

产区和成熟度对‘黑比诺’葡萄酒品质的影响

田萌勃^{1,2}, 吴杨鹏^{1,2}, 胡瑞祺^{1,2}, 王军^{1,2}, 赵德升³, 何非^{1,2*}

(¹ 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

² 农业农村部葡萄酒加工重点实验室 北京 100083

³ 怀来中法庄园葡萄酒有限公司 河北怀来 075421)

摘要 为探究大尺度风土下葡萄果实品质差异及过熟阶段葡萄果实风味物质的变化情况,选取宁夏贺兰山东麓和河北怀来沙城两个产区的两个成熟度的‘黑比诺’果实为材料,测定其理化指标,采用 LC-MS 检测果实多酚含量,GC-MS 检测其挥发性香气图谱,结合 PCA、OPLS-DA 等分析产区和成熟度对‘黑比诺’葡萄果实酿酒品质的影响。结果表明:两产区‘黑比诺’葡萄果实的可溶性固形物在 20~21°Brix,可滴定酸度在 4.5~5.5 g/L 范围。产区显著影响果皮单体花色苷组分。贺兰山东麓产区的葡萄果实具有更高含量的籽黄烷醇、降异戊二烯和萜烯类物质含量。延迟采收降低了葡萄果皮花色苷、籽黄烷醇含量,而促进了高级醇、苯类和醛酮类物质的积累。PCA 结果表明,延迟采收带来的差异大于产区间的差异,葡萄果皮花色苷及黄烷醇是不同成熟度果实间的主要差异物质。C6/C9 类物质、降异戊二烯和萜烯类香气物质是不同产区间的标志性差异物质。总体而言,两产区‘黑比诺’葡萄果实的酿酒品质存在较大差异,通过延迟采收可以提高葡萄果实的部分酿酒品质。

关键词 ‘黑比诺’; 产区; 成熟度; 酚类物质; 香气物质

文章编号 1009-7848(2024)08-0268-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.08.026

‘黑比诺’(*Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir) 是原产于法国勃艮第的红色酿酒葡萄品种,具有优良的酿酒特性,在全世界广泛种植,也是我国多个产区的主栽品种之一。酿酒葡萄果实的品质很大程度上决定其所酿葡萄酒的品质,因此一直是葡萄酒科学领域研究的热点^[1-2]。作为我国重要的葡萄酒产区,宁夏贺兰山东麓产区和河北怀来沙城产区的风土条件具有显著差异。贺兰山东麓产区位于贺兰山东麓冲积扇与黄河冲击平原之间的宽阔地带,海拔 1 100~1 200 m,壤土以灰钙土、砂砾土为主,属温带大陆性气候,年日照时数 2 900~3 100 h,年降水量 100~200 mm,夏季较为干燥,年有效积温 3 200~3 500 °C^[3-5]。河北怀来沙城产区地处怀涿盆地,海拔 400~800 m,土壤以砂质黏壤为主,属温带大陆性季风气候,中温带半干旱区,年日照时数 2 800~3 000 h,年降雨量约 400 mm,夏季温暖湿润,降雨量占全年降水量的 40%~60%^[6]。

两个产区间不同的地理、海拔、土壤和气候等因素会导致栽培的葡萄品质存在一定差异。探究产区对酿酒葡萄果实品质的影响,不仅有助于根据果实特点制定酿造策略,而且有助于解析大尺度下风土因素对葡萄果实和葡萄酒品质的影响。

酿酒葡萄果实的成熟是一个复杂的过程。葡萄果实中各种代谢物,例如糖、有机酸、酚类物质和香气物质等随着果实发育和成熟的推移而变化。在绿果期,葡萄果实主要积累有机酸,合成黄烷醇等酚类物质的前体物及一些香气物质及其前体物;进入转色期,葡萄果实中的糖和风味物质迅速积累,有机酸开始降解;转色完成到采收前,是葡萄浆果中糖、酚类物质和香气物质积累的关键时期^[7]。葡萄属于非呼吸越变型水果,在果实采收后无法进一步积累风味物质,因而选择适宜的成熟度进行采收对生产高品质葡萄酒至关重要^[8]。当前,许多产区葡萄采收的判断标准仍较为简单,多以果实可溶性固形物为主,以可滴定酸度和糖酸比的计算为辅。然而,酚类物质影响所酿葡萄酒的外观和口感,香气物质也对葡萄和葡萄酒的感官有直接贡献^[1],这两类物质在采收的果实中需具有合适的水平。这些风味物质在葡萄果实成熟过程中的积累变化模式并非与糖分积累过程完全一致^[9],

收稿日期: 2023-08-23

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划“揭榜挂帅”项目(2023BBF01003);财政部和农业农村部:现代农业产技术体系(CARS-29)

第一作者: 田萌勃,男,博士生

通信作者: 何非 E-mail: whyfey@cau.edu.cn

探究它们在果实过熟阶段的变化对获取优质葡萄原料至关重要。

本研究采集宁夏贺兰山东麓产区和河北怀来沙城产区中两个成熟度的‘黑比诺’葡萄果实,通过测定其理化指标,酚类物质和香气物质图谱,分析其酿酒品质的差异,探究大尺度风土对果实酿酒品质的影响,果实成熟后各类代谢物,特别是风味物质的变化趋势,为两个产区‘黑比诺’葡萄酒风格的塑造和最佳采收期的选择提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

欧亚种葡萄‘黑比诺’(*V. vinifera* L. cv. Pinot Noir)果实分别采摘自贺兰山东麓产区(106.04° E, 38.63° N)和河北怀来沙城产区(115.84° E, 40.35° N)自有葡萄园。其中贺兰山东麓产区‘黑比诺’定植于 2014 年,自根苗,株行距为 0.8 m×3.2 m,整形方式为改良型 VSP(即“厂”字形)架式。沙城产区‘黑比诺’定植于 2013 年,自根苗,株行距为 1.0 m×3.0 m,整形方式为改良型 VSP 架式。样品采集时间分别为贺 1:2020 年 8 月 28 日;沙 1:2020 年 8 月 27 日。为突出成熟度间差异,第 2 个成熟度为商业采收后 1 个月,时间分别为贺 2:2020 年 9 月 29 日;沙 2:2020 年 9 月 29 日。采样时选取长势相近的 3 行(每行>50 株)作为 3 个生物学重复,按“Z”字取样法兼顾行两侧,每个生物学重复采集果实 300 粒,立即用液氮冷冻并用干冰保温带回实验室,储存于-40℃冰箱,备用。

1.2 试剂与设备

氢氧化钠、间苯三酚、酚酞、盐酸、抗坏血酸、乙酸钠、丙酮(均为分析纯),天津化工厂;二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷、(-)-表儿茶素等酚类物质标准品和香气标准品,甲酸、乙腈和甲醇等试剂(均为色谱级),Sigma-Aldrich 公司。

PAL-1 手持糖度计,日本 Atago 公司;FA2004 电子分析天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;PB-10 pH 计,德国 Sartorius 公司;Agilent 1200 系列高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪、Poroshell 120 EC-C18 色谱柱(150 mm×3.0 mm,

2.7 μm)、Agilent 6890 GC 气相色谱、Agilent 5975 MS 质谱仪和 HP-INNOWAX (60 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细管柱,美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 葡萄果实理化指标的测定 葡萄果实理化指标的测定参考《葡萄酒、果酒通用分析方法》(GB/T 15038-2006)中的方法。随机选取 100 粒浆果用分析天平称量,计算浆果百粒质量和平均单粒质量。随后将其手工压榨取汁,用 PAL-1 手持糖度计测定果汁的总可溶性固形物(TSS)含量,用 pH 计测定果汁 pH 值;可滴定酸(TA)用 NaOH 滴定,以酒石酸计(g/L)。

1.3.2 葡萄果实酚类物质的提取 葡萄果实酚类物质的提取参照中国农业大学农业农村部葡萄酒加工重点实验室方法^[10]:将-40℃下冰冻的葡萄果实迅速回温后剥离果皮,将剥取的果皮在液氮下迅速磨碎成粉末并在-40℃下真空冻干。精确称量(0.1000±0.0002)g 冻干后的粉末,放入 2.5 mL 离心管中,加入 1 mL 50%的甲醇水溶液,低温超声处理 20 min,然后以 8 000 r/min 离心 10 min。收集上清液,每个样品重复提取 2 次。

果皮和种子中的黄烷醇提取方法:果皮剥离方法同上,将-40℃下冰冻的葡萄果实液氮速冻后在研钵内敲碎,取出种子后在液氮保护下迅速磨碎成粉末并在-40℃下真空冻干。精确称量(0.1000±0.0002)g 冻干后的粉末放入 5 mL 离心管中,加入 1 mL 70%的丙酮水溶液(含 0.5%的抗坏血酸),8 000 r/min 离心 15 min。收集上清液,重复提取 3 次。将 400 μL 上述提取物放入 1.5 mL 离心管中,常温避光下氮吹后溶于 200 μL 含 1% HCl 的甲醇溶液中,用 200 μL 乙酸钠水溶液(200 mmol/L)中和,测定提取液中游离黄烷醇含量。裂解黄烷醇的提取方法如下:精确称量(0.1000±0.0002)g 冻干后的粉末放入 10 mL 离心管中,加入 1 mL 间苯三酚缓冲液(含 0.5% VC)。50℃水浴 20 min 后,添加 1 mL 乙酸钠(200 mmol/L)终止反应,8 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,重复提取 3 次。

1.3.3 葡萄果实酚类物质的测定 葡萄和葡萄酒中酚类物质检测采用高效液相色谱仪,配备 6410 三重串联四级杆质谱仪(QqQ)。样品测定前经

0.22 μm 水系滤膜过滤,进样量 5 μL 。

花色苷及非花色苷酚的定性依据为农业农村部葡萄酒加工重点实验室所建立的葡萄与葡萄酒酚类物质(高效液相色谱-质谱联用)指纹谱库^[10]。定量采用外标法定量,花色苷定量以二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷为外标物,黄酮醇以槲皮素为外标物,黄烷醇以(+)-儿茶素、(-)-表儿茶素、(-)-表儿茶素和(-)-表儿茶素没食子酸酯为外标物,单位表示为 mg/kg FW(果实鲜质量)。

1.3.4 葡萄果实挥发性物质的提取方法

1) 游离态香气的提取方法 在液氮环境下将 70 g 浆果捣碎,除去种子,加入 1 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)和 0.5 g 葡萄糖酸内酯(*D*-gluconic acid lactone),4 $^{\circ}\text{C}$ 融化 4 h 后,8 000 r/min 离心 5 min 获得澄清的汁液^[11]。

2) 结合态的提取方法 固相萃取柱依次经 10 mL 甲醇和 10 mL 水活化后,加入 2 mL 上述澄清葡萄汁样品。经 2 mL 水洗脱除去一些糖、酸等低分子量的极性化合物,加入二氯甲烷洗脱去除大部分游离态香气物质的干扰,最后用 20 mL 甲醇将结合态香气物质洗脱,收集至 50 mL 圆底烧瓶内,整个固相萃取过程洗脱剂流速保持 2 mL/min。将甲醇溶解的结合态香气物质置于 25~30 $^{\circ}\text{C}$,真空旋转蒸干后加入 10 mL 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液(0.2 mol/L,pH 2.5)重新溶解,100 $^{\circ}\text{C}$ 酸解 1 h^[11]。

1.3.5 葡萄果实挥发性物质的检测 利用农业农村部葡萄酒加工重点实验室优化的顶空固相微萃取方法对葡萄汁和葡萄酒香气物质进行萃取,并用气-质谱联用方法分析样品中的香气物质^[11]。

挥发性香气物质的定性依据 NIST 标准谱库中的保留指数和质谱信息,并与标准品谱图比对。香气物质的定量依据混标母液梯度稀释于模拟葡萄汁(200 g/L 葡萄糖、7 g/L 酒石酸,pH 3.3)后的

标准曲线。无相应标准品的香气化合物选择碳原子数与之相近且官能团一致的标准品的标准曲线进行半定量,单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FW(果实鲜质量)。

1.4 数据处理与统计分析

采用 IBM SPSS Statistics 22.0 和 Excel 2013 进行统计分析,采用 Umetrics Simca 14.1 进行主成分分析和偏最小二乘判别分析。

2 结果与分析

2.1 ‘黑比诺’果实的理化指标

生产上常用理化指标来评价葡萄的成熟度,是最简单、直观的评价办法。宁夏贺兰山东麓产区‘黑比诺’葡萄果实的总可溶性固形物和 pH 值随采收时间的推迟而显著升高,可滴定酸度显著下降,而果粒质量无显著性差异(表 1)。河北怀来沙城产区‘黑比诺’葡萄果实各项理化指标的变化趋势与贺兰山东麓相反:总可溶性固形物显著下降,而可滴定酸度和果实粒重显著上升。总体而言,成熟期‘黑比诺’葡萄果实可溶性固形物在两个产区均为 21~22 $^{\circ}\text{Brix}$,可滴定酸度 4.6~5.3 g/L,具有酿造优质干红葡萄酒的潜力。

宁夏贺兰山东麓产区属中温带干旱气候,2020 年生长季月均温 17.02 $^{\circ}\text{C}$,生长季降水 209.09 mm,日照时间较长,这些条件利于可溶性固形物的积累和酸的降解^[4],因此贺 2 的可溶性固形物显著高于贺 1($P<0.05$),而可滴定酸度更低。河北沙城产区属大陆性季风气候,2020 年生长季月均温 13.82 $^{\circ}\text{C}$,生长季降水 716.52 mm,2020 年 9 月中旬的大规模降水(96.36 mm)导致浆果吸水膨胀,果粒质量升高^[4]。“稀释”作用导致果实可溶性固形物浓度下降,伴随降雨的低温也会导致可滴定酸的上升^[12],因此与贺兰山产区可滴定酸度趋势相反。

表 1 不同产区和成熟度的‘黑比诺’果实的理化指标

Table 1 Physicochemical parameters of Pinot Noir grape berries of different maturity and regions

指标	贺 1	沙 1	贺 2	沙 2
可溶性固形物/ $^{\circ}\text{Brix}$	19.40 \pm 0.1 ^b	21.70 \pm 0.00 ^a	21.45 \pm 0.15 ^a	19.85 \pm 0.75 ^b
pH 值	3.95 \pm 0.01 ^b	3.63 \pm 0.01 ^c	4.13 \pm 0.05 ^a	3.67 \pm 0.02 ^c
可滴定酸度/(g/L)	5.25 \pm 0.19 ^a	4.65 \pm 0.29 ^b	4.77 \pm 0.25 ^b	5.18 \pm 0.12 ^a
果粒质量/g	1.28 \pm 0.05 ^c	1.57 \pm 0.06 ^b	1.20 \pm 0.07 ^c	1.86 \pm 0.24 ^a

注:数据表示为 3 个生物学重复的平均值 \pm 标准差,不同小写字母代表差异显著($P<0.05$),邓肯多重检验(Duncan's test),下同。

2.2 ‘黑比诺’果实酚类物质

2.2.1 单体花色苷 花色苷是一类天然植物色素,对葡萄果实及所酿葡萄酒的颜色具有重要贡献。在‘黑比诺’葡萄果皮中共检出5种基本单体花色苷,分别为花青素-3-O-葡萄糖苷、花翠素-3-O-葡萄糖苷、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷、甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷和二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷(表2)。未检出乙酰化、香豆酰化和咖啡酰化的花色苷,这与前人研究中,‘黑比诺’果皮无法合成和积累酰化花色苷的结果一致^[13]。这是由于‘黑比诺’葡萄中花色苷酰基转移酶基因 *Vv3AT* 发生无义突变,导致蛋白缺失,不能合成酰基化花色苷^[14]。5种单体花色苷中,二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷在所有样品中含量最高,花青素-3-O-葡萄糖苷含量最低。贺兰山东麓产区中,延迟采收‘黑比诺’贺2中单体花色苷总量高于贺1,不存在显著性差异($P < 0.05$)。据报道,葡萄果皮花色苷在成熟过程中呈上升趋势,而采收前的高温天气可能导致花色苷降解^[15],因此贺兰山东麓产区‘黑比诺’果皮花色苷含量没有显著性差异可能与夏季热浪有关。河北沙城产区中沙2果皮单体花色苷显著低于沙1,这可能是由于果实吸水膨胀导致的含量下降。当排除降雨因素后,沙2‘黑比诺’果皮花色苷显著高于沙1。此外,贺兰山东麓

产区‘黑比诺’果皮花色苷含量显著高于河北怀来沙城产区。光照对花色苷的生物合成具有促进作用^[12]。贺兰山东麓产区日照时数长、阴雨较少^[14],导致果皮花色苷浓度较高。

花青素类花色苷在代谢通路中属于F3'H分支(二羟基取代花色苷,包括各种花青素-3-O-葡萄糖苷和甲基花青素-3-O-葡萄糖苷及其酰化衍生物)。本研究中,沙1的二羟基取代花色苷占比最高,沙2最低,而贺兰山东麓产区中,二羟基取代花色苷占比在不同成熟度果实中没有显著差异。贺1和沙1具有相近的甲基化修饰花色苷比例,而延迟采收在两个产区均显著降低了甲基化花色苷的比例($P < 0.05$)。这可能是由负责甲基化修饰的甲基转移酶活性及其基因表达水平在果实成熟后逐渐下降造成的^[16]。与商业采收时相比,两个产区延迟采收‘黑比诺’中均检出更高的非甲基化花色苷(花青素-3-O-葡萄糖苷和花翠素-3-O-葡萄糖苷),而甲基化花色苷的浓度增幅较小,说明甲基转移酶在果实成熟后期活性下降。

双因素方差分析(Two-way ANOVA)表明,产区和成熟度显著影响‘黑比诺’果皮5种单体花色苷含量,且成熟度对二羟基取代花色苷的比例达极显著性水平($P < 0.001$)。

表2 ‘黑比诺’果皮花色苷含量(mg/kg FW)

Table 2 Anthocyanin content of Pinot Noir grape skins (mg/kg FW)

物质	贺1	沙1	贺2	沙2	产区	成熟度
花青素-3-O-葡萄糖苷	10.83 ± 0.87 ^d	13.16 ± 0.56 ^c	22.79 ± 1.52 ^a	17.09 ± 0.96 ^b	*	***
花翠素-3-O-葡萄糖苷	28.06 ± 1.54 ^b	15.93 ± 1.27 ^c	36.01 ± 7.07 ^a	28.25 ± 2.36 ^b	**	**
甲基花青素-3-O-葡萄糖苷	174.48 ± 7.92 ^b	254.88 ± 11.28 ^a	169.06 ± 8.64 ^b	114.13 ± 0.54 ^c	*	***
甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	30.36 ± 3.32 ^b	22.63 ± 2.02 ^c	43.21 ± 5.25 ^a	28.67 ± 2.41 ^b	**	**
二甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	419.91 ± 11.73 ^a	264.98 ± 9.77 ^c	425.05 ± 3.85 ^a	317.56 ± 20.33 ^b	***	**
二羟基取代花色苷/%	27.93 ± 1.06 ^b	46.89 ± 0.25 ^a	27.55 ± 0.44 ^b	25.98 ± 1.07 ^c	***	***
甲基化花色苷/%	94.14 ± 0.22 ^a	94.91 ± 0.35 ^a	91.57 ± 0.9 ^b	91.03 ± 0.21 ^b	ns	***
总花色苷	663.65 ± 18.04 ^a	571.57 ± 21.06 ^b	696.12 ± 25.89 ^a	505.7 ± 20.19 ^c	***	ns

注:双因素方差分析中,*: $P < 0.05$;**: $P < 0.01$;***: $P < 0.001$;ns:无显著差异($P > 0.05$),下同。

2.2.2 黄烷-3-醇 葡萄果皮和籽中的黄烷醇类物质既包括游离的黄烷-3-醇,也包括其聚合物缩合单宁(原花色苷),对葡萄酒的苦味、涩感和酒体结构有重要贡献。其中,组成缩合单宁的黄烷醇又分为延伸单元和末端单元两类。成熟度对‘黑比

诺’果皮及籽黄烷醇影响显著(表3)。两个产区中,延迟采收‘黑比诺’中均含有更高的果皮黄烷醇及更低的籽黄烷醇含量,且差异达到显著水平($P < 0.05$)。贺1的果皮及籽黄烷醇均高于沙1,而延迟采收样品中观察到相反的趋势:沙2的果皮

黄烷醇显著高于贺2,而籽黄烷醇显著较低。这说明河北怀来沙城产区的风土条件,特别是采收期附近的气候条件对黄烷醇类物质影响较大。有研究发现,日间平均温度对黄烷醇的积累具有显著相关性^[17]。沙2采收前的降雨导致较低的日间平均温度,这可能是造成上述结果的因素之一。

平均聚合度(mDP)为缩合单宁中黄烷醇总单元(延伸单元+末端单元)与末端单元的比值,是反映酒体收敛性和结构感的重要指标^[18]。一般来说,

mDP与酒体的苦味成反比,而与涩味成正比^[10]。与贺兰山产区相比,河北怀来沙城产区‘黑比诺’果皮和籽的缩合单宁具有更高的mDP,且仅在贺2和沙2的籽单宁mDP中出现显著性差异。对比不同成熟度的黄烷醇发现,延迟采收显著提高了皮mDP,而籽mDP中没有发现一致的趋势。

Two-way ANOVA分析表明,成熟度对‘黑比诺’果皮及籽黄烷醇均有极显著影响($P < 0.001$),产区对籽黄烷醇的影响也更为显著。

表3 ‘黑比诺’果皮及籽黄烷醇含量(mg/kg FW)

Table 3 Flavanol content of Pinot Noir grape skin and seed (mg/kg FW)

物质	贺1	沙1	贺2	沙2	产区	成熟度
皮游离单元	0.94 ± 0.26 ^a	4.39 ± 1.63 ^b	3.99 ± 0.30 ^{bc}	7.23 ± 0.67 ^c	***	***
皮末端单元	25.34 ± 2.56 ^{bc}	22.4 ± 1.21 ^b	28.25 ± 0.39 ^a	29.31 ± 2.57 ^a	ns	**
皮延伸单元	716.48 ± 49.23 ^{cd}	657.27 ± 45.14 ^d	961.83 ± 29.11 ^b	1 075.06 ± 13.87 ^a	ns	***
皮平均聚合度	27.57 ± 2.22 ^b	29.32 ± 2.97 ^b	32.28 ± 0.61 ^{ab}	35.20 ± 2.97 ^a	ns	**
皮黄烷醇总量	742.49 ± 50.90 ^c	682.78 ± 44.29 ^{cd}	992.71 ± 29.43 ^b	1 109.96 ± 15.61 ^a	ns	***
籽游离单元	333.23 ± 11.10 ^a	271.35 ± 12.78 ^b	253.98 ± 12.30 ^{bc}	227.97 ± 15.50 ^c	*	**
籽末端单元	53.68 ± 5.50 ^a	48.85 ± 0.44 ^b	35.64 ± 2.34 ^c	31.00 ± 0.73 ^c	*	***
籽延伸单元	2 224.00 ± 154.05 ^a	1 971.32 ± 45.66 ^b	1 350.36 ± 29.49 ^c	1 243.25 ± 23.26 ^{cd}	**	***
籽平均聚合度	47.95 ± 1.75 ^a	47.32 ± 1.52 ^a	43.77 ± 2.04 ^b	46.50 ± 0.26 ^a	ns	*
籽黄烷醇总量	2 453.53 ± 165.44 ^a	2 179.74 ± 47.47 ^b	1 521.65 ± 39.15 ^c	1 392.23 ± 23.46 ^d	**	***

2.3 ‘黑比诺’果实香气

在‘黑比诺’葡萄果实中共检出28种挥发性香气物质(游离+结合),包括6种C6/C9化合物,2种降异戊二烯,1种萜烯,5种苯类,9种高级醇类及5种醛酮类。其中,C6/C9化合物在所有样品中浓度最高,降异戊二烯类及萜烯类浓度较低。

产区对部分香气化合物具有显著性影响。与河北怀来沙城产区相比,贺兰山东麓产区‘黑比诺’果实具有更高的(*E*)-3-己烯-1-醇、(*Z*)-3-己烯-1-醇、(*E*)-2-己烯-1-醇等C6/C9类化合物,且贺1具有显著最高的 β -香茅醇。河北怀来沙城产区‘黑比诺’具有更高的苯类和高级醇类化合物,而仅在延迟采收果实中显示显著性。

延迟采收对降异戊二烯、萜烯、苯类、高级醇类及醛酮类物质具有显著影响,而对C6/C9化合物的影响较弱。延迟采收显著提高了两个产区果实中6-甲基-5-庚烯-2-酮的含量,而在贺兰山产区中,延迟采收显著降低了香叶基丙酮和 β -香茅醇含量。

C6/C9化合物属绿叶气味组分(Green leaf volatiles, GLVs),具有新鲜割草的独特气味,也是葡萄酒中乙酸乙酯的直接前体物,对酿酒葡萄和葡萄酒的香气品质具有重要贡献^[19]。研究表明,C6/C9类化合物在果实成熟过程中的变化趋势受年份影响显著^[20],己醛总体呈上升趋势,而3-己烯醇等物质会因延迟采收而下降^[19,21],这与本研究结果一致。尽管一些C6/C9类化合物在不同产区间存在显著差异,其总量还不存在显著差异,这说明与两个产区的风土因素相比,基因型对C6/C9类化合物影响更为显著,这与前人研究结果^[20]相符。降异戊二烯和萜烯是葡萄酒中重要的花香、果香来源,也是提供品种香的重要组分^[11]。杨晓帆等^[22]指出,降异戊二烯在果实发育早期开始积累,在转色结束时达到高峰,而在成熟采收前其含量反而下降。高晓彤^[23]对半干旱气候的新疆玛纳斯产区的研究表明,部分萜烯和降异戊二烯在葡萄过熟期出现下降趋势,这与本研究中具有相似气候的贺兰山东麓产区的‘黑比诺’的研究结果一致。6-甲

基-5-庚烯-2-酮是 C8 类降异戊二烯^[24],与香叶基丙酮和 β -香茅醇趋势相反,6-甲基-5-庚烯-2-酮在延迟采收样品中显示更高的浓度,这说明 C8 类

降异戊二烯与 C13 类降异戊二烯对延迟采收的响应不同。

表 4 ‘黑比诺’果实香气物质含量(mg/kg FW)

Table 4 Aroma content of Pinot Noir grape berries (mg/kg FW)							
物质	分类	贺 1	沙 1	贺 2	沙 2	产区成熟度	
己醛	C6/C9	1 406.34 ±	1 289.86 ±	1 415.52 ±	1 403.58 ±	ns	ns
		429.68 ^a	314.87 ^a	125.27 ^a	310.64 ^a		
(E)-3-己烯-1-醇	C6/C9	19.26 ± 1.69 ^a	7.57 ± 1.56 ^b	19.97 ± 2.7 ^a	0.85 ± 1.40 ^c	***	*
(Z)-3-己烯-1-醇	C6/C9	19.73 ± 0.83 ^a	6.57 ± 0.48 ^b	21.09 ± 1.03 ^a	5.07 ± 0.58 ^c	***	ns
壬醛	C6/C9	0.22 ± 0.37 ^b	0.84 ± 0.94 ^{ab}	3.5 ± 3.03 ^a	0.47 ± 0.54 ^{ab}	ns	ns
(E)-2-己烯-1-醇	C6/C9	98.52 ± 4.94 ^a	57.60 ± 4.21 ^b	95.99 ± 8.11 ^a	104.42 ± 11.38 ^a	**	**
(E)-2-壬烯醛	C6/C9	8.48 ± 0.05 ^{ab}	8.53 ± 0.04 ^a	8.44 ± 0.04 ^b	8.49 ± 0.03 ^{ab}	ns	ns
6-甲基-5-庚烯-2-酮	降异戊二烯	17.32 ± 0.76 ^b	8.82 ± 0.57 ^c	20.15 ± 1.19 ^a	19.48 ± 1.96 ^{ab}	***	***
香叶基丙酮	降异戊二烯	2.85 ± 0.02 ^a	2.78 ± 0.01 ^b	2.76 ± 0.00 ^b	2.80 ± 0.05 ^b	ns	*
β -香茅醇	萜烯	14.69 ± 0.15 ^a	13.70 ± 0.01 ^b	13.71 ± 0.02 ^b	13.69 ± 0.02 ^b	***	*
		30.2 ± 2.65 ^b	29.10 ± 1.65 ^b	24.89 ± 2.86 ^b	49.06 ± 6.20 ^a		
苯类		30.2 ± 2.65 ^b	29.10 ± 1.65 ^b	24.89 ± 2.86 ^b	49.06 ± 6.20 ^a	**	*
高级醇类		85.43 ± 1.05 ^b	87.62 ± 2.49 ^b	85.74 ± 4.30 ^b	118.46 ± 6.51 ^a	***	***
醛酮类		83.03 ± 1.40 ^a	88.75 ± 5.17 ^a	75.69 ± 3.77 ^b	75.2 ± 1.68 ^b	ns	**
香气总量		1 786.06 ±	1 601.73 ±	1 787.46 ±	1 801.57 ±	ns	ns
		439.04 ^a	324.47 ^a	145.64 ^a	331.81 ^a		

2.4 ‘黑比诺’风味物质多元分析

为了更好地探究产区和成熟度对‘黑比诺’果实风味物质的影响,对葡萄果实中的风味物质进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。对样品不分组时,利用葡萄果实花色苷、黄烷醇和挥发性香气物质含量进行 PCA(图 1),主成分 1 解释了 44.8% 的总方差,可区分不同成熟度的葡萄果实,主成分 2 解释了 25.9% 的总方差,可区分不同产区的葡萄果实。从载荷图看,延迟采收‘黑比诺’果实中的花翠素类花色苷及皮黄烷醇含量较高,而常规采收果实中籽黄烷醇和花青素类花色苷占较高。不同产区‘黑比诺’果实可通过挥发性香气进行区分,贺兰山东麓产区果实中有更高含量的 C6/C9 化合物、萜烯及降异戊二烯,而沙城产区的醛酮类、苯类和高级醇类香气含量较高。

进一步通过有监督的 OPLS-DA 模型对延迟采收和产区进行分离(图 2、图 3),根据 R^2Y 、 Q^2Y 和 200 次置换检验对每个 OPLS-DA 模型进行评价。本研究中 R^2Y 和 Q^2Y 均大于 0.9,代表模型没

有过拟合且有较好的预测能力,置换检验中截距小于 0 代表模型的稳定性和可靠性。

在延迟采收与对照组中,VIP 值大于 1 且排名前 10 的指标主要以果皮多酚为主,分别为甲基修饰花色苷(1.37)、皮延伸单元(1.37)、皮总黄烷醇(1.37)、籽延伸单元(1.34)、籽黄烷醇总量(1.34)、籽末端单元(1.30)、花青素-3-O-葡萄糖苷(1.28)、醛酮类(1.24)、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷(1.16)和皮末端单元(1.15)。其中皮延伸单元、皮总黄烷醇及花青素-3-O-葡萄糖苷在延迟采收样品中具有较高水平,而其它指标在常规采收果实中具有较高水平。这些指标可用作区分常规采收和延迟采收的‘黑比诺’葡萄果实。苏鹏飞等^[25]对宁夏贺兰山东麓‘黑比诺’的研究表明,果皮黄烷醇随采收时间的推迟而升高,籽黄烷醇降低,与本研究结果一致。

在贺兰山东麓与沙城产区组中,VIP 值大于 1 且排名前 10 的指标主要以挥发性香气物质为主,分别为(Z)-3-己烯-1-醇(1.76)、二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷(1.72)、(E)-3-己烯-1-醇(1.66)、总

花色苷(1.65)、甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷(1.30)、苯类(1.27)、高级醇类(1.24)、皮游离单元(1.21)、花翠素-3-O-葡萄糖苷(1.19)及 β -香茅醇(1.17)。除苯类、高级醇类、皮游离单元在沙城产区果实中水平较高外,其余指标均在贺兰山东麓产区果实中较高。前人研究表明,光照和辐射促进降异戊二烯和萜烯的积累^[11,26],这解释了 OPLS-DA 模型的结果:贺兰山东麓产区较长的日照时数和较高的积温导致‘黑比诺’果实具有更高萜烯和降异戊二烯水平。相反,C6/C9类化合物的合成受光照的抑制,与曝光果实相比,遮阴果实往往具有更高的C6/C9化合物含量^[26-27]。贺兰山产区多日照,少阴雨,而‘黑比诺’果实中(E)-3-己烯-1-醇、(Z)-3-己烯-1-醇含量显著较高。这可能由于贺兰山东麓产区夏季干旱少雨所致。前人研究表明,适度水分亏缺能提高C6醛类的含量^[19,28]。此外,缺水还会上

调醇脱氢酶基因(*VvADH*)的表达^[29],因此高浓度的C6醛在醇脱氢酶(ADH)的催化下导致贺兰山产区的‘黑比诺’果实中C6醇含量较高。另外,己烯醇还参与诱导植物的防御反应:植物在受到机械损伤、病原菌侵染、植食性昆虫取食等胁迫时,(Z)-3-己烯醇作为主要的植物挥发性信号分子,介导植物产生直接或间接防御反应^[30]。贺兰山东麓产区可能存在一定的生物/非生物胁迫,从而导致较高的己烯醇浓度。

2.5 ‘黑比诺’风味轮廓分析

为了明晰不同产区和成熟度‘黑比诺’果实风味物质的差异,选取6个有直接感官贡献的指标,对浓度进行标准化后绘制雷达图(图4)。其中花色苷决定酿成葡萄酒的外观色泽;可溶性固形物、可滴定酸及黄烷醇影响葡萄酒的口感;花果香气由萜烯和降异戊二烯的浓度之和计算得出,绿叶

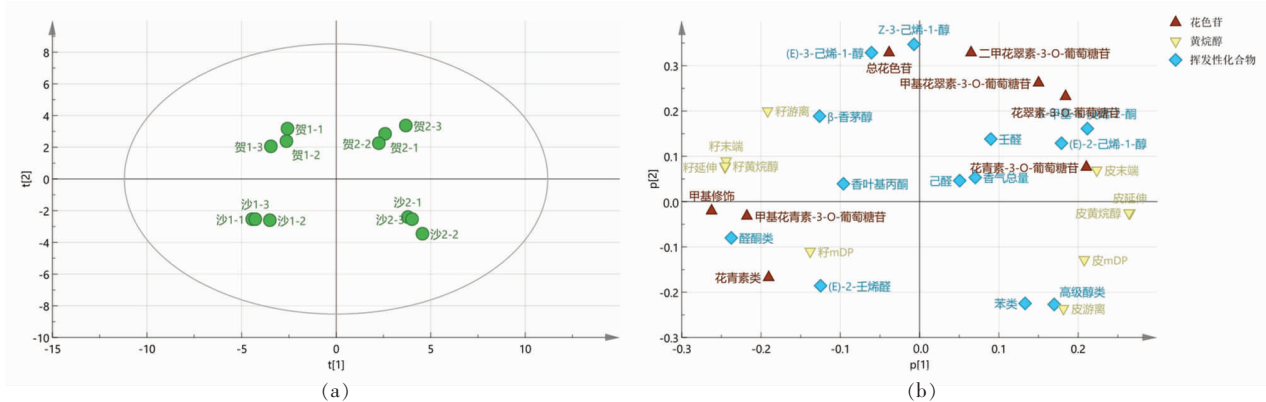


图1 ‘黑比诺’果实风味物质 PCA 分析

Fig.1 PCA analysis based on the flavor compounds of Pinot Noir grape berries

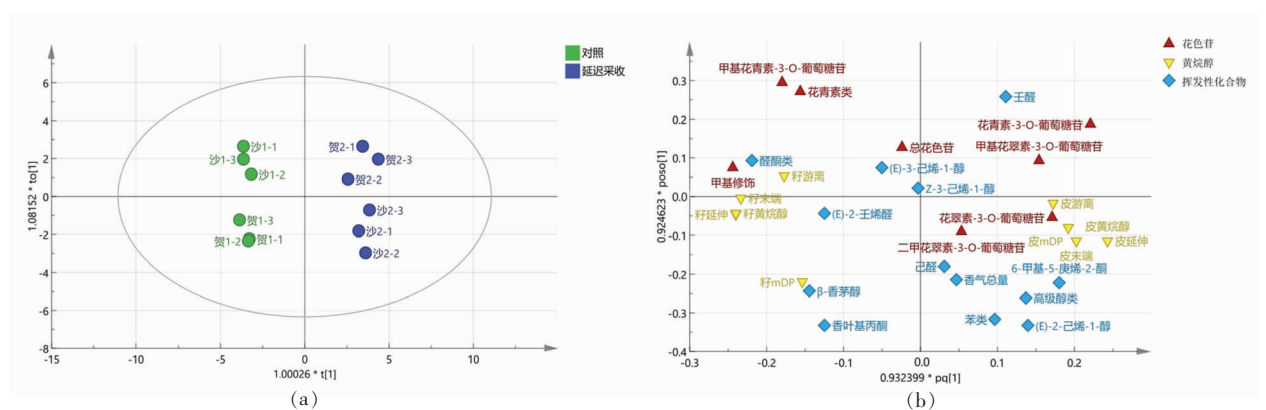


图2 对照与延迟采收‘黑比诺’果实风味物质 OPLS-DA 分析

Fig.2 OPLS-DA analysis based on the flavor compounds between treatment of Pinot Noir grape

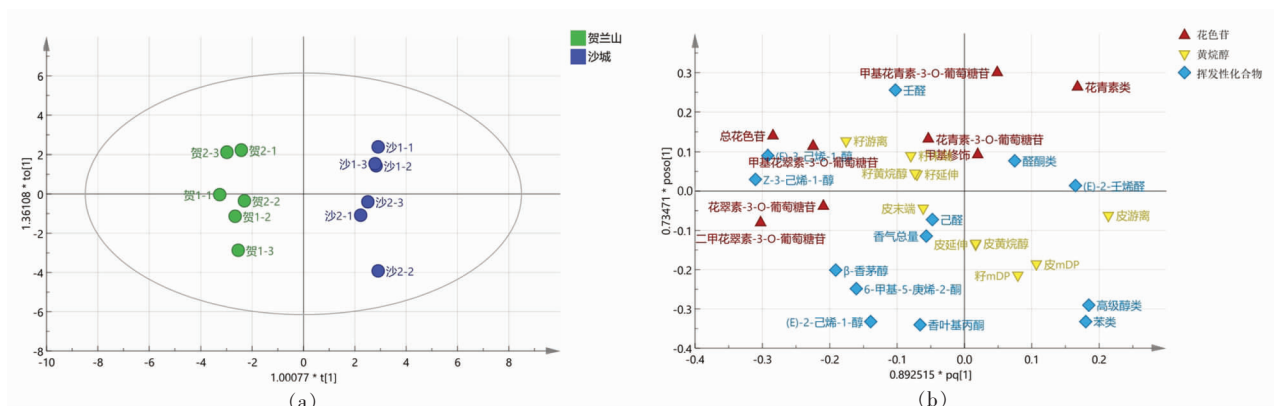


图 3 不同产区‘黑比诺’果实风味物质 OPLS-DA 分析

Fig.3 OPLS-DA analysis based on the flavor compounds between regions of Pinot Noir grape berries

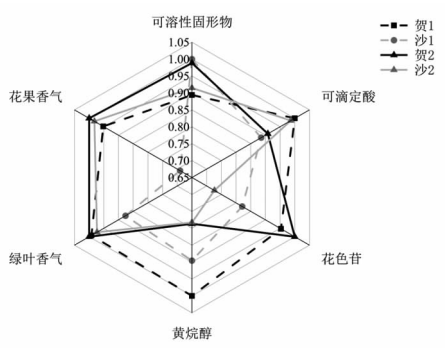


图 4 ‘黑比诺’果实风味物质轮廓

Fig.4 Flavor profile of Pinot Noir berries

香气为 C6/C9 类化合物含量，这两个指标影响葡萄酒香气。

试验结果显示，贺 1 的黄烷醇、可滴定酸和绿叶气味较高，而延迟采收增强了花色苷、花香果香和可溶性固形物的水平。沙 1 的可溶性固形物水平较高，而延迟采收提高了果实中香气得分，同时提高了可滴定酸度。

3 结论

本研究选取贺兰山东麓和河北怀来沙城两个产区不同成熟度的‘黑比诺’果实，探究产区和成熟度对‘黑比诺’葡萄果实酿酒品质的影响。结果显示，两个产区‘黑比诺’葡萄果实的酿酒品质有较大的差异，这是其所酿葡萄酒具有不同典型风格的物质基础。此外，延迟采收显著增强了贺兰山东麓产区‘黑比诺’果实花色苷、萜烯、降异戊二烯和可溶性固形物的水平，提高了沙城产区果实香

气浓度和可滴定酸度。综合而言，贺兰山东麓产区与河北怀来沙城产区‘黑比诺’葡萄果实酿酒品质差异较大，通过延迟采收可以提高其部分酿酒品质。

参 考 文 献

[1] 王宇, 兰义宾, 孙亮, 等. 延迟采收对‘梅鹿辄’葡萄果实品质的影响[J]. 西北农业学报, 2015, 24(7): 84-91.
 WANG Y, LAN Y B, SUN L, et al. Effect of extended harvest on the quality of ‘Merlot’ grapes[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2015, 24(7): 84-91.

[2] XIE S, LEI Y J, WANG Y J, et al. Influence of continental climates on the volatile profile of *Cabernet Sauvignon* grapes from five Chinese viticulture regions[J]. Plant Growth Regulation, 2019, 87(1): 83-92.

[3] 刘松涛, 李茜, 吕雯, 等. 中国葡萄酒产业现状及发展趋势——以宁夏贺兰山东麓产区为例[J]. 现代农业科技, 2019, 9: 241-243.
 LIU S T, LI Q, LÜ W, et al. Present situation and development trend of Chinese wine industry: A case study of producing area at Eastern Foot of Helan Mountain in Ningxia[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2019, 9: 241-243.

[4] HAN X, LU H C, WANG Y, et al. Region, vintage, and grape maturity co-shaped the ionic signatures of the Cabernet Sauvignon wines[J]. Food Research International, 2023, 163: 112165.

- [5] 胡泽军. 贺兰山东麓不同子产区气象和土壤条件与赤霞珠葡萄品质的关系研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2021.
HU Z J. Study on the relationship between the weather and soil conditions in different sub-producing areas in the eastern foot of Helan Mountain and the quality of Cabernet Sauvignon grapes[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2021.
- [6] 卢诚, 于海森, 王洪江. 沙城葡萄产区怀涿盆地的形成及地质地貌特性[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2009, 7: 49-50.
LU J, YU H S, WANG H J. Formation and geomorphological characteristics of the Huai Zhuo basin in the Shacheng grape region [J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2009, 7: 49-50.
- [7] COOMBE B G. Research on development and ripening of the grape berry[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1992, 43(1): 101-110.
- [8] PÉREZ-MAGARIÑO S, GONZÁLEZ-SAN JOSÉ M L. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade[J]. Food Chemistry, 2006, 96(2): 197-208.
- [9] 赵婷, 吴佳颖, 陈黄翌, 等. 延迟采收对酿酒葡萄类黄酮物质的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 229-235.
ZHAO T, WU J Y, CHEN H Z, et al. Influence of delayed harvest on flavonoids compounds of *Vitis Vinifera* grape[J]. Food Science, 2019, 40(14): 229-235.
- [10] LU H C, WANG Y, CHENG C F, et al. Distal leaf removal made balanced source-sink vines, delayed ripening, and increased flavonol composition in *Cabernet Sauvignon* grapes and wines in the semi-arid Xinjiang[J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130582.
- [11] WANG Y, LI H Q, GAO X T, et al. Influence of attenuated reflected solar radiation from the vineyard floor on volatile compounds in *Cabernet Sauvignon* grapes and wines of the north foot of Mt. Tianshan [J]. Food Research International, 2020, 137: 109688.
- [12] TIAN M B, LIU Y, LU H C, et al. Cluster spatial positions varied the phenolics profiles of 'Cabernet Sauvignon' grapes and wines under a fan training system with multiple trunks [J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132930.
- [13] MAZZA G, FUKUMOTO L, DELAQUIS P, et al. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(10): 4009-4017.
- [14] RINALDO A R, CAVALLINI E, JIA Y, et al. A grapevine anthocyanin acyltransferase, transcriptionally regulated by *VvMYBA*, can produce most acylated anthocyanins present in grape skins[J]. Plant Physiology, 2015, 169(3): 1897-1916.
- [15] YAN Y F, SONG C Z, FALGINELLA L, et al. Day temperature has a stronger effect than night temperature on anthocyanin and flavonol accumulation in 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) grapes during ripening[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 1095.
- [16] TIAN M B, YUAN L, ZHENG M Y, et al. Differences in anthocyanin accumulation profiles between teinturier and non-teinturier cultivars during ripening [J]. Foods, 2021, 10(5): 1073.
- [17] WANG L Y, WEI K, JIANG Y W, et al. Seasonal climate effects on flavanols and purine alkaloids of tea (*Camellia sinensis* L.) [J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(6): 1049-1055.
- [18] CAI J, ZHU B Q, WANG Y H, et al. Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of *Cabernet Sauvignon* wines fermented in different industrial scale fermenters [J]. Food Chemistry, 2014, 154: 217-229.
- [19] 夏弄玉, 孟楠, 任志远, 等. 葡萄果实中绿叶气味组分(GLVs)合成与调控的研究进展[J]. 果树学报, 2019, 36(8): 1073-1083.
XIA N Y, MENG N, REN Z Y, et al. Research advance on biosynthesis and regulation of green leaf volatiles (GLVs) in grape berry[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(8): 1073-1083.
- [20] XIE S, LEI Y J, WANG Y J, et al. Influence of continental climates on the volatile profile of *Cabernet Sauvignon* grapes from five Chinese viticulture regions[J]. Plant Growth Regulation, 2019, 87(1): 83-92.
- [21] PEDNEAULT K, DORAIS M, ANGERS P. Flavor of cold-hardy grapes: Impact of berry maturity and environmental conditions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(44): 10418-10438.
- [22] 杨晓帆, 高媛, 韩梅梅, 等. 云南高原区酿酒葡萄

- 果实香气物质的积累规律[J]. 中国农业科学, 2014, 47(12): 2405–2416.
- YANG X F, GAO Y, HAN M M, et al. Accumulation characteristics of volatile compounds in wine grape berries grown in high altitude regions of Yunnan[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(12): 2405–2416.
- [23] 高晓彤. 过熟度对赤霞珠葡萄和葡萄酒风味轮廓的影响及过熟浆果的组学解析[D]. 北京: 中国农业大学, 2020.
- GAO X T. The effect of overripe degree on the flavor profile of *Cabernet Sauvignon* grapes and wines and omics analysis of overripe berries[D]. Beijing: China Agriculture University, 2020.
- [24] 陈为凯. 一年两收栽培模式下葡萄果实靶向代谢组和转录组研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
- CHEN W K. Study of targeted metabolome and transcriptome in grape berries grown under double cropping viticulture system[D]. Beijing: China Agriculture University, 2018.
- [25] 苏鹏飞, 袁春龙, 杨丽, 等. 不同采收期对黑比诺葡萄及葡萄酒品质的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(5): 234–240.
- SU P F, YUAN C L, YANG L, et al. Effect of different harvest dates on the quality of Pinot Noir grape and the resulting wine[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(5): 234–240.
- [26] LU H C, WEI W, WANG Y, et al. Effects of sunlight exclusion on leaf gas exchange, berry composition, and wine flavour profile of *Cabernet Sauvignon* from the foot of the north side of Mount Tianshan and a semi-arid continental climate [J]. *Oeno One*, 2021, 55(2): 267–283.
- [27] 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.
- [28] JU Y L, LIU M, TU T Y, et al. Effect of regulated deficit irrigation on fatty acids and their derived volatiles in ‘*Cabernet Sauvignon*’ grapes and wines of Ningxia, China[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 667–675.
- [29] CIRILLI M, BELLINCONTRO A, DE SANTIS D, et al. Temperature and water loss affect ADH activity and gene expression in grape berry during postharvest dehydration [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 447–454.
- [30] 李舒雯, 郭洙鹃, 焦春阳, 等. 绿叶挥发物顺式-3-己烯醇诱导的植物防御反应[J]. 植物生理学报, 2021, 57(5): 1001–1006.
- LI S W, GUO S J, JIAO C Y, et al. Plant defense reaction induced by green leaf volatile cis-3-hexen-1-ol[J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(5): 1001–1006.

Effects of Region and Maturity on the Winemaking Quality of ‘Pinot Noir’ Grapes

Tian Mengbo^{1,2}, Wu Yangpeng^{1,2}, Hu Ruiqi^{1,2}, Wang Jun^{1,2}, Zhao Desheng³, He Fei^{1,2*}

¹Center for Viticulture and Enology, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083

²Key Laboratory of Viticulture and Enology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100083

³Huailai Sino-French Vineyard Ltd., Huailai 075421, Hebei

Abstract To investigate the difference in grape quality under large-scale terroir conditions and the evolution of the flavor substances in the overripe grapes, the present study selected Pinot Noir (*Vitis vinifera* L. cv.) grape berries from two regions of the Eastern Foothills of Helan Mountains and Hebei Huailai Shacheng at two maturity levels as the experimental samples. The physicochemical indicators, phenolic and volatile compounds were determined and combined with the principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis, and the effects of wine region and maturity on the winemaking quality of Pinot Noir grapes were investigated. The results showed that the total soluble solids of the two regions were 20–21°Brix, with the titratable acidity from 4.5 to 5.5 g/L. The composition of the monomeric anthocyanins in grape skins was significantly affected by the wine region. Grape berries from the Eastern Foothills of Helan

Mountains had higher content of seed flavanols, norisoprenoids and terpenes. Late harvest decreased the content of total anthocyanins and seed flavanols but promoted the accumulation of higher alcohols, benzenes, aldehydes and ketones. The PCA results showed that the difference caused by late harvest was greater than that of the wine regions. Anthocyanins and flavanols in grape skins were the main biomarkers among the grapes of different maturity, whereas C6/C9 compounds, norisoprenoids and terpenes were the dominant different compounds among wine regions. In general, the wine-making quality of Pinot Noir grapes from the two regions varied, and late harvest could improve some flavors of grapes for winemaking.

Keywords Pinot Noir; region; ripeness level; phenolic compounds; volatile compounds