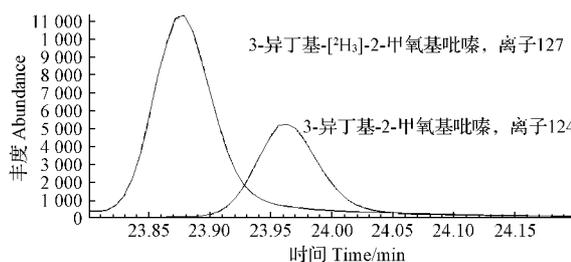


图 1 浓度 100 ng·L<sup>-1</sup> IBMP 的模拟葡萄汁的提取特征离子色谱图

Fig. 1 Extraction of characteristic ion chromatogram of 100 ng·L<sup>-1</sup> IBMP model juice

### 1.3 方法有效性验证

1.3.1 方法的线性关系 用色谱乙醇稀释 IBMP 标准品的贮备液,取一定量加入到配制好的模拟葡萄汁中,配制成 8 个浓度含有 IBMP 标准品的模拟葡萄汁溶液(10、20、50、100、200、300、500、700 ng·L<sup>-1</sup>),加入一定量内标(200 ng·L<sup>-1</sup>),并做 3 组平行。IBMP 的峰面积(m/z=124, tR=23.965)比内标的峰面积

( $m/z=124$ ,  $tR=23.879$ )的比值,与 IBMP 标准品浓度范围为  $10\sim 700\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  具有线性相关关系( $R^2=0.9949$ )。IBMP( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )浓度线性回归方程为  $\text{IBMP}=232.56\times(A/A_{\text{内标}})-64.26$ 。

### 1.3.2 检测线、定量限、加标回收率 以信噪比大于

表 1 模拟葡萄汁与 2 种“赤霞珠”葡萄样品的加标回收率

样品名称 Sample	最初 IBMP Initial IBMP /( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	标准添加 IBMP Standard addition IBMP /( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	最终 IBMP Final IBMP /( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	加标回收率 Addition standard recovery/%	标准偏差 Standard deviation	相对标准偏差 Relative standard deviation/%
模拟葡萄汁 Model juice	0.0	50	49.1	98	1.5	3
	0.0	100	102.2	102	1.0	1
	0.0	200	202.5	101	10.1	5
“赤霞珠” ‘Cabernet Sauvignon’	114.6	50	160.9	98	6.4	4
	114.6	100	220.1	103	8.8	4
“赤霞珠” ‘Cabernet Sauvignon’	63.7	50	122.3	108	7.3	6
	63.7	100	159.4	97	11.2	7

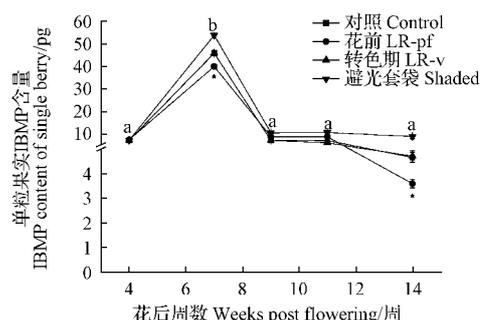
### 1.4 数据分析

应用 Origin Pro 8.0 软件对数据进行处理和作图,应用 SPSS 19.0 统计分析软件对数据进行方差分析和 Duncun 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 摘叶处理对单粒果实 IBMP 含量积累的影响

为了消除葡萄果实生长膨大从而稀释 IBMP 含量带来的影响<sup>[19]</sup>,计算单粒果实 IBMP 含量( $\text{pg}\cdot\text{粒}^{-1}$ ),可以更为准确地反映摘叶处理对“赤霞珠”葡萄生长阶段 IBMP 含量积累的影响。由图 2 可知,花后 7 周前葡萄果实 IBMP 的含量一直在积累,其中对照处理样品 IBMP 含量约为  $45\text{ pg}\cdot\text{粒}^{-1}$ ,



注:不同的小写字母代表各处理间存在显著性差异( $P<0.05$ )。下同。

Note: Different lowercase letters mean significant differences in different treatments ( $P<0.05$ ). The same below.

图 2 摘叶处理对“赤霞珠”葡萄生长阶段单粒果实 IBMP 积累的影响

Fig. 2 Effect of leaf removal on the concentration of IBMP accumulated of single berry in the growth of ‘Cabernet Sauvignon’ grape

3 和 10 为标准,分别计算检测限和定量限。模拟葡萄汁的检测限为  $0.2\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ,定量限为  $0.7\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。加标回收率范围在  $95\%\sim 110\%$ (表 1),模拟葡萄汁和样品中的加标回收率相近。

而花前摘叶样品 IBMP 约为  $38\text{ pg}\cdot\text{粒}^{-1}$ ,之后开始下降。在花后 9~11 周中,所有处理的样品 IBMP 含量没有发生变化,从花后 11 周之后,IBMP 含量又开始下降直到最终采收期。在采收期,对照处理单粒果实所含 IBMP 含量为  $4.6\text{ pg}$ ,花前摘叶处理的样品单粒果实 IBMP 含量为  $3.6\text{ pg}$ ,减少了大约 22%。转色期摘叶处理不会降低葡萄样品单粒果实 IBMP 含量,套袋处理的样品在采收期单粒果实 IBMP 含量最高,达到  $8.7\text{ pg}$ 。

由表 2 可以看出,花前摘叶的样品在最终采收期的可溶性固形物含量为  $19.8^\circ\text{Brix}$ ,对照的样品为  $20.1^\circ\text{Brix}$ ,花前摘叶处理可以降低“赤霞珠”葡萄 IBMP 含量并且不会影响葡萄果实糖度的积累。

### 2.2 摘叶处理对 IBMP 鲜质量含量积累的影响

“赤霞珠”葡萄果实中 IBMP 鲜质量含量( $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ )在转色期前达到最大值(图 3),这与众多研究结果相同。在幼果期(花后 4 周)IBMP 含量就达到最大值( $700\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),之后 IBMP 含量一直减少直到采收期结束。花前摘叶处理的样品 IBMP 鲜质量含量  $55\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,明显低于对照处理( $66\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。转色期摘叶处理的样品在采收期 IBMP 含量与对照处理相差不大,对降低葡萄果实中 IBMP 含量几乎没有作用。在最终采收期套袋处理含量最高达  $127.08\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。从转色期开始,套袋处理的样品 IBMP 含量下降缓慢,而对照和摘叶处理的样品的转色期后 IBMP 的含量迅速下降。套袋处理几乎完全避光,而光照对转色期后的 IBMP 有明显降解的作用<sup>[20]</sup>,因此转色期后,套袋处理的样品 IBMP 含量下降缓慢。

表 2 不同处理的“赤霞珠”在生长阶段的总可溶性固形物含量和 pH

Table 2 Total soluble solids content and pH of developing ‘Cabernet Sauvignon’ grape of different treatment

样品 Sample	花后周数 Weeks post flowering/周									
	4		7		9		11		14	
	可溶性固形物含量		可溶性固形物含量		可溶性固形物含量		可溶性固形物含量		可溶性固形物含量	
	Soluble solid content/%	pH	Soluble solid content/%	pH	Soluble solid content/%	pH	Soluble solid content/%	pH	Soluble solid content/%	pH
对照 Control	5.2	3.3	10.7	3.6	15.2	3.4	18.3	3.3	20.1	3.3
花前 LR-pf	5.8	3.4	10.3	3.7	14.8	3.5	18.2	3.3	19.8	3.2
转色期 LR-v	5.2	3.5	10.7	3.6	15.2	3.5	18.7	3.5	20.5	3.4
避光套袋 Shaded	5.2	3.3	8.4	3.7	12.1	3.5	15.3	3.3	19.2	3.3

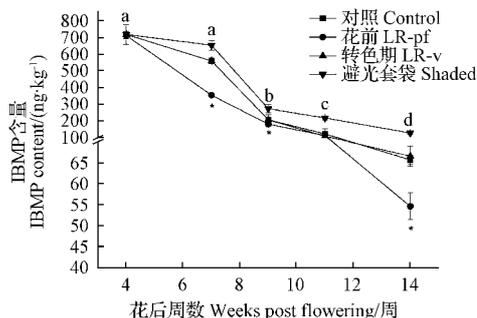


图 3 摘叶处理对“赤霞珠”生长阶段 IBMP 含量积累的影响

Fig. 3 Effect of leaf removal on the content of IBMP accumulated in the growth of ‘Cabernet Sauvignon’ grape

通过计算单粒果实所含 IBMP 的含量,根据图 2、3 可以发现,转色前期单粒果实所含 IBMP 含量达到最大值,不过单粒果实所含 IBMP 达到最大值的时期要比 IBMP 鲜质量含量达到最大值的时期推迟了 3 周。由图 4 可知,在花后 9~11 周,果粒质量迅速增大,可能是由于处于幼果膨大期葡萄果实膨大从而稀释 IBMP 鲜质量含量( $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ )的原因,导致“赤霞珠”葡萄果实在花后 4 周 IBMP 鲜质量的含量就达到了最大值。在花后 9~11 周,单粒果实

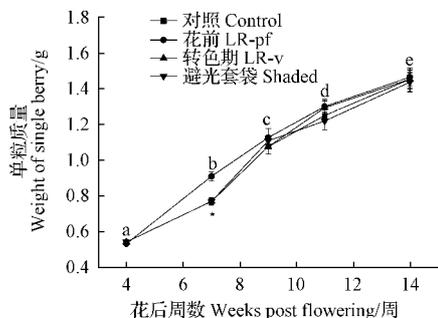


图 4 摘叶处理对“赤霞珠”单粒质量的影响

Fig. 4 Effect of leaf removal on the single berry weight of ‘Cabernet Sauvignon’ grape

IBMP 含量几乎没有明显变化,而 IBMP 鲜质量含量却不断地下降,可能由于果实膨大造成 IBMP 鲜质量含量稀释。

### 3 讨论

利用顶空固相萃取技术结合 GC-MS 技术,利用稳定同位素作内标,SIM 模式下提取特征离子积分的方法,对 IBMP 进行定量分析的方法具有较低的检测限和较高的回收率,为准确定量葡萄果实中 IBMP 的含量提供了技术保障。

结果表明,花前摘叶处理可以明显降低“赤霞珠”葡萄 IBMP 的含量,并且在幼果期葡萄果实中 IBMP 的含量就达到了最大值,这与 SALA 等<sup>[21]</sup>、RYONA 等<sup>[22]</sup>的研究结果不完全相同。SALA 等<sup>[21]</sup>发现在转色前期葡萄果实中 IBMP 含量能达到最大值,而蓬莱“赤霞珠”葡萄 IBMP 含量在幼果期就达到了最大值,这可能与当地的天气有关。在葡萄果实生长早期阶段,光照可以促进不成熟葡萄果实 IBMP 的合成,而 2015 年 7 月蓬莱天气多为阴天并且下雨天数多,从而光照的减少,导致在幼果期 IBMP 含量就达到了最大值。从幼果期通过摘叶处理,可以有效增加葡萄果实的曝光,而光照可以促进 IBMP 的降解<sup>[23]</sup>,使得最终采收期(花后 14 周)“赤霞珠”葡萄 IBMP 的含量减少。

### 4 结论

该研究确定了在胶东地区花前摘叶为最佳摘叶的时期,摘叶处理可以明显降低“赤霞珠”葡萄中 IBMP 的含量,从而降低“赤霞珠”葡萄和葡萄酒中过重的“青椒”气味。为改善胶东地区“赤霞珠”葡萄和葡萄酒中香气提供了科学依据。

#### 参考文献

[1] MURRAY K E, WHITFIELD F B. The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 1975, 26(7): 973-986.  
 [2] MURRAY K E, SHIPTON J, WHITFIELD F B. 2-methoxypyrazines and the flavour of green peas (*Pisum sativum*)[J]. Chemistry

- & Industry, 1970, 27(14): 897-898.
- [3] MALCOLM A S, MICHAEL L J, ROGER H L N, et al. Contribution of methoxypyrazines to Sauvignon Blanc wine aroma[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1991, 42(2): 109-112.
- [4] KOTSERIDIS Y, ANOCIBAR BELOQUI A, BERTRAND A. An analytical method for studying the volatile compounds of Merlot noir clone wines[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1998, 49(1): 44-48.
- [5] de BOUBEE D R, CUMSILLE A M, PONS M, et al. Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 2002, 53(1): 1-5.
- [6] BELANCIC A, AGOSIN E. Methoxypyrazines in grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Carmenere[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 2007, 58(4): 462-469.
- [7] PICKERING G, LIN J, REYNOLDS A, et al. The evaluation of remedial treatments for wine affected by *Harmonia axyridis*[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2006, 41(1): 77-86.
- [8] HASHIZUME K, SAMUTA T. Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1999, 50(2): 194-198.
- [9] PICKERING G J, KARTHIK A, ANDINGLIS D. Detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in Concord and Niagara grape juice[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(6): 262-266.
- [10] GREGAN S M, WARGENT J J, LIU L, et al. Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes[J]. Australian Journal of Grape & Wine Research, 2012, 18(2): 227-238.
- [11] EBELER S E. Analytical chemistry: Unlocking the secrets of wine flavor[J]. Food Reviews International, 2007, 17(1): 45-64.
- [12] KOTSERIDIS Y S, SPINK M, BRINDLE I D, et al. Quantitative analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1190(1-2): 294-301.
- [13] DAWN C M, JOHN T H, MATTHEWS M A, et al. Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in cabernet sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(17): 5431-5435.
- [14] KOCH A, DOYLE C L, MATTHEWS M A, et al. 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine in grape berries and its dependence on genotype[J]. Phytochemistry, 2010, 71(17-18): 2190-2198.
- [15] KOCH A, EBELER S E, WILLIAMS L E, et al. Fruit ripening in *Vitis vinifera*; Light intensity before and not during ripening determines the concentration of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon berries[J]. Physiologia Plantarum, 2012, 145(2): 275-285.
- [16] ARNOLD R A, BLEDSOE A M. The effect of various leaf removal treatments on the aroma and flavor of Sauvignon Blanc wine[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1990, 41(1): 74-83.
- [17] KOCH A, DOYLE C L, MATTHEWS M A, et al. 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in grape berries and its dependence on genotype[J]. Phytochemistry, 2010, 71(17-18): 2190-2198.
- [18] HJELMELAND A K, WYLIE P L, EBELER S E. A comparison of sorptive extraction techniques coupled to a new quantitative, sensitive, high through put GC-MS/MS method for methoxypyrazine analysis in wine[J]. Talanta, 2016, 148: 336-345.
- [19] GREGAN S, JORDAN B. Methoxypyrazine accumulation and O-methyltransferase gene expression in Sauvignon Blanc grapes; The role of leaf removal, light exposure and berry development[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2016, 64: 2200-2208.
- [20] ALLEN M S, LACEY M J. Methoxypyrazine grape flavour; influence of climate, cultivar and viticulture[J]. Vitic Enol Sci, 1993, 48: 211-213.
- [21] SALA C, BUSTO O, GUASCH J, et al. Influence of vine training and sunlight exposure on the 3-Alkyl-2-methoxypyrazines content in musts and wines from the *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(11): 3492-3497.
- [22] RYONA I, PAN B S, INTRIGLIOLO D S, et al. Effects of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Franc)[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, 56(22): 10838-10846.
- [23] HASHIZUME K, SAMUTA T. Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1999, 50(2): 194-198.

## Effects of Leaf Removal on 3-Isobutyl-2-Methoxypyrazine Accumulation in 'Cabernet Sauvignon' Grape

LYU Jiaheng<sup>1,2,3</sup>, GUAN Xueqiang<sup>2,3</sup>, SUN Yuxia<sup>2,3</sup>, WANG Shiping<sup>2,3</sup>, WANG Hengzhen<sup>2,3</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018; 2. Key Laboratory of Agro-products Processing Technology of Shandong, Jinan, Shandong 250100; 3. Institute of Agro-food Science and Technology, Shandong Academy of Agricultural Science, Jinan, Shandong 250100)

**Abstract:** Five-year-old 'Cabernet Sauvignon' grapes were selected as experimental materials. All around berry leaves were removed in early flowering and veraison period respectively. Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) with stable isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) method for IBMP quantification in grapes was very efficient. The objective was to changing the light intensity to reduce IBMP

DOI:10.11937/bfyy.201711006

# 根据太阳照射角度确定 Y 字形果园 种植密度的探讨

李桂祥, 张安宁, 刘伟, 张毅, 董晓民

(山东省果树研究所, 山东 泰安 271000)

**摘要:**以 Y 字形修剪桃树为试材, 根据山东泰安地区的太阳照射角, 计算了不同树高、干高和夹角的行距和 2 个主枝的遮挡情况, 并研究了适合 Y 形树形的 2 个主枝夹角及行距。结果表明: 同一树高, 行距随干高的升高而减小, 随 2 个主枝夹角的增大而增大; 行距随树高的增大而增大。通过计算得出的 2 个主枝夹角最小角度应为  $72.04^\circ$ , 为方便生产, 可将 2 个主枝的夹角定为  $75^\circ$ , 合适的种植行距为 4.45 m(树高 3.5 m, 干高 0.6 m) 或者 5.22 m(树高 4.0 m, 干高 0.6 m)。

**关键词:**太阳照射角度; 种植密度; 树形; 果园

**中图分类号:**S 66 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)11-0028-05

果树整形是果树综合管理的重要措施, 选择合适的树形可以早实丰产、提高果实产量质量、便于田间管理。自然开心形是桃树生产中最常用的树形, 具有早实丰产、易成形、便于推广的优点, 但也存在着修剪量大、容易郁闭、不适宜密植等缺点。随着经

济的发展, 农村劳动力逐年减少, 劳动力价格逐年升高, 农药化肥等物资价格逐年升高, 省力化成为解决生产成本上升的一个重要选择。在果树的众多树形中, 主干形、纺锤形、Y 字形是适合机械化和省力化生产的树形。

光照影响果实的品质。果树的栽植密度直接影响果园光照条件。在果树栽培中, 合理密植的基本原则应依据具体树种或品种的生物学特性, 使果园中所有果树叶幕的各部分都能合理地利用立体空间, 充分利用太阳光能进行光合生产<sup>[1]</sup>。果园中光照的分布受树体内部枝叶的遮挡和树体之间的相互遮挡的影响。树体内部枝叶的遮挡可以通过合理的修剪解决, 树体之间的相互遮挡主要取决于果树的栽植密度。太阳光照是决定果树遮挡的决定因素, 其照射的方位和高度具有规律性。根据果树的树形和太阳照射的高度角和方位角, 通过计算, 可以确定

**第一作者简介:**李桂祥(1987-), 男, 山东安丘人, 硕士, 助理研究员, 现主要从事果树栽培生理等研究工作。E-mail: liguixiang-2010@163.com.

**责任作者:**张安宁(1974-), 男, 山东新泰人, 硕士, 副研究员, 现主要从事水果育种和果树设施栽培与推广等工作。E-mail: zan\_hope@163.com.

**基金项目:**“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2013BAD02B03); 国家现代桃产业技术体系建设专项基金资助项目(CARS-31); 山东省农业科学院科技创新重点资助项目(2014CXZ11-4)。

**收稿日期:**2017-03-07

concentration in grapes leaf removal. Determined the best time of leaf removal which could effectively reduce IBMP content in ‘Cabernet Sauvignon’ grape from Yantai. The results showed that, the limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were very low in model juice and samples. Leaf removal in preflowering (LR-pre) had significant effect on the accumulation of IBMP during the growth of ‘Cabernet Sauvignon’ grapes, while the leaf removal in veraison (LR-v) had no effect on concentration in harvest. The method of quantitative analysis of IBMP had low detection line and high recovery rate. Earlier leaf removal treatment could reduce the accumulation of IBMP in grape fruit more effectively in preflowering, thus reduce the ‘green pepper’ odor in ‘Cabernet Sauvignon’ wine.

**Keywords:** leaf removal; ‘Cabernet Sauvignon’ grape; IBMP; HS-SPME