

第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集

Proceedings of the Fourth International Symposium on Viticulture and Enology

(中国杨凌 , 2005 , 4 , 20-22 Yangling, China 20-22, April, 2005)

李 华 主编 Editor Dr. Li Hua

陕 西 人 民 出 版 社

(陕)新登字 001 号

图书在版编目 (CIP) 数据

第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集 / 李华主编. - 西安: 陕西人民出版社, 2005

ISBN 7-227-07030-0

.第... .李... . 葡萄酒 - 酿造 - 国际学术会议 - 文集 葡萄栽培 - 国际学术会议 - 文集

. TS262.6-53 S663.1-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 025216 号

书 名: 第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集

Proceedings of the Fourth International Symposium on Viticulture and Enology

(中国杨凌, 2005, 4, 20-22 YanglingChina, 20-22, April, 2005)

作 者: 李 华 Dr. Li Hua

出版发行: 陕西人民出版社

印 刷: 西北农林科技大学印刷厂印刷

开 本: 880mm×1230mm 16 开 18 印张

字 数: 500 千字

版 次: 2005 年 4 月第 1 版 2005 年 4 月第 1 次印刷

印 数: 1 - 1000

书 号: ISBN 7-224-07030-0/TS·22

定 价 40.00 元

(图书如有质量问题请与陕西人民出版社发行部联系, 电话: 87205197)

第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集

Proceedings of the Fourth International Symposium on Viticulture and Enology

(中国 杨凌 , 2005 , 4 , 20-22 Yangling China, 20-22, April, 2005)



主办 Supervised by
国际葡萄与葡萄酒组织

Organisation Internationale de la Vigne et du vin (OIV)

国家质检总局原产地域产品保护办公室

National Protection Office for Geographic Products of China

中国食品工业协会

China National Food Industry Association (CNFIA)

中国酿酒工业协会

China Alcoholic Drinks Industry Association (CADIA)

国家杨凌农业高新技术产业示范区管委会

Yangling Agricultural High-tech Industries Demonstration Zone

西北农林科技大学

Northwest A & F University



承办 Organized by

西北农林科技大学葡萄酒学院

College of Enology, Northwest A & F University

OIV 亚洲葡萄与葡萄酒科技发展中心

Science and Technology Development Center of Wine and Viticulture in Asia , OIV

第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会

组织委员会名单

(中国杨凌 , 2005 , 4 , 20-23)

The Organization Board of the Fourth International Symposium on Viticulture and Enology

(Yangling China, April 20-23,2005)

名 誉 主 席

M. Federic Castellucci
国际葡萄与葡萄酒组织 (OIV) 主席

Board Honorary Chairman

Mr. M. Federic Castellucci
General Director of OIV

主 席

孙武学 西北农林科技大学校长

Chairman

Mr. Sun Wuxue President of Northwest A&F University (NWAUFU)

委 员

Michel Bourqui OIV 秘书长
刘平均 国家原产地域产品保护办公室主任

Members

Mr. Michel Bourqui Secretary-general Administrator of OIV
Mr. Liu Pingjun Director of China National Protection Office for Geographic Products

王延才 中国酿酒工业协会理事长

Mr. Wang Yancai Director of China Alcoholic Drinks Industry Association (CADIA)

杨 强 中国食品工业协会葡萄酒专家委员会秘书长

Mr. Yang Qiang Secretary-general of Committee of Wine Experts of China National Food Industry Association (CNFIA)

王恭堂 中国酿酒工业协会葡萄酒分会秘书长

Mr. Wang Gongtang Secretary-general of Wine Branch of China Alcoholic Drinks Industry Association (CADIA)

张光强 杨凌示范区党工委书记、西北农林科技大学党委书记

Mr. Zhang Guangqiang SEC of Administrative Committee of Yangling Agricultural High-tech Industries Demonstration Zone, SEC of Administrative Committee of NWAUFU

李 华 西北农林科技大学副校长、葡萄酒学院院长

Mr. Li Hua Vice President of NWAUFU, Dean of College of Enology

王跃进 西北农林科技大学副校长

Mr. Wang Yuejin Vice President of NWAUFU

沈忠勋 西北农林科技大学葡萄酒学院常务副院长

Mr. Shen Zhongxun Executive Vice Dean of College of Enology, NWAUFU

孙利强 烟台张裕葡萄酿酒股份有限公司董事长

Mr. Sun Liqiang Chairman of Yantai Changyu Pioneer Wine Company Ltd.

曲 喆 中粮酒业总经理

Mr. Qu Zhe General Manager of COFCO International (Beijing), Ltd., Wines & Spirits Division

高孝德 中法合营王朝葡萄酿酒有限公司总经理

Mr. Gao Xiaode General Manager of Sino-French Joint-Venture Dynasty Winery Ltd.

王珍海 烟台威龙葡萄酒股份有限公司董事长

Mr. Wang Zhenhai Chairman of Yantai Weilong Grape Wine Co., Ltd.

陈泽义 中国食品工业协会专家

Mr. Chen Zeyi Expert of China National Food Industry Association (CNFIA)

张秀全 北京顺兴葡萄酒公司总经理

Mr. Zhang Xiuquan General Manager of Beijing Shunxing Winery Co., Ltd.

秘 书 长

李 华 西北农林科技大学副校长、葡萄酒学院院长

Secretary-general

Mr. Li Hua Vice President of NWAUFU, Dean of College of Enology

欢 迎 词

尊敬的各位专家、各位代表、女士们、先生们、朋友们：

值此第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会隆重开幕之际，我谨代表西北农林科技大学向研讨会的召开表示热烈的祝贺！向来自国内外的各位专家、各位代表和企业界、新闻界的朋友们表示热烈的欢迎和诚挚的感谢！

近些年来，随着社会经济的进步、人们生活水平的提高和消费观念的改变，人们对葡萄酒的需求不断增加。我国葡萄酒生产从原料到品质都有了长足发展和提高，市场份额逐年增长。有关资料显示，2004年全国葡萄酒总产量达到了36.73万吨，同比增长14.7%，实现销售收入74.34亿元，同比增长17.06%。葡萄与葡萄酒产业呈现出良好的发展前景和巨大的市场潜力。但我国葡萄酒行业的生产标准、技术法规还不完善，产业化程度还不高，市场竞争力还不强，从原料生产到市场营销各个环节，还有一系列科学问题、技术问题以及发展战略问题需要研究探讨。在这样的背景下，由国际葡萄与葡萄酒组织、国家原产地域产品保护办公室、中国食品工业协会、中国酿酒工业协会、杨凌农业高新技术产业示范区管委会、西北农林科技大学主办，我校葡萄酒学院承办的第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会今天在杨凌召开。这是葡萄与葡萄酒行业的一次盛会，也是一次很有意义的学术活动，对推动我国葡萄与葡萄酒产业的可持续发展，增强我国葡萄酒业发展的竞争力，必将产生积极作用和深远影响。

我校是教育部直属全国重点大学，具有悠久的办学历史和雄厚的科教实力。2004年学校进入国家“985工程”二期建设高校序列，成为全国38所“985工程”二期建设高校之一。葡萄酒学院是我校16个院、系中最具特色的行业性学院，1994年4月经国家农业部特批成立，是亚洲第一所葡萄酒学院。有关组织还依托葡萄酒学院先后设立了国家级评酒员培训基地、陕西省葡萄与葡萄酒工程技术中心、OIV亚洲葡萄与葡萄酒科技发展中心、全国葡萄酒、果露酒技师职业技能葡萄与葡萄酒站等机构。在十余年的发展过程中，葡萄酒学院按照国际葡萄与葡萄酒组织（OIV）制定的葡萄酒工艺师培训标准，结合中国葡萄酒行业的实际，制定教学大纲，形成了葡萄学、葡萄酒学、葡萄酒工程学和葡萄酒市场学4大主干课程体系，为我国葡萄酒行业培养了一批批大学生和博士、硕士研究生，取得了一批重要成果，走出了一条产学研紧密结合的特色办学之路。

这次研讨会在西北农林科技大学举行，既为我们提供了一次学习和交流的难得机遇，也为各位专家、学者认识和了解西北农林科技大学提供了一个好机会。我们真诚地希望国内外专家和企业进一步加强与我校的学术交流和科技合作。我深信，以这次会议为契机，一定会为我们的真诚合作谱写新的篇章。

最后祝研讨会取得圆满成功！

祝各位代表和来宾生活愉快，身体健康！

谢谢！

西北农林科技大学校长 孙武学

2005年4月20日

Welcomes

Honorable experts, representatives, dear friends, ladies and gentlemen,

First of all, on behalf of Northwest A&F University, I'd like to extend our warmest congratulations on the holding of the Fourth International Symposium on Viticulture and Enology, and our sincere welcome and appreciation to all the experts, representatives and friends in business and press circles from home and abroad .

With the advancing of the social economy, people's living standard and consumption concept, people's demand for wine has been rising over the past years. At the same time, China has made great strides in wine production, from raw materials to the quality of wine, and the market share has been increasing year by year. Statistically, the total wine output in 2004 reached 367, 000 tons, increased by 14.7% over the previous year; and the sales income totalled 7.434 billion yuan, with a growth rate of 17.06%. Grape and wine industry has taken on great foreground and market potential. However, further efforts should be taken to improve aspects concerning technical standard and regulations, and market exploration. There are many questions about science, technology and development strategies to be researched and discussed. Under this background, the Fourth International symposium on Viticulture and Enology is being held in Yangling today. This symposium is co-sponsored by Organisation Internationale de la Vigne et du Vine (OIV), China National Protection Office for Geographic Products, China National Food Industry Association (CNFIA), China Alcoholic Drinks Industry Association (CADIA), Committee of Yangling Agricultural High-tech Industries Demonstration Zone and Northwest A & F University, and organized by the College of Enology in our university. It is a grand conference as well as a significant academic activity in grape and wine industry. It will have positive and profound effect on the sustainable development and the increasing competitiveness of China's grape and wine industry.

Northwest A&F University, a key university directly under the Ministry of Education, has a long history and solid teaching and research power. It was approved as one of the 38 universities at the second phase of the "985" project in 2004. Collge of Enology, approved by the Ministry of Agriculture in April, 1994, is the most charateristic trade college among the 16 colleges and departments in our university, and it is the first of this kind in Asia. On the basis of this college, many other institutions has been established, including the National Wine Taster Training Center, Shaanxi Grape and Wine Engineering and Technical center, OIV Asian Grape and Wine Sci-tech Development Center, National Grape Wine and Fruit Wine Techician Training Station etc.. In the course of development over the past decade, the College of Enology, following the training standard of wine technician constituted by OIV and taking into account the practical condition of China's wine industry, has come up with practical teaching program, and established four core curriculum systems of viticulture, enology, wine engineering and wine marketing. A large number of students have finished their studies from the college and be given bachelor's, master's or doctor's degree. The college has made a series of important achievement in research, and a characteristic education integrating teaching, research and production has come into being.

The symposium offers a precious opportunity for us to learn from and exchange with all the experts and scholars who can learn about our university as well. We sincerely hope experts and business circles from home and abroad further strengthen the academic and technical exchange and cooperation with our university. I firmly believe, taking advantage of this chance, we will compose a new chapter for our cooperation.

Lastly, I wish the syposium a consummation and all the representatives a happy life and good health. Thank you.

President of Northwest A&F University

Mr. Sun Wuxue

April 20, 2005

前 言

在全球一体化及葡萄酒市场竞争日益激烈的形势下，我们必须以科学发展观为指导，在保护环境的前提下，以人为本，日益完善我国的葡萄与葡萄酒产业，走持续生产的道路，才能提高我国葡萄与葡萄酒产业的核心竞争力。因此，生产优质葡萄、保证葡萄与葡萄酒生产者合理的收益、保护葡萄产地、尊重人和环境就成为葡萄与葡萄酒产业的全部任务，即葡萄可持续生产的目标就是：优质、稳产、长寿、美观。在葡萄持续生产的模式中，通过根据葡萄所要求的生态条件进行科学的产业布局、合理控制产量等手段，保证葡萄的质量，是葡萄与葡萄酒产业持续生产的基础；只有保持葡萄的稳产，才能保证以葡萄酒为代表的葡萄产品的质量及其稳定性，延长葡萄植株的经济寿命，保护葡萄园的景观，长期保证葡萄与葡萄酒产业的最佳经济效益；只有通过限制产量、合理施肥、科学植保等措施延长葡萄植株的寿命，才能在提高土地利用率、保证葡萄与葡萄酒产业的长期效益的同时，不断提高产品质量，生产出能够诠释产地特质、风格独特、不能模仿的优质产品，提高土地的价值；只有保持葡萄园美丽的景观，才能使葡萄与葡萄酒产业不仅在经济上充满活力，并保持其多功能性，特别是在社会、文化和娱乐等方面的功能，促进产地的繁荣和国土资源的合理利用，实现土地增值和农民增收。

正因为如此，今年4月在杨凌召开，由国际葡萄与葡萄酒组织（OIV）、中国原产地域产品保护办公室、中国食品工业协会、中国酿酒工业协会、中国杨凌农业高新技术产业示范区管委会和西北农林科技大学主办的第四届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会的主题是：在全球一体化和国际葡萄酒市场竞争日益激烈背景下的可持续发展和市场营销。为了便于学术交流，大会学术委员会从收到的百余篇会议论文中筛选出四十余篇编辑成册，由陕西人民出版社出版，以期能推动葡萄与葡萄酒产业持续生产的研究和发展。

值此论文集出版之际，特向本次大会的组织者、赞助单位和与会代表表示衷心的感谢！向为本次会议付出辛勤劳动的葡萄酒学院全体员工及陕西人民出版社表示诚挚的谢意！

大会秘书长、西北农林科技大学副校长、葡萄酒学院院长
OIV 亚洲葡萄与葡萄酒科技发展中心主任 李 华

2005年3月18日

Preface

Facing to the globalization and intensive worldwide competition of wine market, opinions of scientific development, environmental protection and respect of human beings should be advocated to perfect the industries of grapes and wine to realize sustainable development and to improve the competition ability of grapes and wine of China. Therefore, the whole tasks of grapes and wine are producing superior grapes, ensuring rational benefits of grapes and wine producers, protecting grape origin and respecting human beings and environment. The aim of sustainable viticulture should be grapes and wine with high quality, stable yield, longevity and beauty of the vineyards.

The quality of grapes and wine is of foundational importance in the system of sustainable viticulture. So the layout of wine industry should be planned according to the ecological requested by vine and the yield should be controlled reasonably. Only by keeping the stability of the yield could be guaranteed the quality of product and its stability, the economical lifespan of vineyard extended, the beauty of vineyard protected and the economical benefit of the industry assured of long-term. Only by keeping the longevity of vineyard by limitation of yield, reasonable fertilization and integrated protection, etc. could be raise continuously the product quality at the time of raising the land value, and the wine with characteristics of terroir obtained. Only by keeping the beauty of vineyard, could keep not only its economical vitality, but also its multi-function, especially its social, cultural and recreational function, promote the prosperity of local region and the reasonable exploitation of the national territory resources, increase the land value and farmer's benefit.

So the sustainable viticulture and the marketing of wine under the background of globalization and intense worldwide competition were taken as the topic of the 4th International Symposium on Viticulture and Enology in Yangling this year, sponsored by Organization International de la Vigne et du Vin (OIV), Protection Office for Geographic Produces of State Quality and Technology Supervisory Administration (POGP, SQTSA), China Food Association (CFA), China Brewing Association (CBA), Yangling Demonstration Zone of Agriculture High-tech Industry (YLD AHTI) and Northwest A&F University, organized by College of Enology of Northwest A&F University and Sci-Tech Development Center of Viticulture and Wine in Asia OIV. The Academic Committee of the Symposium selected more than 40 from nearly 100 papers for the Proceeding published by Shaanxi People's Publishing House. I hope these Proceedings would promote the research in the sustainable viticulture and the development of wine industry.

I am extremely grateful to all of the participants, the organizers and auspices units who have contributed so much to the Symposium. Acknowledgements are also given to my colleagues of College Enology and Shaanxi People's Publishing House for their cordial hospitality and generosity.

Secretary-general of ISVW

Dean of College of Enology , Vice-President of NWAFU

Director of Sci-Tech Development Centre of Viticulture And Wine in Asia, OIV

Dr. Li Hua

Mach 8th , 2005

优质、稳产、长寿、美观

——论葡萄持续生产的模式

李 华 房玉林

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西葡萄与葡萄酒工程技术中心, 陕西杨凌, 712100)

提 要 葡萄是我国重要的果树之一, 其生产模式和指导思想一直存在一些偏差。本文从系统的角度, 以科学发展观为指导, 论述了目前我国葡萄生产模式和技术系统中存在的问题, 影响葡萄生产水平提高的限制性因素以及与发达国家相关技术领域的差距, 认为只有从生产观念的变革出发, 遵循“优质、稳产、长寿、美观”的原则, 实施科学合理的栽培系统, 促进生产与环境的和谐统一, 才能达到持续发展、美观高效的生产目标。

关键词: 葡萄持续生产, 优质, 稳产, 长寿, 美观

葡萄是我国重要的果树, 改革开放和农村产业结构的调整促进了葡萄与葡萄酒产业的发展, 特别近十年葡萄栽培面积和产量一直呈上升趋势。据农业部资料统计, 2002年全国葡萄栽培面积392.4千公顷(588.6万亩), 居世界第六位, 产量448万吨, 据世界第五位, 中国葡萄与葡萄酒产业在世界已占有一席之地。但长期以来, 我国的葡萄产业的发展却与持续生产的原则相悖。一是产业布局不合理, 葡萄与葡萄酒产业的布局没有严格根据葡萄的生态要求来进行, 大量葡萄园布局在非适宜的区域, 品种单一, 产品趋同性严重, 不仅产品质量低, 生产成本低, 而且导致生态资源的严重浪费和生态环境的恶化。二是传统的化学农业生产方式占主导地位, 竭尽地力, 大量使用化学农药和肥料, 使土地资源的可持续利用率下降。三是割裂了“葡萄——葡萄酒——市场”的产业链条, 使葡萄原料生产者和葡萄酒加工者之间形成较大的利益冲突。前者在利润的驱使下, 盲目追求产量, 导致原料质量难以保证。后者出于对自身利益的维护, 严格控制原料价格, 使得种植者的利益难以保障。四是栽培技术落后, 生产中重栽轻管、重视前期管理、忽视采后管理, 植保措施不系统、不科学等现象在各大葡萄产区普遍存在, 导致植株寿命和经济寿命大大减少^[1,2,3]。

葡萄栽培的目的和任务是根据不同的生态类型, 确定适当的品种以及相适应的栽植技术, 做到适地适种、科学管理, 在保证生态资源永续利用和葡萄植株寿命的前提下, 追求葡萄产品在质量和产量上的最大效益^[4]。目前, 在世界葡萄酒竞争日益激烈的条件下, 对葡萄园质量的鉴定不再只是根据葡萄酒的质量来进行。葡萄酒的质量形象还需要其他的因素: 产地美丽的风景, 葡萄园及葡萄酒厂与周围环境的协调, 产品的自然特色, 对环境的贡献等等^[5]。这就需要我们以科学发展观为指导, 在考虑保护环境的前提下, 以人为本, 日益完善我国的葡萄与葡萄酒产业, 走持续生产的道路。葡萄持续生产的概念必须满足生产高质量的葡萄和葡萄酒、尊重人和环境、保证葡萄与葡萄酒长期的经济效益等三方面的要求, 也就是利用自然调节机制和资源, 取代任何不利于环境的手段, 长期保证高质量葡萄的可持续生产系统。该系统应能达到

以下目的：

——推广亲环境的栽培技术体系，使葡萄栽培业不仅在经济上充满活力，并保持其多功能性，特别是在社会、文化和娱乐等方面的功能；

——优质葡萄的持续生产，尽量降低残留物含量；

——保护生产者的健康；

——保持葡萄生态系统及其周边的生物多样性；

——优先使用自然调节机制；

——保持并改善土壤质量；

——尽量降低对水、土壤和空气的污染。

这样，就可以将葡萄持续生产的目标定义为：优质、稳产、长寿和美观。

1 以人为本实施持续生产是提高葡萄与葡萄酒产业国际竞争力的根本途径

经过长期发展和调整，我国葡萄与葡萄酒产业的主要区域已逐渐向生态条件更加适宜的干旱和半干旱地区转移。这些地区的生态条件相对比较脆弱，过度的不科学的开发利用极易破坏环境。由于大量使用化学农药和肥料，采取竭尽地力增加效益的方式，化学农业在给生产者带来短期效益的同时，也带来了许多深层次的问题：如种植区土壤贫瘠化、荒漠化加剧，有害虫类及微生物的抗药性产生以及有益生物的消失等。

人口众多，土地资源有限是我国的国情。因此，只有根据各地的生态条件，对农业产业进行科学的布局，进行可持续生产，即实现良种的区域化，适地适种，适地适养，并采用与之相适应的养殖或种植技术及加工工艺，生产出具有区域特征和风格的产品，形成“市场——产品——原料”的良性循环，延长农业的产业链，实现农业产业的多功能化，才能真正提高我国农业产品在国际市场上的竞争能力，在尊重人和自然的前提下，作到土地资源的永续利用^[6]。

老子的天人合一的思想，对我国传统农业产生了深刻的影响。因此，我国的传统农业尤其强调天、地、人的和谐统一，同时也是农业生产所追求的总目标，它强调客观规律和主观能动性的和谐与统一。贾思勰在《齐民要术》中总结了之前的农业科学技术，并认为实现最佳农作效益的总原则是：“顺天时，量地力，则用力少而成功多。任情返道，劳而无获”^[7,8]。该思想表现在葡萄生产上，就是突出葡萄与生态、人与自然的和谐统一。

葡萄酒（包括其他葡萄产品）的质量决定于葡萄原料，而葡萄则是自然与人类智慧的结晶。人与自然的和谐统一体现在对生态环境条件加以利用的同时，应该采取相应的保护措施，确保生态资源的永续利用。

“对环境贪婪的攫取，只能得到大自然的报复”（恩格斯语）。

葡萄酒必须具有优良的质量和独特的风格，而且其质量和风格必须持续稳定，能被辨认。葡萄酒应是自然产品，避免所有的污染物。因此，葡萄酒的质量主要决定于葡萄产区的生态条件。优质葡萄酒必须是特定时间和空间的反映。这就需要我们推广亲环境的栽培技术体系，使葡萄栽培业不仅在经济上充满活力，并保持其多功能性，特别是在社会、文化和娱乐等方面的功能，在满足消费者对食品安全的要求的基础上，使葡萄生产的自然环境成为全人类的共同财产。惟此，才能真正提高我国葡萄与葡萄酒产业的国际竞争能力。

2 葡萄的质量是葡萄与葡萄酒产业持续生产的基础

葡萄酒是葡萄的最主要的产品。而葡萄酒的一切质量因素都存在于葡萄当中，葡萄酒的加工工艺只能

表现质量，而不能创造质量，只有用高质量的葡萄才能生产出优质葡萄酒，正所谓“葡萄酒的质量是种出来”的。葡萄酒是自然产品，它的质量和风格首先决定于产区的土壤、气候、品种等自然条件，其次才决定于与自然条件相适应的栽培、采收、酿造等人为因素^[4,9]。

因此，葡萄的生产水平和栽培模式以及生产方向就决定了葡萄酒的质量、风格以及多样性。质量，是葡萄酒市场竞争力的决定性因素，而没有葡萄的质量，就不可能获得葡萄酒的质量，葡萄与葡萄酒产业就不可能持续发展。而在葡萄种植区域相对适宜的条件下，葡萄酒的潜在质量就掌握在葡萄种植者的手中。目前我国葡萄原料质量较差，除产业布局不合理等因素外，主要是生产者追求高产，加之栽培技术落后，如整形修剪不合理、施肥比例失调、提前采收、采收前灌水等人为因素造成的^[4,10~12]。所以，通过根据葡萄所要求的生态条件进行科学的产业布局、合理控制产量等手段，保证葡萄的质量，是我国葡萄与葡萄酒产业持续生产的基础。

3 葡萄的稳产是葡萄与葡萄酒产业持续生产的保障

葡萄质量和产量之间存在密切的相关性，在一定范围内，葡萄的质量随着产量的增加而提高，但当产量超过一定的量后，葡萄的质量则随着产量的增加而下降^[9]。目前我国的一些产区葡萄的亩产可达 5000 公斤，质量很差；一些种植者在葡萄采收前进行漫灌，使产量在短期内提高 15% 以上，导致浆果质量迅速下降。

葡萄的高产通常都是在损害地力和葡萄植株的前提下获得的，在降低葡萄的质量、使产品缺乏市场竞争力的同时，不仅大大破坏土壤的肥力，加速植株的衰老，减少植株的寿命，影响葡萄园的景观，而且由于在高产的当年植株养分消耗量过大，导致来年的低产，即所谓的“大小年”，最终降低葡萄与葡萄酒产业的效益。

在保证葡萄质量的前提下，稳定产量是稳定质量的有效措施。在经过科学实践确定出合理的产量指标的基础上，通过合理的留芽量、配方施肥、及时科学的植保措施及生长季修剪，使葡萄产量年年稳定在一定的范围，就能有效地稳定葡萄的质量。

因此，只有保持葡萄的稳产，才能保证以葡萄酒为代表的葡萄产品的质量及其稳定性，延长葡萄植株的经济寿命，保护葡萄园的景观，长期保证葡萄与葡萄酒产业的最佳经济效益。

4 葡萄的长寿是葡萄与葡萄酒产业提高产地土地价值的有效方式

葡萄植株寿命的长短决定于三方面的因素：一是遗传因素，如不同种类、品种之间有差异；二是自然条件，包含种植地的气候类型、土壤理化特性、地下水位高低及水质等；三是人为因素，主要是管理观念、管理水平、栽培方式及栽培技术等。

在科学的栽培水平下，葡萄的结果期可达 50~60 年或更长^[4]。通常葡萄在栽种后的第 3 年开始进入结果期。在进入结果期以后，随着树龄的增加，葡萄根系逐渐发达、分别向纵深和水平方向延伸，为葡萄带来丰富的矿物质，逐渐表现出葡萄品种的各种特性，使葡萄酒便展现出该品种特有口感与芳香；同时，由于根系吸收能力强，栽培地区土壤的风格便通过葡萄果实传递到葡萄酒中，使葡萄酒具有了典型的地域特征^[3,4]。总之，随着葡萄树龄的增加，葡萄酒的质量则不断提高，更为完全地表现出产地独特的风格^[13]，提高葡萄酒的价值，从而达到提高产地土地的目的。

目前在我国的多数产区，葡萄的经济寿命大为缩短，约为 10~20 年。重栽轻管、重视前期管理，忽视采后管理；不科学、不系统的植保措施以及对产量的盲目追求，导致植株寿命和经济寿命大为缩短，造成

土地资源的浪费。生产者的技术水平普遍较低，植保防范意识较差，往往造成葡萄的早期落叶。植株自身的贮藏营养减少，对植株越冬和下一个生产季节的形态建成造成严重影响。其结果是，10年以上的葡萄植株呈现出严重的衰老状态，表现为结果部位外移、更新部位减少、产量下降、质量低劣等。

因此，在葡萄栽培技术系统中，只有通过限制产量、合理施肥、科学植保等措施延长葡萄植株的寿命，才能在提高土地利用率、保证葡萄与葡萄酒产业的长期效益的同时，不断提高产品质量，生产出能够诠释产地特质、风格独特、不能模仿的优质产品，提高土地的价值。

5 葡萄园的美观是葡萄与葡萄酒产业多功能化的表现形式

葡萄和葡萄酒的历史，与人类的文明史几乎是同步成长的。多少世纪以来的传统、礼仪、神话和文字记载，都赋予葡萄与葡萄酒特殊的作用。在我国，最早对葡萄的文字记载见于《诗经》。到唐朝盛期，我国的葡萄与葡萄酒生产不仅有较大的规模，而且著名诗人如王翰、白居易、李白等都有咏葡萄和葡萄酒的脍炙人口的诗篇。直到今天，葡萄酒更是我们生活中蕴含深刻文化内涵的饮品，不管是日常消费，还是节假日的亲朋欢聚，葡萄酒都会为我们的生活带来情趣。所以，从葡萄原料生产到葡萄酒加工的整个过程都充满了文化气息，在弥漫着葡萄浆果清香的葡萄园中漫步，在产地浓厚的人文氛围中，品味独具风格的优质葡萄酒，不仅使我们身心愉悦，还可让我们分享葡萄与葡萄酒生产者的知识和欢乐^[14]。

葡萄与葡萄酒的历史文化内涵，使葡萄园美丽的景观本身就具有强烈的震撼力和感召力。保证葡萄园美丽的景观，使之与周围环境和景观的和谐统一，可以开发新兴旅游资源，实施生态旅游和生态旅游以及葡萄酒文化旅游，在繁荣产地的同时，传播葡萄酒文化，培养新的消费者阶层，实现葡萄与葡萄酒产业的社会、文化、娱乐等方面的功能。

葡萄园美丽的景观及其与周围的环境相协调一致，与周围的风光相统一，使之既美丽，又独具风格，不仅是产地葡萄酒质量和风格的象征，同时也是当地葡萄与葡萄酒产业对社会、生态环境负责的标志。所以，对葡萄种植园景区的保护和管理，或相反，对它的破坏，都会对产地的形象及其葡萄酒的形象产生重要的影响，从而影响当地葡萄酒的商业推广和旅游业^[5]。

因此，只有保持葡萄园美丽的景观，才能使葡萄与葡萄酒产业不仅在经济上充满活力，并保持其多功能性，特别是在社会、文化和娱乐等方面的功能，促进产地的繁荣和国土资源的合理利用，实现土地增值和农民增收。

6 结语

近年来，虽然我国葡萄与葡萄酒产业得到了很快的发展，但在生产模式和指导思想上一存在着一些偏差。在全球一体化及葡萄酒的市场竞争日益激烈的形势下，我们必须以科学发展观为指导，在考虑保护环境的前提下，以人为本，日益完善我国的葡萄与葡萄酒产业，走持续生产的道路，才能提高我国葡萄与葡萄酒产业的核心竞争力。因此，生产优质葡萄、保证葡萄与葡萄酒生产者合理的收益、保护葡萄产地、尊重人和环境就成为葡萄与葡萄酒产业的全部任务，即葡萄可持续生产的目标就是：优质、稳产、长寿、美观。在葡萄持续生产的模式中，通过根据葡萄所要求的生态条件进行科学的产业布局、合理控制产量等手段，保证葡萄的质量，是葡萄与葡萄酒产业持续生产的基础；只有保持葡萄的稳产，才能保证以葡萄酒为代表的葡萄产品的质量及其稳定性，延长葡萄植株的经济寿命，保护葡萄园的景观，长期保证葡萄与葡萄酒产业的最佳经济效益；只有通过限制产量、合理施肥、科学植保等措施延长葡萄植株的寿命，才能在提高土地利用率、保证葡萄与葡萄酒产业的长期效益的同时，不断提高产品质量，生产出能够诠释产地特

质、风格独特、不能模仿的优质产品，提高土地的价值；只有保持葡萄园美丽的景观，才能使葡萄与葡萄酒产业不仅在经济上充满活力，并保持其多功能性，特别是在社会、文化和娱乐等方面的功能，促进产地的繁荣和国土资源的合理利用，实现土地增值和农民增收。

参 考 文 献

1. 李华. 葡萄酒酿造及质量控制. 陕西杨陵: 天则出版社, 1990
2. 王华, 李华. 高产优质高效农业与产品的地理标志及其保护, 我国高产优质高效农业问题研究, 北京: 中国农业科技出版社, 1993, 164~167
3. 房玉林. 西南干热河谷地区酿酒葡萄栽培方式及休眠规律的研究. 西北农林科技大学博士论文, 2003
4. 李华. 葡萄集约化栽培手册. 西安: 西安地图出版社. 2001
5. 李华. 葡萄和葡萄酒行业与环境保护. 安全与环境学报, 2002, 2(2): 31~32
6. 李华. 地理标志与西部开发. 西北农业科技大学学报(综合版), 2000, 4(6): 37~40
7. 石庆凯. 发展生态农业 保护生态环境. 河南科技, 2001(1): 8~10
8. 编辑部. 我国生态农业的十大模式和技术. 农业环境与发展, 2003(2): 12~16
9. 李华. 现代葡萄酒工艺学(第二版). 西安: 陕西人民出版社. 2001
10. 尹克林, 诸葛宏庆. 酿酒葡萄丰产性和生态适应性研究. 西南农业大学学报, 1997, 19(5): 45~49
11. 贺普超. 提高我国葡萄产量和品质的主要途径与方法. 果树科学, 1995(4): 5~8
12. 罗国光. 葡萄的定向栽培技术. 北京农业. 2001(10): 24~25
13. 李华. 葡萄与葡萄酒研究进展——葡萄酒学院年报(2000), 西安: 陕西人民出版社, 2000
14. 李华. 葡萄酒品尝学(第二版). 北京: 中国青年出版社. 1996

Quality, Stability, Longevity and Beauty

——Study on the mode of sustainable viticulture

Li Hua and Fang Yulin

(College of Enology, Northwest A&F University, Shaanxi, Yangling, 712100 China)

Abstract Under the background of the globalization and furious worldwide concurrence, the wine industry of China must be more and more perfect, considering the protection of environment and the people. Therefore, the most important thing is to promote the mode of durable viticulture, with the objectives of assurance high quality of grapes, stable yield, longevity and beauty of the vineyards.

Key words sustainable viticulture, quality, stability, longevity, beauty

山地地形对气候、土壤及果树生长发育的影响

侍朋宝 张振文*

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 从山地地形对山区气象因子: 温度、日照、降水和空气湿度及土壤理化性质的影响以及山地果园的地形与土壤对果树生长发育的影响进行了综述。为深入了解山区气候特点及其对果树生长发育的影响, 充分利用山区小气候资源奠定基础。

关键词 山地; 气象因子; 土壤; 果树; 生长发育

我国 60% 的果园建于丘陵山地, 在同座山地不同海拔高度上栽培的果树, 由于生态因子不同, 其生长状况有明显差异, 其中最主要的如光照、温度、水分、土壤等, 是影响果树生长发育的直接因子。此外还有许多间接因素如海拔、坡度、坡向、风、地形等, 它们不直接影响果树生存但能显著地影响小气候, 与果树生长发育密切相关。杨宗英等^[1] (1997 年) 研究提出: 海拔高度、坡度、土层厚度、土壤水分状况及热量状况是影响山区小气候分异的关键因子。因此研究山地小生态及其对果树生长发育的影响, 对于合理开发利用山区气候资源、制定适宜的栽培管理措施、提高栽培管理水平、经济而有效的发展果树生产, 具有重要的意义。

1 山地地形对气象因子的影响

1.1 温度

在山区, 气温直减率随海拔高度变化主要由两个因素决定, 其一是由于测点海拔高度增加, 受自由大气压作用加强, 使得山区气温直减率更接近于自由大气温度的直减率; 其二是地形起伏和遮蔽的影响, 一般总是随高度减弱的。因此, 反映在山区气温直减率随高度的变化上, 一般是增大的。而对于不同山区, 变化情况各有差异。

东西坡相比, 在哀牢山最冷月东坡 (12 月) 比西坡 (1 月) 早。月际增温量一般是西坡大于东坡, 而月际降温量则因东坡为冷空气迎风坡而大于西坡, 两者均随海拔上升而略有减小。同一海拔处的气温一般是东坡高于西坡^[2]。南北坡相比, 一般南坡气温随高度变化比北坡快。在天山和滇东北山地都表现出南坡的气温递减率大于北坡^[3, 4]。另外, 在雨季南坡的日均温递减率也大于北坡^[5]。温度不仅与坡向有关还与时间有关, 在滇东北中低山地和祁连山北坡气温递减率均表现为冬季偏大夏季偏小^[4, 6]。

1.2 日照

在山区由于地形复杂, 海拔差异悬殊, 加上坡向、坡度等影响, 使得山区日照时数分布情况十分复杂。东西坡日照时数不仅受海拔的影响还受降雨的影响。据王宇^[7] (1993 年) 对云南山区日照时数的垂直分布

* 通讯作者: 张振文, 男, 教授。

研究可知,高黎贡山在海拔较低处(1400m)东西坡全年日照时数接近,但各月日照时数差异较大,东坡干季各月(11月~4月)均多于西坡,雨季各月(5月~10月)则少于西坡。白马雪山在海拔较低处(2000m~2100m)除6月外,其余各月东坡均多于西坡。在海拔较高处(2300m以上)西坡多于东坡。哀牢山海拔较低处(1000m~1100m),10月~翌年4月各月日照时数西坡多于东坡,5月~9月各月日照时数则相反,全年日照时数西坡多于东坡。中海拔处(1600m~1700m),东坡在6,7,9各月略高于西坡,其余各月低于西坡,全年东坡多于西坡。另外哀牢山坡面平均日照百分率的直减率有以下特点:(1)雨季大于干季;(2)迎风雨坡大于背风干坡;(3)因地形云雨影响,东坡与西坡直减率是上大下小;(4)东西坡谷地均有日照递增趋势^[8]。

1.3 降水

在山区,海拔高度和地形是影响降水分布的决定性因素。

据张克映等^[9](1994年)的研究,在哀牢山,无论迎风西坡或背风东坡的降水量均随海拔高度呈良好的线性分布,山顶为最大降水高度所在。坡地降水梯度(mm/hm)西坡略大于东坡,雨季又远大于干季。孙安健^[10](1989年)对美国山地降水量垂直分布研究得出:美国山地降水量的垂直分布是有多种形式的,它并不总是简单的随高度而增加,而是和坡地的地理位置、坡向以及季节有着密切的关系;降水量随高度的递增(减)率不是均一的,通常在西风气流的迎风坡面,降水量随高度的增加在低坡处最快,递增(减)率在雨季远大于干季;在西风气流的背风坡,低坡处降水量几乎不随高度而变化,最大降水量递增率常出现在坡地上部;最大降水量高度仅在海拔高于1500m的迎风坡地上观测到,其高度在雨季较低,在干季较高或者不存在。通过以上可知:山地降水量随海拔高的变化一般在雨季大于干季。

1.4 空气湿度

山地的空气湿度是一个重要的气候要素,它的变化与天气的变化有密切关系。如大气中的水汽是形成云雾、降水现象的重要因素,而且大气中水汽的水相转换是重要的能量传递方式。因而,空气湿度的变化往往是天气变化的前奏,其结果还直接影响农作物的生长。

据刘玉洪等^[11](1996年)的研究,在哀牢山(西南季风山地),水汽压是西坡高于东坡,并且严格随海拔高度升高而递减;相对湿度也同样是西坡大于东坡,只是在雨季期间,随海拔高度升高而递增,干季则另具特征:东坡是随海拔升高而递减,西坡则与海拔高度无关。无论是水汽压还是相对湿度基本随海拔高度呈线性分布,水汽压在各季节与海拔高度相关性较好;而相对湿度只是在雨季与海拔高度有线性相关,在干季则与海拔高度相关性差。

2 山地地形对土壤理化性质的影响

山地果园由于海拔、坡度、坡向的不同,土壤的理化性质亦有很大差异。刘玉洪^[12,13](1992年,1993年)对哀牢山山地土壤温度的垂直分布特征进行研究得出:哀牢山山地积温资源丰富,在整个山地垂直剖面上全年均能通过0℃的界限温度。地表温度垂直分布是随着海拔升高而降低,但降温的递减率不均匀,是上大下小。冬季(1月)地表温度在山地的垂直分布是东坡小于西坡,夏季(7月)则相反。不同层次的地温均随海拔升高而降低,递减率是上大下小。地温随土层深度的垂直分布,冬季由浅层向深层增温,夏季则相反。在养分方面,四川盆地丘陵区土壤中的速效氮、磷、钾和钙含量从坡顶地至冲沟稻田逐渐降低,而铁和锰含量的变化恰好相反。坡耕地的土壤肥力和生产力从坡顶至坡脚逐渐升高^[14]。在孔隙特征上有研究得出:孔隙面积随着深度的增加而减小;并且随着深度的增加,小孔隙构成升高,大孔隙构成降低;在孔隙结构上坡位低处的土壤比坡位高处的土壤具有相对的稳定性。从以上可以看出山地坡位低处的土壤养分、孔隙特征等优于高处^[15]。

3 山地地形及山地果园的土壤管理措施对果树生长发育的影响

3.1 地形对果树生长发育的影响

地形对山地气候因子有显著的影响,其对果树的生长发育也产生很大的影响。在哀牢山经济林东西坡分布上限为 2000m~2100m,大致以 1600m~1700m 为分界,其上部西坡花期早于东坡两旬左右(在暖带附近),其下部花期东坡又略早于西坡。说明坡地不同高度不同坡向的特殊气候对果树生长发育有显著影响^[16]。陈跃飞^[17](1992 年)进行了海拔高度对山地柑桔生产的影响的研究,结果得出:随果园海拔升高,气温下降,物候期延迟,芦柑的春芽萌发、开花、生理落果、采收等物候期海拔每上升 100m 延迟 3.4~4 天,平均 3.77 天。海拔每上升 100 米芦柑单株产量下降 14%~18%,焦柑产量下降 7%~26%,高海拔比低海拔平均株产都相差一倍,差异极大。柑桔品质随海拔上升而下降。单果重随海拔上升而下降。可溶性固形物、糖的含量随海拔上升而下降,维生素 C 和有机酸含量表现随海拔上升而增加的规律。另外也有研究得出,山葡萄的糖度也随海拔的升高而降低^[18]。Nuno Mateus 等^[19](2001 年)研究发现在山谷坡地,葡萄园高度对葡萄和葡萄酒花色苷含量有显著影响,海拔较高的葡萄园的气候对提高葡萄与葡萄酒中花色苷含量非常有利。Proença 等^[20](2001 年)的研究也显示出海拔高,果皮中花色苷含量高,酿制的葡萄酒花色苷含量也高,而海拔低,果皮和种子中矢车菊苷配质复合物含量高。

3.2 不同的土壤管理措施对果树生长发育的影响

山地不同的土壤管理措施如果园覆盖、间作及生草等都会对土壤理化性质产生影响从而对果树的生长发育及果实品质产生影响。在高寒山地采用覆膜栽培葡萄可显著提高地温,降低土壤水分蒸发,改善土壤理化特性,减少土壤养分流失,从而促进葡萄的营养生长,生殖生长,提高了产量和质量,同时可延长葡萄的生育期,使其能充分成熟、积累较多的营养物质^[21]。采用不同材料对桃树园覆盖也有不同的效果:(1)各处理与对照相比,桃树内膛的总辐照均有所提高,其中以银膜覆盖增幅最大,其增加率约为 24%;(2)覆盖改善了土壤的物理特性,使土壤的温度和孔隙度比对照有所加大;(3)与对照相比,覆盖使果实的产量、品质有所提高,其中以银膜覆盖最为显著;(4)各种覆盖措施,以银膜的气象效应最为显著,以覆草最为经济实用^[22]。山丘旱地采用沟肥埋草栽培技术也显著减少了土壤渗漏损失,土壤含水量、吸水力、有机质、有效养分含量均显著提高,使植株新梢生长量、新梢粗长度、叶面积显著增加^[23]。另外,用三叶草和厩肥处理的葡萄园地块与裸地相比,葡萄产量可增加 12%~20%^[24]。梅立新等^[25](1995 年)根据对旱梯田果园间作对土壤和果树的影响的研究得出:旱梯田幼龄果园间作主要限制因子是水分。间作根系小,耗水量小的洋芋、谷子、糜子等作物的果树生长量与对照相当,经济效益较高。据 Ren é Morlat 和 Alain Jacquet^[26](2003 年)的研究,山地葡萄园在行内长期生草处理使土壤有机质、氮素、可交换性 K_2O 、pH 和土壤的物理及化学特性得以改善,但并没有直接对葡萄根系产生有利影响。

4 结语

复杂的丘陵山区,各地自然条件、气候资源、社会经济基础、生产水平差异很大,不同山区所要求开发利用的农业气候资源问题也不一样。鉴于开发农业和创汇农业的发展,对丘陵山地农业气候的研究提出了更多、更高的要求。今后必须加强探索目前还了解不多的山地气候要素对果树生长发育和生态系统的影响,将山地小生态的研究与果树生长的生理生化特征结合起来,为阐明小气候特征与果树生长的关系、更好的利用山地小生态资源进行区域果园建设。

参 考 文 献

1. 杨宗英, 刘燕, 董建辉等. 凤县平木乡小气候分区研究. 西北林学院学报. 1997, 12(4):57~60
2. 刘玉洪, 张克映, 马友鑫等. 哀牢山气温时空分布特征. 山地研究. 1996, 14(4):230~234
3. 周霞, 陈东景. 天山南坡气候垂直变化特征. 山地研究. 1998, 16(1):47~52
4. 黄中艳. 滇东北山地气候特征. 山地研究. 1994, 12(1):32~38
5. 张一平, 葛在伟, 刘玉洪等. 岷江上游雨季南北坡小气候特征比较. 山地学报. 2002, 20(6):680~686
6. 张虎, 温娅丽, 马力等. 祁连山北坡中部气候特征及垂直气候带的划分. 山地学报, 2001, 19(6):497~502
7. 王宇. 云南山区日照时数的垂直分布. 山地研究. 1993, 11(1):1~8
8. 马友鑫, 张克映, 张一平. 哀牢山北段光资源特征初步分析. 山地研究. 1992, 10(3):161~166
9. 张克映, 张一平, 刘玉洪等. 哀牢山降水垂直分布特征. 地理科学. 1994, 14(2):144~151
10. 孙安健. 美国山地降水量垂直分布的研究. 地理研究. 1989, 8(1):32~39
11. 刘玉洪, 张克映, 马友鑫等. 哀牢山(西南季风山地)空气湿度资源的分布特征. 自然资源学报. 1996, 11(4):347~354
12. 刘玉洪. 哀牢山北段山地的地温气候资源分析. 自然资源学报. 1993, 8(2):158~165
13. 刘玉洪. 哀牢山山地土壤温度的垂直分布特征. 气象. 1992, 18(12):23~26
14. 陈庆瑞, 冯文强, 涂仕华等. 四川盆地丘陵区不同台位旱坡地土壤养分状况研究. 西南农业学报. 2002, 15(1):74~78
15. 李德成, Velde B., Delerue J.F.等. 利用土壤切片及数字图像研究低丘缓坡不同部位土壤的孔隙结构特征. 土壤通报. 2002, 33(1):6~8
16. 刘玉洪, 张克映, 马友鑫等. 哀牢山地农作物物候期和产量随高度与坡向的分布特征. 中国农业气象. 1996, 17(6):5~11
17. 陈跃飞. 海拔高度对山地柑桔生产的影响. 福建果树. 1992, (1):28~30, 11
18. 宋宝军, 金仕富. 不同气候条件对山葡萄果糖度的影响. 特产研究. 2001, (2):26~28
19. Nuno M, Sara M, Ana C. *et al.* Proanthocyanidin Composition of Red *Vitis vinifera* Varieties from the Douro Valley during Ripening: Influence of Cultivation Altitude. *Am. J. Enol. Vitic.* 2001,52(2):115~121
20. Maters N., Proença S., Ribeiro P. *et al.* Grape and Wine Polyphenolic Composition of Red *Vitis vinifera* Varieties Concerning Vineyard Altitude. *Cienc Tecnol Aliment.* 2001,3(2):102~110
21. 孙祚龙, 刘震. 覆膜对高寒山地酿造葡萄生长发育及产量质量的影响. 葡萄栽培与酿酒. 1991, (3):21~25
22. 刘克长, 任中兴, 张继祥. 山地果园树盘覆盖气象效应初步研究. 中国农业气象. 2000, 21(2):22~25
23. 王丽琴, 魏钦平, 高红玉等. 苹果园土壤管理模式研究 山丘旱地沟草养根果园覆盖制度试验. 西北农业学报. 1997, 6(3):70~73
24. Klik A., Rosner J., Loiskandl W.. 地表覆盖对葡萄产量及土壤理化特性的影响. 水土保持科技情报. 1999, (4):25~27
25. 梅立新, 郭春慧, 武占强等. 旱梯田果园间作对土壤和果树的影响. 干旱地区农业研究. 1995, 13(3):15~20
26. Morlat R, Jacquet A. Grapevine Root System and Soil Characteristics in a Vineyard Maintained Long-term with or without Interrow Sward. *Am. J. Enol. Vitic.* 2003,54(1):1~7

Influence of Hilly Terrain on Climate, Soil and Growth of Fruit

Zhang Zhenwen and Shi Pengbao

(College of Enology , Northwest A&F University , Yangling Shaanxi 712100 China)

Abstract This paper reviewed the influence of hilly terrain on weather factors , such as temperature, sunlight, precipitation and air humidity and soil chemical and physical properties, the effect of orchard topography and soil properties on hillside on the growth of fruit tree. Provide basic theory on understanding the weather characteristic of hilly land and its influences on fruit growth and full using of microclimate resource.

Key words hill, weather factors, soil, fruit tree, growth

地表球囊霉对霞多丽耐盐性影响的研究

任玉华¹ 李 华² 冯长根³

(1 烟台中粮葡萄酒有限公司, 山东蓬莱, 265608; 2 西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100; 3 北京理工大学机电工程学院, 北京 100081)

提 要 在盆栽条件下, 研究了4个盐胁迫水平(0、0.10、0.15、0.20 mol·L⁻¹NaCl)下地表球囊霉(*Glomus versiforme*)对霞多丽耐盐性的影响。结果表明, 接种处理的叶片含水量、叶绿素含量以及叶片光合特性均高于不接种对照; 且随着盐胁迫强度的升高, 地表球囊霉对霞多丽植株根系侵染呈递减趋势, 但霞多丽对菌根的依赖性更强。霞多丽菌根接种苗相对丰富的水分吸收及其向叶片中的分配是增强其耐盐性的主要原因。

关键词 霞多丽; 盐胁迫; 地表球囊霉; 耐盐性

AM真菌(Arbuscular mycorrhizal fungus, 简称AM真菌)菌根是土壤真菌侵染植物根系形成的一种共生体。由于其从植物根系获得必需的营养物质, 同时又为植物根系提供植株生长需求的大量营养和水分, 增加了植物的生物量^[1, 2]及植物对逆境胁迫的耐受力^[4, 5], 因此受到各国学者的重视^[1]。本试验以霞多丽(Chardonnay)扦插苗为试材, 对盐胁迫条件下地表球囊霉与霞多丽根系共生关系进行了研究, 系统地探讨了盐胁迫条件下二者的共生特性, 以期揭示盐胁迫下地表球囊霉与葡萄植株根系共生关系的生态学意义, 为探讨生物改良提高葡萄属植物对盐渍胁迫环境耐受力的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试苗木主要为酿酒葡萄品种霞多丽(Chardonnay)。枝条经质量浓度为5g·L⁻¹的HgCl₂溶液表面消毒(30s), 蒸馏水反复冲洗干净后, 在消毒(紫外线照射12h)的河沙内扦插育苗。在苗木成活长至2片真叶后, 移植到消毒(紫外线照射12h)的基质(河砂)中进行盆栽。每盆装土2kg, 栽植成活植株1棵。

供试菌种为地表球囊霉(*G. versiforme*), 由中国农业大学提供。地表球囊霉经三叶草(*Trifolium repens* L.)繁殖3个月后, 剪去茎叶, 将根系与基质均匀混合, 晾干备用。于葡萄苗木扦插成活移植时, 在土壤表层每盆接入8g上述接种物, 并用河砂覆盖, 轻轻压实。把配制的0、0.10、0.15、0.20mol·L⁻¹NaCl水溶液加入Hoagland营养液中浇透。同时设置对照。在苗木生长期间使用Hoagland营养液(每周250ml)以保证营养的供应。试验中每个处理有5株苗木, 设3次重复。并随时进行观测、记载, 3个月后进行测试分析。

1.2 实验方法

(1) 菌根侵染率: 按林先贵等^[2]方法测定。在光学显微镜下镜检, 观察并记录被菌根侵染的根段数。

用下面公式计算侵染率。

$$\text{侵染率}(\%) = (\text{侵染根段数} \div \text{观测根段数}) \times 100$$

(2) 菌根依赖性：按林先贵等^[2]方法测定。

$$\text{菌根依赖性} = (\text{接种株干重} \div \text{对照株干重}) \times 100$$

菌根依赖性衡量植物对菌根真菌依赖程度大小的指标。比值越大植物对菌根的依赖性越强，接种效果越好。其比值在 100% 以下时，表示植物对菌根的依赖性较弱或没有依赖性；在 100%~300% 时表示植物对菌根有中等强度的依赖性；当在 300% 以上时，说明植物对菌根的依赖程度很强^[2]。

(1) 含水量测定：按邹琦^[3]主编《植物生理学实验指导》测定。

(2) 叶绿素含量测定：按邹琦^[3]主编《植物生理学实验指导》测定。

(3) 净光合速率测定：按邹琦^[3]主编《植物生理学实验指导》测定。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫下，地表球囊霉对霞多丽根系侵染状况

侵染率和菌根依赖性反映菌根形成和共生真菌对植物亲和力以及植物对共生真菌依赖程度的指标^[1,2]。盐胁迫条件下，地表球囊霉对葡萄植株根系的侵染状况见图 1，所有接种处理植株根系均有不同程度感染地表球囊霉，而未接种植株则未检测到地表球囊霉的存在。在所有的处理中，不同浓度 NaCl 胁迫水平对地表球囊霉菌根的形成有不同抑制作用，随盐分处理浓度和胁迫强度的升高，地表球囊霉对霞多丽植株根系侵染率呈递减趋势。在 0 mol · L⁻¹ NaCl 水平时，地表球囊霉对霞多丽根系侵染率最高，为 34.5%；在 0.10 mol · L⁻¹ NaCl 水平上，由于盐胁迫效应相对较小，地表球囊霉也维持了对葡萄根系较高的侵染率；当盐浓度增加到 0.20 mol · L⁻¹ NaCl 水平时，由于胁迫强度增大，地表球囊霉对葡萄根系侵染率降到最低，为 17.3%，同时在植株水平上也表现出一定的胁迫效应，叶片出现盐斑，叶面黄化，苗木瘦弱。

植物根系对共生菌根真菌的依赖性，是指植物依靠共生真菌使自身生长量增加的百分率^[2]。由图 2 可以看出，随着胁迫强度的增加，霞多丽对地表球囊霉的依赖性增强，这说明盐胁迫在一定程度上虽然限制了地表球囊霉对植株根系的侵染，但霞多丽对地表球囊霉的依赖性增强，即菌根效应对植株生长的促进作用也相对增强，这说明盐胁迫虽然限制了地表球囊霉对葡萄根系的侵染，但并不抑制菌根真菌对植物生长的促进作用，一定程度上提高了霞多丽对胁迫环境的耐受能力。

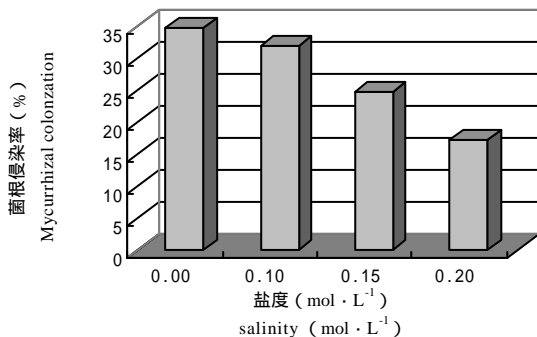


图1 盐胁迫对菌根侵染率的影响

Fig.1 Effect of salinity on mycorrhizal colonization

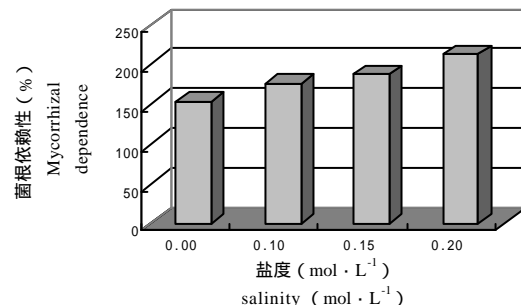


图2 盐胁迫下霞多丽对地表球囊霉的依赖性

Fig.2 Effect of saline on *G. versiforme* dependence of Chardonnay

2.2 盐胁迫对菌根化苗木叶片水分状况的影响

盐胁迫对植物的危害主要表现在水分胁迫方面。对各处理进行叶片水分含量测定分析（见表 1），结果

表明, 无论接种与否各处理叶片水分含量随着盐胁迫强度的增加而降低, 但菌根化苗木叶片各种形态水分含量显著高于其相应对照植株, 而自由水、束缚水含量提高, 为苗木在胁迫压力下水分的充分供应提供了基础。

表1 盐胁迫下, 地表球囊霉对霞多丽叶片水分含量的影响

处 理	含水量 (%)	自由水 (%)	束缚水 (%)	束缚水/自由水
0 mol · L ⁻¹ NaCl	69.31	66.87	2.44	0.0365
0 mol · L ⁻¹ NaCl+接种	71.99	68.56	3.43	0.0500
0.10 mol · L ⁻¹ NaCl	66.80	64.68	2.12	0.0328
0.10 mol · L ⁻¹ NaCl + 接种	69.49	67.25	2.24	0.0333
0.15 mol · L ⁻¹ NaCl	64.54	62.71	1.83	0.0292
0.15 mol · L ⁻¹ NaCl + 接种	67.68	65.73	1.95	0.0296
0.20 mol · L ⁻¹ NaCl	57.15	55.58	1.57	0.0282
0.20 mol · L ⁻¹ NaCl + 接种	59.83	58.14	1.69	0.0290

2.3 盐胁迫对菌根化苗木叶片水势的影响

盐胁迫可以提高土壤溶液浓度, 降低土壤水势, 造成植体内发生生理干旱。对各处理叶片水势进行测试分析 (结果见图3), 随着盐胁迫强度的升高, 各处理及其相应对照水势也相对升高, 植株根系吸水胁迫压力相应增大。同一胁迫水平, 接种处理植株苗木叶片水势显著低于其相应对照苗木, 说明接种处理苗木根系吸收水分能力高于对照。即盐胁迫条件下, 接种地表球囊霉可以改善霞多丽植体内水分状况。其原因主要表现在菌丝可以直接吸收水分, 缓解植体内的生理干旱, 减轻胁迫条件下的受害程度; 地表球囊霉和植株根系共生增强了植株的需水压力; 另外, 菌根通过增加磷的吸收间接地提高了根系活力和导水性能等^[4, 5]。

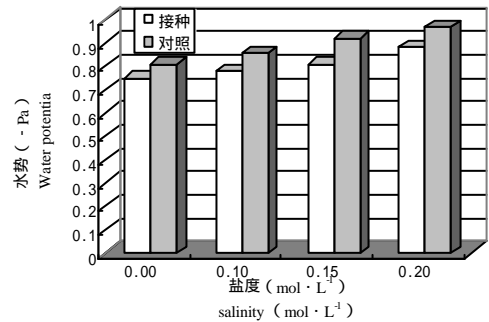


图3 盐胁迫下, 地表球囊霉对霞多丽叶片水势的影响
Fig.3 Effect of *G. versiforme* on water potential in Chardonnay leaves under salt stress

2.4 盐胁迫对菌根化苗木光合特性的影响

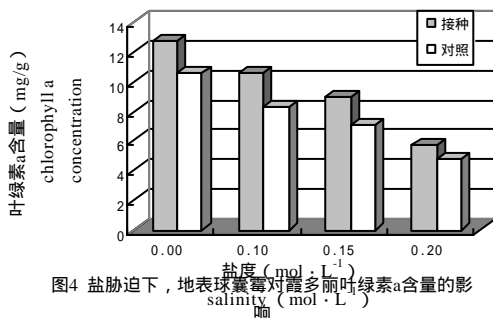


图4 盐胁迫下, 地表球囊霉对霞多丽叶绿素a含量的影响
Fig.4 Effect of *G. versiforme* on chlorophyll a concentration in Chardonnay under salt stress

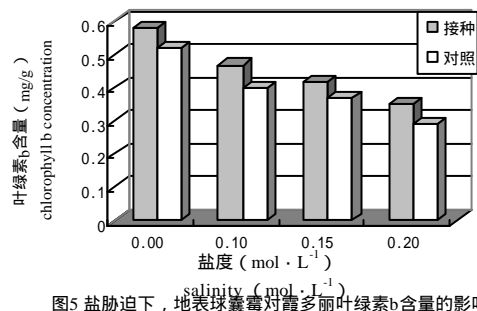


图5 盐胁迫下, 地表球囊霉对霞多丽叶绿素b含量的影响
Fig.5 Effect of *G. versiforme* on chlorophyll b concentration in Chardonnay under salt stress

2.4.1 盐胁迫对菌根化苗木叶片叶绿素含量的影响

植株叶绿体各色素含量变化是判断胁迫条件下苗木受害程度的重要指标^[6,7]。对胁迫条件下各处理植株

叶绿体色素进行分析, 试验结果见图 4、图 5, 随着胁迫强度的增加, 各处理植株内叶绿素 a、b 含量均呈下降趋势, 这与王连君等^[6]、廖祥儒等^[7]研究结果比较一致。从图 4、图 5 可以看出接种处理苗木叶片中两种叶绿素含量显著高于其相应对照植株, 虽然叶绿素 a、b 含量随着胁迫强度的增加呈递减趋势, 但在各盐处理条件下二者含量的相对增长对植株叶片维持较高的光合性能有重要的生理学意义。

2.4.2 盐胁迫对菌根化苗木有效光合生理特性的影响

以净光合速率为指标, 对各处理进行光合生理特性分析, 结果见图 6, 各处理苗木随盐胁迫强度增加, 净光合速率呈递减趋势, 而进行地表球囊霉接种处理的菌根化苗木净光合速率则显著高于其相应对照植株。说明胁迫条件下, 地表球囊霉在改善植株体内水分状况、叶绿素含量的基础上, 一定程度上提高了植株的光合性能。这可能是由于胁迫条件下接种处理增强了幼苗根系对水分、矿质元素的吸收能力, 缓解了水分胁迫对植株造成的危害, 从而一定程度上保证了光合作用的进行, 增强了苗木对胁迫环境的适应能力。

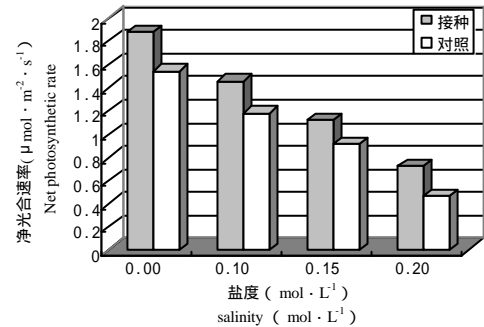


图6. 盐胁迫下, 地表球囊霉对霞多丽叶片光合特性的影响
Fig.6 Effect of *G. versiforme* on photosynthetic characteristic in Chardonnay leaves under salt stress

3 讨论

盐胁迫条件下, 接种地表球囊霉可以提高葡萄植株对胁迫环境的适应能力, 提高植株生长量, 具有明显的接种效应。但由于盐分离子的存在, 较高的胁迫强度抑制了地表球囊霉对葡萄根系的侵染, 但葡萄植株却对地表球囊霉菌根表现出较大的依赖性, 而其依赖程度随着胁迫强度的增加而增加。这可能是地表球囊霉对葡萄根系的侵染, 菌丝网在土壤中的伸展扩大了根系的吸收面积, 提高了植株根系活力, 增强根系的吸收和导水性能, 缓解了植株内部水分生理干旱胁迫, 从而改善寄主植物体内的生理代谢状况, 表现出一定的增产效应, 从而提高霞多丽对盐胁迫的耐受力。但由于菌根真菌对寄主植物侵染特性的差异, 不同菌种可能对不同植物具有侵染效应的差异性, 所以, 为提高葡萄苗木对胁迫环境的耐受能力, 还需对适于胁迫条件下的菌根真菌种类及其特性进一步的筛选和研究, 以寻找适于盐胁迫条件下与葡萄根系共生的最佳组合, 最大效率的提高葡萄植株对盐胁迫环境的耐受力。

参 考 文 献

1. 刘润进, 李晓林编著. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社. 2000
2. 林先贵, 郝文英. 不同植物对 VA 菌根菌的依赖性. 植物学报, 1989, 31: 315~321
3. 邹琦主编. 植物生理学实验指导. 北京: 农业出版社. 2000
4. 冯固, 白灯莎, 杨茂秋等. 不同生态型摩西球囊霉对棉花耐盐性的影响. 生态学报, 2001, 21(2): 259~264
5. 冯固, 李晓林, 张福所等. 盐胁迫下丛枝菌根真菌对玉米水分和养分状况的影响. 应用生态学报. 2000, 11(8): 595~598
6. 王连君, 皇甫淳, 王铭等. 盐碱胁迫下葡萄的叶绿素含量与耐盐性关系的研究. 葡萄栽培与酿酒, 1995,(4):1~3
7. 廖祥儒, 贺普超, 朱新立. 盐渍对葡萄光合色素含量的影响. 园艺学报, 1996, 23(3): 300~302

Effects of *Glomus versiforme* on Chardonnay Salt Tolerance

Ren Yuhua¹, Li Hua² and Feng Changgen³

(¹ Yantai Cofco Winery CO.LTD Shandong, Penglai, 265608 China. ;

² College of Enology, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Shannxi Yangling, 712100 China ;

³ School of Mechano-Electronics Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing, 100081 China)

Abstract The effects of *G. versiforme* on Chardonnay growth at four salt levels (0, 0.10, 0.15, 0.20 mol · L⁻¹NaCl) were investigated under potted plant conditions. The results show that both of the average leaves moisture content, chlorophyll content and photosynthetic characteristic of seedlings inoculated with *G. versiforme* were higher than that of the uninoculated controls. With the increase of salinity, the colonization of *G. versiforme* with Chardonnay root were decreased, and the *G. versiforme* dependence was increased. It is concluded that the major reason, for strengthening the salt tolerance of the Chardonnay inoculated seedlings, was their relative big absorption and proportion of moisture content leaves.

Key words Chardonnay, Salt stress, *G. versiforme*, Salt tolerance

酿酒葡萄不同副梢处理对叶片光合特性的影响

惠竹梅 吴绍东 赵高峰

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本试验以霞多丽、黑比诺、品丽珠和赤霞珠 4 个酿酒葡萄品种为试材, 进行相同程度的摘心和两种不同副梢处理, 测定叶片光合作用的相关指标。结果表明: 霞多丽主梢叶片净光合速率低于黑比诺且差异显著, 品丽珠主梢叶片净光合速率高于赤霞珠但差异不显著; 相同品种进行两种不同副梢处理, 主梢叶片净光合速率无显著差异; 不同品种主梢不同节位叶片的净光合速率不同; 各处理间叶片叶绿素含量均无显著差异。

关键词 酿酒葡萄; 副梢处理; 光合作用

叶片光合能力直接影响到葡萄浆果的品质和产量的形成, 光合作用生成的有机化合物不仅为生物提供能量, 也是生物用以建造自身躯体的原料^[1]。国内外对葡萄叶片的光合特性已做了大量的研究, 国内有关鲜食品种及设施栽培条件下葡萄光合特性的研究报道较多^[2-10], 而酿酒葡萄光合特性的研究报道较少^[11]。国外有关酿酒葡萄光合作用的研究报道较多^[12-15], 近几年主要是利用叶绿素荧光技术进行研究。随着中国葡萄与葡萄酒产业的飞速发展, 酿酒葡萄种植业随之壮大^[1]。夏季修剪是葡萄生长季管理中一项重要的环节, 最大限度地提高光能利用率是夏季管理的主要目标之一。本文以我国主栽的四个酿酒葡萄品种霞多丽 (Chardonnay)、黑比诺 (Pinot Noir)、品丽珠 (Cabernet Franc) 和赤霞珠 (Cabernet Sauvignon) 为试材, 研究了两种不同副梢处理对主梢叶片光合特性的影响, 以为酿酒葡萄夏季修剪提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2004 年 5 月到 6 月在陕西杨凌张家岗葡萄生产园进行, 供试品种为霞多丽 (Chardonnay)、黑比诺 (Pinot Noir)、品丽珠 (Cabernet Franc) 和赤霞珠 (Cabernet Sauvignon), 1999 年定植, 南北行向, 株行距 1.3×2.0m, 单干双臂整形。

1.2 试验设计

每品种选取生长势一致的植株 6 棵, 分别进行主梢摘心和副梢处理。

主梢摘心 第一穗花序开花时进行摘心, 强壮结果枝花序以上留叶 7~9 片, 中庸结果枝花序以上留叶 5 片, 生长势弱的结果枝不进行摘心, 营养枝留叶 15~20 片^[1,16]。

副梢处理 处理方法共两种: a.主梢经摘心后, 其摘心口下第 1~2 副梢留 4~6 片叶反复摘心, 同时对其余副梢留 1 叶反复摘心, 花序以下副梢全部去除; b.摘心口下第 1~2 副梢留 4~6 片叶反复摘心, 其余副梢分次全部抹除。

田间其他各项管理均相同。

1.3 试验内容与方法

1.3.1 光合作用相关指标测定

摘心处理后 15~20 d (2004 年 6 月 1 日, 即幼果膨大期), 每处理选取生长势基本一致的双穗果枝 5 个, 进行连体测定花序以上 7 个节位叶片的光合指标。采用美国产 LI—6400 便携式光合作用测定仪测叶片净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs)、叶片蒸腾速率 (Tr) 和胞间 CO₂ 浓度 (Ci), 测定时利用 6400PS 提供光照, 光强为 1300 μmol·m⁻²·s⁻¹。8:00~11:00 测霞多丽和黑比诺, 15:00~18:00 测品丽珠和赤霞珠。

1.3.2 叶绿素含量和叶片相对含水量测定

选取净光合速率最强节位的叶片 10 枚, 进行叶绿素含量和叶片相对含水量测定, 每处理重复 3 次。叶绿素含量测定采用丙酮提取法^[17], 叶片相对含水量采用烘干法 (105℃ 杀青 15min, 80℃ 烘至恒重)^[18]; 并根据线性回归方法计算羧化效率 (CE)^[18,19,20]和表观量子效率^[18,19]。

1.3.3 数据统计分析

试验数据采用 SPSS 数据处理软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同副梢处理对葡萄主梢不同节位叶片光合作用的影响

在 a 处理中, 霞多丽和黑比诺主梢叶片净光合速率皆呈现随着节位上升而增加的趋势, 这与张福庆等在赤霞珠和梅尔诺 (Merlot) 品种果实成熟期间的研究结果一致^[11], 且品种间差异显著。在 b 处理中, 霞多丽和黑比诺主梢叶片均为 7、9 节位最高。两种不同副梢处理条件下, 品丽珠和赤霞珠主梢叶片光合速率均呈现 6~9 节位高、两端逐渐降低的趋势, 且处理和品种间均无显著性差异 (表 1)。

表 1 主梢叶片净光合速率 (μmolCO₂·m⁻²·s⁻¹)

品 种	处 理	不同节位叶片净光合速率								平 均
		4	5	6	7	8	9	10	11	
霞多丽	a	15.26	17.10	17.64	16.54	17.94	17.14	18.90		17.22**
	b	17.10	18.30	18.16	19.00	17.68	18.40	17.43		18.01*
黑比诺	a	19.98	17.58	18.66	19.22	18.98	20.04	20.62		19.30
	b	18.80	17.46	17.04	19.72	18.84	19.92	19.36	19.80	18.87
品丽珠	a	13.38	13.22	12.16	13.68	12.08	13.08	12.72		12.90
	b	12.87	11.97	12.37	12.86	12.23	13.14	11.88	12.30	12.45
赤霞珠	a	12.32	12.35	11.66	11.50	12.40	13.37	10.68		12.04
	b	7.80	11.12	12.74	11.49	11.75	11.69	10.60		11.03

*、**表示霞多丽与黑比诺的对比, p<0.05 和 p<0.01。

a 表示主梢摘心+摘心口下第 1 副梢留 4-5 叶反复摘心, 其余副梢留 1 叶反复摘心。

b 表示主梢摘心+摘心口下第 1、2 副梢留 4-5 叶反复摘心, 其余副梢全部除去 (下同)。

由表 2、3、4 可以看出, 供试品种主梢不同节位的气孔导度、胞间 CO₂ 浓度和蒸腾速率的变化趋势与

净光合速率的变化趋势基本一致。

表 2 主梢叶片气孔导度 (molH₂O · m⁻² · s⁻¹)

品 种	处 理	不同节位叶片气孔导度								平 均
		4	5	6	7	8	9	10	11	
霞多丽	a	0.167	0.182	0.174	0.171	0.188	0.200	0.176		0.180
	b	0.219	0.233	0.202	0.201	0.186	0.187	0.157		0.198
黑比诺	a	0.235	0.201	0.211	0.213	0.221	0.217	0.227		0.218
	b	0.220	0.210	0.206	0.226	0.217	0.225	0.238	0.218	0.220
品丽珠	a	0.164	0.158	0.134	0.154	0.127	0.132	0.120		0.141
	b	0.157	0.147	0.142	0.151	0.142	0.143	0.121	0.118	0.140
赤霞珠	a	0.128	0.130	0.116	0.114	0.134	0.139	0.099		0.123
	b	0.085	0.112	0.132	0.112	0.103	0.126	0.093		0.107

表 3 主梢叶片胞间 CO₂ 浓度 (μ molCO₂ · m⁻² · s⁻¹)

品 种	处 理	不同节位叶片胞间 CO ₂ 浓度								平 均
		4	5	6	7	8	9	10	11	
霞多丽	a	216.2	215.2	196.8	211.0	211.2	229.8	182.3		208.9
	b	242.8	241.4	223.0	215.4	213.0	206.4	184.3		218.0
黑比诺	a	210.5	216.0	211.8	208.8	212.4	207.4	202.8		210.0
	b	209.0	218.8	220.0	209.0	209.8	203.4	209.4	205.0	210.6
品丽珠	a	203.0	196.6	185.4	191.4	177.8	175.4	164.0		184.8
	b	200.3	205.0	193.4	198.0	190.0	184.8	177.5	168.0	189.6
赤霞珠	a	177.5	176.4	177.6	167.0	180.5	176.2	155.8		172.1
	b	157.0	169.4	171.6	167.7	147.4	173.6	149.0		162.0

表 4 主梢叶片蒸腾速率 (mmolH₂O · m⁻² · s⁻¹)

品 种	处 理	不同节位叶片蒸腾速率								平 均
		4	5	6	7	8	9	10	11	
霞多丽	a	2.63	2.75	2.76	2.69	2.89	3.11	2.98		2.83
	b	3.15	3.43	3.06	3.03	2.93	2.95	2.60		3.02
黑比诺	a	5.22	4.45	4.66	4.61	4.82	4.68	4.98		4.77
	b	5.00	4.83	4.85	5.04	5.05	5.17	5.35	4.91	5.03
品丽珠	a	5.69	5.61	4.93	5.56	4.76	4.94	4.60		5.15
	b	5.58	5.27	5.13	5.41	5.03	5.14	4.50	4.42	5.06
赤霞珠	a	4.16	4.22	3.85	3.91	4.40	4.51	3.42		4.07
	b	3.06	3.80	4.32	3.71	3.51	4.09	3.17		3.59

2.2 不同副梢处理对葡萄叶片叶绿素含量及相对含水量的影响

由表 5 可以看出, 霞多丽、品丽珠和赤霞珠副梢经 a 处理后, 叶绿素含量皆高于 b, 但不存在显著性差异, 而黑比诺则相反。霞多丽和黑比诺经 a、b 处理后, 叶片相对含水量存在显著性差异, a 处理使黑比诺叶片相对含水量高于 b 处理, 但 a 处理使霞多丽叶片相对含水量低于 b 处理; 在相同副梢处理条件下, 黑比诺与霞多丽间呈极显著差异。两种处理均使品丽珠叶片相对含水量高于赤霞珠, 但只有 b 处理差异显著。

表 5 不同副梢处理对葡萄叶片叶绿素含量及相对含水量的影响

处 理	测定项目	品 种			
		霞多丽	黑比诺	品丽珠	赤霞珠
a	叶绿素含量	7.5130	6.2987	7.1360	6.0220
b	(mg·g ⁻¹ FW)	5.9437	7.1360	6.2987	5.6990
a	叶片相对含水量	0.6820	0.7343 ⁺⁺	0.6858	0.6835
b	(g·g ⁻¹ FW)	0.6927 [*]	0.7197 ^{***}	0.6881	0.6714

表示品丽珠与赤霞珠叶片相对含水量的对比, $p < 0.05$;

^{*}表示霞多丽与黑比诺 a 处理和 b 处理叶片相对含水量的对比, $p < 0.05$;

⁺⁺表示霞多丽与黑比诺相同处理叶片相对含水量的对比, $p < 0.01$ 。

2.3 不同处理酿酒葡萄叶片表观量子效率和羧化效率

在光量子通量密度 $200 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 内, 植物叶片光合作用 Pn-PFD 为直线关系^[20], 直线斜率为表观量子效率, 它代表叶片对光能的利用能力^[18]。本试验表明, 除赤霞珠外, 其他品种的表观量子效率 a 处理皆大于 b 处理, 霞多丽表现最为明显, 说明霞多丽经 a 处理后, 叶片对光能的利用得到了较大地提高(表 6)。

在胞间 CO_2 浓度 $200 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 内, 叶片的净光合速率对胞间 CO_2 浓度的响应基本为直线关系^[18]。直线的斜率为羧化效率, 它代表植物叶片对 CO_2 的羧化能力, 其高低可以反映活体叶片中活化的核酮糖二磷酸羧化酶/加氧酶(RuBPCase)含量的多少^[18,20]。由表 6 可以看出, 供试品种主梢叶片羧化效率除品丽珠 a 处理与 b 处理相等外, 其他品种 b 处理均高于 a 处理, 即 b 处理后其对 CO_2 的羧化能力提高。

表 6 不同副梢处理葡萄叶片表观量子效率和羧化效率

处 理	测定项目	品 种			
		霞多丽	黑比诺	品丽珠	赤霞珠
a	羧化效率	0.051	0.030	0.080	0.050
b		0.060	0.130	0.080	0.120
a	表观量子效率	0.070	0.010	0.030	0.030
b		0.002	0.002	0.010	0.040

3 讨论

3.1 新梢不同节位叶片的净光合速率

在本试验条件下, 研究结果表明, 霞多丽和黑比诺副梢经 a 处理后, 主梢叶片的净光合速率随着生长节位的上升而提高, 副梢经 b 处理后, 主梢叶片的净光合速率呈现第 7、9 节位最高, 两端渐低的趋势; 品丽珠和赤霞珠副梢经 a、b 处理后, 叶片光合速率均表现 6~9 节位高。可见叶龄及发育状况对叶片光合能

力具有重要影响。副梢 a、b 处理对各品种主梢叶片净光合速率、叶绿素含量均无显著差异。

3.2 不同酿酒葡萄的群体光合作用

霞多丽 a、b 处理主梢叶片净光合速率均比黑比诺低,而霞多丽主梢叶片对光能利用能力均比黑比诺高。品丽珠不同副梢处理主梢叶片净光合速率均高于赤霞珠,但差异不显著,品丽珠主梢叶片对光能的利用能力也高于赤霞珠。

因此,在生产实践中,酿酒葡萄可以考虑主梢摘心口以下第 1、2 副梢留 4~6 片叶反复摘心,其余副梢分次全部抹除,可减少反复摘心的劳动量,但夏季管理对不同品种在不同生长时期光合作用的影响还有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 李华. 葡萄集约化栽培手册. 西安: 西安地图出版社, 2001
2. 吴月燕. 高湿和弱光对葡萄叶片某些光合特性的影响. 园艺学报, 2003, 30(4): 443~445
3. 刘廷松, 李桂芬. 设施栽培条件下葡萄盛花期的光合特性. 园艺学报, 2003, 30(5): 568~570
4. 张大鹏, 姜红英, 陈星黎等. 叶幕 PAR 截留和分配对葡萄群体光合同化物库源关系的调控. 植物生态学报, 1995, 19(4): 302~310
5. 张大鹏, 黄丛林, 王学臣等. 葡萄叶片光合速率与量子效率日变化的研究及利用. 植物学报, 1995, 37(1): 25~33
6. 李建华, 罗国光. 巨峰葡萄叶片生长动态与光合特性的研究. 园艺学报, 1996, 23(3): 213~217
7. 吴月燕. 两个不同葡萄种对高湿弱光气候的表现. 生态学报, 2004, 24(1): 156~161
8. 王春清, 祖容, 张贤泽. 葡萄幼树若干光合特性的研究. 园艺学报, 1989, 16(4): 279~285
9. 吴俊, 钟家煌, 徐凯等. 生长季修剪和环剥对藤稔葡萄果实生长及叶片光合作用的影响. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33(2): 148~153
10. 战吉成, 王利军, 黄卫东. 弱光环境下葡萄叶片的生长及其在强光下的光合特性. 中国农业大学学报, 2002, 7(3): 75~78
11. 张福庆, 李巍, 田卫东等. 干红酒用葡萄果实成熟期间的叶片光合特性. 华北农学报, 1999, 14(3): 71~74
12. Bertamini M, Nedunchezian N. Photoinhibition of photosynthesis in mature and young leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). Plant Science, 2003, 164: 635~644
13. Bertamini M, Muthuchelian K, Nedunchezian N. Iron deficiency induced changes on the donor side of PS II in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. Plant Science, 2002, 162: 599~605
14. Patakas A, Kofidis G, Bosabalidis M A.. The relationships between CO₂ transfer mesophyll resistance and photosynthetic efficiency in grapevine cultivars. Scientia Horticulturae. 2003, 97: 255~263
15. Patakas a A, Nikolaoua N, Ziozioua E, et al. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science, 2002, 163: 361~367
16. 唐勇, 勇仁蕊. 葡萄园全套管理技术图解. 济南: 山东科学技术出版社, 2000: 93
17. 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003: 67~70
18. Coombs J, Hall D O, Long S P, et al. 生物生产力和光合作用测定技术. 北京: 科学出版社, 1986
19. 杜胜利, 魏惠军, 魏爱民等. 辣椒单倍体与单双倍体植株叶片光合作用研究. 华北农学报, 2001, 16(3):

52 ~ 55

20. 高辉远, 邹琦, 程炳嵩. 甘薯光合活力、羧化效率日变化与光合午休的关系. 作物学报, 1997, 23(1): 62 ~ 65

21. 中国植物生理学会主编. 光合作用研究进展. 北京: 科学出版社, 1984

The Effect of Secondary Shoots Pruning on Photosynthetic Characteristics in Field Grown Wine Grape Cultivars leaves

XI Zhumei, WU Shaodong and ZHAO Gaofeng

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstracts Wine grape cultivar Chardonnay, Pinot Noir, Cabernet Franc and Cabernet Sauvignon as experimental materials, were given same topping and two kinds of the secondary shoots pruning. The results showed that the leaves net photosynthetic rate (Pn) of Chardonnay primary shoot was obviously lower than that of Point Noir. The leaves Pn of Cabernet Franc was a little higher than that of Cabernet Sauvignon. The primary shoot leaves Pn were not significant difference with two different treatments. The leaves Pn of different node was different, while there were no significant differences in chlorophyll content between the two treatments.

Key Words Wine Grape, Topping, Secondary Shoots Pruning, Photosynthesis

大蒜及氰胺类药剂对品丽珠枝条萌芽的作用效果

房玉林 蒲 飞 陶永胜

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 在室温条件下, 分别以 H_2CN_2 (0.5%,1.0%,1.5%), CaCN_2 (1.0%,1.5%,2.0%), 硫脲 (0.5%,1.0%,1.5%), GA(10,100,1000)mg/L, 6-BA(10,100,500,1000,1500)mg/L, 大蒜汁 (33.3%, 50%,100%) 等几种药剂对品丽珠的单芽枝条进行处理。结果显示, 在萌芽整齐度的指标上, CaCN_2 的处理效果优于其他药剂, 其次是 H_2CN_2 。其促进萌发的效果随处理浓度而增强, 但高浓度的 H_2CN_2 存在药害。而硫脲、GA、6-BA 对品丽珠的作用效果较弱, 大蒜汁对萌芽具有较好的效果, 在一定范围内 (=50%) 其催芽效果随浓度而增加, 但结果显示纯蒜汁对萌芽具有一定的抑制作用。

关键词 破眠药剂; 葡萄枝条; 萌芽

虽然许多研究表明, 一些化学物质具有促进葡萄萌芽的效果^[1], 但是多数研究是在鲜食葡萄上进行的, 对酿酒葡萄的相关研究则很少。而对葡萄的生长发育进行人为的化学控制, 使其能够提前萌芽, 避开种植地区的不利天气条件, 不仅能够提高葡萄酒的质量, 还能调节葡萄酒的上市季节, 具有非常重大的意义。为了初步考察不同药剂、不同浓度的处理对酿酒葡萄萌芽的作用效果, 使其能避开不利条件从而提高酿酒葡萄的质量, 本研究选用石灰氮 (Calcium cyanamide)、单氰胺 (Hydrogen cyanamide)、硫脲 (Thiourea)、赤霉素 (Gibberellins)、细胞分裂素 6-BA (Kinins) 和大蒜汁 (Garlic juice) 等药剂, 在控制条件下考察个药剂不同浓度下对品丽珠葡萄休眠枝条的作用效果, 以便为田间促进萌芽试验和生产操作提供理论依据。

1 材料与方法

试材为品丽珠新梢枝段, 取自西北农林科技大学葡萄酒学院张家港葡萄园。取样时间为 2004 年 3 月 12 日, 此时该品种基本处于生态休眠阶段。随机选取健康新梢, 剪取 30 根单芽枝条, 每 10 根捆扎在一起, 作为一个处理, 每种药品每个浓度设一个处理, 另取 6 个用清水处理作为对照, 一共 21 个处理。

1.1 药剂及处理

单氰胺 (Cyanamide)、石灰氮 (Calcium Cyanamide)、硫脲 (Thiourea)、赤霉素 (Gibberellins)、细胞分裂素 (Kinins)、大蒜汁 (Garlic juice) 药剂处理设计为: H_2CN_2 : 0.5%,1.0%,1.5%; CaCN_2 : 10%,15%,20%; 硫脲: 0.5%,1.0%,1.5%; GA: 10,100,1000 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); BA: 10,100,500,1000,1500 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); 大蒜汁: 33.3%,50%,100%。

1.2 处理及调查方法

将每捆枝条捆扎冲洗后用配制好的药剂浸泡 3 秒, 然后将其插入湿润的沙盘中, 沙深 3 厘米, 每 2 天

浇一次水。沙盘置于实验室内，用日光灯全天 24 小时照射。处理时间内室内平均温度低于室外平均温度，大致在 18℃ 左右。每两天观察一次萌芽率，观察时间为 3 月 12 日至 5 月 12 日。

2 结果与分析

2.1 品丽珠枝条萌发情况

每 2 天记录一次萌芽率，在第 20d 之前没有出现萌芽，故 0~20d 这个时间段没有进入附表。

表 1 各药剂作用效果

处理	浓度	萌芽时间(d)	提前天数(d)	50%萌芽时间(d)	最大萌芽率(%)
H ₂ CN ₂	0.50%	24	8	42	63.3
	1.00%	24	8	48	60
	1.50%	22	10	48	63.3
CaCN ₂	10.00%	22	10	48	53.3
	15.00%	20	12	36	83.3
	20.00%	20	12	42	73
硫脲	0.50%	36	—	—	33.3
	1.00%	34	—	—	36.7
	1.50%	32	0	—	33.3
GA	100mg/L	38	—	—	20
	1000mg/L	46	—	—	13.3
	100mg/L	42	—	—	16.7
6-BA	500mg/L	38	—	50	56.7
	1000mg/L	30	2	48	56.7
	33.30%	32	0	—	26.7
大蒜汁	50%	26	6	40	73
	100%	40	—	—	30
CK		32		-	25.7

2.2 各药剂的处理效果

2.2.1 单氰胺的处理效果

H₂CN₂ 较 CaCN₂ 稍弱，在处理后的第 22d，才在 1.5% 单氰胺处理的枝条出现萌芽，比对照提前 10d，另两个浓度的处理萌芽则出现在处理 24d 后，与 CaCN₂ 的作用趋势比较相似。三种浓度处理的萌芽率均优于对照，药品浓度与促进萌发的效果基本呈线性关系，但是三个浓度（0.5%，1.0%，1.5%）处理的最大萌芽率差别很小，达到的最大萌芽率分别为 63.3%，60%，63.3%。

2.2.2 石灰氮的处理效果

由图 2 可知，CaCN₂ 的三种浓度处理的萌芽率指标均优于对照，而且在本次实验中也是萌芽效果最好的药品。其中 15% 和 20% 浓度的处理在第 20d 即观察到了萌芽，10% 的处理萌发时间是第 22d。药品浓度与促进萌发的效果基本呈线性关系，以用 15% 浓度处理得到的萌芽率最高，为 83.3%。其次是 20% 的处理（最大萌芽率 73.3%），而用 10% 处理的仅达到 53.3% 的最大萌芽率。同时在实验中发现，CaCN₂ 的处理虽然萌芽率高，萌发快较整齐，但是新梢之间生长状况有较大差异。说明 CaCN₂ 对萌发后的新梢生长有极

化作用，可能会造成个体间生长的不一致性。

2.2.3 硫脲的处理效果

与 H_2CN_2 和 $CaCN_2$ 相比，硫脲对品丽珠插条的作用比较缓和，萌芽较整齐，在处理后的第 32d 在由 1.5% 浓度处理的插条上观察到萌芽，其于两个浓度（0.5% 和 1.0%）处理的最早萌芽时间（分别是 36d 和 34d）均晚于于对照（第 32d）。三个浓度的处理（0.5%、1.0%、1.5%）分别达到的最大萌芽率（33.3%、36.7%、33.3%）没有太大差异，只稍高于对照（25.7%）。

2.2.4 赤霉素的处理效果

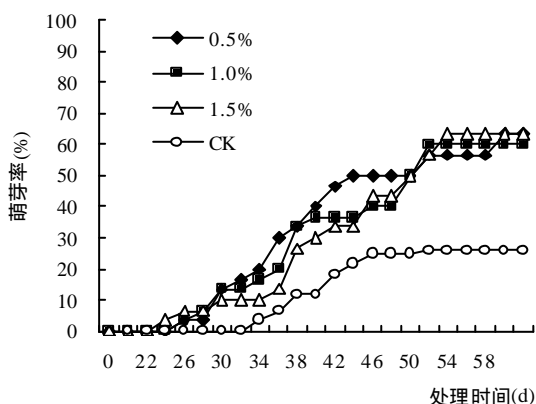


图 1 H_2CN_2 对品丽珠的作用效果

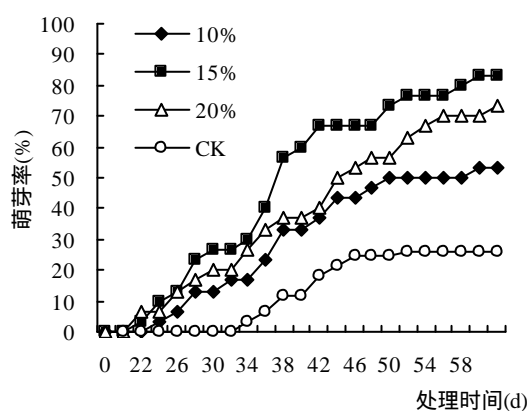


图 2 $CaCN_2$ 对品丽珠的作用效果

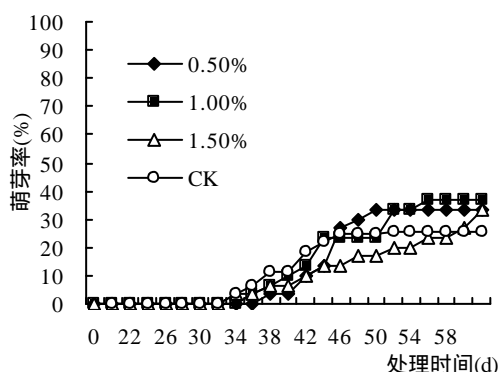


图 3 硫脲对品丽珠的作用效果

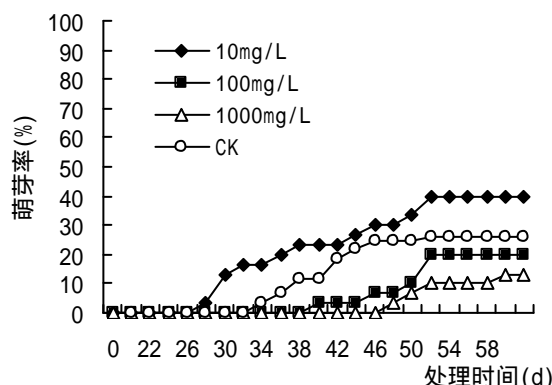


图 4 GA 对品丽珠的作用效果

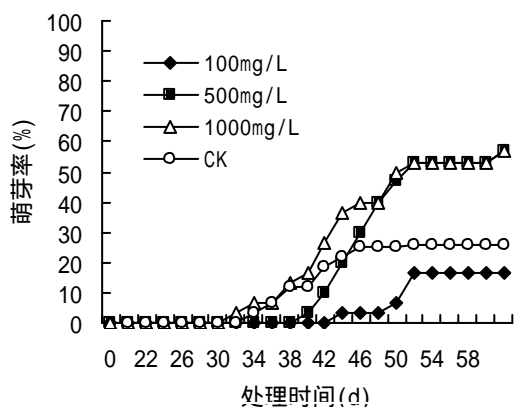


图 5 6-BA 对品丽珠的作用效果

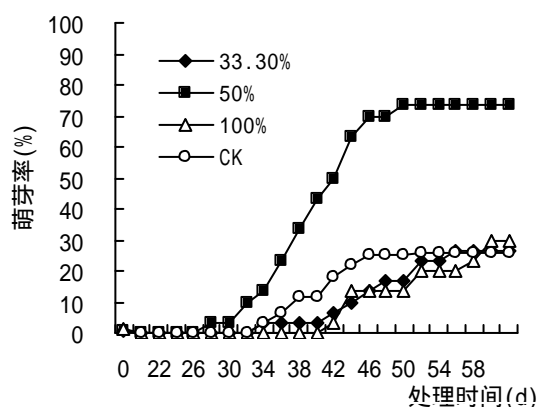


图 6 大蒜汁对品丽珠的作用效果

研究显示,不同浓度赤霉素处理的作用效果差异显著。随着浓度增加,萌芽效果减弱。由 10mg/L GA 处理的插条在处理后的第 26d 观察到萌芽,比对照提前 6d,而另两个浓度(100mg/L,1000mg/L)出现萌芽的时间相继为第 38d 和第 46d,分别比对照延后 6d 和 14d。三个浓度分别达到的最大萌芽率为 40%,20%,13.3%。而且,在实验中观察到由 100mg/L 和 1000mg/L 处理的插条抽生的枝条稀疏,根长较短,生长势也比用 10mg/L 浓度处理的弱,说明赤霉素在低浓度下促进枝条萌发,而随着浓度的增大,对萌芽会产生抑制作用。这与前人的研究结果一致^[4]。

2.2.5 细胞分裂素的处理效果

6-BA 的促进萌发的作用效果随着浓度的增加而逐渐增强。用 1500mg/L 浓度处理的插条在第 28d 萌发,比对照早 4d,其他浓度(10mg/L,100mg/L,500mg/L,1000mg/L)的萌芽时间分别是第 42d,第 42d,第 38d 和第 30d。而所达到最大萌芽率,10mg/L 和 100mg/L 浓度处理都为 16.7%,而后三个浓度处理(500mg/L,1000mg/L,1500mg/L)分别是 56.7%,56.7%和 53.3%,没有太大差异。

2.2.6 大蒜汁的处理效果

大蒜汁的处理效果以 50% 的浓度处理为最好,在第 26d 出现萌芽,比对照提前 6d,33.3% 浓度处理的插条和对照同时萌发,而纯大蒜汁处理的插条萌发比对照晚了 8d。对最大萌芽率(26.7%,73.3%,30%) 的比较,也证明 50% 的大蒜汁处理对于品丽珠较为适宜。

2.3 各药剂处理效果综合比较

2.3.1 萌芽情况综合比较

对各药剂浓度处理的萌芽时间及提前天数,达到 50% 萌芽率的时间和最大萌芽率进行综合比较。以 CaCN_2 的三个处理综合效果最佳,其次为 H_2CN_2 。

2.3.2 曲线模拟比较

通过对以上 6 种药剂对品丽珠插条萌芽的平均作用效果进行曲线模拟(见图 7),可以看到 CaCN_2 对萌芽的作用效果强于另外五种药品处理, H_2CN_2 的作用趋势与 CaCN_2 相近。其他四个药剂趋势相近,但效果较弱。

回归方程计算结果见表 2, H_2CN_2 和 CaCN_2 的作用趋势符合对数曲线,其他药品的作用趋势则符合多项式曲线,其中 GA 的趋势符合 3 项式曲线,硫脲、大蒜汁、6-BA 和对照的趋势符合 2 项式曲线。

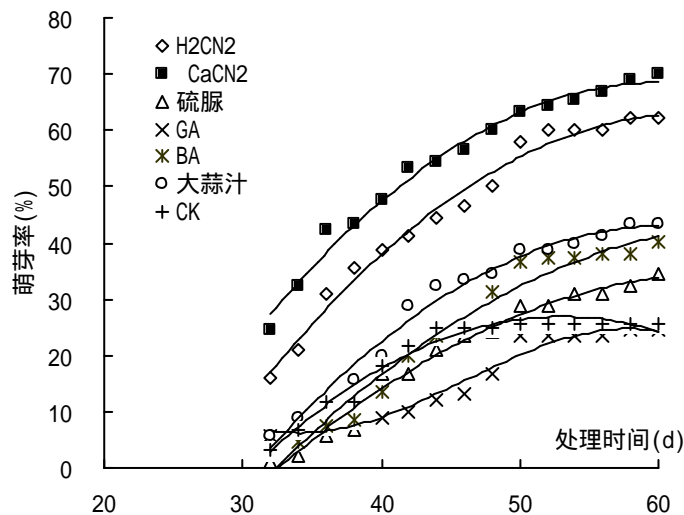


图 7 各药剂作用效果

表 2 各药剂的作用趋势的回归方程

药剂	回归方程	R ²
H ₂ CN ₂	$y = -0.0491x^2 + 6.1528x - 129.66$	0.9647
CaCN ₂	$y = -0.052x^2 + 6.2533x - 119.64$	0.9564
硫脲	$y = -0.0327x^2 + 4.2647x - 104.25$	0.9801
GA	$y = -0.0029x^3 + 0.3944x^2 - 16.96x + 239.28$	0.9652
BA	$y = -0.034x^2 + 4.6308x - 114.3$	0.9709
大蒜汁	$y = -0.0477x^2 + 5.8021x - 133.33$	0.9840
CK	$y = -0.0541x^2 + 5.7364x - 125.26$	0.9715

3 讨论与结论

由于实验条件所限,所有处理的插条萌芽时间均晚于田间,认为这是因为实验室内温度一直低于室外,且缺乏光照,对插条的萌发生产了一定的影响。

许多研究表明,H₂CN₂对葡萄的作用效果是二元的,即太低浓度(<0.267M)作用效果微弱,而太高浓度(>0.8M)则可能会对植株产生药害,造成芽体的死亡^[8,9,13]。但是它的二元作用会因树种、品种、使用时间,施用方式甚至天气情况而存在很大差异^[10]。对H₂CN₂的三个处理的插条生根情况的调查显示,以低浓度(0.5%)处理的平均根长为最大,而另两个浓度生根情况基本一致,可以推断在这三个浓度的处理中,以(0.5%)为最适宜的。但是没有观察到它的药害现象,可能因为处理浓度均在安全范围内(根系生长情况未在文章中列出)。

通常在利用化学药剂打破休眠的实践中,使用比较多的还是CaCN₂和H₂CN₂,研究表明,CaCN₂对葡萄一般不会造成植物毒害^[2,11,12]。本研究中也并未发现存在CaCN₂的药害现象,这也是因为药品浓度在适宜的范围内的缘故,作用效果以15%的浓度处理为最佳,其破眠效果最显著,提前时间最长,且萌芽率较整齐。

硫脲的作用温和,未达到提前萌芽的效果,最大浓度的处理没有出现药害,推测可以继续用更高浓度进行处理。关于GA,本实验与众多研究的结果基本相符^[4],即随浓度增加而萌芽效果减弱。在根的生长方面,也是如此,低浓度生长势最好,而高浓度的处理甚至出现了药害。实验结果表明,随着6-BA处理浓度的增加,萌芽效果也会显著增加。本实验1500mg/L处理的插条萌芽最早(提前了4d),萌芽效果整齐而且生根情况良好,没有观察到药害现象。但是,它对品丽珠的破眠能力太小,而且价格高昂,因次不适宜在实践中采用。

对大蒜汁,本次实验得到的最佳效果为50%浓度的处理,而且在纯大蒜汁处理的插条上观察到了药害现象,且其生根情况明显弱于另两个浓度,故而可以初步推断,在一定范围内,大蒜汁对于品丽珠的破眠效果随浓度的增加而加强,但是高浓度可能抑制生长甚至产生药害现象。

综上,本实验结果基本与他人研究相符。CaCN₂可作为打破品丽珠休眠的最佳药剂,有效浓度在10-20%范围内,最佳浓度15%,萌芽效果整齐良好。其次为H₂CN₂,但随浓度增加,增效的同时也会产生药害的危险。大蒜汁是比较好的选择,但是本次实验没有设计足够的浓度梯度,只能初步推断,大蒜汁对于品丽珠的作用效果,在一定范围内随着浓度增加而效果增加,但过高浓度则可能会抑制甚至产生药害现象。而硫脲,GA,6-BA的实验结果虽然都与它人研究相符,但是对于品丽珠,其破眠能力较差,不推荐使用。

参 考 文 献

1. 李华, 房玉林, 陶永胜. 化学控制处理打破落叶果树休眠的研究进展. 葡萄与葡萄酒研究进展. 陕西人民出版社, 2002
2. 杨耀祥. 葡萄催芽剂氰氨基化钙使用方法之研究. 农林学报 (台湾省), 1984, 33 (1): 97-116
3. 杨治元. 南方葡萄结果母枝涂石灰氮的效应及使用技术. 中国南方果树, 2001, 30 (1): 46-47
4. 张继澍主编. 植物生理学. 西安: 世界图书出版公司, 1999: 233-234
5. Robert J. Prolonging Dormancy in vitis vinifera with Gibberellin. Nature. 1959, 183: 1198-1199
6. 吴冬云等. 6-BA 和 GA 对水稻后期衰老的影响. 华南师范大学学报 (自然科学版), 2003, 13(1): 119-122
7. Naohiro Kubota, Mayumi Miyamuki and Fusao Mizutani, et al. Breaking bud dormancy in grapevine cuttings with garlic olatiles. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 1999, 68(5): 927-931
8. Pires E JP, Terra M M, Pommer C V, et al. Adjustment of ideal H₂CN₂ concentration for breaking dormancy of grapevine in less warm region. Acta Hort. 1995, 395: 169-176
9. Uzun H I, Kuden A B, Dennis F G J, Effects of hydrogen cyanamide application at various time, during dormancy on phonological stages and fruit characteristics of grapes. Acta Hort. 1997, 441: 201-206
10. Or E, Nir G, Vilozny L. Timing of hydrogen cyanamide application to grapebuds. vitis. 1999, 38(1): 1-6
11. Inglese P, Gullo G, PACE L S. Effect of cyanamide on budbreak and came fruitfulness for Hayward kiwifruit in relation to cane length and time of application. New Zealand J of Crop and Hort Sci, 1998, 26: 45-51
12. Kazuo I. Effects of bud scale removal, calcium cyanamide, GA₃, and ethephon on bud break of Muscat of Alexandria' grape (Vitis vinifera). J Jpn Soc Hort Sci, 1980, 48(4): 395-398
13. Zeieke K. The effect of hydrogen cyanamide and benzylandenine on bud burst of cuttings o two Vitis species. Ethiopian J of Agri Sci, 1986, 8(1): 11-17
14. 陕西农业地图册. 陕西省测绘局. 西安地图出版社, 1988
15. Adiga J D. and Shikhamany S D. Effect of cane twisting and certain chemicals on leaf area and yield attributes in Anabe Shahi grape. South Indian Horticulture, 1998, 46(1): 9-12

The effects of garlic juice and cyananmides on budbreaking of “Cabernet Franc” grapevine cuttings

Fang Yulin, Pu Fei and Tao Yongsheng

(College of Enology, Northwest A & F University, Shaanxi, Yangling 712100 China)

Abstracts In forced condition, the result of treatments of H₂CN₂ (0.5%, 1.0%, 1.5%), CaCN₂ (10%, 15%, 20%), Thiourea (0.5%, 1.0%, 1.5%), GA (10, 100, 1000 mg/L), 6-BA (100, 500, 1000 mg/L), Garlic Juice (33.3%, 50%, 100%) on single-bud of cuttings of “Cabernet Franc” grapevine indicated that CaCN₂ expressed more stronger effect on prompting budbreak than others. The second is H₂CN₂. The effect of these 2 kinds of substances to advance bud-breaking are both stronger with their concentration. But H₂CN₂ may be harm to grape. The effect of Thiourea, GA and 6-BA to “Cabernet Franc” is pale, and the garlic juice is strong. Its effect is stronger with its concentration in definite range, but the pure juice will contrail bud-breaking.

Key words bud-breaking substance, grapevine cuttings, bud-breaking

葡萄多酚含量和多酚氧化酶 (PPO) 活性 对组培苗生根的影响

宋士任¹ 王 华^{1,2}

(¹ 西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100;

² 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本研究测定了葡萄属 10 个种 (品种) 组培苗的多酚含量和多酚氧化酶 (Polyphenol Oxidase, PPO) 的活性, 对其与组培苗的生根指数进行相关性分析, 并建立生根指数与多酚含量、多酚氧化酶的多项式回归方程。结果表明: 不同种 (品种) 间多酚含量和 PPO 活性有显著性差异; 多酚含量和 PPO 活性相关性显著, PPO 活性和生根指数不相关, 而多酚含量与生根指数呈显著负相关; 从回归方程可以看出, PPO 活性对生根指数的作用是非线性的, 多酚含量对生根指数的作用是线性的, 这说明多酚含量对组培苗生根的直接作用很大, PPO 活性通过多酚含量间接影响组培苗生根而且直接作用较小。

关键词 多酚含量; PPO 活性; 生根指数; 相关性分析

组织培养在葡萄科研和生产中得到了广泛而迅速的发展和应^[1-3], 但是对有些种 (品种) 来说, 试管苗的离体生根比较难^[4,5], 从而限制了对其的研究和应用。在组织培养时外植体的基因型、取材部位、取材时间、取材大小与切割程度^[6]以及培养基的种类、培养的条件、生长调节剂的应用等^[7-11]因素都会影响试管苗的生根。多酚氧化酶 (Polyphenol Oxidase, PPO) 活性和多酚的含量与植物组织培养外植体褐变有密切关系^[6,8,10]。在组培接种时由于切割作用, PPO 作用于天然底物酚类物质而形成醌, 导致外植体的褐化^[6-11], 从而影响外植体的生根, 给组培苗的正常生长及成活都带来了影响^[12]。本文通过研究葡萄属不同种 (品种) 的组织培养苗生根情况与组培苗中多酚物质含量和 PPO 活性的关系, 试图探索葡萄组织培养苗生根困难的可能机理, 并为进一步的研究提供参考和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试种 (品种) 为真葡萄亚属 (*Euvitis*) 的中国野生葡萄种、欧洲葡萄 (*V. vinifera* L.) 酿酒品种和圆叶葡萄亚属 (*Muscadina*) 的圆叶葡萄 (*V. rotundifolia*) 品种。

中国野生葡萄种有: 夔奥葡萄 (*V. zhejiang-adstricta* P.L.Chiu) (安林—18)、秋葡萄 (*V. romanetii* Roman.) (江西—1)、毛葡萄 (*V. quinquangularis* Rehd.) (泰山—12)、刺葡萄 (*V. davidii* (Roman.) Foex) (塘尾) 来源于西北农林科技大学中国野生葡萄资源圃。

欧洲酿酒品种有: 雷司令 (Riesling)、霞多丽 (Chardonnay)、梅尔诺 (Merlot)、赤霞珠 (Cabernet Sauvignon) 来源于西北农林科技大学葡萄酒学院试验园。

圆叶葡萄品种: Conquister 和 Alachua (2003年6月从美国佛罗里达州引进, 现保存于西北农林科技大学葡萄酒学院)。

材料均为以上(种)品种的试管苗, 苗龄20~40d, 根长3~6cm, 5~7片叶。

1.2 方法

1.2.1 葡萄生根情况统计

采用双芽茎段接种于 WPM 培养基上, 30d 统计其生根率、平均根数、平均根长并计算其生根指数。

生根指数=生根率×平均根数×平均根长×100%^[13]。

1.2.2 多酚的提取和含量测定

多酚提取用乙醇水溶液浸提法^[14,15]: 取试管苗3~4株 剪碎混匀 准确称取5g 50mL 50%乙醇溶液 50℃水浴浸泡30min 提取2次

多酚含量测定方法采用福林—肖卡法^[16]

1.2.3 多酚氧化酶 (PPO) 酶液制备和活性测定^[17]

PPO 提取采用匀浆法: 取试管苗1株 剪碎混匀 准确称样0.5g 加入PVP 0.25g、少许石英砂、5ml 磷酸缓冲溶液 (pH=6) 冰浴研磨成匀浆 用缓冲液定容至10mL 冷冻离心 (10000r·min⁻¹, 10min)

取上清液 酶的粗体液

PPO 活性测定采用比色法: 3mL 缓冲液+0.3mL 粗提液 30℃下反应1min 加入1mL 0.08mol·L⁻¹ 邻苯二酚反应介质摇匀 SP2102UV 型分光光度计 420nm 比色 60s 读数1次, 共5次 计算酶活

2 结果与分析

2.1 不同种 (品种) 组织培养生根情况

所有种 (品种) 组培苗的生根情况见表 1。由表 1 可以看出中国野生种刺葡萄、秋葡萄和毛葡萄的生根率明显低于其他种 (品种), 在生根率相同的情况下, 欧洲葡萄的四个品种平均根数又高于其他的种 (品种), 而平均根长不能说明各品种组培苗生根的差异。对生根指数进行方差分析后发现 Alachua、刺葡萄、秋葡萄和毛葡萄生根指数显著低于与其他种 (品种) 赤霞珠和夔夔葡萄的生根指数又显著高于其他种 (品种), 霞多丽除外。这说明葡萄组织培养生根是有差异的, 不仅亚属间有差异, 种间和同种不同品种之间也有差异; 生根指数作为一个综合指标可以充分说明生根的难易程度, 而且方便进一步的统计分析。

表 1 不同种 (品种) 组培苗生根率、平均根数、平均根长以及生根指数

种 (品种)	生根率 (%)	平均根数 (个)	平均根长 (cm)	生根指数
赤霞珠	100	4	12.33	49.32 A
夔夔葡萄	100	3	15.18	45.54 A
霞多丽	100	6	6.86	41.16 AB
梅尔诺	100	4	8.82	35.28 BC
雷司令	100	4	7.65	30.6 CD
Conquister	100	3	8.75	26.25 D
Alachua	100	2.1	4.43	9.303 E
毛葡萄	33	1	20	6.6 E
秋葡萄	43	3	4.60	5.934 E
刺葡萄	25	1	2	0.75 E

注: 大写字母表示 Duncan 多重比较在 P=0.01 水平上显著 (下同)

2.2 不同种（品种）组培苗的多酚含量

对所有的种（品种）的组培苗进行多酚含量测定，并进行方差分析（表2），结果发现刺葡萄、毛葡萄、秋葡萄的多酚含量差异不显著，处于同一水平，显著高于另一水平的梅尔诺、雷司令、赤霞珠、Alachua和夔夔葡萄的多酚含量，后者多酚含量差异也不显著；Conquister的多酚含量介于上述两个水平之间，并且显著高于霞多丽。这说明多酚含量在种属之间是有差异的，虽然有个别的种（品种）出现例外，但是从总体来说，中国野生葡萄可以归为一类，欧洲酿酒葡萄品种又可以归为一类，这与它们的起源、分布以及抗病性等性状是一致的^[18]。

表2 不同种（品种）组培苗的多酚含量

种（品种）	多酚含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	差异显著性
刺葡萄	19.683	A
毛葡萄	15.173	A
秋葡萄	14.622	AB
Conquister	9.802	BC
梅尔诺	7.946	CD
Alachua	6.481	CD
雷司令	6.239	CD
赤霞珠	5.811	CD
夔夔葡萄	4.929	CD
霞多丽	2.897	D

2.3 不同种（品种）组培苗的PPO活性

对不同种（品种）组培苗的多酚氧化酶活性进行测定并进行方差分析，结果见表3。由表中可以看出秋葡萄、毛葡萄、刺葡萄和Conquister的PPO活性处于同一水平，并且显著高于另一水平的梅尔诺、赤霞珠、霞多丽、夔夔葡萄、雷司令，而圆叶葡萄Alachua的PPO活性又显著低于以上9个种（品种）。这说明不同种（品种）的葡萄的PPO活性是有差异的，而且因为起源与分布不同，在进化上有的可以归为一类，如四个中国野生种除了夔夔葡萄外其余三个种的PPO活性不存在显著性差异，四个酿酒葡萄品种却明显处于另一水平，它们间的差异也不显著。至于圆叶葡萄亚属的两个品种之间的差异很显著，可能也是与它们的遗传进化有关。

表3 不同种（品种）组培苗的PPO活性

种（品种）	PPO活性 ($\mu \cdot \text{g}^{-1}$)	差异显著性
秋葡萄	432.45	A
毛葡萄	361.90	A
刺葡萄	360.96	A
Conquister	201.46	A
梅尔诺	165.40	B
赤霞珠	160.82	B
霞多丽	154.51	B
夔夔葡萄	137.06	B
雷司令	108.70	B
Alachua	10.84	C

2.4 多酚含量、PPO 活性与组织培养生根关系的确定

首先, 分别以 X 代表 PPO 活性, Y 代表多酚含量, Z 代表生根指数。对多酚含量、PPO 活性与组培苗生根状况进行相关性分析, 结果见表 4。由表 4 可以看出 PPO 活性和多酚含量相关性极显著, PPO 活性和生根状况相关性不显著, 而多酚含量与生根状况相关性极显著, 相关系数 R 为-0.83344, 这说明随着品种多酚含量的升高, 组织培养生根的难度加大。

表 4 多酚含量、多酚氧化酶活性与生根状况的相关性分析

	X	Y	Z
X	1.00000	0.83318**	- 0.56418
Y		1.00000	- 0.83344**
Z			1.00000

注: **表示在 P=0.01 水平上差异显著 (下同)

将多酚含量、PPO 活性和生根指数的数据作为一个整体的数据集, 通过 SAS 数据处理软件中多项式回归相关的程序, 采用 GLM 过程处理, 获得如下多项式回归方程^[9]:

$$Z=70.515054-5.793638Y-0.001269X^2+0.058629 YX -0.540517 Y^2$$

表 5 回归方程显著性检验方差分析

误差来源	自由度	平方和	均方	F 值
Model	4	2796.4890	699.1222	15.28**
Error	5	228.8048	45.7609	
Total	9	3025.2983		

回归方程经过显著性检验 (表 5), 在 0.01 水平上达到极显著。在该回归方程中, 复相关系数 R 为 0.924369, 决定系数 R² 为 0.85451536, 经过检验复相关系数显著。在回归方程中, X 项 (PPO 活性) 没有出现, 表明其对生根状况的作用是非线性的, 而出现了 Y 的一次项 (多酚含量), 表明其对生根状况的作用线性的, 这与上面的相关性分析结果相一致; 并且可以看出多酚含量对组培苗生根的影响作用非常大, 且方程中出现了交叉项 XY, 说明 PPO 活性是通过多酚含量间接影响组培苗的生根且直接作用较小。

通过对回归方程的各项系数进行显著性检验 (见表 6), 各项系数均在 0.05 水平上达到显著, 而且截距这一项的系数在 0.01 水平极显著。这说明构建的回归方程可以说明不同种 (品种) 葡萄植株体内的 PPO 活性差异和多酚含量差异可以真实的反映组培苗的生根状况的差异。

表 6 各项系数显著性检验

参数	参数估计	显著性
截距	70.50541259	**
Y	-5.79363828	*
X*X	-0.00126976	*
Y*X	0.05862968	*
Y*Y	-0.54051768	*

注: **和*分别表示在 P=0.01 和 P=0.05 水平上差异显著

3 讨论

多酚含量和 PPO 活性对葡萄组织培养苗生根有很大的影响作用，这和前人的报道相一致^[6-11]。而且本研究更进一步的证实多酚含量和生根呈负相关，PPO 活性是通过多酚含量间接影响组织培养苗。这样我们就可以在组织培养过程中人为的对多酚含量、PPO 活性进行调控，来提高组织培养苗的生根指数。

本研究中十个种（品种）的多酚含量与生根指数的关系虽然是线性相关的，但是所用的试验材料的种类还是相对较小，因此还有待于扩大样本容量，进一步对其他的种（品种）进行研究。如果在扩大试验范围的条件下得出一致的结论，我们就可以通过测定某个葡萄种（品种）的多酚含量对组织培养苗生根难易程度进行预测，还可以通过调节葡萄外植体中的多酚含量如在培养基中加入抗氧化剂和吸附剂来减少多酚对生根的影响，来提高葡萄组织培养的生根指数，此外，将接种后的外植体培养在弱光或暗处来降低 PPO 的活性，从而减小其对组织培养生根的间接作用。

生根指数作为一个综合指标，虽然方便了统计分析，也能充分说明组织培养苗的生根状况，但是生根率、平均根长和平均根数反映组织培养苗生根情况（生根指数）的贡献是否是同等的，还有待于进一步探讨。

致谢：特别感谢贺普超教授为本研究提供材料并在试验过程中给予悉心指导

参 考 文 献

1. 马远, 张振文, 杨玉洁等. 葡萄组织培养应用研究进展. 中外葡萄与葡萄酒, 2002, (4): 23~26
2. 王华, 崔福君, 张继澍等. 现代生物技术在葡萄种质资源、品种改良研究中的应用. 中外葡萄与葡萄酒, 2003, 1: 18~21
3. 曹孜义, 刘国民编. 组织培养技术教程(第二版). 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1998
4. 张剑侠, 王跃进, 李沛玲等. 中国野生葡萄的离体培养与快速繁殖. 园艺学报, 2004, 31(1): 90~93
5. 金佩芳, 蒋爱丽, 李世诚. 我国野生葡萄试管苗的建立研究. 葡萄栽培与酿酒, 1995, (1): 31~34
6. 高国训. 植物组织培养中的褐变问题. 植物生理学通讯, 1999, 35(6): 501~506
7. 叶梅, 王伯出, 段传人. 植物组织培养外植体褐变的研究进展. 生物技术通讯, 2004, 15(4): 426~428
8. 吴晓霞, 陈刚, 张彪等. 植物组织培养中褐变的研究进展. 河北林果研究, 2001, 17(3): 284~287
9. 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭. 植物组织培养外植体褐变的研究进展. 北京林业大学学报, 1999, 21(3): 78~84
10. 罗晓芳, 田砚亭, 姚洪军. 组织培养过程中 PPO 活性和总酚含量的研究. 北京林业大学, 1999, 21(1): 92~95
11. 崔堂兵, 郭勇, 张长远. 植物组织培养中褐变现象的产生机理及克服办法. 广东农业科学, 2001, (3): 16~18
12. 陈祖玉, 石雪晖, 杨梦玲等. 野生葡萄离体培养研究. 中外葡萄与葡萄酒, 2000(2): 22~24
13. 刘彤, 赵新俊, 任丽彤等. 新疆香梨试管苗最佳生根培养基的研究. 果树学报, 2004, 21(2): 124~127
14. 杨贤强, 王岳飞, 陈留记等著. 茶多酚化学. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 457~459
15. 汪成东, 侍朋宝, 张振文. 葡萄器官酚类物质的含量研究. 农业工程学报, 2004, 20(7): 94~96
16. 王华主编. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范. 西安: 西安地图出版社, 1999: 152~153

17. 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社, 1999: 56~57
18. 贺普超主编. 葡萄学. 北京: 中国农业出版社, 1999
19. 胡小平, 王长发编著. SAS 基础及统计实例教程. 西安: 西安地图出版社, 2001: 165~171

The Effect of Polyphenol Content and Polyphenol Oxidase Activity on Rooting of Tissue Cultured Seedlings in *Vitis* L.

Song Shiren¹ and Wang Hua^{1,2}

(¹College of Enology; ²College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100 China)

Abstract Polyphenol content and Polyphenol Oxidase (PPO) activity of tissue cultured seedlings in *Vitis* L. were detected, the correlation with rooting was analyzed, and the polynomial regression model was optimized. The result showed that there was significant difference in different species/varieties, but no correlation between PPO activity and rooting index, while phenol content had negative correlation relationship with rooting index, which suggested more phenol may increase difficulty in rooting. Effect of PPO activity on the rooting index is non linear, but polyphenol content has a significant effect on the rooting, while the PPO activities have few significant effect on the rooting, and influence the rooting through the polyphenol contents indirectly.

Key words Polyphenol content, Polyphenol oxidase activity, Rooting index, Correlation analysis

酿酒葡萄品种‘蛇龙珠’的来源分析

姚玉新¹ 翟衡^{1*} 左方梅¹ 刘来馨²

(¹ 山东农业大学园艺工程与技术学院, 泰安 271018;

² 烟台中粮长城葡萄酒公司技术科, 蓬莱 265600)

提 要 为了进一步明确蛇龙珠品种的来源和亲缘关系, 本文利用 36 个 RAPD 引物对 14 个酿酒葡萄品种基因组 DNA 扩增, 通过聚类分析将其划分为四个类群, 其中赤霞珠、品丽珠、梅鹿特和蛇龙珠同属于一个类群。利用 SSR 技术对该类群 (含三个不同地区来源的蛇龙珠) 进一步分析结果表明: 蛇龙珠、赤霞珠、品丽珠和梅尔诺是 4 个独立的品种, 遗传距离最大的是品丽珠和赤霞珠, 为 3.46, 遗传距离最近的是梅尔诺与品丽珠, 遗传距离为 2.40; 就蛇龙珠不同类型而言, 三个不同地区来源的蛇龙珠遗传上存在差异 (欧氏遗传距离在 1.41~1.73 之间), 但明显小于与其他品种的差异; 与其他品种相比, 三地区的蛇龙珠都与品丽珠遗传距离最小 (2.45~2.64), 都与赤霞珠最远 (2.83~3.32)。

关键词 蛇龙珠; RAPD; SSR; 聚类分析; 起源

葡萄是大宗果品中加工比例最高的水果, 与其他果树品种追新求变不同, 酿酒葡萄品种受葡萄酒文化的制约而恪守传统甚至保守。我国最早的酿酒葡萄品种是 1892 年张裕公司建厂后从欧洲引进的, 其中包括赤霞珠、品丽珠、蛇龙珠, 生产上俗称“三珠”。“三珠”成为我国红色酿酒葡萄的代表, 特别自 20 世纪 90 年代末红葡萄酒盛行以来, 赤霞珠和蛇龙珠成为发展酿酒葡萄的首选品种。

在很长一段时间内国内同行都认为蛇龙珠与其他二珠一样也是法国品种。随着国际交流的增加, 欧洲葡萄专家否认了蛇龙珠在法国的存在, 阿根廷专家在考察了昌黎的蛇龙珠后认为蛇龙珠就是品丽珠^[1]。国内有关专家在研究了蛇龙珠的形态特征以后也认为其与品丽珠很相似, 可能是引进时品种混淆或以后发生变异^[1,2]。近年随着引种繁殖增加, 人们发现各地栽培的蛇龙珠形态也有明显差异, 使人们更加迫切希望澄清蛇龙珠的身份, 而单纯形态学分析很难确认蛇龙珠的来源。本试验收集了与蛇龙珠有渊源关系的波尔多栽培品种以及其他已知起源于同一个家族或关系密切的不同品种群共 14 个品种进行了遗传关系分析, 并利用 SSR 技术重点对 CABERNET 家族品种进一步进行遗传考证, 以便从基因型上明确蛇龙珠的地位。

1 材料和方法

1.1 供试材料

RAPD 分析所用 14 个品种为: 1. 高特 (Cot) 2. 佳利酿 (Carignan)、3. 西拉 (Syrah)、4. 黑比诺 (Pinot Noir)、

* 通讯作者 Author for correspondence E-mail: <hengz@sdau.edu.cn>

5.白比诺 (Pinot Blanc) 6.贵人香 (Riesling Italian) 7.白诗南 (Chenin Blanc) 8.雷司令 (Riesling Blanc) 9.赤霞珠 (Cabernet Sauvignon) 10.蛇龙珠 (烟台当地品种) (Cabernet Shelongzhu) 11.品丽珠 (Cabernet Franc) 12.梅尔诺 (Merlot) 13.白索味浓 (Sauvignon Blanc) 14.霞多丽 (Chardonnay)

SSR 分析所用试材为：G01.法国引进的赤霞珠、G02.昌黎栽培的蛇龙珠、G03.品丽珠、G04.烟台本地栽培的蛇龙珠、G05.梅鹿特、G06.蓬莱北沟蛇龙珠。

所选繁殖材料为葡萄枝条，温室催芽，取刚萌发的芽或幼叶作为提取 DNA 的材料。

1.2 DNA 提取

参照遼卫国^[3]、王跃进^[4]的方法，略有改动。

1.3 DNA 扩增及电泳

RAPD 扩增：反应体系 25 μ l，分别为 2.5 μ l 10 \times buffer，2.0mmol/L MgCl₂，100 μ mol/L dNTPs，0.2 μ mol/L 引物，1.5U TaqDNA 聚合酶及 10~15ng 模板 DNA。热循环程序为：94 预变性 1min45s，94 变性 30s，36 退火 45s，72 延伸 2min，45 个循环，72 延伸 10min。

SSR 扩增：VVMD 系列为反应体系 20 μ l，分别为 2.0 μ l 10 \times buffer，1.0mmol/L MgCl₂，200 μ mol/L dNTPs，20pmol 引物，0.5U TaqDNA 聚合酶及 10ng 模板 DNA。热循环程序为：94 预变性 2min，92 变性 30s，52 退火 30s，72 延伸 2min，40 个循环，72 延伸 7min。VVS 系列为反应体系 10 μ l，分别为 1.0 μ l 10 \times buffer，1.5mmol/L MgCl₂，200 μ mol/L dNTPs，25pmol 引物，0.625U TaqDNA 聚合酶及 25ng 模板 DNA。热循环程序为：95 预变性 5min，94 变性 1min，50 退火 50s，50~72 1min，72 延伸 1min，26 个循环，72 延伸 7min。

RAPD 扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离，经溴化乙锭染色后紫外凝胶成像系统中分析。SSR 扩增产物 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后银染观察。

1.4 数据分析

利用欧氏距离系数法计算遗传距离 (D)，根据遗传距离 D 值，利用分析统计软件 STATISTACA 对各品种进行 UPGMA (非加权算术平均法) 聚类分析。

2 结果与分析

2.1 14 个酿酒葡萄品种的 RAPD 分析

2.1.1 RAPD 带形分析

本实验选用了发表过的、在葡萄上具有多态性的 36 个引物^[5,6,7]，利用 36 个引物分别对 14 个酿酒葡萄品种进行扩增，筛选出 14 个扩增谱带清晰且多态性好的引物用于进一步分析 (表 1)，14 个引物共扩增出 137 条 DNA 带，平均每个引物 9.8 条，其中 98 条具有多态性，占总条带数的 71.5%；每个引物可扩增出 3~10 条多态性带，平均为每个引物 7 条多态性带。其中引物 X102 多态性谱带最多 (13 条)，而多态性谱带百分率最高的是 S462 和 S347 (图 1) (各为 88.9%)。

2.1.2 品种间遗传距离及聚类分析

通过聚类分析以 6.0 水平将 14 个品种分成四类 (图 3)，类群 1 由霞多丽、白比诺、黑比诺、雷司令、贵人香、白诗南和西拉构成；类群 2 由白索味浓和佳利酿构成；类群 3 由赤霞珠、品丽珠、蛇龙珠、梅鹿特构成；类群 4 由高特构成。利用 RAPD 标记计算不同品种的欧氏距离，14 个品种欧氏距离在 3.32~7.48 之间，其中梅鹿特和品丽珠的遗传距离最近为 3.32，蛇龙珠和黑比诺的遗传距离最远为 7.48。在解百纳类型中蛇龙珠和品丽珠的遗传距离比较近 (5.20)，其次是和梅尔诺 (6.00)，和赤霞珠最远，为 6.24。相差

2.92, 可见该 4 个品种在遗传上存在明显差异, 但又有着密切的关系, 都属于解百纳家族。

表 1 所筛选的 RAPD 引物序列及扩增结果

引物 primer	序列 sequence	扩增谱带数 Number of amplified bands	多态性谱带数 Number of poly morphic bands	多态性 Rate of Polymorphic bands (%)
S238	TGGTGGCGTT	10	6	60.0
S462	TCGGCACGCA	9	8	88.9
S347	CCTCTCGACA	9	8	88.9
S450	TCAGAGCGCC	9	4	44.4
S35	TTCCGAACCC	10	9	87.0
S119	CTGACCAGCC	9	7	77.8
S262	ACCCCGCCAA	12	9	75.0
S94	GGATGAGACC	9	7	77.8
S445	CCCAGTCACT	9	4	44.4
S446	CCACGGGAAG	10	8	80.0
X102	TACCGTGGCG	13	10	76.9
X101	TTTGCCGCC	11	6	54.5
X105	CCACACGTAG	11	9	81.8
X115	CGCGTTCCTG	6	3	50.0
总计 Total		137	98	71.5

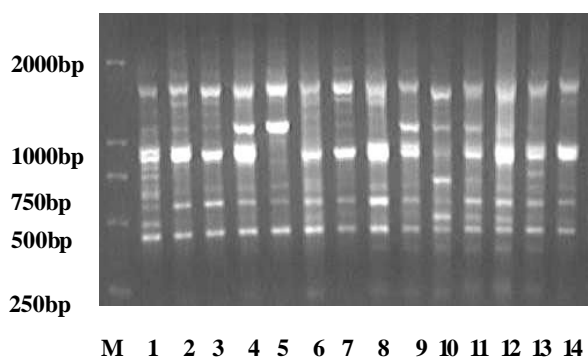


图 1 RAPD 引物 S347 扩增图谱图

从左向右依次为 PCR marker, 1~14 为 1.1 供试材料所编号。

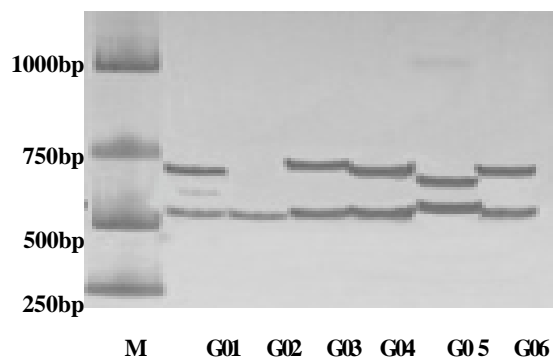


图 2 SSR 引物 VMD6 扩增图谱

从左向右依次为 PCR marker; G01~06 为 1.1 供试材料所编号。

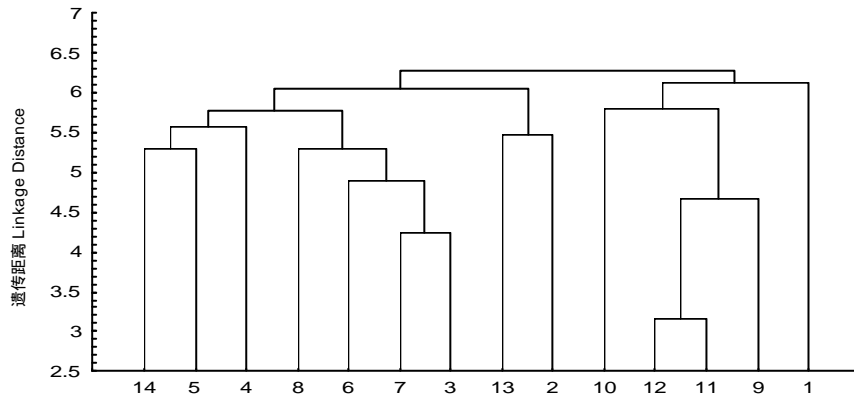


图3 14个酿酒葡萄品种的UPGMA聚类分析结果(样品编号见1.1材料)

2.2 赤霞珠、品丽珠、梅鹿特及不同地区栽培蛇龙珠的SSR分析

2.2.1 SSR带形分析

本实验利用12对SSR引物对三个不同地区来源的蛇龙珠、赤霞珠、品丽珠及梅鹿特共6个品种/类型进行扩增分析。12对SSR引物筛选出9对多态性的引物(表3),9对引物共扩增出27条DNA带,其中22条具有多态性,占总条带数的81.4%。每对多态性引物可扩增出1~5条带,平均为每对引物2.4条多态性带,其中引物VMD6多态性最好(图2),扩增出5条多态性带。

表2 所筛选的SSR引物序列及扩增结果

引物 primer	序列 sequence 5 -3	扩增带数 Number of amplified bands	多态性带数 Number of polymorphic bands	多态性 Rate of Polymorphic bands(%)
VMD5	CTAGAGCTACGCCAATCCAA TATACCAAAAATCATATTCCTAAA	4	4	100
VMD6	ATCTCTAACCCCTAAAACCAT CTGTGCTAAGACGAAGAAGA	5	5	100
VMD7	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT CGAACCTTCACACGCTTGAT	4	4	100
VMD8	TAACAAACAAGAAGAGGAAT AGCACATCCACAACATAATG	3	2	66
VVS1	ACAATTGGAAACCGCGTGGAG CTTCTCAATGATATCTAAAACCATG	2	1	50
VVS2	CAGCCCGTAAATGTATCCATC AAATTCAAAATTCTAATTCAACTGG	4	3	75
VVS3	TGCCCTATCAATTAGTTCACCTA TCGACTTTGATATATTGATGATT	2	1	50
VVS4	CCATCAGTGATAAAACCTAATGCC CCCACCTTGCCCTTAGATGTTA	2	1	50
VVS5	ATTGATTTATCAAACACCTTCTACAT TAGAAAGATGGAAGGAATGGTGAT	1	1	100
总计 Total		27	22	81.4

2.2.2 品种/类型间遗传距离及聚类分析

SSR 分析结果表明蛇龙珠三个类型在遗传上存在差异,并不是完全相同。在三个类型蛇龙珠之间,昌黎的蛇龙珠和蓬莱北沟的蛇龙珠较近,遗传距离为 1.41;昌黎的蛇龙珠、蓬莱北沟的蛇龙珠和烟台本地蛇龙珠较远,遗传距离都为 1.73。但蛇龙珠品种之间的遗传差异明显小于蛇龙珠品种和其他品种之间的差异,蛇龙珠与品丽珠最近,遗传距离在 2.45~2.64 之间,其中蓬莱北沟的蛇龙珠与品丽珠遗传距离最小(2.45),烟台本地的蛇龙珠与品丽珠遗传距离最大(2.64)。烟台本地、昌黎和蓬莱北沟三地的蛇龙珠都与赤霞珠最远,遗传距离分别为 2.83、3.00 和 3.32。

就 6 个品种(类型)而言(不包含蛇龙珠三个类型之间),SSR 分析结果表明,遗传距离最近的是梅鹿特与品丽珠,遗传距离为 2.40,这与 14 个品种 RAPD 分析结果一致;遗传距离最大的是赤霞珠和品丽珠,为 3.46,与 14 个品种的 RAPD 分析结果不一致,其遗传距离最大的是赤霞珠和蛇龙珠,为 6.24。

在聚类图上(图 4),我们以 2.5 水平将 6 品种/类型分成 3 类,类群 1 由不同来源的蛇龙珠构成,类群 2 由品丽珠和梅鹿特构成,类群 3 由赤霞珠构成。

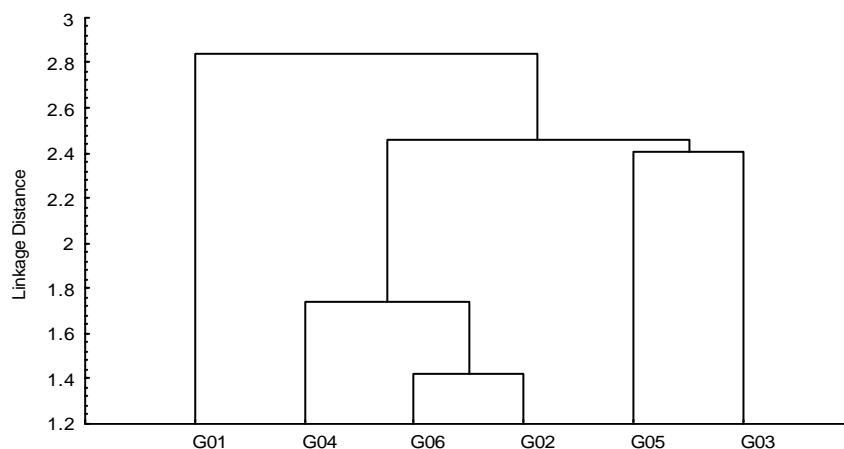


图 4 不同类型蛇龙珠和其他品种的 UPGMA 聚类分析结果(样品编号见 1.1 材料)

3 讨论

3.1 蛇龙珠、赤霞珠、品丽珠及梅鹿特的亲缘关系分析

从本文分析结果可以看出 14 个酿酒葡萄品种的分类基本上和传统的栽培学分类相一致,也和葡萄品种的地理/产地分布基本符合。

有关蛇龙珠与其他三个品种的亲缘关系,前人仅进行了形态学分析和栽培学比较,本试验用 RAPD 和 SSR 标记技术分析的结果认为,蛇龙珠属于解百纳家族的一员,是一个独立的品种,蛇龙珠的基因型和品丽珠、梅尔诺和赤霞珠之间的遗传关系比较近,但差异很明显;和供试的其他酿酒葡萄品种则差异较大。蛇龙珠品种下存在着较多的生态变异类型,类型间也存在着较明显的基因型差异。张裕公司采用液相、气相色谱、质谱等分析技术确定了构成张裕解百纳葡萄酒的蛇龙珠品种有 4 个不同的类型。

赤霞珠、品丽珠及梅尔诺都起源于法国西部,Bowers 等^[6]用 RFLP 等分子标记技术对三个品种进行了亲缘关系研究,认为赤霞珠和品丽珠的亲缘关系最近,其次是和梅尔诺。随后的研究发现赤霞珠是白索味浓和品丽珠杂交后代^[7]。而本研究用 SSR 标记获得的结果认为,梅尔诺和品丽珠的亲缘关系最近,其次才

是和赤霞珠，这和罗素兰^[5]的研究结果一致。这也证明不同地区的同一栽培品种可能会有差别^[8]。

3.2 关于蛇龙珠来源的探讨

我国第一次大规模的引进酿酒葡萄是 1892 年，爱国华侨张弼士在烟台创建张裕葡萄酿酒公司，随后从欧洲（但没有留下具体引种国家的文字记载）引进 129 个酿酒品种的苗木栽培于西山和东山葡萄园，据悉第一批苗木因为运输问题没有成活，翌年又引进了第二批，均以外文名字记录，为方便起见公司给每个品种进行了数码编号。葡萄结果数年并酿酒之后，张裕公司邀请当时的文人墨客到张裕公司的葡萄园里，对照着每棵葡萄，回味的葡萄酒，给每个品种命名，就这样产生了各种富有诗意的葡萄品种中文名称并一直沿用至今：1#玛瑙红，2#大宛红，3#大宛香，4#品丽珠，5#蛇龙珠，6#赤霞珠，7#冰雪丸...17#雷司令，18#李将军...25#贵人香...72#紫北塞...129#玫瑰香。直到上世纪的七十年代，张裕公司葡萄园的老工人还能准确地把每一个葡萄的编号和名称对应起来。因此可以肯定最早蛇龙珠和赤霞珠、品丽珠及梅尔诺都是当时张裕公司同时引进并命名的。

长期以来，由于大多数酿酒品种都起源于法国，人们一直以为蛇龙珠与赤霞珠等品种一样也是法国品种。当 1960 年原北京农业大学编写我国第一本葡萄栽培学教材时罗国光教授查阅了 6 卷苏联葡萄志，却没有找到蛇龙珠的外文资料，在其随后多年查阅的各国葡萄文献和品种志中，均没有发现关于蛇龙珠 Cabernet Gernischet 的任何记载，有关 Gernischet 的词义在英、法和德文的词典中都无法查到。直到 1998 年一次偶然的机会，罗国光教授遇到了一位精通德文的人，才知道 Cabernet Gernischet 中的 Gernischet 是德文 Gemischet 的误写，Gemischet 是动词 Mischen 的过去分词，意思是混合的、混杂的，很可能是当时记录人将标签上的手写体 m 看成了字母 rn，基于这一点，罗国光教授认为最初引进张裕公司的蛇龙珠是一批混合的 CABERNET，并推测“我国葡萄生产中现有的蛇龙珠实际上是经过长期人工选择的品丽珠无性系或生物型，他们既不同于赤霞珠，也不同于一般的品丽珠，而是在中国条件下选育出的品丽珠新品系（可能不止一个）”1998 年 9 月阿根廷的葡萄专家 C.TIZIO 先生在罗国光教授陪同下考察了青岛、烟台和昌黎等地的 7、8 个蛇龙珠葡萄园，根据叶片和果实的基本特征 C.梯佐认为蛇龙珠就是品丽珠而非什么新的品种。

然而有关蛇龙珠的来源仍然疑窦丛生。首先是苗木的来源/输出国问题。由于没有原始的档案保留，在最早的记录中写明从欧洲（法国、意大利）进口^[22]。而我们推测苗木从法国进口的可能性小于从奥地利进口的可能性，理由之一是，当时张裕公司的第一任酿酒师是奥地利人，讲德语，而且有的品种如蛇龙珠 Cabernet Gemischet 是用德语标注的。而且这些标注是在出口国内完成的，不是到达烟台后才写的，如果是由于苗木达到烟台后因为散了捆植株混乱而由奥地利酿酒师来写，是不会出现 Gemischet 写成 Gernischet 这样的笔误。理由之二是，进口的品种包含了东、西欧多个国家的原产品种，具有明显的第三国引种迹象。例如意大利品种贵人香、德国品种雷司令不可能在法国栽培并育苗，其他一些东欧品种也是法国所没有的。而从意大利进口的可能性更小，因为其中很少有意大利的典型品种。因此合理的推测是这些品种是由奥地利从各国引种栽培的，后来因张裕公司的需求而出口到了中国。

至于蛇龙珠为什么被称为 cabernet gemischet，我们推测，当时奥地利引进的 Cabernet -解百纳系列品种在长期栽培过程中发生了较多变异，由于那时候还没有人工品系选择，因此这些变异类型也一直不曾被选择确定或命名。再者由于那时没有现在这么正规的苗木繁殖公司和育苗规定，当张裕公司需要苗木时，人们极有可能从葡萄生产园内直接剪下枝条进行育苗，由于人们既不能把这些变异类型的枝条/苗木写作 Cabernet sauvignon-赤霞珠，也不能写成 Cabernet franc-品丽珠，但知道这是 Cabernet 的变异，因此就写上了 Cabernet gemischet，出口到了中国。这也可以解释为什么在国外到处查不到这个品种名称的原因。

关于蛇龙珠的多型性问题，根据张裕公司退休的老工程师冯贻标先生回忆，当他 1952 年进入张裕公司

时葡萄园还保留有 32 个号的品种，老工人对他说当时进口的葡萄品种里有很多具有生草味或 Cabernet 味的品种。后来工作中他发现，仅在蛇龙珠编号种植的小区内就有多个类型。第一种他认为是最好的，果穗较大，果粒也较其他类型大，丰产性好，与其他类型的区别是秋季老叶呈绿色，不变黄、不卷边；第二种类型是秋季老叶变红并且翻卷；第三种类型是秋季老叶变黄色，但不翻卷；还有一种类型生长势很旺，几乎坐不住果（这也证明了葡萄品种的易变性）。当时在烟台地区推广繁殖的主要是第一种类型，但由于是在葡萄园内直接剪枝条外卖，在需要量大时其他类型的枝条也同时混杂在一起进入社会，因此造成了现在各地栽培的蛇龙珠类型不一致的现象。

由以上研究可以推论：蛇龙珠主要是从输出国完成了品种变异和变型，葡萄品种在栽培中发生生物型变异是常有的事，国外已经开展了大量的品种品系鉴定，如法国的赤霞珠有 15 个品系，黑比诺有 45 个品系，我国在这方面的研究还是空白；蛇龙珠是与品丽珠和赤霞珠亲缘关系很近的品种，但要确定蛇龙珠的直接亲本还需要进行大量的研究工作。

参 考 文 献

1. 罗国光. 葡萄品种‘蛇龙珠’是否就是品丽珠？—关于蛇龙珠起源问题的探讨. 果树科学, 1999,16(3):161~164
2. 尹克林,梁武,诸葛宏庆. 酿酒葡萄品种‘蛇龙珠’的叶形结构数值鉴别. 园艺学报, 1998, 25(2):189~190
3. 遼卫国. 葡萄不同部位提取 DNA 的方法研究. 山西师范大学学报(自然科学版),2002,16(1):63~65
4. 王跃进, Lamikanra Olusola. 检测葡萄无核基因 DNA 探针的合成与应用. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(3):42~46
5. 张立平,林伯年,沈德绪等. 葡萄属 RAPD 分类研究. 园艺学报, 1998, 25(2):191~193
6. LUO S L, HE P-Ch, ZHENG X Q, ZHOU P. Genetic diversity in wild grapes native to China based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, Acta Botanica Sinicain (in English) 2001, 43(2):158~163
7. Bowers J.E., Dangi G.S., Vignani R. et al. Isolation and characterization of new polymorphic simple repeat loci in grape (*Vitis Vinifera* L.). Genome, 1996,39:628~633
8. Bowers J.E., Meredith C.P. The parentage of a classic wine grape Cabernet sauvignon. Nature Genet. 1997,16:84~87
9. Scott KD, Eggle P, Seatox G, et al.. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. Theoretical and Applied Genetics, 2000,100(5): 723~726

The Origin of Wine Grape Cultivar ‘Cabernet Gemischt’

Yao Yuxin¹, Zhai Heng^{1*}, Zuo Fangmei¹ and Liu Laixin²

¹College of Horticulture, Shandong Agriculture University, Tai'an 271018, China;

²Yantai COFCO Winery, Penglai 265608 China)

Abstract ‘Cabernet Shelongzhu’ is an important grape cultivar in China used for wine. However, its genetic origin is not clear yet. In this study, depending on the RAPD (Random Amplification Polymorphism DNA)

analysis with 36 primers, 14 wine grape cultivars were classified into four groups by UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) cluster analysis. Four cultivars of them, i.e. Cabernet Sauvignon, Cabernet Shelongzhu, Cabernet Franc and Merlot, belonged to the same group. The SSR (Simple Sequence Repeat) analysis further indicated that they were four independent cultivars. Also, the results from SSR analysis showed that 3 phenotypes of ‘Cabernet Shelongzhu’ sampled from different regions were genetically distinct with Euclidean distances ranging from 1.41 to 1.73, which were much smaller than those among distinct cultivars. Comparing with other cultivars, the phenotype of Cabernet Shelongzhu from Beigou at Penglai was the closest to Cabernet Franc with the Euclidean distance of 2.45, and followed by Changli and Yantai with the Euclidean distances of 2.56 and 2.64, respectively. The historical origin of the cultivar ‘Cabernet Shelongzhu’ was investigated and discussed.

Key words ‘Cabernet Gemischt’ , RAPD , SSR , cluster analysis , historical origin

酿酒葡萄品种（品系）的鉴别分类研究

夏惠车 轩 张振文*

（西北农林科技大学葡萄酒学院，陕西杨凌 712100）

提 要 运用 P.Galet 方法，对本院引进的 21 个无病毒葡萄营养系品种的叶片进行了研究，并对叶片的数量化性状进行了聚类分析。结果表明：(1) 供试营养系品种间的叶片形态差异显著，而营养系内叶片形态差异不大；(2) 利用叶片性状的遗传距离进行聚类分析，可将 21 个营养系分为三大类群；(3) 该试验结果表明叶片测量法不适于营养系间的聚类分析。

关键词 葡萄；叶片性状；聚类分析；品种鉴别

我国是葡萄属植物分布较多的国家。长期以来，该属植物品种的分类较为混乱，加之属内种间易杂交，中间型、过渡型相当普遍，分类工作困难较大。法国葡萄分类学家嘎勒^[1]（P.Galet 1952,1956）根据葡萄叶片测量原理，建立了葡萄表现型分类法，即葡萄品种描述（Ampelometry）。它是利用葡萄枝、叶等营养器官相对稳定性和特有的形态特征对葡萄品种的描述。它不仅适合葡萄从萌芽到落叶前任何时期的田间调查，而且能通过专门的葡萄叶片测量尺迅速地鉴别不同的种、杂种、品种以及砧木种。尹克林^[2]（1995）首次用该方法对巨峰、红富士和白香蕉三个品种进行了鉴别研究，并利用计算机鉴别统计法证明了该方法的可行性。本试验选用葡萄酒学院 1998 年从法国引入的 21 个无病毒营养系，进行了叶片形态研究；并对叶片的数量化性状进行了聚类分析，以探讨叶片测量法在营养系品种（品系）鉴别中的应用情况。

1 材料与方 法

1.1 材 料

表 1 供试品种（品系）

编号	品种名	编号	品种名	编号	品种名
1	赤霞珠（CK）	8	98-CH-76	15	98-CF-210
2	梅尔诺	9	98-PN-521	16	98-CS-191
3	98-CH-548	10	98-PN-375	17	98-CS-405
4	98-CH-549	11	98-PN-292	18	98-CS-341
5	98-CH-277	12	98-PN-115	19	98-玫瑰香
6	98-CH-132	13	98-CF-312	20	98-8804
7	98-CH-96	14	98-CF-214	21	黑比诺

本试验于 2004 年在陕西杨凌张家岗葡萄试验园进行。供试材料选用本院 1998 年从法国引入的无病毒

* 通讯作者：张振文，男，教授。

葡萄营养系,其中有品丽珠(CF)营养系、赤霞珠(CS)营养系、黑比诺(PN)营养系、霞多丽(CH)营养系,和梅尔诺、玫瑰香、8804等品种,如表1。

1.2 方法

1.2.1 叶片性状的数量化

6月下旬,在营养系内随机取生长健壮的中庸枝上无病虫害,无机械损伤的第7节位的叶片。每品系采叶10片以上。采后保湿,带回室内进行叶片结构数字的测定。叶片形态学研究方法主要采用法国P.Galet^[1,3](1985)的葡萄叶型结构参数测量方法,分别测量每叶的中脉长 L_1 、上侧脉长 L_2 、下侧脉长 L_3 、叶柄脉长 L_4 、叶宽 W 、上裂刻到叶脉基点的长度 OS 、下裂刻到叶脉基点的长度 OI 、中脉 L_1 与下侧脉 L_3 的夹角 S' 、中脉 L_1 与叶柄脉 L_4 的夹角 s ,如图1。分别计算出上侧脉/中脉比(A)、下侧脉/中脉比(B)、底侧脉/中脉比(C)、叶长/宽(r)、上裂刻深比(SS)、下裂刻深比(SI)等性状指标。以上比值与两夹角是叶片的特征参数,对其进行比较与分析。

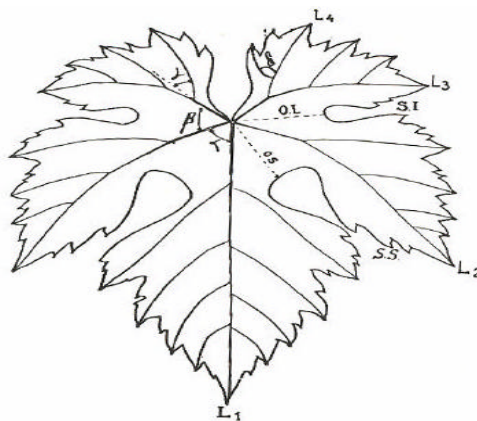


图1 葡萄叶片结构

1.2.2 数据分析

(1) 数据统计整理后进行方差分析,比较各指标在品种(品系)之间是否有差异;(2) 聚类分析:种间遗传距离采用欧氏距离,聚类方法采用类平均法^[4]。

2 结果与分析

2.1 叶片形态方差分析

由P.Galet法获得的一组数据,代表了叶片大小和形状以及叶片结构的比例关系。21个营养系品种(品系)叶片的测试结果表明:(1) 不同品种间叶片在大小上有显著差异(表2),表明各个品种由于地理分布不同,其生态因子对品种的形态分化产生了较大影响,从而导致其外部形态的多样性。分布较近的品种在形态上存在明显的一致性^[5]。(2) 同一品种不同营养系之间的叶片大小不存在明显差异。(3) 叶形参数都达到显著差异,尤以上裂刻深比、下裂刻深比和小夹角所起作用最大。(4) 田间观察表明营养系内叶片形态差别很小。

表 2 供试营养系叶片结构参数

品种 (品系)	A	B	C	r	SS	SI	S'	S	编码
赤霞珠	0.87678 bcdef	0.65026 bcd	0.36938 de	1.02734 b	0.4968 de	0.6083 def	114.5556 abcde	172.8889 ab	136-3-58
梅尔诺	0.88273 abcde	0.63531 bcdef	0.38089 de	0.90534 c	0.47188 e	0.71931 bc	99.4 h	154.7 h	136-2-36
98-CH-548	0.88524 abcde	0.65656 bc	0.37682 de	0.98733 bc	0.47362 e	0.64184 cdef	119.15 abc	163.95 cdef	136-2-57
98-CH-549	0.89406 abcd	0.64425 bcde	0.35633 e	0.97655 bc	0.47582 e	0.68463 cd	113.6 cde	163.5 defg	136-2-57
98-CH-277	0.9162 ab	0.7125 a	0.46615 a	0.98162 bc	0.69794 b	0.79613 ab	120 ab	171.1 abcd	025-2-58
98-CH-132	0.88073 abcdef	0.68546 ab	0.40856 bcd	0.98423 bc	0.70742 b	0.82295 a	115.7 abcde	170.3 bcd	135-2-57
98-CH-96	0.84137 ef	0.63258 cdef	0.35266 e	0.95297 bc	0.47931 e	0.63074 cdef	120.5 a	167.7 bcdef	136-2-67
98-CH-76	0.86903 cdef	0.67247 abc	0.44029 ab	0.96133 bc	0.80821 a	0.8556 a	113 cde	164.1 cdef	135-2-57
98-PN-521	0.88437 abcde	0.64975 bcd	0.36887 de	1.17792 a	0.47222 e	0.78414 ab	104.87 g	156.2 gh	136-4-46
98-PN-375	0.89379 abcd	0.6657 abc	0.37789 de	0.9695 bc	0.61786 c	0.66918 cde	113.8889 bcde	168 bcdef	136-2-57
98-PN-292	0.85084 def	0.63562 bcdef	0.40639 bcd	0.98466 bc	0.46076 e	0.72256 bc	114.1 bcde	160.5 fgh	135-2-56
98-PN-115	0.8799 abcdef	0.59135 f	0.3782 de	0.9839 bc	0.50111 de	0.68152 cd	113.4 cde	169 bcde	146-2-57
98-CF-312	0.87955 abcdef	0.62879 cdef	0.45334 a	1.00147 b	0.55664 cd	0.71414 bc	113.4 cde	169.8 bcd	135-2-47
98-CF-214	0.88054 abcdef	0.62927 cdef	0.39362 cde	0.9865 bc	0.43766 e	0.6049 def	112.8 cde	168.7 bcde	136-2-57
98-CF-210	0.85439 def	0.60028 def	0.38641 de	1.01164 b	0.50852 de	0.58569 ef	111.9 def	168.6 bcde	146-3-47
98-CS-191	0.86826 cdef	0.63651 bcdef	0.38698 de	1.01281 b	0.43358 e	0.58406 ef	113.3333 cde	169.3333 bcde	136-3-57
98-CS-405	0.83449 f	0.59716 ef	0.37611 de	1.02608 b	0.43872 e	0.57407 f	117.65 abcd	177.95 a	146-3-58
98-CS-341	0.86766 cdef	0.62124 cdef	0.38461 de	1.03149 b	0.4752 e	0.62094 def	113.1 cde	172.1 abc	136-3-58
98-玫瑰香	0.84004 ef	0.66712 abc	0.39262 cde	0.96567 bc	0.44164 e	0.63304 cdef	105.5 g	168.1 bcdef	136-2-47
98-8804	0.92339 a	0.71004 a	0.4344 abc	1.0163 b	0.55774 cd	0.66204 cdef	106.3333 fg	163.5556 defg	025-3-47
黑比诺	0.90474 abc	0.65252 bc	0.38674 de	0.96973 bc	0.55834 cd	0.69276 cd	110.5 efg	161.4 efgh	036-2-57

2.2 叶片数量化性状的聚类结果

由叶片的8个性状进行聚类,种间遗传距离的变幅很大,如表3,从0.36到25.4,反映出葡萄属植物品种的形态多样性。遗传距离小的营养系98-PN-115和98-CS-191亲缘关系较为密切。以遗传距离10可将21个营养系品种(品系)分为三大类:第一类有梅尔诺和98-PN-521;第二类只有98-CS-405;其余的归为第三类。这一结果能将梅尔诺与其他品种区分开,但营养系内的聚类与事实不尽相同。尤其以黑比诺营养系表现最为突出,98-PN-521与梅尔诺聚在一起;而98-PN-375、98-PN-115与品丽珠营养系聚在一起。赤霞珠的三个营养系也未聚在一起。经分析,可能的原因有:(1)营养系在选择的过程中发生了品种内基因型变异,使得表现型发生了微小的变化;(2)可能是营养系间形态特征差异不大,叶片测量法不能有效地区分营养系内品种(品系),还需借助其他手段进行鉴别。

2.3 叶片特征的描述

21个品种(品系)的叶片结构数字的测试表明:叶片结构数字较为稳定,可以反映营养系的叶片特征,如梅尔诺为136-2-52(即Galet P.法的ABC-r-S'S法),98-8804为025-3-47等。这种表示方法只抓住了叶片的几个相对稳定指标,把传统方法改为数字描述,大大地减少了人为的主观判断,也适合进行电脑存贮和检索,这无疑会给果树种质资源的研究和利用提供便利条件。

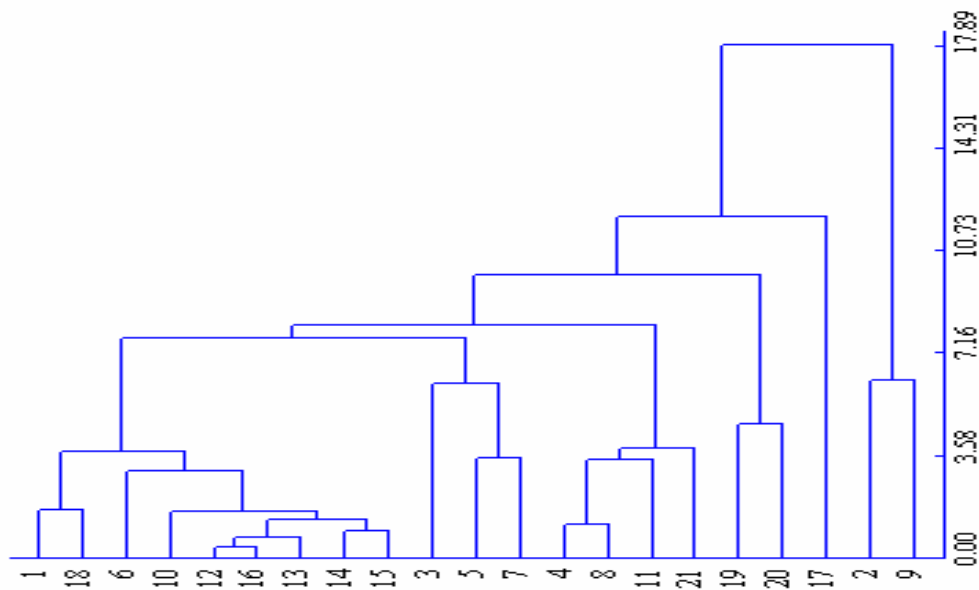


图2 供试葡萄品种聚类图(样品编号见1.1材料)

3 小结

- (1) 品种间叶片形态差异较大,营养系间叶片形态差异不大。
- (2) 供试品种(品系)可聚为三类。聚类结果可将不同品种区分开,但不能很好的区分营养系。因此叶片测量法不适于营养系间的聚类分析。
- (3) 可以考虑用分子标记的方法鉴别营养系。

表 3 欧氏遗传距离

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	0																				
2	2450611	0																			
3	1052869	2223472	0																		
4	946321	1750446	543247	0																	
5	57385	2704914	768051	983654	0																
6	28464	2333607	771066	710647	43749	0															
7	78047	254202	441708	79172	345122	546786	0														
8	8934	1721381	629844	1.11198	99064	676336	83299	0													
9	192649	61399	161126	11.52126	2123749	177819	1940679	1134362	0												
10	498551	2043008	70252	454892	685483	29317	661982	400945	1485459	0											
11	1239711	1631225	594337	296849	1213448	99335	963394	37831	1018464	75006	0										
12	46755	2080363	806497	556204	693139	26653	721862	49286	1538351	1.12202	852915	0									
13	33065	2139723	862556	636118	672946	236222	740887	572163	1605527	188898	93269	080693	0								
14	454176	20117736	83078	534475	759722	333072	77651	462654	148056	130333	830334	068013	125487	0							
15	504413	1950832	89608	549319	848315	417552	864747	465119	1425669	208383	839485	155629	192739	090972	0						
16	375997	2100475	833391	590012	680633	258307	735106	526461	156202	14953	886741	03669	050925	082854	161206	0					
17	593366	3040127	1457427	1499454	7252	790891	1063941	1461765	2522825	1063959	178082	990887	919991	1044466	1097682	963794	0				
18	165573	2299059	1060219	867622	697927	317834	869977	801165	179051	417871	1164362	311585	232404	34138	37045	277749	741149	0			
19	1024394	1565249	1451065	952821	1481067	1043979	1506548	8511	1191968	839161	1147737	795201	808256	732491	642056	793015	1564152	858886	0		
20	1248896	1209716	1291818	7487	1561236	1154481	1476167	66988	7503	876682	834747	892247	943134	826547	75145	907841	1831202	1090081	462374	0	
21	1218349	1360499	899144	39038	1357868	1030978	1181973	369238	76679	74951	371271	813499	88862	765531	733629	842561	1802955	110122	836133	469196	

(样品编号见 1.1 材料)

参 考 文 献

1. P. Galet. *Precis d'Ampelographie Pratique*. Dehan, 1985
2. 尹克林. 利用计算机软件包鉴别鲜食葡萄品种研究. *果树科学*, 1995, 12 (增刊): 41 ~ 45
3. 尹克林. 蛇龙珠与赤霞珠葡萄品种的判别鉴定研究. *西南农业大学学报*, 1998, 20 (3): 207 ~ 211
4. 牛立新, 张延龙. 用方差分析法对葡萄分类性状的评价. *生物数学学报*, 1996, 11 (5): 83 ~ 88
5. 刘三军, 孔庆山. 我国野生葡萄分类研究. *果树科学*, 1995, 12 (4): 224 ~ 227

Studies on the Taxonomy of Grape Varieties and Clones

Xia Hui , Che Xuan and Zhang Zhenwen

(College of Enology, Northwest A & F University, Yangling , Shaanxi 702100 China)

Abstract The leaf characters of 21 clones and varieties of genus *Vitis* were studied with the P. Galet method and clustering analysis for their classification. Results showed: the size and shape of the leaves of varieties varied greatly, but clones didn't. These could be classified into 3 groups. This method is not good used for clones' clustering analysis.

Key words *Vitis*, Leaf characters, Clustering analysis, Variety identification

杨凌地区葡萄主要病害调查

张振文 葛建国 高捷

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 葡萄病害是葡萄生产上严重的自然灾害之一, 往往对葡萄产量及其加工产品的质量造成重大的影响。在 2003 年秋季降水量很大的情况下, 作者调查了陕西杨凌张家岗葡萄试验基地病害发生情况。供试品种(品系)有赤霞珠、品丽珠、黑比诺、霞多丽、梅鹿特等 19 个, 主要病害是葡萄霜霉病、白腐病和炭疽病。结果发现供试品种病害普遍比较严重, 但不同品种之间的抗病性有一定差异。

关键词 葡萄; 病害; 调查

葡萄病害是葡萄生产上严重的自然灾害之一, 往往对葡萄产量及其加工产品的质量造成重大的影响, 如防治不及时, 在一般年份常减产 20~30%, 严重流行年份高达 70% 以上^[4]。

葡萄霜霉病, 起源于美洲, 1870 年因引种抗根瘤蚜的砧木而传入法国, 其后又陆续传至欧洲各地及北非和亚洲各地^[2]。葡萄霜霉病的病原 *Plasmopara viticola* (Bark et Curtis) Berl et de Toni 属于鞭毛菌亚门, 菌丝体在寄主细胞间蔓延, 以瘤状吸器吸取养分, 病菌主要靠游动孢子传播^[8]。一般在 5~6 月开始发生, 8-9 月后逐渐进入盛期, 主要危害植株地上部分的幼嫩组织, 如叶片、新梢等。叶片受感染的初期呈现半透明、边缘不清晰的油渍状小斑点, 后发展为黄色至褐色多角形的斑点, 病斑常相互愈合合成大块, 天气潮湿时在病斑背面产生白色霜霉层, 即病原菌的孢囊梗及孢子囊, 病斑最后变枯。

葡萄白腐病, 又称腐烂病、水烂、穗烂, 是我国北方葡萄产区的一种严重病害。葡萄白腐病病原 *Coniothyrium diplodiella* (Speg.) Sacc. 属于半知菌亚门, 病部长出灰白色小粒点即病菌的分生孢子器^[8]。华东地区一般在 6 月上中旬发病, 华北在 6 月中下旬, 东北在 7 月份, 而杨凌地区在 7 月中旬开始发病。发病盛期一般都在采收前的雨季, 此病害主要危害葡萄的果穗。果穗感病时, 一般先发生在接近地面的果穗尖端, 首先在小果梗或穗轴上发生浅褐色、水渍状、不规则病斑, 逐渐蔓延至整个果粒。果粒发病时先在基部浅褐色软腐, 迅速使整个果粒变褐腐烂, 果面密被灰白色小白点, 严重时常引起整穗腐烂^[7]。

葡萄炭疽病, 又称葡萄晚腐病, 是葡萄的重要病害之一, 我国大部分地区均有发生^[2]。葡萄炭疽病病原 *Clomerella cingulata* (Ston.) Spsuld et Schrenk 属于子囊菌亚门。此病菌的有性阶段, 我国尚未发现, 常见的无性阶段为 *Colletichium gloeosporioides* Penz., 异名为 *Gloeosporium fructigenum* Berk., 属于半知菌亚门^[8]。病斑上的小黑点即病菌的分生孢子盘, 盘上聚生分生孢子梗。一般只发生在葡萄浆果着色或近成熟的果实。着色后的果实发病, 起初在果面上产生针头大的褐色圆形小斑点, 以后斑点逐渐扩大并凹陷, 并逐渐出现轮状排列的小黑点, 即病菌的分生孢子盘。发病严重时, 病斑可以扩大到整个果面, 果粒软腐, 易脱落, 或逐渐干缩成僵果^[6]。

2003 年是陕西 50 多年降水量最大的一个年份，我们对陕西杨凌葡萄酒学院张家岗葡萄试验基地主栽品种（品系）的霜霉病、白腐病和炭疽病的发病情况进行了调查，并对这些品种（品系）的抗病性作了比较，对导致葡萄病害严重发生的因素作了进一步的探讨，希望能对杨凌地区酿酒葡萄品种的栽培有所帮助。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本次调查于 2003 年在葡萄酒学院张家岗葡萄试验基地（ 区和 区）进行。 区于 1999 年定植，株行距 1.3×2.0m； 区于 2000 年定植，株行距 0.65×1.8m。单干双臂整形，中短梢修剪。

供试葡萄品种（品系）共 19 个。

第一区域（ 区）：

赤霞珠（Cabernet Sauvignon）：CS-405、CS-341、CS-191；

黑比诺（Pinot Noir）：PN-521、PN-375、PN-292、PN-115；

霞多丽（Chardonnay）：CH-548、CH-549、CH-277、CH-132、CH-96、CH-76；

梅鹿特（Merlot）。

第二区域（ 区）：

品丽珠（Cabernet Franc）：CF-214、CF-210、CF-312；

爱格丽（Ecolly）和 8804。

1.2 方 法

1.2.1 调查时间

果实病害（白腐病和炭疽病）调查两次，分别在 8 月上旬和下旬进行。

叶片病害主要调查霜霉病，在 8 月上旬和 9 月中旬进行调查。

1.2.2 调查方法

采用自然病害调查法。每一个品种（品系）随机选取 10 株作为调查对象，在每株每个结果枝上随机选 1 个果穗挂牌，共标记 20 个果穗。

（1）调查 10 棵植株结果枝上的总果穗数、发病果穗数。

（2）调查 20 个果穗的总果粒数、发病粒数。

（3）调查挂牌结果枝上的叶片总数、发病叶片数和各叶片发病病斑面积。

1.2.3 记载分析方法

（1）叶片霜霉病

调查叶片总数、病叶数和病斑面积，并按照 Dsaymard “0~10” 分级法^[1]进行记分（表 1）。

表 1 Dsaymard “0~10” 分级法

病斑面积（%）	0	0.1-2.5	2.6-5.0	5.1-15.0	15.1-30	30.1-50	50.1-70	70.1-85	85.1-95	95.1-97.5	97.6-100
分级（记分）	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

计算发病百分率和感病指数：

发病率=(发病叶片数÷调查的叶片总数)×100%；

感病指数={ [病级值×该级感病频率(叶片数)]÷[调查的叶片总数×最高病级值]}×100

（2）果实病害

调查记录果穗总数和发病果穗数，果穗上果粒总数和发病果粒数^[1]。

计算果穗发病率和果粒发病率：

发病率=[发病果穗(粒)数÷调查的总果穗(粒)数]×100%

2 结果与分析

2.1 叶片霜霉病

2003年8月3日的调查结果(表2)表明，供试材料均没有霜霉病的发生。因为7月份自然降水较少，虽然空气温度较高，但湿度比较低，没有霜霉病的发生。

表2 葡萄霜霉病调查结果(2003)

区域	品种 (品系)	8月3日		9月14日				
		叶片总数	发病叶片	叶片总数	发病叶片	最大极值	发病率 (%)	感病指数
	CS-191	157	0	157	47	10	19.94	14.78
	CS-405	155	0	155	114	10	73.55	43.23
	CS-341	120	0	120	92	10	76.67	22.84
	平均		0				56.72	26.95
	CF-214			126	55	9	43.65	23.81
	CF-312			119	57	8	47.90	24.79
	CF-210			114	49	10	42.30	18.77
	平均						44.62	22.46
	PN-521	128	0	128	69	10	53.91	24.69
	PN-375	179	0	179	50	10	27.93	15.64
	PN-115	145	0	145	57	8	39.31	18.45
	PN-292	161	0	161	27	10	16.77	8.45
	平均		0				34.48	16.81
	CH-132	178	0	178	48	10	26.97	12.42
	CH-277	204	0	204	61	10	29.90	14.80
	CH-549	137	0	157	21	7	15.33	9.80
	CH-76	162	0	162	52	10	32.10	18.64
	CH-96	154	0	154	52	10	33.77	15.26
	CH-548	185	0	185	90	6	48.65	23.42
	平均		0				31.12	15.72
	梅鹿特	176	0	176	76	10	43.18	22.84
	CF-312	119	0	119	57	8	47.90	24.79
	CF-210	114	0	114	49	10	42.30	18.77
	CF-214	126	0	126	55	9	43.65	23.81
	平均		0				44.62	22.46
	爱格丽	105	0	105	30	8	28.57	13.55
	8804	116	0	116	32	7	27.59	12.32

2003年9月14日的调查结果表明，葡萄霜霉病已经相当严重。在栽培区中，霞多丽抗病性最强，发病率和感病指数为31.12%和15.72，黑比诺次之，而赤霞珠抗病性最弱，发病率和感病指数达到56.72%和26.95。在霞多丽的各个品系中，CH-549的抗病性最强，发病率和感病指数为15.33%和9.80，CH-548

抗病性最弱，发病率和感病指数达到 48.65%和 23.42。在黑比诺的各个品系中，PN-292 抗病性最强，发病率和感病指数为 16.77%和 8.45，PN-521 抗病性最弱，发病率和感病指数达到 53.91%和 24.69。在赤霞珠的各个品系中，CS-191 抗病性最强，发病率和感病指数为 19.94%和 14.78，CS-341 抗病性最弱，发病率和感病指数达到 76.67%和 22.84。

在栽培区中，8804 抗病性最强，爱格丽次之，品丽珠抗病性最弱。在品丽珠的各个品系中，CF-210 抗病性最强，CF-214 次之，CF-312 抗病性最弱。

2.2 果实病害

果实的主要病害是白腐病和炭疽病。2003 年 8 月 3 日和 8 月 23 日两次对果实病害调查结果的差异很大（表 3）。

8 月 3 日的调查表明，尽管果实病害普遍较轻，但赤霞珠 CS-341 和 8804 比较严重，果穗发病率分别为 10.21%和 9.10%。

8 月 23 日的调查表明，虽然与第一次调查仅隔 20 天，但果实病害已经很严重，绝大多数品种（品系）果穗发病率达到 20%以上，其中爱格丽发病率上升幅度最大，果粒发病率高达 80.57%。在第 1 园区，赤霞珠 CS-405 的抗病性强于 CS-191 和 CS-341，CS-191 和 CS-341 的抗病性相当。在第 2 园区，品丽珠 CF-210 和 CF-312 的抗病性相当，强于 CF-214，8804 次之，爱格丽的抗病性最弱。

表 3 果实白腐病发病初期调查结果（2003）

区域	时间 (月.日)	品种 (品系)	果穗白腐病			果粒白腐病		
			总数	发病数	发病率 (%)	总数	发病数	发病率 (%)
	8.03	CS-191	191	2	1.05	3369	3	0.09
		CS-405	202	11	5.45	2791	26	0.93
		CS-341	284	29	10.21	2013	32	1.59
		平均			5.57			0.87
		CF-210	186	3	1.61	2621	3	0.11
		CF-214	197	10	5.08	2364	21	0.89
		CF-312	118	0	0	1526	0	0
	8.23	平均			2.23			0.33
		爱格丽	179	11	6.15	1857	13	0.70
		8804	132	12	9.10	1787	15	0.84
		CS-191	191	69	36.13	3369	203	6.03
		CS-405	202	52	25.74	2791	67	2.40
		CS-341	284	74	26.06	2013	140	6.95
		平均			29.31			5.13
CF-210	186	36	19.35	2621	80	3.05		
CF-214	197	40	20.30	2364	115	4.86		
CF-312	118	38	32.20	1526	53	3.47		
平均			23.95			3.79		
爱格丽	-	-	-	-	2151	1733	80.57	
8804	132	49	37.12	1787	262	14.66		

3 讨论

(1) 气候对葡萄病害的影响

天气状况对葡萄病害的发生发展影响很大,空气温度高、降水多、湿度大有利于病害的发生。2003年7~9月的降水量明显的高于2001和2002年(表4),2001和2002年7~9月的降水量分别是226.1mm、167.8mm,而2003年7~9月的降水量高达622.9mm,导致葡萄病害严重发生。

2003年进入8月份以后,杨凌地区开始连日降雨,其中8月份降水量300mm,9月份172.4mm,而且温度较高,这就为病害的发生创造了适宜的温度和水分条件。

表4 杨凌区2001年~2003年主要气象资料

月份	2001年				2002年				2003年			
	平均温度 ()	最高温度 ()	最低温度 ()	降雨量 (mm)	平均温度 ()	最高温度 ()	最低温度 ()	降雨量 (mm)	平均温度 ()	最高温度 ()	最低温度 ()	降雨量 (mm)
7	27.7	33.3	21.9	80.8	27.2	32.6	21.2	20.4	25.4	30.4	21.4	149.5
8	24.2	28.7	20.3	53.3	25.2	29.7	20.1	62.7	22.5	25.7	19.6	300.0
9	18.3	22.6	15.8	92.0	19.6	25.1	15.2	84.7	19.8	23.9	16.5	173.4
合计				226.1				167.8				622.9

(2) 品种与葡萄病害

品种由于其本身的抗病性和成熟期不同,发生病害的严重程度存在较大差异。爱格丽和8804对葡萄霜霉病有较强的抗性,发病最严重时,叶片发病率低于30%,感病指数小于14%,但对果实病害(白腐病和炭疽病)的抗性较弱,果粒发病率达到80.57%和51.78%,远高于其他品种(品系)。爱格丽和8804是中熟品种(品系),而赤霞珠和品丽珠都是晚熟品种,8月份的多雨天气正是爱格丽和8804进入转色期的关键时期,此时最易感病。

参 考 文 献

1. 张振文.葡萄品种学.西安:西安地图出版社,2000
2. 李 华.葡萄集约化栽培手册.西安:西安地图出版社,2001
3. 贺普超.葡萄学.北京:中国农业出版社,1999
4. 单洪友,单于.多雨季节的葡萄病害防治.NORTHERN FRUITS,2002,(4):23~25
5. 魏长存,刘凤之,王宝亮.葡萄白腐病和霜霉病药剂防治实验.落叶果树(DECUDOUS FRUITS),2003,(4):21~22
6. 李华彬,屈怀芳.葡萄炭疽病的发生及防治.果树实用技术与信息,2004,(3):34~35
7. 孙执中,王颖颖.葡萄白腐病的发生与防治.果树实用技术与信息,2004,(4):35~37
8. 薛泉宏.微生物学.西安:世界图书出版公司,2000
9. 王海燕.黄河故道地区葡萄果穗白腐病发生流行的时间动态.果树科学,1999,16(2):123~125

Investigation of Grape Disease in Yangling

Zhang Zhenwen , Ge Jianguo and Gao Jie

(College of Enology , Northwest A&F University , Yangling , ShaanXi , 712100 China)

Abstract The grape disease is one of the most serious natural disasters in grape cultivation, it has an important influence on the quality of grape berry and processed products. The grape disease occurred in August and mid-September, 2003 in Zhangjiagang Yangling. The main disease is frost mildew for the varieties(clones) of Merlot, Pinot Noir, Cabernet Sauvignon. The result showed that disease were serious, but there were different resistant-disease among the sample varieties (clones).

Key words Grape, Diseases, investigation

葡萄白粉菌离体叶片培养研究

杨永锋¹ 李 华¹ 马 青² 宋士任¹

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100

²西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 以苯丙咪唑、三唑酮、6-BA、IAA 作为保绿剂, 分别以脱脂棉、滤纸、水琼脂培养基为载体进行葡萄白粉菌的离体培养, 结果表明在四种保绿剂中, 苯丙咪唑的保绿效果最好, 且叶片的感病进程和感病级数均高于对照型。其次是三唑酮、6-BA, IAA 效果较差。苯丙咪唑的最适使用浓度在 30~50 mg·L⁻¹ 之间。以幼嫩的叶片培养白粉菌效果最佳。在三种衬垫物中, 脱脂棉的效果最好。

关键词 葡萄; 白粉菌; 离体培养

葡萄白粉病是严重危害葡萄生长的病害之一。它是由葡萄白粉菌 (*Uncinula necator* Schw. Burr) 感染葡萄叶片、果实以及枝条所形成的。葡萄白粉菌属于专性寄生菌, 目前研究证明它只能在鲜活的组织材料上生长。因此, 其培养和保藏十分困难。但是, 在抗病育种以及对葡萄白粉菌的生物学特性、病害发生的流行规律及防治措施的研究中, 需要大量的病原菌作为侵染材料; 同时对葡萄白粉菌的生理特性、生理分化及其毒性的研究中, 也需要对白粉菌进行培养、观察和保藏。所以葡萄白粉菌的培养与保藏已经成为亟待解决的问题。在小麦抗病育种的研究中, 许多研究者在采用离体叶片鉴定小麦病害方面做过深入而系统的研究, 表明离体叶片培养菌体是非常有效的途径^[1-6]。李华 (1999) 曾提出利用离体的葡萄圆叶片接种田间新鲜的白粉菌孢子, 并认为这是一种快速简便、鉴定大量材料的有效方法^[7]。因此, 本研究通过几种保绿剂和衬垫物以及不同叶龄的葡萄叶片之间的有效组合, 研究其最佳的衬垫物和最佳保绿剂及其最适使用浓度, 从而构建一套比较完善的适宜于葡萄白粉菌离体培养的方法, 为葡萄抗病育种和抗性材料鉴定奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试葡萄品种

霞多丽, 易感病品种, 叶片采自西北农林科技大学葡萄酒学院酿酒葡萄基地四年生葡萄树

1.1.2 供试菌种

采集葡萄种植园中新鲜的白粉菌孢子

1.1.3 供试药剂

苯丙咪唑、三唑酮、6-BA、IAA。根据不同药剂设定相应的使用浓度, 其中苯丙咪唑的浓度设为 10、

30、50、70、90 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，三唑酮设为 10、20、30、40、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，6-BA 设为 25、50、75、100、150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，IAA 设为 10、20、30、40、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.1.4 衬垫物

定量滤纸（双层），脱脂棉和 2%水琼脂培养基。定量滤纸和脱脂棉在紫外灯下进行灭菌。2%水琼脂培养基在灭菌后倒平板前加入上述保绿剂，制成平板备用。

1.2 方法

1.2.1 叶片灭菌

采集新鲜的葡萄叶片，先用无菌水冲洗三遍，然后用 70%酒精浸泡 30 秒，用无菌水冲洗三遍，再用 10% 84 消毒液浸泡 5 分钟，用无菌水冲洗三遍，在无菌状态下晾干备用。

1.2.2 发病程度和保绿效果记录方法

病害发生程度采用 Desaymard 分级法进行记载^[7]，以病斑占总叶面积的百分比表示，分为 10 级。对于葡萄叶片变黄的过程，按绿、始黄（叶片稍有褪绿）、微黄（叶片褪绿较重，黄色叶面积小于全叶面积的 1/3）、轻黄（黄色叶面积达到全叶的 1/3 ~ 2/3）、黄（黄色叶面积达 2/3 以上），共 5 级记载^[2]。

1.2.3 处理和接种

1.2.3.1 衬垫物的选择

采摘新鲜幼嫩的葡萄叶片，进行灭菌处理后，将叶片正面朝上，分别置于加有 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 苯丙咪唑的定量滤纸、脱脂棉、2%水琼脂培养基上，用撒粉法接种。接种后在 20 ± 1 、光照大于 3000lx 的条件下进行 16 小时光培养，每 3 天记录一次发病程度、保绿程度及保绿时间。实验重复 10 次。

1.2.3.2 保绿剂的选择

采摘新鲜幼嫩的葡萄叶片，进行灭菌处理后，将叶片正面朝上，以脱脂棉为衬垫物，分别以上述不同浓度水平的药剂作为保绿剂，用撒粉法接种。接种后在 20 ± 1 、光照大于 3000lx 的条件下进行 16 小时光培养，每 3 天记录一次发病程度、保绿程度及保绿时间。实验重复 3 次。

1.2.3.3 不同叶龄叶片的选择

分别采摘梢尖以下第三片、第六片的新鲜葡萄叶片，进行灭菌处理后，将叶片正面朝上，分别置于加有 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 苯丙咪唑的脱脂棉上，用撒粉法接种。接种后在 20 ± 1 、光照大于 3000lx 的条件下进行 16 小时光培养，每 3 天记录一次发病程度、保绿程度及保绿时间。

2 结果与分析

2.1 衬垫物对离体叶片培养的影响

表 1 为接种 15 天后离体叶片的失绿程度和发病程度。对实验结果进行方差分析，结果表明：从田间采集的幼嫩叶片在三种衬垫物上接种培养，各处理在叶片保绿效果方面存在显著性差异，在致病性方面存在极显著性差异。由于滤纸吸附能力相对于脱脂棉较差，叶片与保绿剂接触紧密，导致叶片不能自由呼吸，短时间内失绿，在第 6 天几乎大部分叶片死亡，不能形成典型的症状。以水琼脂培养基为衬垫物的叶片，由于培养基易受污染，叶片感染了大量的杂菌，无法对其进行正确的评价。从发病速度和保绿效果出发，以脱脂棉为衬垫物的综合效果最好。

2.2 不同保绿剂对离体叶片培养的影响

实验结果表明四种保绿剂的保绿效果以及病害发生程度和进程不同。通过方差分析，得出在四种保绿剂中，苯丙咪唑的保绿效果最好，且病害的发展进程和严重度均高于对照。其次是三唑酮、6-BA，IAA 效

果较差。由于苯丙咪唑和三唑酮本身是一种杀菌剂，所以浓度低的时候，叶片表现出发病速度快，症状明显，过高的浓度会造成叶片受伤或死亡，从而失去保绿效果；苯丙咪唑在浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，第 15 天时叶片保绿面积仍然达到 90% 以上，并且浓度在 $30 \sim 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间，叶片保绿效果最佳。

2.3 不同叶龄叶片对离体叶片培养的影响

表 2 是梢尖以下第三片叶和第六片叶的失绿程度和感病级数。通过对实验结果进行方差分析，幼叶和老生叶片在对叶片失绿和病害的发生程度的影响存在显著性差异。在第 12 天时，第三片叶几乎没有褪绿，并且感病级数达到 5 级；第六片叶微黄，感病级数低于第三片叶。在叶片整个感病过程中，第三片叶上白粉菌生长速度很快，而且感病级数很高，有利于对葡萄白粉菌的培养；而在第六片叶片上，白粉菌的生长速度很慢，叶片感病面积小且扩展速度慢，不适宜白粉菌的生长。

表 1 不同衬垫物对离体叶片保绿、葡萄白粉菌发生的影响

衬垫物	1		2		3		4		5	
	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病
滤纸	2	4	5	0	2	2	3	1	3	0
脱脂棉	1	5	5	0	1	5	3	1	1	3
水琼脂	2	5	5	0	3	5	4	2	1	0
对照	1	6	5	0	1	3	4	1	5	0

续表 1 不同衬垫物对离体叶片保绿、葡萄白粉菌发生的影响

衬垫物	6		7		8		9		10	
	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病	失绿	感病
滤纸	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0
脱脂棉	4	4	4	4	4	0	5	0	4	2
水琼脂	3	1	1	5	1	1	3	3	3	4
对照	5	0	5	0	5	0	3	0	5	0

表 2 不同叶龄叶片对离体叶片保绿、感病的影响

培养时间(天)	第三片叶		第六片叶	
	失绿	感病	失绿	感病
12	1	5	3	4
15	2	7	3	4
18	3	7	3	4
21	4	7	3	4

3 结论与讨论

(1) 实验通过以苯丙咪唑、三唑酮、6-BA、IAA 作为保绿剂，对葡萄白粉菌进行离体培养的研究，形成了一套有效的葡萄白粉菌离体培养的方法。与常规方法相比，离体叶片培养的条件易于控制，剪取叶片的树体仍能正常生长。省时省力，而且可以稳定地对品种和菌种进行抗性和毒性的鉴定，减少环境条件的误差。同时，抗性和毒性的鉴定工作不受季节的限制，可提高工作效率。该方法还可以用于药效

的测定研究,具有较强的应用价值。

(2) 实验表明在四种保绿剂中苯丙咪唑保绿效果以及叶片发病状况达到最好,其最适使用浓度为 $30 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(3) 不同叶龄的离体叶片培养葡萄白粉菌均能完成病程,但是幼嫩的叶片发病速度快,以顶尖以下第三片叶作为载体效果较好,而且感病级数很高,适合于培养葡萄白粉菌。

(4) 在葡萄叶片离体培养中,不同衬垫物对葡萄叶片的保绿和葡萄白粉菌的生长影响很大。离体叶片的生长不仅需要水分而且需要保持叶片不被杂菌污染。由于水琼脂培养基上容易生长其他微生物,极易污染葡萄叶片,不易完成病程。因此,水琼脂不宜作离体培养的衬垫物。从发病速度和保绿效果出发,以脱脂棉为衬垫物的综合效果达到最好。

参 考 文 献

1. 杨文香,田平素,黄燕等.小麦叶锈菌离体培养研究.河北农业大学学报,2001,4(24):58~61
2. 何文兰,宋玉立,张忠山等.用小麦离体叶段鉴定抗白粉病性的方法.作物学报,1998,24(6):916~918
3. 黄振涛,姚平,吴友三.1984年全国小麦秆锈菌生理小种系分析及寄主离体叶培养鉴定法的应用.沈阳农业大学学报,1986,17(2):21~26
4. 唐伯让,朱文珍,孟繁华.小麦离体叶段鉴定白粉菌抗性方法的研究.植物保护学报,1995,22(4):311~314
5. 彭生平,余毓君.小麦品种赤霉病抗性的叶片接种鉴定方法研究.湖北农业科学,1987,12:16~18
6. 石明旺,任敏,王运兵等.小麦抗白粉病离体鉴定与药剂的选择.河南职业技术师范学院学报,2002,28(4):1~3
7. 李华主编.葡萄优质抗病育种-理论与方法研究.北京:中国农业出版社,1999
8. M.Miazzi.,P.Natale.,S.Pollastro.,F.Faretra.,1997.Handing of the Biotrophic Pathogen *Uncinula Necator* (schw.)Burr. under Laboratory Conditions and Observation on its Mating System. Journal of Plant Pathology.78(1):71~77

Study on the Detached-leaf Method of Culturing *Uncinula necator*

Yang Yongfeng¹, Li Hua¹, Ma Qing² and Song Shiren²

(1.College of Enology, North-west A&F University, Yangling, Shaanxi 712100 China;

2.College of plant protection, North-west A&F University, Yangling, Shaanxi 712100 China)

Abstract The detached-leaves were treated respectively by different concentration of benzimidazole, triadimefon, 6-BA, IAA which were absorbed in absorbent cotton, filter, and 2% water agar. The results showed that benzimidazole had the best effect on the greenness preservation. The speed of *Uncinula Necator* infecting is faster than that appeared on control leaves. Triadimefon and 6-BA were better than IAA. The optimum concentration of benzimidazole was $30 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Younger leaves gave better results than older ones. In three

kinds of pads, the absorbent cotton gave the best effect although water-agar gave the best results anyway.

Key words Grape, *Uncinula Necator*, Detached-leaf

葡萄霜霉病原孢子囊萌发特性及其多元回归分析

郭明浩 李华 杨永锋

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 葡萄霜霉病原菌孢子囊萌发并释放游动孢子是造成病害侵染流行的重要因素, 本文研究了孢子囊在不同温度及保湿时间下的萌发情况, 结果表明孢子囊在5-27 范围内均能萌发, 最适温度是15-25 , 2h就可以释放游动孢子, 而4 以下及28 以上则不能萌发。用SAS软件中的GLM程序对试验数据进行趋势面分析并对回归模型进行最优化。经显著性检验, 最优模型 F 值为65.03 ($p < 0.0001$), 达极显著水平, 复相关系数 R^2 为0.906417, 模型预测准确度为84.53%, 拟合效果较好, 这一模型为霜霉病的预测预报及合理防治提供了理论基础和参考依据。

关键词 葡萄霜霉病; 孢子囊; 萌发; 多项式; 模型

葡萄霜霉病[*Plasmopara viticola* (Berk et Curtis) Berl et deToni]属于专性寄生病害, 是危害葡萄最严重的真菌病害之一, 主要侵染植株的叶片、嫩梢和幼果等组织, 如果防治不及时, 会造成严重的经济损失。

葡萄霜霉病属于多循环病害, 病原菌以卵孢子的形式随病组织在土壤中越冬, 第二年春季在适宜的条件下, 成熟的卵孢子就会萌发形成孢子囊并释放游动孢子, 游动孢子借风雨传播, 通过叶背气孔侵入。经过一定的潜育期形成初次病斑, 自初次病斑上伸出孢子囊梗和孢子囊, 孢子囊萌发释放的游动孢子又通过雨露进行再侵染。在整个生长季中, 只要条件适宜, 病菌无性孢子就会不断进行重复侵染, 使病害流行。到目前为止, 国内学者对于葡萄抗病育种已作了较多的工作^[1], 但对于病害的预测预报方面的研究却比较欠缺, 本文通过研究陕西杨凌地区霜霉孢子囊在不同温度及保湿时间下的萌发特性及其回归模型, 以期对霜霉病的预测预报及合理防治研究提供参考和依据。

1 材料和方法

1.1 供试菌种

本研究所用材料为欧洲种酿酒葡萄梅鹿特 (Merlot) 感霜霉叶片, 采自西北农林科技大学葡萄酒学院酿酒葡萄基地, 取其新鲜夏孢子囊备用。

1.2 不同温度及保湿时间下孢子囊的萌发率

用毛刷将病叶上的新鲜夏孢子囊刷下, 用无菌水配成孢子囊悬液 (在低倍镜下以每视野中有 20-40 个孢子囊为宜), 滴于保湿培养皿中的凹玻片上, 分别置于 4-28 间的 9 个温度下培养, 每隔 2、4、6、8、12 和 24h 后镜检孢子囊的萌发率, 每次检查 300 个孢子囊, 重复 3 次。

1.3 回归模型的建立及检验

以 X_1 代表温度, X_2 代表保湿时间, Y 代表孢子囊萌发率, 分别绘制因变量随各自变量变化的散点图以

确定其线性关系，并用 SAS 6.12 统计分析软件中的 GLM 程序进行一阶、二阶、三阶和四阶的趋势面模型分析，找出拟合数据的最适回归模型并对其进行最优化^[2,3,4]，预测准确度的评价采用最大误差参照法^[5]。

2 结果与分析

2.1 孢子囊萌发情况

从试验结果（表 1）可以看出孢子囊在 5-27 范围内均能萌发，而 4 以下及 28 以上则不能萌发，最适温度范围是 15-25，2h 内就可以大量萌发，8-10h 内几乎可达到 100%，而孢子囊在温度过高或过低的情况下都需要较长的萌发时间。这一结果说明生长季中雨露较重、相对低温的天气有利于孢子囊的萌发，高温及干燥的气候不利于霜霉病的发生和侵染，但植株枝叶过密，通风透光不良也会导致发病较重。

表 1 葡萄霜霉病原孢子囊的萌发率

温度 ()	萌发率 (%)					
	2h	4h	6h	8h	12h	24h
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	43.1	64.9	71.3
10	0	25.1	33.1	57.9	60.0	65.8
15	44.5	55.0	59.3	63.4	64.3	70.5
20	36.5	82.5	87.0	88.1	91.6	94.6
25	77.8	91.5	93.7	97.8	98.1	98.8
26	34.4	36.9	41.0	48.0	52.2	55.0
27	0	0	10.5	15.8	22.0	23.7
28	0	0	0	0	0	0

2.2 回归模型的建立和检验

各因变量与萌发率之间的数值规律呈非线性（通过绘制散点图得出），从趋势面分析结果（表 2）可以看出一阶趋势面模型不显著，进一步说明了自变量和因变量间的非线性关系。除一阶模型之外的其他三种模型都达到极显著（ $p < 0.0001$ ），但是四阶模型判定系数较大，且误差平方根和偏态系数都相对较小，最终确定模型采用四阶回归分析。

表 2 四种趋势面模型比较

趋势面模型	概率 P 值 Pr > F	判定系数 R-Square	偏态系数 Coeff Var	误差平方根 Root MSE
一阶	0.0751	0.096552	85.91216	34.29645
二阶	0.0001	0.575693	60.68865	24.22713
三阶	0.0001	0.734644	50.12756	20.01111
四阶	0.0001	0.836233	41.82822	16.69798

上述四阶模型虽然达到极显著水平，但是各次项的偏态系数测验表明，有多项未达到显著水平，不是最优的回归模型。此外，截距的测验也不显著（ $P = 0.0522$ ），为得到更加稳健的结果，规定方程中不含有截距，用 GLM 程序依次从方差贡献最小的开始逐一剔除不显著项，直至所有项都达到显著水平，最优模

型的参数估计见表 3，方差分析见表 4。由原变量建立的最优回归方程为：

$$Y = -0.812854444X_1^2 + 1.242142582X_1X_2 + 0.092637917X_1^3 - 0.043415967X_1^2X_2 + 0.034530089X_1X_2^2 - 0.002284849X_1^4 + 0.001205367X_1^2X_2^2$$

表 3 最优模型的参数估计

变量	参数估计	标准误差	T 值	概率值
Parameter	Estimate	Std Error of Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T
X1*X1	-0.812854444	0.26118575	-3.11	0.0032
X1*X2	1.242142582	0.32340930	3.84	0.0004
X1*X1*X1	0.092637917	0.02051024	4.52	0.0001
X1*X1*X2	-0.043415967	0.01308797	-3.32	0.0018
X1*X2*X2	0.034530089	0.01208826	-2.86	0.0064
X1*X1*X1*X1	-0.002284849	0.00040848	-5.59	0.0001
X1*X1*X2*X2	0.001205367	0.00048852	2.47	0.0173

表 4 最优模型的方差分析

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	概率值
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	138188.6600	19741.2371	65.03	0.0001
Error	47	14267.2500	303.5585		
Total	54	152455.9100			

通过显著性检验，此最优模型达极显著水平，除 $X_1 * X_1 * X_2 * X_2$ 这一项的系数在0.05水平上显著外，其他各项系数均在0.01水平上达到极显著，复相关系数 R^2 为0.906417。根据最大误差参照法，用全部实测及模型预测值检验该模型，其预测准确度为84.53%（图1）。通过MATLAB^[6]中三维图绘图程序绘制出回归方程的空间立体图（图2），由图可以明显地看出萌发率随温度和保湿时间的变化趋势，15-25 为萌发高峰范围，温度在25 以下时，萌发率随温度升高而增大，而25 以上则呈逐渐下降趋势，在温度过高或过低时，孢子囊萌发需要较长的保湿时间。

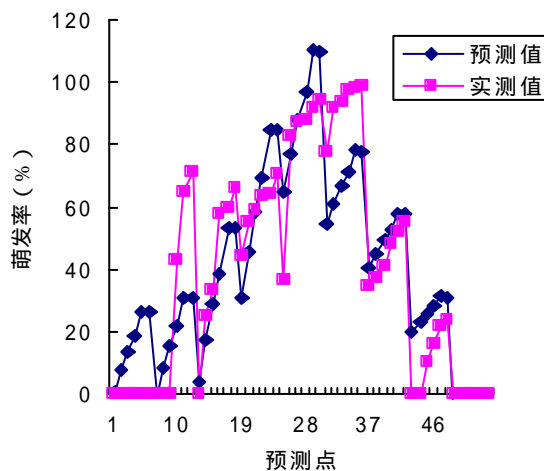


图 1 葡萄霜霉孢子囊萌发率实测值和预测值

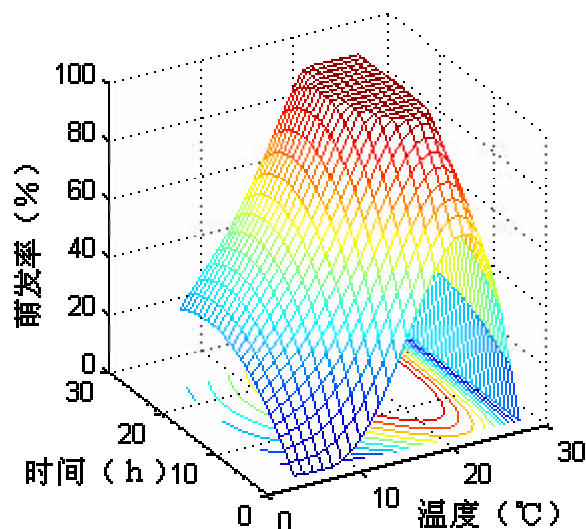


图2 萌发率随温度和保湿时间的变化趋势

3 讨论

本试验确定了酿酒葡萄霜霉病原菌孢子囊萌发的具体温度范围及最适萌发温度，而常永义的研究结果^[7]表明最适温度范围为10-20，35以上仍能萌发^[7]，与本试验结果不一致，这可能是由于病原菌在不同地域和品种上的致病力差异造成的。

本研究所构建的回归模型通过复相关系数、各次项系数及整体方程显著性检验及预测准确度的验证，表明此模型是符合要求的，真实地反映了原有的数据信息，但是只是反映了原有数据集的大部分信息，在模型的构建过程中不可避免地丧失了部分信息，其预测准确度还可以通过其他手段如人工神经网络来进一步完善。

此模型拟合效果较好，可以用于葡萄霜霉病原孢子囊的萌发预测，但是在霜霉病的发生及流行预测中只能作为一个子模型应用，其他如初次侵染、孢子侵染率、显症率等预测模型有待于今后深入系统地研究，以便于葡萄霜霉病整体预测模型的构建和应用。

参 考 文 献

1. 李华编著.葡萄优质抗病育种-理论和方法研究.北京:中国农业出版社,1999
2. 胡小平,王长发编著.SAS基础及统计实例教程.西安:西安地图出版社,2001
3. 阮桂海编著.SAS统计分析实用大全.北京:清华大学出版社,2003
4. 袁志发,周静芋著.多元统计分析.北京,科学出版社,2002,148~149
5. 肖悦岩.预测预报准确度评估方法的研究.植保技术与推广.1997,(4):3~6
6. 王沫然编著.MATLAB与科学计算.北京:电子工业出版社,2001
7. 常永义,朱建兰.全球红葡萄霜霉病防治及病菌生物学特性研究.中外葡萄与葡萄酒.2001,(1):17~20

Germination Characteristics and Multiple Regression Analysis of Sporangia, *Plasmopara viticola*

Guo Minghao , Li Hua and Yang Yongfeng

(College of Enology , Northwest Agriculture & Forestry University , Yangling , Shaanxi, 712100 China)

Abstract Germination of sporangia from *Plasmopara viticola* to release zoospores is crucial to conduce new infections and disease epidemic. Under incubation conditions of different temperatures and wetness duration, release of zoospores from sporangia was observed microscopically. The results showed that sporangia can germinate between 5 to 27 °C, optimum is 15 to 25 °C, germination of sporangia can occur within 2 hours and it can not germinate when temperatures below 4 °C and above 28 °C. GLM programme of SAS was applied to progress trend analysis and optimize polynomial regression model. The coincidence degree of optimal model is satisfactory, $F=65.03$ ($p<0.0001$), $R^2=0.906417$. The prediction accuracy is 84.53% and accordingly provide theoretical foundation and reference for the disease prediction and reasonable fungicide spray of grape downy mildew.

Key words *Plasmopara viticola*; sporangia; germination; polynomial; model

葡萄酒苹果酸-乳酸发酵过程中 *Oenococcus oeni* 31DH 和 *Oenococcus oeni* SD-2a 的代谢分析

刘树文 李 华

(西北农林科技大学葡萄酒学院 陕西杨凌 712100)

提 要 本文通过考察苹果酸-乳酸发酵过程中葡萄糖、乙醇、有机酸和氨基酸含量的变化,分析葡萄酒的苹果酸-乳酸发酵过程中 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 的代谢。结果表明:柠檬酸与葡萄糖存在共代谢,且代谢产物主要为乳酸;葡萄糖、果糖的代谢副产物主要是乙酸;经 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 发酵后的葡萄酒中酒酒球菌的数量和有机酸、乙醇、葡萄糖及果糖的含量无显著性差异,但部分氨基酸的含量存在显著性差异,且后者氨基酸的生成量明显高于前者,这表明 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 的碳代谢存在较大的差异。

关键词 葡萄酒;苹果酸-乳酸发酵;*O. oeni* 31DH;*O. oeni* SD-2a;代谢分析

苹果酸、酒石酸是葡萄酒的两大固定酸,其中酒石酸可通过冷冻处理或碳酸钙等化学降酸的方法在装瓶前除去,然而苹果酸无法用这两种方法除去,又由于其具有两个羧基,酸味尖刻、生硬,且易被酒中的微生物分解^[1,2,3,4]。因此,方便、有效地除去葡萄酒中的苹果酸深受葡萄酒生产厂家和科研人员关注。苹果酸-乳酸发酵(Malolactic Fermentation, MLF)是生产优质葡萄酒,尤其是优质干红葡萄酒必须进行的工艺。

在苹果酸-乳酸发酵过程中,由于葡萄酒的高酒精度、低 pH 值、高 SO₂ 含量、氨基酸之间的拮抗作用,常使得苹果酸-乳酸发酵出现酸败等不正常的现象,因此对接入的酒酒球菌的适应能力要求较高。不同的酒类酒菌在苹果酸-乳酸发酵过程中产生的代谢产物不一样,代谢产物的综合作用使得葡萄酒表现出不同的风味,这是评价菌种的优劣重要依据。

在苹果酸-乳酸发酵过程中,由于 L-苹果酸的分解和 L-乳酸的产生并不完全符合化学计量关系^[5,6],而且苹果酸-乳酸发酵过程中的能量产生途径的研究还不详尽,因此本研究主要从葡萄糖、果糖、有机酸、乙醇、氨基酸等代谢物的含量变化上分析 *Oenococcus oeni* 31DH 和 *Oenococcus oeni* SD-2a 的代谢,验证并解释苹果酸-乳酸发酵过程中的实验现象,为优选苹果酸-乳酸菌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种

O. oeni 31DH 是由中国食品发酵研究所提供, *O. oeni* SD-2a 由葡萄酒学院选育和保藏。

1.1.2 供试酒样

酒精发酵已经结束但未经 MLF 的干红葡萄酒。

1.2 试验方法

1.2.1 苹果酸-乳酸发酵

酒精发酵结束后, pH 值为 3.80, 立即接入已培养好的酒酒球菌, 接种量为 5% (v/v), 进行苹果酸-乳酸发酵。

1.2.2 葡萄酒成分分析

总糖与还原糖的测定: 直接滴定法; 酒精度的测定: 酒精计法; 苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸的测定: 高效液相色谱法; 氨基酸的测定: 氨基酸分析仪。

2 结果与分析

2.1 *Oenococcus oeni* 31DH 和 *Oenococcus oeni* SD-2a 的碳源代谢网络的建立

据报道, 苹果酸-乳酸菌在苹果酸-乳酸发酵过程中不是通过三羧酸循环 (TCA) 来获取细菌生长繁殖所需的能量, 而是通过异型乳酸发酵来获取能量的, 且代谢终产物为乙酸、乙醇、乳酸、二氧化碳和水^[3,6,7,8]。在葡萄酒中, 葡萄糖和果糖同时存在, 苹果酸-乳酸菌对两者同时分解, 进行共代谢 (co-metabolism)^[3]; 而且, 柠檬酸和可发酵糖同时存在时, 苹果酸-乳酸菌可以分解代谢柠檬酸生成乳酸以及双乙酰、乙偶姻等风味物质, 对葡萄酒的感官品质产生重要影响^[3]。

酒酒球菌在葡萄酒中进行苹果酸-乳酸发酵的代谢途径非常复杂, 但有些代谢途径的代谢底物和产物的含量非常低, 忽略这些代谢途径并不影响最终的分析结果, 因此, 为方便代谢分析简化代谢途径, 建立酒酒球菌的碳代谢网络图 (见图 1)。

2.2 *Oenococcus oeni* 31DH 和 *Oenococcus oeni* SD-2a 的代谢分析

2.2.1 葡萄酒中酵母菌及酒类酒球菌活菌数的变化

在酒精发酵后, 葡萄酒中酵母菌数为 $100 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$, 葡萄糖和果糖的含量分别为 8.81 和 1.17 mmol/L, 此时分别接入 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a, 且葡萄酒中的酒酒球菌的数量为 $5 \times 10^7 \text{ cfu/mL}$ 。从表 1 可知, 酒酒球菌的数量远远高于残存酵母菌的数量, 在苹果酸-乳酸发酵结束时酒酒球菌的数量虽没有显著增加, 但酵母菌的数量已显著减少, 这表明在此阶段酵母菌处于衰亡期, 其代谢活力大大低于酒酒球菌, 因此可忽略酵母菌对苹果酸-乳酸发酵的影响。

表 1 苹果酸-乳酸发酵启动和结束时葡萄酒中活菌数的变化

酒样	发酵启动时的活菌数($\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$)		发酵结束时的活菌数($\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
	酵母菌	酒酒球菌	酵母菌	酒酒球菌
31DH	1×10^2	5×10^7	1.03×10^1	5.7×10^7
SD-2a	1×10^2	5×10^7	0.98×10^1	5.6×10^7

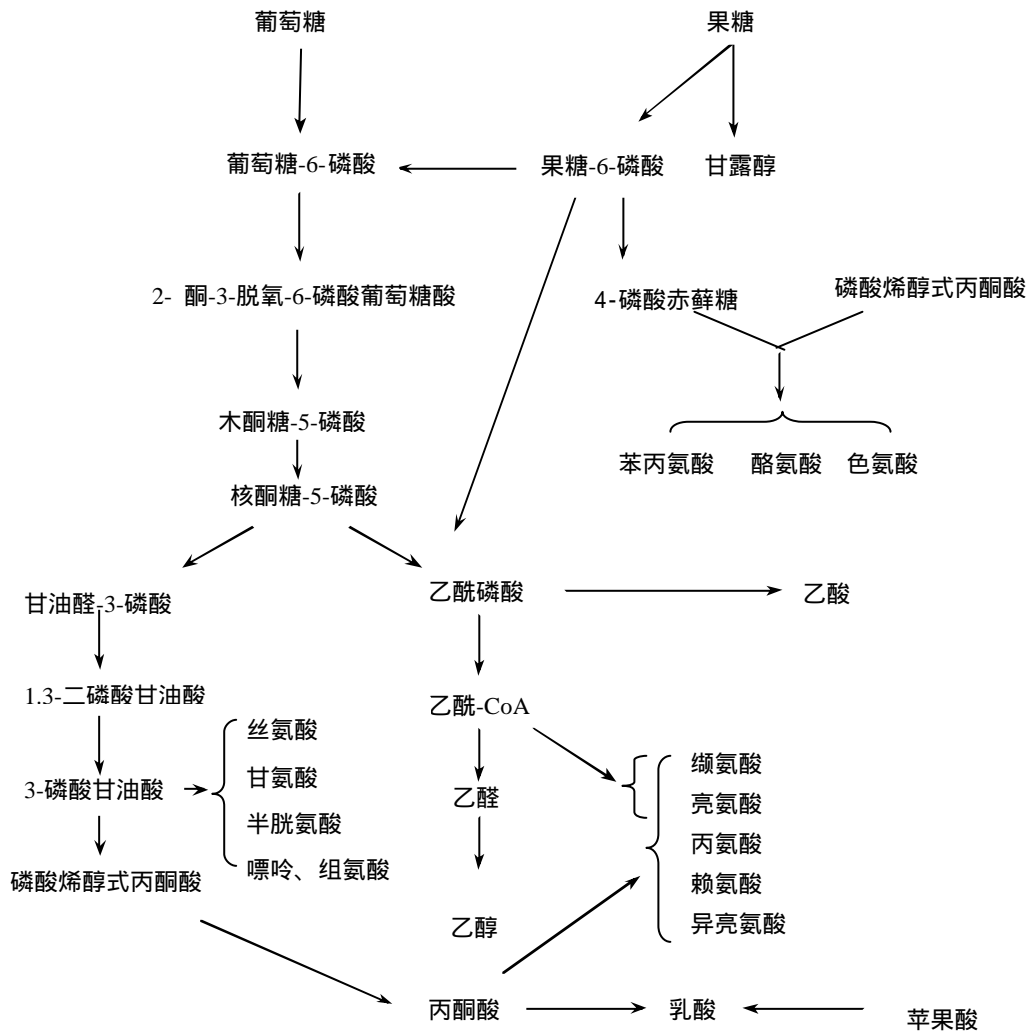


图 1 酒类酒球菌己糖异型发酵过程中的碳流代谢网络图

2.2.2 葡萄酒中可发酵糖、乙醇及有机酸的代谢

从表 2 可知，经过苹果酸-乳酸发酵后，葡萄糖、果糖、柠檬酸、苹果酸的含量显著减少，乳酸含量显著增加。葡萄酒中苹果酸的降解对提高细菌适应低 pH 环境有重要的生理意义，同时也提高了糖代谢速度，当苹果酸作为能源物质被分解完后，细菌也提高了其对葡萄糖代谢生成乳酸的产率^[9,10]；在葡萄酒的低 pH 条件下，当基质中无可发酵糖时，酒酒球菌几乎不分解柠檬酸，而当有可发酵糖存在时，细菌对柠檬酸和葡萄糖的分解代谢速度都提高，其代谢终产物主要是乳酸。这一实验结果进一步说明葡萄糖和果糖、柠檬酸和可发酵糖都存在共代谢^[11,12]。

在此过程中，乙醇、酒石酸、琥珀酸的含量无显著变化，而乙酸的含量增加了 1 倍，其可能是在苹果酸-乳酸发酵过程中只通过倒罐来提供酒酒球菌生长所需的氧气，导致溶氧较低，可发酵糖等氧化不充分，从而产生大量的乙酸，乙酸的大量生成则表明可发酵糖产生的能量少，供给酒酒球菌生长繁殖的能量少，*O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 的数量变化进一步证明了这一点。

葡萄酒经 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 发酵后, 其中的葡萄糖、果糖、乙醇及有机酸的含量均无显著性差异, 这表明要研究这两株酒酒球菌的发酵特性, 还需要对影响葡萄酒质量的氨基酸代谢进行研究。

表 2 苹果酸-乳酸发酵前后葡萄酒中可发酵糖、有机酸和乙醇含量的变化

酒样	葡萄糖 (mmol/L)	果糖 (mmol/L)	苹果酸 (mmol/L)	乳酸 (mmol/L)	酒石酸 (mmol/L)	柠檬酸 (mmol/L)	琥珀酸 (mmol/L)	乙酸 (mmol/L)	乙醇 (mmol/L)
原酒	8.86	1.17	24.9	—	15.0	2.7	14.9	4.8	0.26
31DH	6.35	0.84	5.8	52.7	16.6	1.3	13.4	8.2	0.26
SD-2a	6.31	0.83	5.4	53.7	15.8	1.5	14.8	8.0	0.26

2.2.3 葡萄酒中氨基酸的代谢分析

在苹果酸-乳酸发酵过程中, 氨基酸也发生着合成或分解代谢, 不同菌种的代谢产物及含量也不同。从表 3 可知, 只有经 *O. oeni* 31DH 发酵后葡萄酒中组氨酸和精氨酸的含量降低了, 其他氨基酸的含量都有所增加; 经 *O. oeni* 31DH 发酵的葡萄酒中只有亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、谷氨酸的含量显著增加, 而经 *O. oeni* SD-2a 发酵的葡萄酒中赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、缬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丝氨酸的含量显著增加。这 17 种氨基酸中, 苏氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、天冬氨酸是通过草酰乙酸转化生成的, 脯氨酸、谷氨酸、精氨酸是通过 α -酮戊二酸转化生成的。*O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 的氨基酸代谢存在较大的差异, 尤其是在葡萄糖、果糖、苹果酸、柠檬酸等底物浓度无显著性差异的前提下, 酒酒球菌的数量、乙醇及乙酸的含量也无明显差异, 氨基酸的代谢却存在如此显著的差异, 这则需要对葡萄酒中碳代谢和氮代谢作深入研究, 同时还需对苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸的代谢与丙酮酸代谢的关系作进一步研究。

表 3 苹果酸-乳酸发酵前后葡萄酒中氨基酸的代谢变化

酒样 wines	原酒	31DH	SD-2a
组氨酸 histidine	0.0158	0.0117	0.0169
亮氨酸 leucine	nd	0.0405*	0.0181
异亮氨酸 isoleucine	0.0637	0.0792	0.0652
赖氨酸 lysine	0.0251	0.0281	0.0666*
蛋氨酸 methionine	0.0067	0.1030*	0.1759*
苏氨酸 threonine	0.0382	0.0406	0.1341*
苯丙氨酸 phenylalanine	nd	0.0125	0.0181
酪氨酸 tyrosine	nd	0.0118	0.0063
天冬氨酸 aspartic acid	0.0673	0.0767	0.0895*
胱氨酸 cystine	0.0014	0.0061	0.0054
丙氨酸 (mg/L) alanine	0.1916	0.2078	0.2712*
缬氨酸 (mg/L) valine	0.0365	0.0539*	0.0575*
谷氨酸(mg/L) glutamate	0.0768	0.0929*	0.1233*
脯氨酸 (mg/L) proline	10.861	10.759	11.455
甘氨酸 (mg/L) glycine	0.0889	0.0948	0.1608*
丝氨酸 (mg/L) serine	0.0651	0.0615	0.1283*
精氨酸 (mg/L) arginine	0.0357	0.0331	0.0417

注: nd 即检测不到, *表示显著性差异。

3 结论

(1) 葡萄糖与果糖存在共代谢, 代谢副产物主要是乙酸;

(2) 柠檬酸与葡萄糖存在共代谢, 代谢产物主要为乳酸;

(3) 经 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 发酵后的葡萄酒中酒球菌的数量和有机酸、乙醇、葡萄糖及果糖的含量无显著性差异, 但部分氨基酸的含量存在显著性差异, 且后者氨基酸的生成量明显高于前者, 这表明 *O. oeni* 31DH 和 *O. oeni* SD-2a 的碳代谢存在较大的差异。

参 考 文 献

1. 李华. 现代葡萄酒工艺学 (第二版). 陕西人民出版社, 2000
2. 刘树文. 博士毕业论文. 西北农林科技大学, 2000
3. 张春辉. 博士毕业论文. 西北农林科技大学, 2001
4. Amachi T, and Yoshizumi H. Studies on the bacteria isolated from wine. Part V. Isolation and properties of the growth factor from tomato juice for a bacterium inducing malo-lactic fermentation. *Agic. Boil. Chem.*, 1969, 33: 139-146
5. Kopke C, Cristovão A and Prata A M, *et al.* Microbiological control of wine: the application of epifluorescence microscopy method as a rapid technique. *Food Microbiol.*, 2000, 17: 257 ~ 260
6. Zamorani A. Enzymatic processing of musts and wines. *Biotechnology Applications in Beverage Production* (Edited by Cantarelli and Lanzarini) New York: Elsevier Science Publishers LTD, 1989
7. Lewis J, Todd B and Stanley G. Determination of diacetyl in wines. *Australian Grapegrower & Winemaker.* 1997, 398, 12 ~ 15
8. Sergi M, Sergi F and Isabel P. NAD(P)H regeneration is the key for heterolactic fermentation of hexoses in *Oenococcus oeni*. *Microbio.*, 2002, 148: 25 ~ 332
9. Izuagbe Y S, Dohman T P and Sandine W E, *et al.* Characterization of *Leuconostoc oenos* isolated from Oregon wine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, 3: 680 ~ 684
10. Lonvand-Funel A, Joyeux A and Ledoux O. Specific enumeration of lactic acid bacteria in fermenting grape must and wine by colony hybridization with non-isotopic DNA probes. *J Appl. Baacteriol.*, 1991, 71: 501 ~ 508
11. Bandell M, Lhotte M E and Marty-Teyssset C. *et al.* Mechanism of the citrate transporters in carbohydrate and citrate cometabolism in *Lactococcus* and *Leuconostoc* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 5: 1594 ~ 1600
12. Bartowsky E J, Burvill T B and Henschke P A. Diacetyl in wine: role of malolactic bacteria and citrate. *The Australian Grapegrower & Winemaker. Tech. Issue*, 1997: 130 ~ 135

Metabolic Analysis of Wine Malolactic Fermentation by *O.oeni* 31DH and SD-2a

Liu Shuwen and Li Ha

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract The metabolic process of wine malolactic fermentation by *O.oeni* 31DH and SD-2a was analysed by examining the changing of glucose, alcohol, organic acid and amino acid. The results showed: There was co-metabolism of citric acid and glucose, and the main metabolic product was lactic, the metabolic by-product of glucose-fructose was acetic acid. There was no significant difference of the amount of *O.oeni*, organic acid, alcohol, glucose and fructose in wine after MLF by *O.oeni* 31DH and SD-2a, but there was significant difference of some amino acid concentration, the amino acid concentration by *O.oeni* SD-2a is more than that by *O.oeni* 31DH. All these indicated there was significant difference of carbon metabolism by *O.oeni* 31DH and SD-2a.

Key words Wine, Malolactic fermentation, *O.oeni* 31DH, *O.oeni* SD-2a, Metabolic analysis

酒类酒球菌的分离及发酵适应性研究

张春晖 李华

(西北农林科技大学葡萄酒学院 陕西杨凌, 712100)

提 要 在 1999、2000 两个葡萄年份对我国葡萄酒主产区的酒类酒球菌进行了分离和筛选。通过考查分离菌株苹果酸-乳酸发酵性能后,对鉴定为酒类酒球菌的 127 株菌株进行了 pH、SO₂ 和酒精单因素耐受性试验,然后再选择抗性较好的初选菌株(8 株)进行复合因子(pH×酒精×SO₂)梯度筛选实验。结果表明,有 4 株酒类酒球菌分离株具有较强的苹果酸-乳酸发酵适应性,其中分离菌株 *O.oeni* SD-2a 对胁迫条件的适应性显著高于对照商业菌株。

关键词 酒类酒球菌; 菌株筛选; 发酵适应性

苹果酸-乳酸发酵(malolactic fermentation, MLF)是一种特殊的乳酸发酵,它是指葡萄酒中的苹果酸在苹果酸-乳酸菌的作用下,经过脱羧反应生成乳酸的过程,二元酸向一元酸的转变,使葡萄酒的酸度降低。我国葡萄酒主产区集中在黄河以北地区,常因生态条件、栽培措施及品种特性的原因,使葡萄酒有机酸尤其是苹果酸的含量过高,因此必须进行降酸处理。通常使用的化学降酸方法影响葡萄酒的风味和稳定性,在生产上其弊端日益受到重视。利用 MLF 对葡萄酒进行降酸,不仅效果明显,而且还能增加葡萄酒的风味复杂性和微生物稳定性^[1]。因此苹果酸-乳酸发酵是酿造优质红葡萄酒必须进行的工艺。

能进行 MLF 的苹果酸-乳酸菌分属于乳酸菌的酒球菌属(*Oenococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)和片球菌属(*Pediococcus*)^[2]。葡萄酒发达国家大都通过对苹果酸-乳酸菌自然菌株的分离,筛选出酿酒适应性和酿酒特性优良的菌株,并实现发酵剂的商业化生产。我国地域广阔,生态条件复杂,生产实践表明,在我国葡萄酒主产区存在着优良的自然菌株。因此,对我国葡萄酒主产区苹果酸-乳酸菌尤其是酒类酒球菌资源进行开发与利用,从中筛选出适合我国葡萄酒生产的乳酸菌株,对于改变我国红葡萄酒生产工艺较为落后的现状,具有十分重要的意义。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌 株

酒类酒球菌(*O.oeni*)即以前所称酒明串珠菌(*Leuconostoc oenos*),其菌株 31DH 由中国食品发酵工业研究所提供。

1.1.2 分离培养基

ATB 培养基(1L):蛋白胨 10g,酵母浸出物 5g,葡萄糖 10g, MgSO₄·7H₂O 0.2g, MnSO₄·4H₂O 0.05g, 盐酸半胱氨酸 0.5g,番茄汁 250mL,放线菌酮 50mg, 1M HCL 或 NaOH 调 pH 至 4.8, 115℃ 湿热灭菌 30min。

配制固体培养基时添加 1.2% (质量比) 的琼脂粉^[3]。

1.1.3 培养

在 28 ℃、厌氧条件下 (充 N₂) 培养 7d 后观测菌落形成情况。

1.1.4 酒样

在 1999 和 2000 两个葡萄酒年份对我国不同葡萄酒产区取样, 样品为酒精发酵结束后的新生葡萄酒。

1.2 方法

1.2.1 酒类酒球菌的分离

采用平板分离法^[4]。

1.2.2 苹果酸-乳酸发酵监测

纸层析法, 展开剂为溴酚兰-乙酸-丁醇溶液^[4]。以层析纸上乳酸斑点的扩大和苹果酸斑点的消失所持续的时间来判断 MLF 进程。

1.2.3 苹果酸分解实验

将初选菌株按 10⁷cfu/ml 的接种量加入含苹果酸 (3g/L) 和酒石酸 (3g/L) 的 ATB 培养基中 (pH4.8), 每隔 24d 进行纸层析监测, 观察苹果酸和乳酸斑点的变化, 以确定分离菌株的苹果酸-乳酸发酵能力^[5]。

1.2.4 发酵适应性分析

在模拟葡萄酒培养基中 (葡萄汁 20ml · L⁻¹, 苹果酸 3g · L⁻¹, 酒石酸 3g · L⁻¹, 柠檬酸 0.5g · L⁻¹, 酵母浸膏 0.35g · L⁻¹, KOH 调 pH 至 4.8) 对分离菌株进行 pH (3.4、3.2、3.0)、SO₂ (20、30、50mg · L⁻¹) 和酒精 (体积分数为 10%、12%、14%) 单因子抗性试验, 选择抗性较好的初选菌株进行三因子 (pH×酒精×SO₂) 梯度筛选实验。采用不完全正交设计, 3 个因素, 共 15 个处理。

1.2.5 生物量的测定

比色法。在 ATB 培养基中, 采用 752 分光光度计测定培养液的吸光度 (λ=600nm), 同时对不同吸光度的菌密度进行平板计数, 求出细菌浊度与菌密度的回归方程。

1.3 菌种鉴定

鉴定方法参考文献^[6,7]的方法进行。

2 结果与分析

2.1 酒类酒球菌的分离

酒类酒球菌为兼性厌氧菌, 需要在厌氧条件下才能形成菌落。采用平板划线法能够对酒精发酵结束后的酒样中的酒类酒球菌进行分离。吸取 0.1ml 的酒样在 ATB 琼脂培养基上涂布, 28 ℃、厌氧 (充 N₂) 培养 5-7d。由于培养基中含有放线菌酮, 因而能够抑制大多数酵母的生长, 同时在厌氧条件下培养, 能够抑制霉菌等好氧菌的生长。菌落形成后, 根据酒类酒球菌的菌落特征挑取可疑菌落镜检 (图 1)。将细胞形态呈链状 (少数成对) 排列的分离株再进行多次划线分离, 直到获得纯菌落。将分离纯化到的纯菌株接种到模拟葡萄酒培养基中进行苹果酸-乳酸发酵试验。

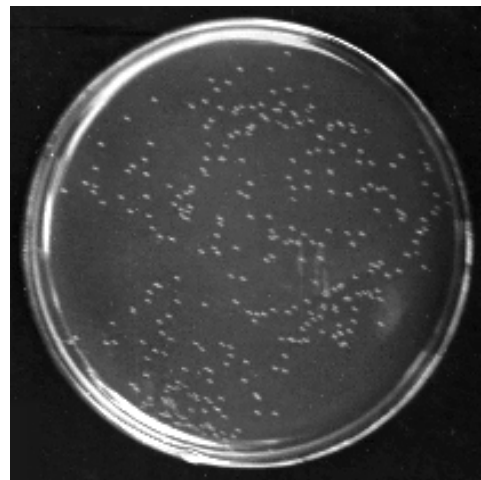


图 1 酒类酒球菌菌落

2.2 苹果酸-乳酸发酵试验

酒类酒球菌的一个显著特点是能够在低 pH 值 (4.8) 条件下, 分解苹果酸生成乳酸。通过苹果酸-乳酸发酵试验能够鉴别分离菌株是否有苹果酸-乳酸发酵能力。在无菌条件下, 用接种针挑取分离菌株的菌落于澄清的 5mL 的于 ATB 液体培养基中 (添加 3g/L 的 L-苹果酸、2g/L 的酒石酸), 25 °C 培养, 每隔 12h 进行纸层析监测。结果表明 (图 2), 株分离菌株都有苹果酸-乳酸酶活性, 都能把苹果酸分解成乳酸。图 2 表明了部分供试菌株正在进行苹果酸-乳酸发酵的情况。

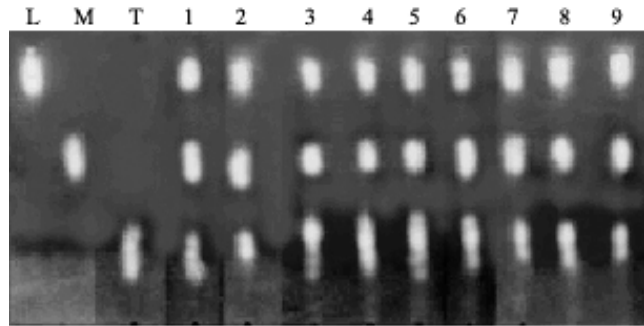


图 2 苹果酸-乳酸发酵纸层析检测
L:乳酸标样; M:苹果酸标样; T:酒石酸标样;
1-10 分离菌株 MLF 进程

2.3 菌株鉴定

通过对分离菌株的个体形态特征, 菌落形态特征, Gram 染色, 过氧化氢酶实验以及其他生理生化特征如生长对番茄汁因子的依赖性, 石蕊牛奶实验, 利用葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、阿拉伯糖和木糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、水杨苷、棉子糖、纤维二糖、甘露糖、蜜二糖等 20 种碳源产酸情况等鉴定指标的考查, 结果表明分离菌株符合 Garvie (1967)^[7]、Bergey's 细菌鉴定手册 (第 9 版, 1993)^[8]对酒明串珠菌 (*Leuconostoc oenos*) 分类鉴定特征的描述标准。该种细菌 1995 年被 Dicks 等^[9]重新分类, 另立为一个新属, 即酒球菌属 (*Oenococcus*), 酒明串珠菌更名为酒类酒球菌 (*O. oeni*)。因此, 分离到的 127 株菌株应为酒类酒球菌。

2.4 分离菌株发酵适应性研究

2.4.1 单因素筛选试验

通常, 酒类酒球菌葡萄酒苹果酸-乳酸发酵的主导菌, 因此该种的细菌大都能够适应葡萄酒环境, 但不同菌株对酒精、pH 和 SO₂ 复合因子的抗性存在着很大差异。通过研究 127 株酒类酒球菌对酒精、pH 和 SO₂ 单因子的耐受性, 从中选择了 *O. oeni* SD-2a、*O. oeni* SD-1b、*O. oeni* SD-2i、*O. oeni* SD-2h、*O. oeni* SD-1e、*O. oeni* SD-2d、*O. oeni* HB-1c 和 *O. oeni* SC-1a 等 8 株适应性较强的菌株。

2.4.2 复合因子筛选试验

选择对酒精、pH 和 SO₂ 单因子具有较强抗性的的 8 株初选细菌 (以商业菌株 31DH 为对照菌株) 进行复合因子筛选试验, 结果见表 1。表 1 表明, 随着选择压的逐渐加大, 供试菌株的生长量都呈减小趋势, 但不同菌株生长量的降低幅度不同。其中, *O. oeni* SD-2d、*O. oeni* HB-1c 和 *O. oeni* SC-1a 生长量的下降幅度最大, 而 *O. oeni* SD-2a、*O. oeni* SD-1b 和 *O. oeni* SD-2i 的下降幅度相对较小, 与对照菌株 *O. oeni* 31DH 相比具有更高的生长活力。通过对供试菌株在不同的胁迫条件下的生长反应进行方差分析表明 (表 2), *O. oeni* SD-2a 的生活力最强, *O. oeni* SD-1b、*O. oeni* SD-2i 和 *O. oeni* SD-2h 与对照菌株 *O. oeni* 31DH 无显著差别, *O. oeni* SD-1e、*O. oeni* SD-2d、*O. oeni* HB-1c 和 *O. oeni* SC-1a 相对较弱。

表 1 酒精 (A) × pH (B) × SO₂ (C) 对酒类酒球菌生长的影响

处理号 Treatment	供试菌株 (tested strains)								
	31DH	SD-2d	SD-2a	SC-1a	SD-2h	SD-2i	HB-1c	SD-1e	SD-1b
1	0.3420	0.2510	0.4535	0.2299	0.3401	0.3615	0.3261	0.2541	0.3546
2	0.3002	0.2034	0.3526	0.2218	0.3054	0.3116	0.2907	0.2396	0.3242
3	0.3382	0.1993	0.4260	0.0883	0.2716	0.3487	0.3054	0.2343	0.2924
4	0.3045	0.2314	0.3298	0.2284	0.2757	0.3401	0.4480	0.2125	0.3449
5	0.2628	0.1851	0.3045	0.20	0.2636	0.2941	0.2373	0.2168	0.2708
6	0.2857	0.1433	0.3206	0.0625	0.2299	0.3036	0.2336	0.2007	0.2510
7	0.2612	0.1904	0.3107	0.0711	0.2660	0.3152	0.0123	0.1415	0.3054
8	0.2336	0.150	0.2541	0.020	0.2487	0.2328	0.1169	0.2007	0.2636
9	0.2161	0.0991	0.2636	0.0453	0.2147	0.2204	0.1296	0.1530	0.2351
10	0.1630	0.0376	0.1637	0.0467	0.1643	0.1355	0.0339	0.1221	0.2048
11	0.2020	0.0910	0.2351	0.0159	0.1791	0.1918	0.0640	0.1343	0.2083
12	0.1818	0.0334	0.1972	0.0367	0.1203	0.2652	0.0101	0.1325	0.2676
13	0.0670	0.0487	0.2013	0.0159	0.1035	0.0670	0.0119	0.0462	0.1911
14	0.1463	0.0269	0.1013	0.0287	0.1002	0.1062	0.0088	0.0615	0.0937
15	0.0521	0.0241	0.0747	0.0159	0.0726	0.0635	0.0074	0.0434	0.0721

注：Treatment1: A×B×C=10%×3.4×10mg/L; Treatment2: A×B×C=11%×3.4×10mg/L; Treatment3: A×B×C=10%×3.2×10mg/L;
 Treatment4: A×B×C=10%×3.4×20 mg/L; Treatment5: A×B×C=12%×3.4×10mg/L; Treatment6: A×B×C=11%×3.2×10mg/L;
 Treatment7: A×B×C=11%×3.4×20 mg/L; Treatment8: A×B×C=10%×3.1×10 mg/L; Treatment9: A×B×C=12%×3.2×10mg/L;
 Treatment10: A×B×C=10%×3.2×20 mg/L; Treatment11: A×B×C=11%×3.1×10 mg/L; Treatment12: A×B×C=12%×3.4×20 mg/L;
 Treatment13: A×B×C=11%×3.1×10 mg/L; Treatment14: A×B×C=11%×3.2×20 mg/L; Treatment15: A×B×C=12%×3.2×20 mg/L.

3 结论与讨论

本研究对分离菌株的酿酒适应性研究表明，*O. oeni* SD-2a 比商业菌株 *O. oeni* 31DH 的酿酒适应性更强 此外 *O. oeni* SD-1b、*O. oeni* SD-2i 和 *O. oeni* SD-2h 也有较好的适应性。这也表明，通过对酒类酒球菌自然菌株的筛选可以获得发酵适应性优良的菌株。虽然现代微生物育种技术在其它领域的工业微生物育种中有着广泛的应用，但由于存在着转基因食品的安全性和立法方面的问题，目前葡萄酒生产上使用的苹果酸-乳酸菌发酵剂都是通过筛选自然界中优良菌株的而获得的。

筛选优良的苹果酸-乳酸菌株，是实现苹果酸-乳酸发酵从自然发酵向人工接种接种发酵转变的前提。优良苹果酸-乳酸菌筛选标准首先是菌株具有良好的发酵适应性，即能够在低 pH 和较高酒精度的逆境条件下，具有良好的生长能力。此外，下一步的工作重点是对优选菌株的苹果酸-乳酸发酵活力和酿酒特性（代谢副产物的产生特性和风味活性物质的形成能力等）进行考查，以便筛选出发酵适应性和发酵特性优良的菌株供生产使用。

表 2 不同胁迫条件下细菌生长量差异分析

供试菌株 tested strains	平均 OD 值 Mean OD Value	差异显著性分析 =0.05
<i>O. oeni</i> SD-2a	0.3087	a
<i>O. oeni</i> SD-1b	0.2437	b
<i>O. oeni</i> SD-2i	0.2358	b
<i>O. oeni</i> 31DH	0.2225	b
<i>O. oeni</i> SD-2h	0.2099	b
<i>O. oeni</i> SD-1e	0.1566	c
<i>O. oeni</i> SD-2d	0.1273	cd
<i>O. oeni</i> HB-1c	0.1219	cd
<i>O. oeni</i> SC-1a	0.0757	d

参 考 文 献

1. 张春晖, 李华. 葡萄酒微生物学. 西安: 陕西人民出版社, 2003
2. Maicas S. The use of alternative technologies to develop malolactic fermentation in wine. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001, 56: 35 ~ 39
3. 张春晖, 李华, 张军翔. 葡萄酒中酒类酒球菌的分离——抑制剂对酵母菌的抑制效应. 食品与发酵工业, 2002, 8 : 13 ~ 16
4. Fugelsang, K.C. Wine Microbiology. New York: Chapman & Hall, 1997
5. Henick-Kling T, Sandine W E and Heatherbell D A. Evaluation of malolactic bacteria isolated from Oregon wine. Appl. Environ. Microbiol., 1989, 8 : 2010 ~ 2016
6. 凌代文主编. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法. 北京: 中国轻工业出版社. 1999
7. Garvie E. *Leuconostoc oenos* sp. nov. J Gen. Microbiol., 1967, 48: 431 ~ 438
8. Holt J G, Krieg N R and Snath P H A, *et al.* Bergey's manual of determinative bacteriology (9th edition). Batimore: Williams &Wilkins, 1993
9. Dicks L M T, Dellaglio F and Collins M D. Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni*[corrig] gen. nov., comb. nov. Int. J Syst. Bacteriol.,1995, 45(2): 395 ~ 397

Study on the Isolation and Enological Adaptability of *Oenococcus oeni*

Zhang Chunhui and LiHua

(College of Enology, Northwestern A&F University of A & F, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Absrtact During the vintages of 1999 and 2000, isolation and screening of *Oenococcus oeni* from the main wine producing regions of China were carried out. After conformed the isolates on malolactic fermentation (MLF) ability, the 127 isolates were tested for their capacity to resist to the individual stress condition of low pH, high ethanol and SO₂ content. According to the screening results, the eight selected strains growth under the combination of external stress physical conditions of ethanol %(v/v), pH and SO₂ (mg/L), i.e. ethanol × pH × SO₂ were also tested, the results showed that there were four finally selected strains had good adaptation to adverse conditions. Especially, the strain *O. oeni* SD-2a had much high adaptability to stress environments than commercial strain *O. oeni* 31DH.

Key words *Oenococcus oeni* , strain screening , enological adaptability

自然酵母在干红葡萄酒生产中的应用研究

倪学理¹ 杨志宇¹ 莫寅斌²

(¹ 怀来容辰葡萄酒园有限公司, 河北怀来, 075421;

² 宁夏林业学校, 宁夏银川 750004)

提 要 酵母菌对葡萄酒的质量有重要的影响。本文研究了自然发酵、串接自然发酵酒和使用法国活性干酵母对干红葡萄酒生产和质量的影响, 结果表明, 串接发酵酒使发酵起动力快, 发酵周期缩短; 三种情况下葡萄酒的理化指标和感官质量均无显著性差异。所以, 在干红葡萄酒生产中完全有可能利用自然发酵。

关键词 自然酵母; 干红葡萄酒; 发酵

自然酵母是指葡萄生长环境中自然存在的, 没有经过人工选择的酵母菌种, 它存在于葡萄生长的土壤, 空气及葡萄果实表面, 由于生长环境的不同, 各个葡萄产区都有不同的自然酵母种类。自然发酵是指发酵过程中不添加人工培养的活性酵母, 利用自然酵母完成酒精发酵。这也是葡萄酒生产的最原始的方法。在现代化葡萄酒大生产中, 大多数葡萄酒企业都利用添加人工活性干酵母的方式进行酒精发酵, 对自然酵母资源没有充分利用, 在一定程度上增加了生产成本, 同时由于许多厂家都用国外产的同一种品牌的酵母, 这使得产品容易出现同质化现象, 缺乏地域特征。本文通过对自然酵母在酒精发酵中的实际应用, 探讨自然酵母在实际生产中的应用可能性。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验葡萄原料: 梅尔诺 (Merlot), 含糖量为 $199.45\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 200.9\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 总酸为 $5.34\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 5.89\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (以酒石酸计), 入罐温度为 $16 \sim 20$, 发酵容器为 57 吨的圆柱型不锈钢发酵罐, 入罐体积为 48 吨。所酿葡萄酒为干红葡萄酒。

酵母菌: 自然酵母, 怀来容辰葡萄酒园有限公司葡萄园自然酵母。对比酵母, 法国活性干酵母。

试验时间: 2003 年 10 月 ~ 12 月。

试验地点: 河北怀来容辰葡萄酒园有限公司。

1.2 工艺流程

原料分选 除梗破碎 入罐 (加 SO_2 , $30 \sim 45\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 自然发酵 (串罐或接种活性干酵母) 发酵启动后每天进行两次开放式循环 浸渍发酵 发酵结束后分离, 压榨皮渣 苹果酸乳酸发酵 转罐储存 发酵温度控制在低于 28 , 每天监测比重的变化, 皮渣分离后进行各项理化分析和品尝分析。

1.3 酵母菌使用

1# 罐为自然发酵, 用 1# 罐串罐接种 2# 罐和 3# 罐, 4# 罐用法国活性干酵母发酵。

1.4 葡萄酒质量分析

理化指标按《葡萄与葡萄酒实验技术操作规范》中的分析方法进行; 感观分析在发酵结束一个月后进行, 采用分级品尝法。

2 结果与讨论

2.1 发酵启动速度

由表 1 可知, 1# 罐的发酵启动较慢 (2 天), 这是因为 1# 罐是首先进行自然酵母发酵的, 自然酵母未经葡萄酒发酵环境的驯化, 活性弱, 数量少, 所以发酵启动慢。2# 和 3# 罐启动速度较快 (1 天), 因为接种了适应葡萄酒发酵环境的自然酵母, 同时原料入罐温度较高 (20 °C), 发酵启动快。

从表 1 的比重变化过程可以看出四罐酒的发酵过程都很正常, 发酵过程中没有出现大的波动。2#、3# 发酵启动更快, 结束的更早。这表明生产中所用的自然酵母具有较好的活性和发酵能力。

表 1 发酵进程

时间 (天)	罐号及发酵启动时间							
	1#		2#		3#		4#	
	温度	比重	温度	比重	温度	比重	温度	比重
1	16	1087	18*	1086*	20*	1087*	18	1087
2	17	1087	21	1075	22	1077	19	1083
3	19	1075	24	1055	24	1060	22	1073
4	21	1052	27	1031	28	1045	26	1050
5	24	1031	28	1012	28	1022	28	1031
6	26	1011	26	1002	27	1008	28	1011
7	25	1001	26	996	26	996	27	999
8	23	996					26	996

*表示接种 1# 后的比重和温度

2.2 葡萄酒质量分析

由表 2 可见, 对所实验的四罐酒的理化分析表明, 在葡萄原料质量状况比较一致的情况下, 利用自然酵母和法国活性干酵母进行发酵, 各项理化指标基本一致, 没有显著的差异, 说明自然酵母具有一定的发酵稳定性。至于自然酵母在忍受高糖度和高酒度的能力上还有待于进一步研究。

表 2 理化分析指标

罐号	糖度 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	酸度 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (酒石酸计)	酒度 % (v/v)	挥发酸 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	pH	色度
1#	1.37	5.35	11.08	0.19	3.59	1.913
2#	1.37	5.40	11.02	0.19	3.50	2.107
3#	1.35	5.04	11.10	0.18	3.64	2.115
4#	1.51	5.50	11.10	0.16	3.64	2.107

四罐酒的分级品尝结果见表 3，专家一致认为，这四罐酒在颜色，香气，口感几方面均没有显著性差异，说明自然发酵、串接自然发酵的酒和加活性干酵母发酵的酒在质量上没有明显差异，自然发酵完全可以用于生产。但在实际生产中要注意原料的成熟度，卫生质量，及葡萄采收温度，发酵罐最好带升温设备以免由于温度过低发酵难以起动，影响整个生产。

表 3 葡萄酒感官分析结果*

品尝员 n	酒样 K			
	1#	2#	3#	4#
1	4	3	2	1
2	2	3	1	4
3	3	1	4	2
4	4	1	2.5	2.5
5	1	2	4	3
6	1.5	3.5	3.5	1.5
7	2.5	4	2.5	1
8	4	1.5	1.5	3
9	1	3	4	2
10	3	2	1	4
Ri	26	24	26	24

$F=12 \times (R_1^2 + \dots + R_k^2) / nk(k+1) - 3 \times n(k+1) = 0.24$ $F_{0.05} = 7.81$ 自由度=9

*表中数据是品尝员对酒样所排列的名次。

参 考 文 献

1. 李华，现代葡萄酒工艺学.西安：陕西人民出版社，2001. 1~271
2. 李华. 葡萄酒品尝学. 北京：中国青年出版社，1992. 97~122
3. 王华主编. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范. 西安：西安地图出版社，1999. 98~159
4. 李华主编. 葡萄与葡萄酒进展—葡萄酒学院年报（2004）. 西安：陕西人民出版社，2004. 60~64

Study on Natural Yeasts in Dry Red Wine Making

Ni Xueli¹, Yang Zhiyu¹ and Mo Yinbin²

¹ Huailai Rongchen Vineyard CO,LTD, Huailai, Hebei, 075421 China;

²Ningxia Forestry School, Yinchuan, Ningxia, 750004 China)

Abstracts Yeast can affect wine quality greatly. This paper studied the influence of the natural fermentation, inoculating the natural fermenting wine as the starter and addition of active dry yeast on winemaking and wine quality. It showed that inoculating the natural fermenting wine can start the fermentation

quicker than others , the fermentation cycle is shortened. All the wine obtained from different yeasts have no differences significantly. So , natural fermentation is very possible to be conducted in dry red wine making.

Keywords natural yeast, dry red wine, fermentation

不同澄清处理对干红葡萄酒品质影响的研究

李桂荣¹, 常 伟²

(1 河南科技学院园艺系, 河南新乡 453003;

2 江南大学生物工程学院, 江苏无锡)

提 要 采用不同的澄清方法对干红葡萄酒澄清效果进行了对比试验。结果表明, 采用不同澄清方法可以获得不同的效果, 下胶后的葡萄酒澄清度提高, 色泽更加鲜艳。

关键词 干红葡萄酒; 下胶; 澄清度; 酚类指标

国内这几年干红酒的发展非常迅猛, 市场上干红酒的销量也是非常可观, 对每一个优良的酒厂而言, 为市场提供澄清透明和稳定的干红葡萄酒, 是其保证产品质量和完美外观的最基本要求, 正因为此, 干红葡萄酒的下胶材料的选择和葡萄酒的稳定, 就成为继酒精发酵和苹-乳发酵之后至关重要的工艺技术环节^[1, 2, 7, 8]。本试验采用酒厂最常用的三种澄清剂——明胶、膨润土、PVPP, 研究三者组合处理在干红葡萄酒澄清处理中的作用, 旨在为优质干红酒的澄清处理提供较佳的下胶工艺。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验在宁夏玉泉葡萄酒厂进行, 所用葡萄酒均为以蛇龙珠为主酿造的干红葡萄酒, 澄清剂为明胶(西安矿化所生产), 膨润土(西安矿化所生产), 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP, 进口)。原酒的基本成分见表 1。

表 1 原酒的基本成分

项 目	单 位	含 量
酒度	%(V/V)	13
还原糖	g · L ⁻¹ (葡萄糖计)	<2
总酸	g · L ⁻¹ (酒石酸计)	6.48
挥发酸	g · L ⁻¹ (醋酸计)	0.27
总花色苷	mg · L ⁻¹	444.42
总酚	mg · L ⁻¹ (没食子酸)	131.91
游离 SO ₂	mg · L ⁻¹	30.96
pH	—	3.41
干浸出物	g · L ⁻¹	26.21
澄清度	—	0.281
单宁	mg · L ⁻¹ (单宁酸计)	136.96

1.2 试验处理

1.2.1 各种澄清剂的使用方法

(1)膨润土：将准确称取的膨润土在 10 倍的 50℃ 左右的热水中膨化 24~48 小时后，加入葡萄酒中混合均匀，在操作中应逐渐将膨润土加入水中拌匀。

(2)PVPP：将准确称量的 PVPP 直接溶解于 5~10 倍的水中，加入葡萄酒中混合均匀。

(3)明胶：在冷水中浸泡 24 小时左右，将水除去，把浸泡后的明胶在 20 倍的水中水浴溶解后，放置 24~48 小时后使用。

1.2.2 下胶的基本工艺流程

500ml 酒样——下胶摇匀——静置 15 天——分离——测各项指标。

取 24 个 750ml 的干净酒瓶，按顺序编号，每瓶分别装入 500ml 的酒样，然后按表 2 所示各加入不同的澄清剂后摇匀盖上瓶塞，澄清后(此时保证加入的下胶材料全部絮凝沉淀，而不能保留在葡萄酒中)将上清液与沉淀物分离，然后取样测酒的澄清度(520nm 波长处的吸光值)、单宁(入 = 700nm)、总酚(入 = 765nm)、总花色苷^[5]，所有数据均三次重复，数据处理采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性测验(0.01 - 极显著水平，0.05 - 显著水平)^[3]。

表 2 葡萄酒的澄清试验方案

编号	明胶(mg · L ⁻¹)	膨润土(mg · L ⁻¹)	PVPP(mg · L ⁻¹)
0 #	0	0	0
1 #	60	300	100
2 #	60	300	200
3 #	60	500	100
4 #	60	500	200
5 #	80	300	100
6 #	80	300	200
7 #	80	500	100
8 #	80	500	200
9 #	100	300	100
10 #	100	300	200
11 #	100	500	100
12 #	100	500	200

2 结果与分析

2.1 不同处理对葡萄酒澄清度的影响

由图 1 可以看出：澄清度提高程度较大的是 7 # (80mg · L⁻¹ 明胶+500mg · L⁻¹ 膨润土+100mg · L⁻¹ PVPP)，且处理结果与对照相比达到显著差异水平，但是所有的处理与对照相比均未达到极显著差异水平。

2.2 不同处理对葡萄酒中单宁含量的影响

由图 2 可以看出：三种澄清剂结合处理后，干红葡萄酒中单宁含量与对照相比虽均有所降低，其中只

有 7 # (80mg/L 明胶+500mg/L 膨润土+100mg/LPVPP) 处理达到了显著差异水平, 效果较好。但是所有的处理与对照相比均未达到极显著差异水平。

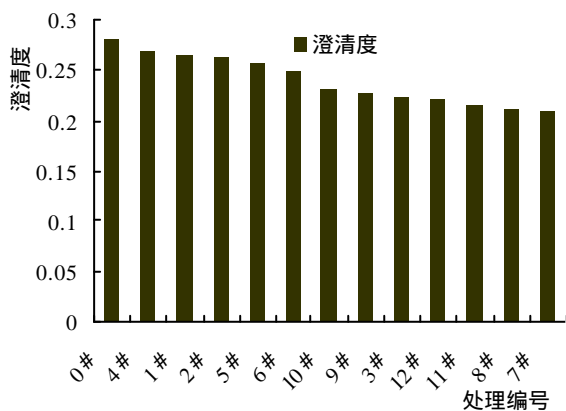


图 1 不同处理对葡萄酒中澄清度的影响

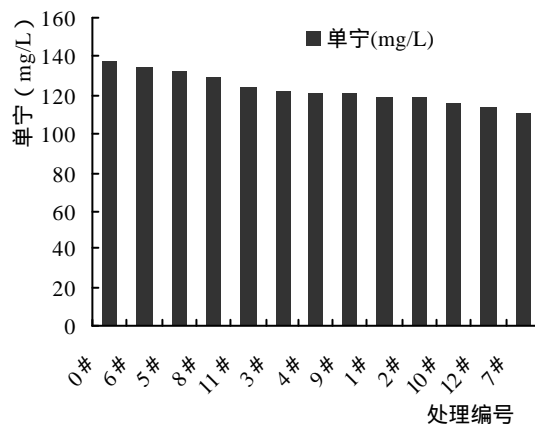


图 2 不同处理对葡萄酒中单宁含量的影响

2.3 不同处理对葡萄酒中总酚含量的影响

由图 3 可以看出：三种澄清剂结合处理后，干红葡萄酒中总酚含量与对照相比均有所降低，其中 7 # (80mg/L 明胶+500mg/L 膨润土+100mg/LPVPP)处理与对照相比达到了极显著差异水平，效果最好。另外还有 10 #，12 # 处理与对照相比达到了极显著差异水平。

2.4 不同处理对葡萄酒中总花色苷的影响

由图 4 可以看出：三种澄清剂结合处理后，干红葡萄酒中总花色苷含量与对照相比虽均有所降低，但是所有的处理与对照相比均未达到显著差异水平。

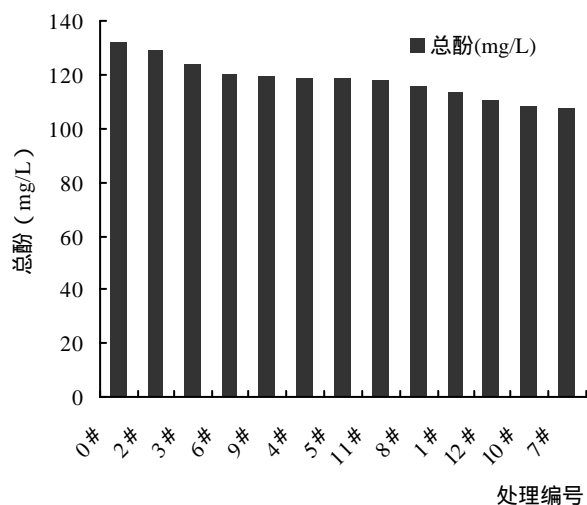


图 3 不同处理对葡萄酒中总酚含量的影响

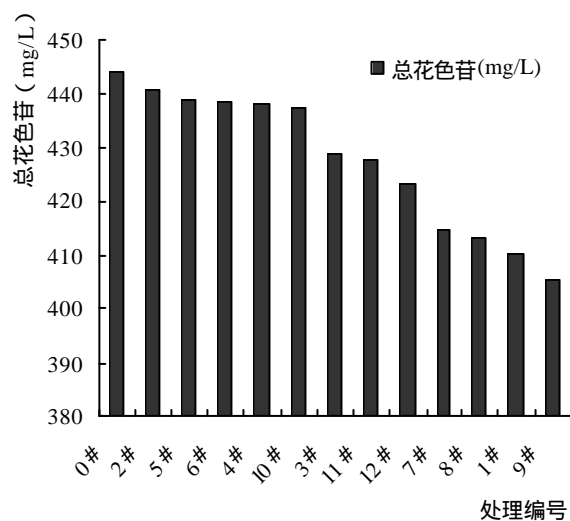


图 4 不同处理对葡萄酒中总花色苷含量的影响

3 结论

葡萄酒澄清处理是葡萄酒酿造过程中非常重要的工艺阶段,下胶法澄清是非常普遍的工艺选择,所以对澄清剂的选择和正确处理是影响酒品质的关键:(1)膨润土:具有良好和较快速的澄清效果,有助于过滤,但是不能单独使用,会对红葡萄酒的感官有较大的负面影响,如比较强的脱色作用,而且容易使干红葡萄酒口感变得淡薄和欠细腻。对红葡萄酒下胶澄清时,通常用量比较少并且与其他的澄清剂结合使用,效果较佳;(2)PVPP:去除易被氧化的多酚类物质,有效预防或修复酒的氧化和褐变,促进或恢复酒的新鲜感和果香,减弱红葡萄酒的涩苦单宁,使之柔醇化,而且对葡萄酒感官无负面影响;(3)明胶:是去除单宁的澄清剂。但容易引起下胶过量并且出现色素损失。大量资料表明^[5,6,7,8,9,10,11],若合理使用这三种材料进行下胶,可以降低下胶的负面影响,达到理想的下胶效果,适宜生产上采用。本研究采用 $80\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 明胶+ $500\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 膨润土+ $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PVPP 能使葡萄酒获得良好的澄清度、降低葡萄酒中单宁含量并且能较大程度地减少葡萄酒中总酚的含量。经过澄清处理后,酒体在感官上有较大的变化,酒液颜色纯正,晶亮透明,明显提高了酒的品质^[4]。

参 考 文 献

1. 李华. 现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社, 1995
2. 李华. 葡萄酒酿造与质量控制. 杨凌: 天则出版社, 1990
3. 刘魁英, 王有年. 果树试验设计与分析. 北京: 中国科学技术出版社, 1993
4. 李华. 葡萄酒品尝学. 北京: 中国青年出版社, 1992
5. 李记明. 葡萄酒分析检测. 西北农业大学葡萄酒学院, 1996
6. 张艳芳. 如何对葡萄酒进行下胶. 中外葡萄与葡萄酒, 2004 (1): 64 ~ 65
7. 李新榜, 郭永欣. 葡萄酒下胶澄清工艺技术的探讨. 中外葡萄与葡萄酒, 2003, (6): 48 ~ 50
8. 李新榜, 樊玺. 葡萄酒和果酒下胶澄清和稳定工艺的再探讨. 中外葡萄与葡萄酒, 2004 (2): 58 ~ 59
9. 李建兵. 葡萄酒下胶时应注意的几个问题. 酿酒, 1999, (2): 61 ~ 62
10. 郭永亮. 如何科学地把握葡萄酒的“下胶”和“澄清”. 中外葡萄与葡萄酒, 2003, (1): 47 ~ 50
11. 孟宪军, 张燕维, 郭晨欣. 不同澄清方法对山葡萄酒澄清效果的影响. 酿酒, 2000, (2): 100 ~ 102

Effect of Different Methods of Clarification on Quality of Dry Red Wine

LI Guirong¹ and Chang Wei²

(¹Department of Horticulture, Henan Institute of Science and Technology, Henan Xinxiang, 453003 China;

² school of biotechnology of southern yangtze university, Jiangsu Wuxi, 214036 China)

Abstract Comparative experiments on effect of *Dry Red Wine* clarification were made by using different methods of clarification. The results showed that the application of different methods of clarification could gain different effects. The transparency of the wine could be improved and the colors became more vivid after clarification.

Key words Dry red wine , Gluing , Clarification , Polyphenol index

不同果胶酶在葡萄酒酿造中的表现研究

严 斌 陈晓杰

(华夏葡萄酒有限公司, 河北昌黎, 066600)

提 要 本实验是在法国波尔多葡萄酒酿造技术研究中心进行, 原料选用 Chateaux Gudichaud 葡萄园的梅鹿辄。采用同一种葡萄品种, 同一生产工艺, 对不同果胶酶从不同角度进行了对比分析, 优选干红葡萄酒浸渍果胶酶。结果表明, 各个果胶酶的使用对于葡萄酒的品质有着不同的影响, 其中使用 Lafase HE Grand Cru “New formulation” 果胶酶的处理, 自流汁出汁率比平均出汁率高 5.8% 左右, 在感观品评上复杂性和平衡感比其他果胶酶表现突出。

关键词 果胶酶; 总酚指数; 花色素苷; 感官质量

果胶是大多数新鲜水果细胞壁的组成成分, 在破碎后的葡萄汁中, 果汁和原果胶给葡萄汁带来了粘稠度, 影响澄清效果和出汁率, 直接影响着酵母对营养成分的吸收分解, 干红葡萄酒中的色泽大部分来自葡萄皮, 果胶对葡萄皮的保护增加色素物质浸出的难度, 直接影响葡萄酒的质量^[1]。

葡萄酒的酿造过程就是由一系列生化反应来完成的。酶作为一种纯生物反应催化剂被广泛应用到葡萄酒的制造过程中, 特定的工艺处理能够确保葡萄酒的质量, 帮助酿酒师在最大范围内充分利用原料的优良品质。一般根据酿造工艺的不同, 添加不同特性的果胶酶。如:

用于葡萄中香气物质和色素, 单宁浸提的果胶酶, 它可对葡萄所含果胶具有分解作用, 又因果胶酶中都含有部分纤维素酶, 因此也对葡萄酒中的植物纤维素具有分解作用;

用于葡萄汁澄清的果胶酶, 能够对葡萄汁中果胶, 葡聚糖及高聚合酯类进行分解, 从而降低了葡萄汁的粘稠度, 使葡萄汁中的固体不溶物沉淀速度加快, 有利于葡萄汁的澄清;

用于葡萄酒陈酿的果胶酶, 对压榨汁中的果胶及葡聚糖的分解作用, 可以破坏并分解这些胶体物质, 从而加速陈酿过程中葡萄酒的自然澄清速度。能够对酵母细胞壁进行破坏, 从而加速酵母在酒中的自溶, 加速葡萄酒与酵母第一期陈酿的陈酿速度。

本次实验从各个角度对果胶酶进行了对比分析, 优选最适宜干红葡萄酒浸渍的果胶酶。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验于 2003 年 9-12 月在法国 SARCO 波尔多葡萄酒酿造技术研究中心进行。

原料: 所用葡萄梅鹿辄 (Merlot), 产自波尔多地区 Chateaux Gudichaud 葡萄园, 葡萄树龄 35 年, 产量 30hl/ha。葡萄成熟后, 于 2003 年 9 月 29 日人工采摘、分选优质葡萄。

果胶酶: Lafase HE Grand Cru (旧); Lafase HE Grand Cru (新); competition product ;

competition product ; competition product 。

酵母：LALLMADD NUTRIENT。

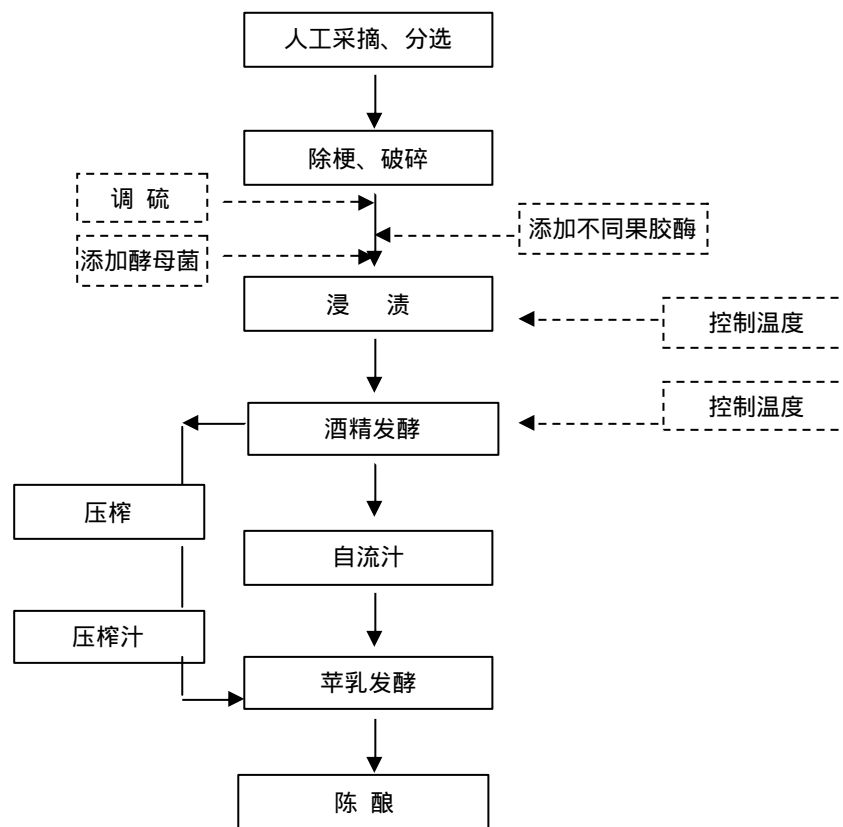
设备：德国微型气囊压榨机一台，500L 带有控温装置的不锈钢罐若干。

1.2 方法

1.2.1 试验概况

依照现代工艺酿造葡萄酒，具体工艺如下所示。葡萄除梗破碎装入 500L 不锈钢罐，并依次添加 SO₂、果胶酶、酵母菌进行葡萄酒试验。依果胶酶不同，分为六个处理，分别记作：对照 (Rck)、L1(旧 Lafase HE Grand Cru)、L2 (新 Lafase HE Grand Cru)、C1(competition product)、C2(competition product)、C3(competition product)。试验重复两次。

采用的葡萄酒酿造工艺^[2,4]如下所示：



1.2.2 果胶酶的作用

除梗破碎后的葡萄装入 500L 不锈钢罐，及时添加 SO₂。设置添加果胶酶和未添加果胶酶两种处理。静置 36 小时后取葡萄汁 100ml 于量筒中，观察液体的颜色及澄清度。并分别取等量葡萄皮渣，置滤纸上，观察浸润面积的大小。

依照上述工艺酿造葡萄酒，发酵结束，在等压下用气囊式压榨机压榨皮渣，观察皮渣的松散状况。

1.2.3 不同果胶酶对酿酒的影响

对葡萄汁品质的影响：酒精发酵结束后，取自流汁，测定不同处理葡萄酒的色度、总酚指数、花色苷以及单宁含量，分析方法参照国际葡萄酒法规。苹果酸 - 乳酸发酵结束后，取样测总酚指数、花色苷、色度以及单宁含量。

对出汁率的影响：统计自流汁以及不同压力下 (P_0 、 P_1 、 P_2 、 P_3) 各次压榨汁所占的比率，分析果胶酶对出汁率的影响。

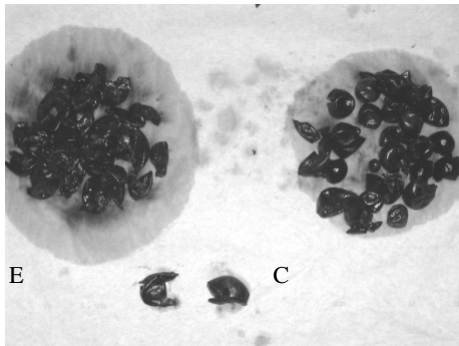
感官品评：邀请专家采用 O.I.V. 常规品尝表进行对比品尝，主要从酸度、口感、收敛性、苦味、回味、平衡感等方面分析了味觉的变化，从葡萄酒的浓郁度、果香、蔬菜香、香料香方面分析了嗅觉的变化。

2 结果与分析

2.1 果胶酶的作用

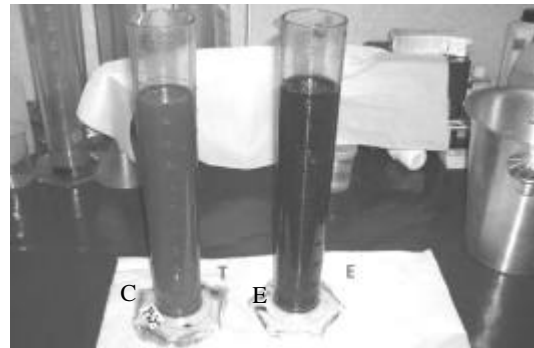
2.1.1 对颜色、澄清度、粘度的影响

由图 2 可知，与未加果胶酶的处理相比，添加果胶酶后葡萄汁颜色深，且澄清度好。若葡萄汁粘度大，则不易流动，葡萄皮渣浸润滤纸的面积就小，反之亦然。图 1 反映等量葡萄皮渣浸润滤纸面积的大小，观察结果表明，加过果胶酶的葡萄皮样品浸润吸水纸的面积大于未加果胶酶的浸润吸水纸面积，说明浸渍 36 小时后前者所含果汁更容易流出，且粘性小容易被吸水纸吸收。



E 为加果胶酶的 C 为未加果胶酶的

图 1 对粘度的影响



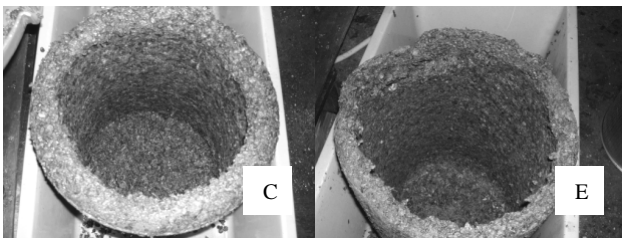
加 E 为加果胶酶的 C 为未加果胶酶

图 2 对葡萄酒颜色和澄清度的影响

可见，果胶酶作用于葡萄皮分解保护葡萄皮色素粘性较强的果胶，分解后的小分子物质粘性降低更容易流出，随着果胶的分解色素物质更容易浸出。

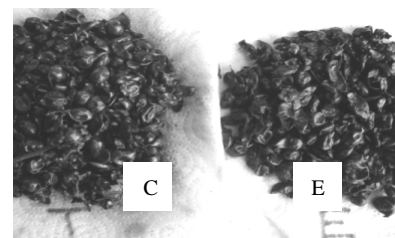
2.1.2 对葡萄皮渣的影响

图 3 反映将压榨后皮渣塑造成型的情况。结果表明，经果胶酶处理后，其皮渣不易成型。说明皮渣中果胶含量低，粘度小。而对照由于未添加果胶酶，故皮渣果胶含量高，粘度高，易成型。取压榨后的葡萄皮渣放于滤纸上，结果见图 4。观察发现，添加果胶酶后其滤纸浸润面积小，说明葡萄皮渣易于压榨，残留汁少，有利于提高出汁率，减小酒的损失。而对照则果汁残留多，浪费较多。



E 为加果胶酶的 C 为未加果胶酶的

图 3 对葡萄皮渣的影响



E 为加果胶酶的 C 为未加果胶酶的

图 4 对葡萄皮渣的影响

2.2 不同果胶酶对酿酒的影响

2.2.1 对出汁率的影响

不同果胶酶对出汁率的影响见表 1。由表 1 可知，不同处理的出汁率一般随压榨压力及压榨次数的增加，呈下降趋势。第三、四次压榨的出汁率很低，仅有 2.78%、2.58%，且品质差。自流汁品质佳，是提高高档葡萄酒产率的关键。各处理自流汁出汁率的大小依次是：L2>C1>C3>C2>L1。其中，L2 的出汁率比平均出汁率提高了 5.8%，且总出汁率可达到 81.5%。说明使用果胶酶 - 新 Lafase HE Grand Cru 后，可以增加高档葡萄酒产率。C1 的自流汁出汁率接近 L2，但其总出汁率显著低于 L2。L1 是经长时间放置 Lafase HE Grand Cru，其活性降低，在葡萄酒中表现最差。其它果胶酶表现一般。

表 1 不同果胶酶对出汁率的影响

处理	自流汁(%)	P ₀ (%)	P ₁ (%)	P ₂ (%)	P ₃ (%)	总和(%)
L1	51.1	11.8	9.7	1.7	3.4	77.7
L2	56.9	8.1	11.4	1.7	3.4	81.5
C1	55.3	7.1	10.8	3.7	1.8	78.7
C2	52.9	9.4	10.2	3.4	2.8	78.7
C3	53.5	9	9.8	3.4	1.5	77.2
平均值	53.94	9.08	10.38	2.78	2.58	78.76

上述结果表明，使用新生产的 Lafase HE Grand Cru 后，可以增加高档葡萄酒的产率，并且容易将皮渣中的葡萄酒压榨干净。

2.2.2 对自流汁品质的影响

总酚指数表示葡萄酒中的总酚总量，主要包括花色苷和单宁，它们使葡萄酒具有颜色和特殊的味觉特征。花色苷是葡萄酒中的主要呈色物质，其含量与色度直接相关。单宁可影响葡萄酒的结构感和成熟特征。于是，笔者测定了自流汁以及其苹果酸乳酸发酵后总酚指数、花色苷、色度以及单宁含量的变化，结果见图 5,6。

试验结果表明：自流汁中，C1、L1 的总酚指数、颜色、花色苷含量较高，经分析，各处理间差异不明显。在经苹果酸乳酸发酵后，C3 的花色苷含量高，L1 次之，C1 总酚指数高、色度深，单宁含量高。总体而言，各处理在颜色、总酚指数、花色苷、单宁等方面，无规律性变化，差异不明显。

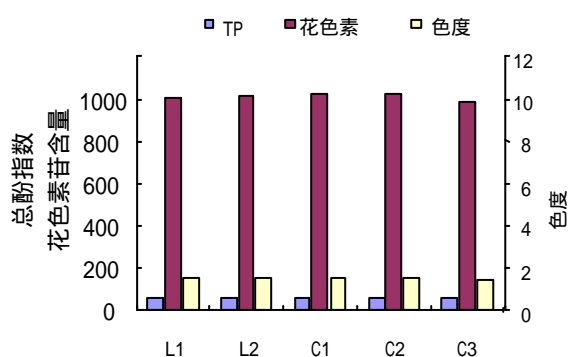


图 5 对自流汁中总酚指数、花色苷、色度的变化

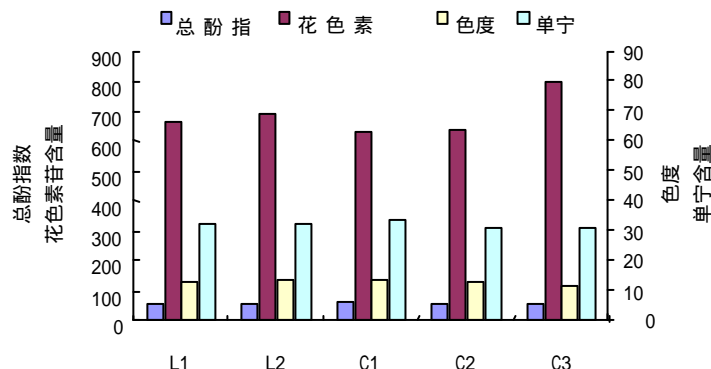


图 6 苹果酸乳酸发酵后总酚指数、花色苷、色度的变化

在此类实验中，通常实验方法和分析的灵敏度会轻微地影响葡萄酒的分析结果，不同果胶酶处理过的葡萄酒结果上的微小差异，很可能是在误差范围内的，所以，感官品尝就显得尤其必要。

2.3 感官品评对比实验

各处理葡萄酒在感官上的区别是很明显的^[3,5]，尤其是口感上的区别，如对酒体结构、回味、果香等。为此，笔者通过组织专家品尝分析了各处理葡萄酒在味觉和嗅觉上的变化，其结果见图七和组图八。

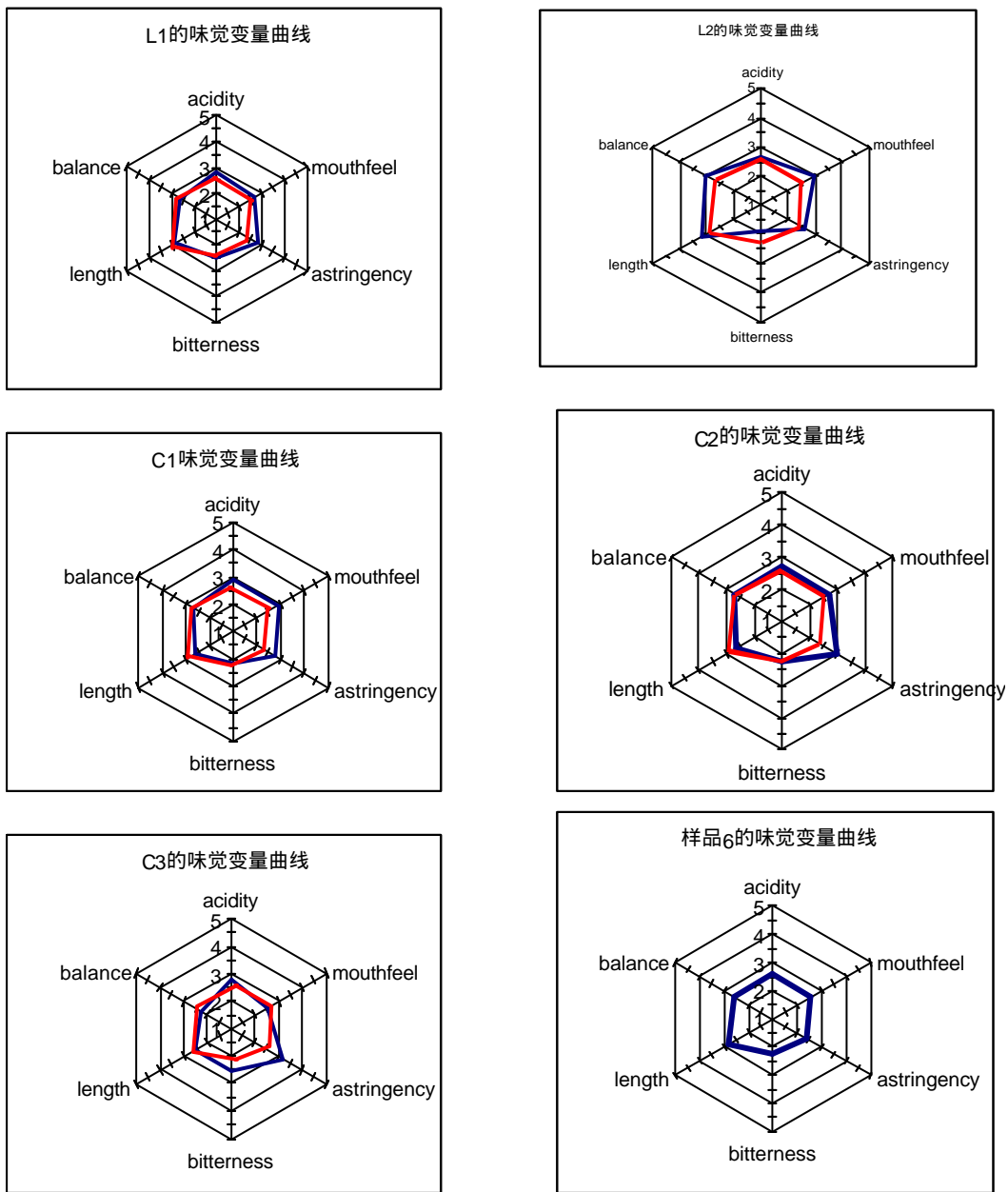


图7 不同果胶酶处理对味觉的影响

说明：acidity-酸度；mouthfeel-口感；astringency-收敛性；bitterness-苦味；length-回味；balance-平衡感

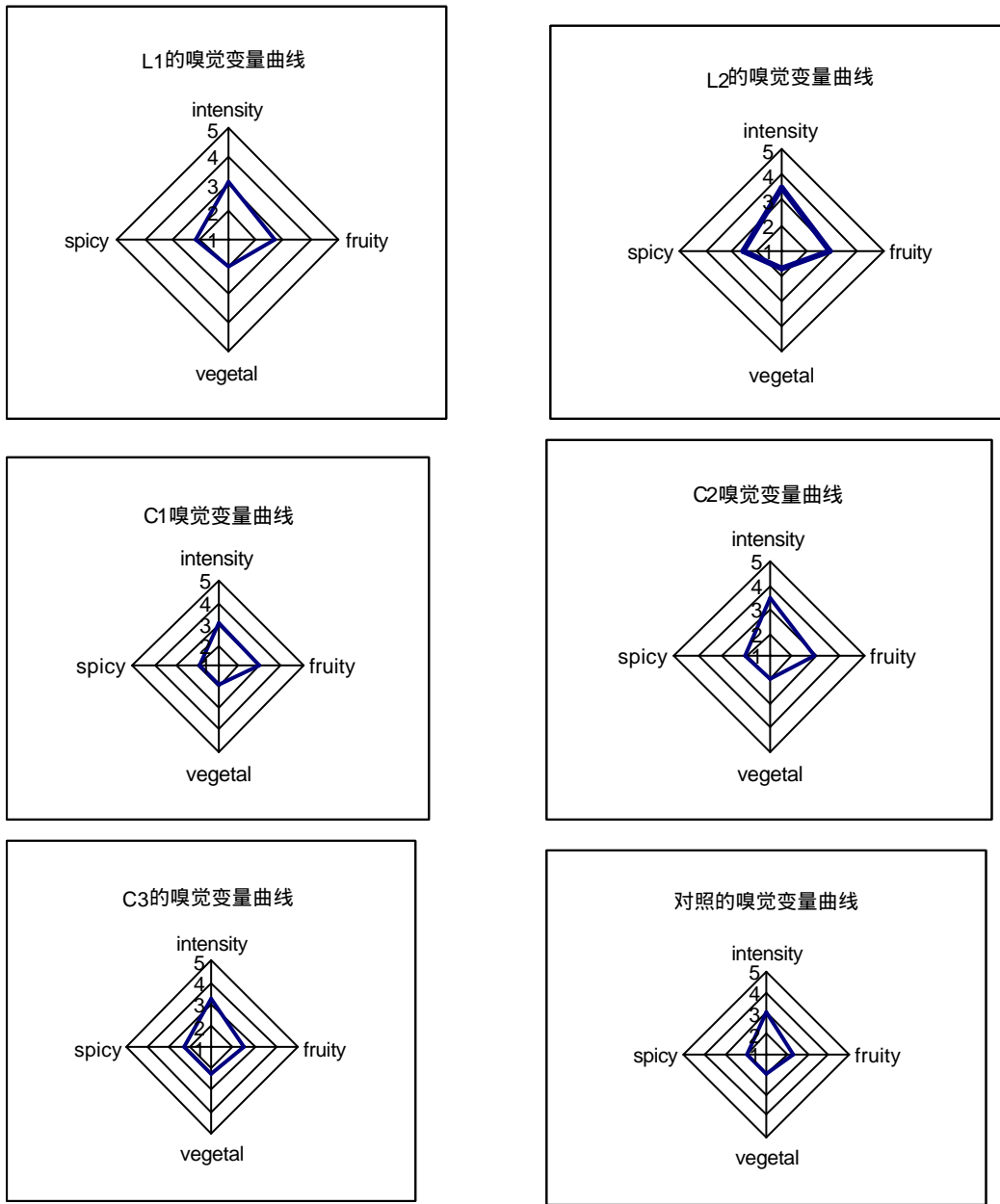


图 8 不同果胶酶处理对嗅觉的影响

说明：intensity-浓郁度；fruity-果香；vegetal-蔬菜香；spicy-香料香。

影响葡萄酒感官质量的因素很多，陈酿型的葡萄酒更强调酒体的平衡度、结构感和回味；新鲜的葡萄酒，不宜陈酿，更强调保留果香和清爽的口感。

与对照相比，经不同果胶酶处理后的葡萄酒表现如下：

- (1) L1 果香较突出，收敛性强，苦味偏重；
- (2) L2 整体提升了感官变量曲线，其果香更优雅、浓郁、完整，口感更加醇厚，回味悠长，更具特色；
- (3) C1 具有较强的收敛性，但协调性较差。

(4) C2 香气较单薄, 入口具强烈的收敛性, 与样品 2 相比平衡性较差。

(5) C3 果香不突出, 收敛性和苦味增强, 平衡感和回味略显不足。

对各处理的分析比较表明, L1 苦味偏重, 果香较突出, L2 (新 Lafase HE Grand Cru) 果香优雅、浓郁, 酒体结构感增强, 回味悠长, 明显好于其它样品。

3 结论

综上所述, 我们可以看到加入果胶酶可以提高出汁率, 减少葡萄皮渣产生数量, 提高生产效率; 对比各个果胶酶在酿造过程中的表现, 发现使用 Lafase HE Grand Cru (new formulation) 果胶酶后, 自流汁出汁率比平均出汁率高 5.8% 左右, 在感观品评上结构感和平衡感比其它果胶酶表现突出, 更适宜陈酿。

参 考 文 献

1. 李华. 葡萄浆果的生物化学. 西安: 陕西人民出版社, 2000
2. 李华. 现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社, 2000
3. 李华. 葡萄酒品尝学. 北京中国青年出版社, 1992
4. 郭氏葡萄酒技术中心. 国际葡萄酿酒法规. 天津: 天津大学出版社, 1998.
5. 朱一松, 赵光鳌. 葡萄酒风味与风味酶的研究. 中外葡萄与葡萄酒, 2002, (6): 6~9
6. Y.Z.Gunata, et al. The Aroma of Grapes. Extraction and Determination of Free and Glycosidically Bound Fractions of Some Grape Aroma Compounds. J. Chromatogr.. 1985, (33): 83~90

Effect of Different Pectic Enzyme on Red Wine in Winemaking

Yan bin and Chen xiaojie

(Huaxia Winery Co., Ltd, Changli, Hebei 066600 China)

Abstract The experiment is made in research center on winemaking technology, Bordeaux, French. Material is made from the merlot grape in Chateaux Gudichaud vineyard. Adopting the same variety and winemaking technology, effect of different pectic enzyme on red wine is analyzed from many aspects in order to select the best pectic enzyme which is used in winemaking. As a result, effect of different pectic enzyme on the quality of wine is different. When Lafase HE Grand Cru among pectic enzyme is employing in winemaking, ratio of must is higher 5.8% than the average, at the same time, complexity and balance of wine in sensory quality is good than the others.

Keywords Pectic enzyme, TPI, Anthocyanins, Sensory quality

酒精发酵期间添加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 对葡萄酒总酸的影响

杨新元¹ 李 华¹ 腾环宇² 郝冬曙²

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨陵 712100;

²新天国际葡萄酒业有限公司, 新疆玛纳斯 832200)

提 要 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 是葡萄酒发酵中常用的两种酵母营养剂。研究了添加这两种化学物质对酒精发酵结束后葡萄酒总酸、pH值、口感的影响。

关键词 葡萄酒; 酵母营养剂; 对葡萄酒的影响

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 作为N源酵母营养剂, 添加到发酵液中, 以促进酒精发酵已有很长的历史。 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 都可以作为酵母的营养源。但葡萄汁中已存在丰富的 PO_4^{3-} , 所以加入 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 后, 增加了酒中 PO_4^{3-} 的量, 从而增大了出现磷酸盐白色沉淀的风险。所以后来人们在有些情况下, 又改用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为酵母的N源营养剂。

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 都是国际葡萄酒法规和国际葡萄酒药典允许使用的酵母营养剂。在欧共同体国家, 酒法规定, 这两种盐的添加量不能超过30g/hL; 美国的限制是95g/hL, 澳大利亚规定, 此两种无机酸盐的添加量不能超过40g/hL。我国的葡萄酒法规、标准中无此类规定。一般来说, 这两种盐作为酵母N源营养剂的添加量在10~20g/hL之间(在这两种盐中, NH_4^+ 大约占重量的27%, 酸根离子约占重量的73%)。 NH_4^+ 基本上可全部被酵母同化, 而酸根离子则留在酒中。这就会提高酒中总酸的含量, 对酒的pH值也有一定的影响。

为验证添加这两种无机盐对酒精发酵后, 酒的总酸含量和pH值以及对口感的影响, 我们进行了进行了此项试验。

1 实验材料与方法

1.1 材料与设备仪器

1.1.1 材料

分析纯 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、分析纯 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、蔗糖、白葡萄酒发酵后的死酵母泥、活性干酵母VL1、分析纯酒石酸。

1.1.2 仪器

恒温培养箱、酸度仪、酒精测试仪器、旋光测糖仪、残糖测试仪器、750mL白色玻璃酒瓶。

1.2 方法

1.2.1 发酵糖液的配制

每升水（自来水，以保证有必要的矿物质）中加入蔗糖 200g，饱和酒石酸溶液 4mL，白葡萄发酵后的死酵母泥 20g，用饱和酒石酸调 pH 值到 3.5，共配制 9 升糖液，加入 35g 活性干酵母 VL1 后，充分搅拌混合均匀，最后分装至 18 个玻璃瓶中，每瓶准确装入 500mL 发酵糖液。

配好的糖液经测定糖度为 Brix18.8 度，pH 值为 3.49，总酸为 3.3g/L。

1.2.2 试验方法

试验共 8 个处理，设对照 CK，两个重复。

将配好的发酵糖液放入恒温培养箱中，保持温度为 22℃。24 小时后加入不同量的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 或 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。处理 1 加入 $0.1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ；处理 2 加入 $0.2\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ；处理 3 加入 $0.3\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ；处理 4 加入 $0.4\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ；处理 5 加入 $0.1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ；处理 6 加入 $0.2\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ；处理 7 加入 $0.3\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ；处理 8 加入 $0.4\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ；CK 不加任何物质。48 小时后倒瓶充氧，5 天后再次倒瓶充氧。

当发酵残糖小于 $4\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 或不再有气泡产生时，将瓶子从培养箱中取出，静置一天后，取出部分上清液，用真空机抽掉 CO_2 气体，然后用酸度计测总酸及 pH 值，用蒸馏法测酒精度。

静置两天后倒出上清液，经对比品尝感觉加入两种盐后对味觉的影响。

2 结果与分析

2.1 葡萄酒发酵

试验开始 24 小时后，所有小样全部开始发酵。10 天后测残糖，除 CK 外其余的处理都在 2.5g/l 以下，酒精度 11 度左右，结果如表 1：

表 1 发酵结束后，各处理酒度及残糖

处理	CK	1	2	3	4	5	6	7	8
残糖 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	6.5	2.5	2.4	2.0	1.9	2.4	2.3	2.1	2.2
酒度% (v/v)	10.9	11.4	11.4	11.4	11.3	11.0	11.1	11.3	11.2

根据残糖量和酒精度来看，除 CK 外各处理酒精发酵都比较彻底。随着盐添加量的提高，发酵结束后残糖含量逐渐降低，说明这两种盐都具有很好的促进酒精发酵的作用。

2.2 对总酸与 pH 的影响

表 2 发酵结束后各处理总酸与 pH 值

处理	CK	1	2	3	4	5	6	7	8
总酸 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	3.0	3.2	3.7	4.1	3.2	3.4	3.6	3.8	4.0
pH	2.95	2.88	2.79	2.77	2.76	2.92	2.90	2.85	2.82

分析图 1 可以看出加入这两种盐，酒精发酵后总酸上升。总酸的增加量与盐的增加量接近于线性关系，这与 Gayon 等人的研究基本接近。每加入 $10\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 总酸大约增加 $0.3\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；每加入 $10\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，总酸大约增加 $0.25\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

从图 2 可以看出加入这两种盐，酒精发酵后 pH 值下降。pH 值的下降幅度与盐的添加量呈正相关，但并不呈直线关系。加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，加入量为 $10\sim 20\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ ，pH 下降幅度比较大，随着添加量的增加，pH 值的下降幅度相对减小。加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，添加量为 $10\sim 30\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ ，pH 值下降幅度比率较大。加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 后

pH值的下降幅度，比加相同量的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 后pH值的下降幅度要大。

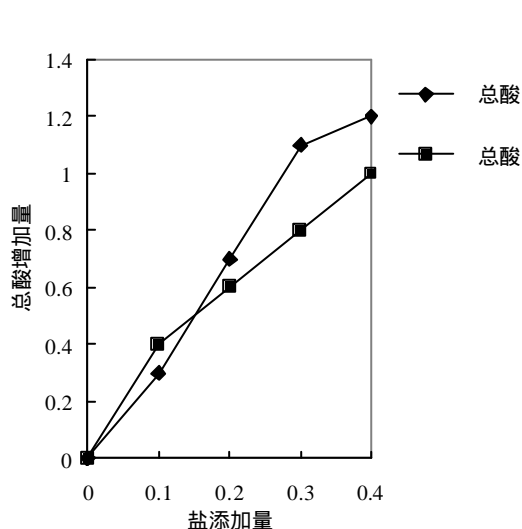


图1 加盐后总酸增加

注：总酸 I 为加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 后总酸的增加量，
总酸 II 为加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，总酸的增加量。

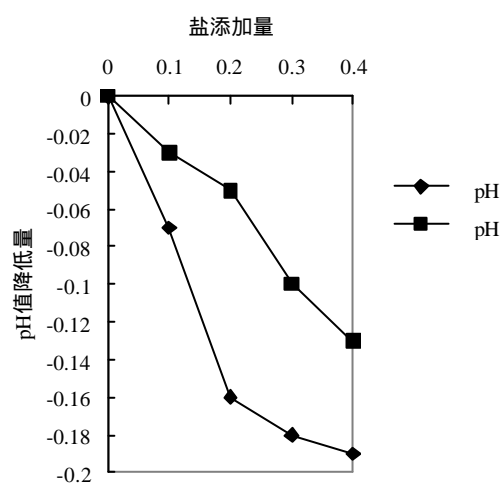


图2 加盐后pH值下降

注：pH I 为加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 后pH下降量，
pH II 为加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 后pH的下降量。

2.2 对味觉的影响

发酵结束后对发酵液进行了品尝。与CK相比较，加 10g 和 $20\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的样品，除酸感增加外，其他味觉基本相同；加入 $30\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的处理，除酸感觉明显增加外，苦味也稍有增加；加入 $40\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的样，酸、苦味增加都很明显。加 $10\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 的处理，其味觉与CK感觉无显著差异；加入 $20\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 的处理感觉较CK微酸；加入 $30\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ 和 $40\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 的样感觉明显较CK酸，其他味觉没有明显不同。

3 讨论与结论

(1) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 作为国际上通用的酵母的营养剂，能有效促进糖的酒精发酵，并使酒精发酵进行彻底。

(2) 添加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 都可以使发酵后酒的总酸含量增加。相对而言，加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 后总酸增加的幅度大。但添加两种盐后，总酸增加的幅度都没有Ribereau-Gayon在Handbook of Enology一书中所述那么大(添加 $10\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ 盐，发酵后总酸升高 $0.52\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，以酒石酸计)。

(3) 对这两种酵母营养剂要根据葡萄的情况及酿造的目的加以选择应用。如果葡萄总酸高、pH值低，则应选择 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，以免过多增加总酸和过多降低pH值。如果葡萄或汁中Fe含量较高，则应考虑选择 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，以免使发酵后酒中磷酸根离子含量升高，增加白色沉淀的风险。如果葡萄总酸过低，pH值过高，在酿造中需要增酸，则可选择 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，因添加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 可较显著地增加总酸，降低pH值。

(4) 对于 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 的添加量，建议不要超过欧盟的限定($30\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$)，一般以 $10\sim 20\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ 为宜。对于 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的添加量，建议不要超过 $20\text{g} \cdot \text{hL}^{-1}$ ，因为添加量过多会使酒的苦味增加，影响酒的感官质量。

参 考 资 料

1. Ribereau-Ggon. P. Glories Y, Handbook of Enology. John Wiley and Sons, LTD, Chichester, 2000
2. 李华主编. 现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社, 2000
3. 王华主编. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范. 西安: 西安地图出版社, 2000
4. 张春娅等编译. 国际葡萄酒酿酒药典. 北京: 中国轻工业出版社, 2002
5. 张春娅等编译. 国际葡萄酒法规. 天津: 天津大学出版社, 1998

The Effect of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ on Wine's Total Acid Contents and Mouthfeel

Yang Xinyuan¹, Li Hua¹, Teng Huanyu² and Hao Dongshu²

(¹College of Enology, Northwestern A&F University, Yangling Shaanxi, 712100 China;

²Vinisure Co.Ltd., Manasi Xinjiang 832200 China)

Abstract $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ are the nutrition of yeast which were used during the wine's alcohol fermentation. We study the effect of this two chemicals ON wine's total acid , pH and mouthfeel.

Key words Wine, Nutrition of yeast, Effect to wine

Managing micro-oxygenation and other maturation techniques on a large scale : fine tuning, away from the recipe.

The example of Caves de Rauzan – Bordeaux wines.

Jimmy BETEAU

(*OENODEV , France*)

Abstract The technique of micro-oxygenation originated 12 years ago in a small vineyard in South West France. At first experimental, it developed worldwide after the system became reliable in 1993. Today, if some wineries are still on the learning curve, others have completely integrated the technique into their winemaking process. The Caves de Rauzan, which is the biggest coop in Bordeaux, about 2 million cases, is one of them. After 6 years of experience, the micro-oxygenation is now applied properly to most of their wines, from the lower end of the range to the best wines aged in barrels. Tasting more frequently required special focus and training from the crew. Experience collection and organization needed a new tracking software. DO and turbidity monitoring became systematic. Understanding better the possibilities and the limits of sophisticated wine ageing highlighted the strengths and weaknesses of the grapes. As a result, the improvements in the vineyard have been accelerated and some cutting edge maturity assessment methods have been implemented. Things have come a long way since the first two experimental tanks, when the dose of O₂ was the only issue. Today, this is just a tiny piece of a big puzzle where the questions are style definition, longevity management, wine quality repartition... Being less passive and more proactive involved a huge time investment, but in the past two years, the winery sold the whole production earlier and with an average price of about 150€ per “tonneau” (1 tonneau = 900 l) more than its competitors on the bulk market. And so much more remains to come...

Key words Managing micro-oxygenation, Maturation technique, Bordeaux wines

1 Introduction

In the early 90's, in order to mimic the effect of ageing in old barrels, the technique of micro-oxygenation was developed in Madiran, a south western French appellation. The technique consists of bubbling continuously small amounts of oxygen in the wine, slower than the rate of consumption so that there is no accumulation of dissolved oxygen. An apparatus capable of achieving this has been created (DUCOURNAU and LAPLACE 1993) and

described (MOUTOUNET et al. 1995).

Since, the technique has been commercially spread throughout the winegrowing world and is now systematically used in some winery's whole winemaking process.

A few purposes for that technique have been proposed, such as sulphides and herbaceousness mitigation. However, micro-oxygenation is mainly used as a way of structuring and stabilizing red wines (LEMAIRE 1995)

Besides the effect on colour which has been described (ATANASOVA 2002), those reactions also affect the final molecular weight of the phenolic compounds in the wine and therefore certainly change the colloidal chemistry as well as the sensory.

When large amounts of monomeric phenolics (anthocyanins, catechins) are present, tannin reactions lead to low molecular weight species. For instance, acetaldehyde induced polymerisation stops when both ends are occupied by anthocyanins (CHEYNIER & al 2000).

It seems therefore obvious that the initial balance of the wine (in particular procyanidins / anthocyanidins) affects dramatically the type and proportion of products formed.

Keeping this in mind, it appears that applying the technique in a winery requires more than just putting a diffuser and setting a dose of oxygen delivery. It will involve raw material quality assessment, possible blending, final product definition and proper monitoring.

This is all time consuming and requires certain skills.

The bigger the plant, the more challenging it becomes. In fact, in most cases wine ageing in big tanks is closer to storage than it is to maturation or raising (actual translation for the French term 'élevage').

After having listed some of the specific challenges a big winery may face when maturing its wines, the case study of the Caves de Rauzan (2 millions cases) will be presented.

2 Large winery challenges in aging wine

2.1 Big tanks

In large wineries, besides the number of tanks, the first noticeable thing is usually their size. Anything from 50 000 L to 1 300 000 L can be considered as a big tank in terms of wine maturation.

The problems encountered are :

- Heterogeneity in temperature (gradient between top and bottom)
- Heterogeneity in turbidity
- Difficult settling due to height and convection streams.
- Pressure on the lees due to height which results in high tendency to sulphides.
- Difficulty in applying certain extraction and maceration methods (punching down, rack and return...)
- Requires specific equipment (extraction, oxygenation, lees stirring devices, representative sampling method ...)
- Neutral material requiring, in some cases, oak addition by barrel alternatives; it is however, difficult to incorporate the whole range of toasted oak (from untoasted to heavy toast) at the right moments.

2.2 Complex organization

In a small family owned winery, the same person often acts as vine grower, wine maker, marketer, salesman and

decisionmaker. Although it may appear impossible for the same person to have all the necessary skills, it gives the business an extraordinary coherence. The information is centralized and constantly available and the connections between the different jobs permanent.

In big wineries, we are more likely to find different teams working together. Each team has its own priorities and constraints and doesn't necessarily understand the constraints of others. Communication and management is the key to success, just like in any other business. However, the inherent complexity of the wine as a product makes it more critical.

Indeed, wine is a living product constantly changing and strongly dependant on its unique raw materials which are the grapes and maybe the oak.

In addition, it is a product which is extremely difficult to define precisely with rational figures : the analysis are insufficient and the tasting reports are based on cultural references which are never universal.

Therefore, communication between the different teams becomes simply impossible if no common referential is built.

In addition to this, the quantity of information and experience on which traditional winemaking usually relies becomes enormous in large wineries where details are extremely difficult to record in a way they can be retrieved smartly. But making wine is all about details.

In particular, micro-oxygenation is a technique which is based almost exclusively on empirical observations. This is due to the extreme complexity of the reactions which occur when applying it. Despite a great deal of research carried out on phenol chemistry, it may take years before there's a complete understanding of the effects and the ways to perfectly control them.

Nevertheless, the empirical models developed over 12 years of experience along with a strong commitment to high attention allows the technique to be used successfully and safely in large wine companies.

The Cave de Rauzan in particular is one of them.

3 Example of La cave de Rauzan

La cave de Rauzan is the biggest coop of the Bordeaux area producing about 2 million cases a year for 30 million liters of storage capacity.

3.1 History of acceptance

An extension of the Chambre d'Agriculture is located in the facility and conducts experiments such as micro-vinifications.

Harvest 1996

In 1996, in order to experiment the rather new technique of micro-oxygenation, the Chambre d'Agriculture purchased 6 units and treated 6 tanks of 60,000 liters each with their controls.

Rauzan Cellars

It produces white Entre-deux-Mers, Bordeaux blanc, Bordeaux and Bordeaux Supérieur.



The dominant red variety is Merlot, along with Cabernet Franc and Cabernet Sauvignon.

The trials were tasted once a month by a panel of winemakers. However, the lack of calibration made the results unclear.

Only 2 years later, when tasting again, by chance, the remaining samples, he was surprised by the amount of fresh fruit aromas remaining in the treated samples as well as an increased fullness, compared to the controls.

1998 – 2002, the winery bought a total of 165 units.

For maturity assessment and quality control, two Infra Red Fourier Transformation IRFT analysers (FOSS) were purchased.

Harvest 2004, Micro-oxygenation is applied to white wines production, together with lees stirring.

3.2 Goals

The initial goals were :

- Decreasing the herbaceous characters
- Stabilizing colour and fruit
- Obtaining fuller mouthfeel

But above all, conferring better longevity on the weak wines was the major issue.

The Figure 1 shows a Principal component analysis of tasting results on finished wines of Lugon (identified by LG) and Rauzan (identified by RZ). The two styles of these two wineries are clearly visible.

The arrows show the changes hoped for by the board of directors.

Having this clearly defined helps a lot when the time comes to deciding which technique should be used and how.

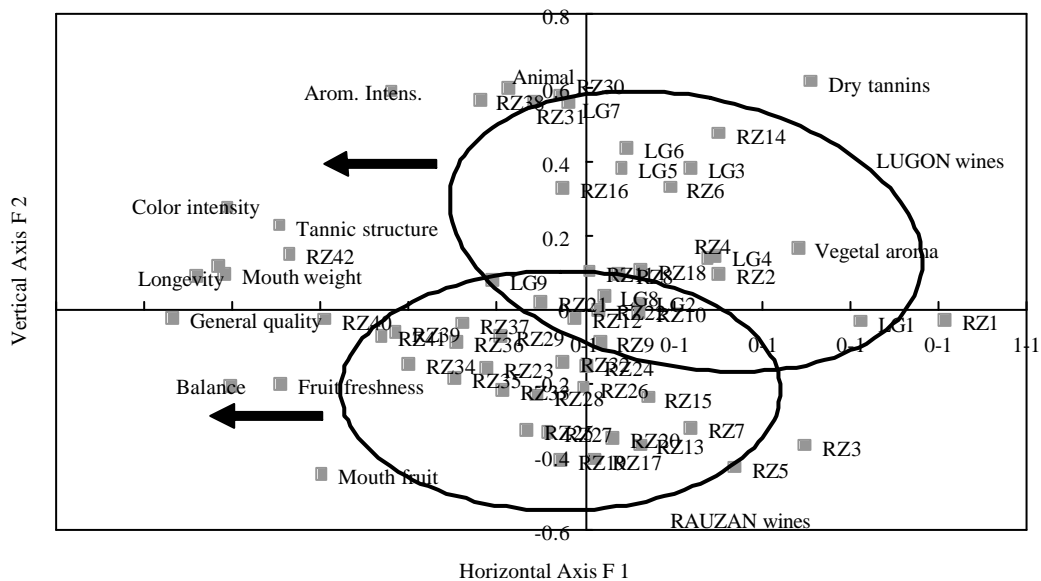


Figure 1 PCA of tasting results : difference in style between Lugon and Rauzan.

3.3 Strategy of production

Rauzan sells most of its wines on the bulk market to wine merchants. The dates of sale and delivery depend a lot on the evolution of the market as well and the prices change significantly.

It is crucial to have the right wine available at the right time. The decision to sell or not should be made using strategic parameters and not imposed by losses of quality of the wines in tanks or in bottles. The decision maker can take the risk of waiting for better market conditions only if they don't double the risk by losing quality.

In order to illustrate this, the wines produced can be sorted into 3 quality levels:

- Premium : aged in barrels, sold in bottle, ability to age in bottle
- Medium : fruity, balanced with a medium concentration
- Weak wines: lack of colour, lack of balance, drying tannins, green characters.

The lower end of the range is becoming more and more difficult to sell. In the past it used to be sold easily if the price was low enough. Nowadays, it is becoming difficult to find a market whatever the price.

Improving the vineyard management and harvesting at the right time are certainly the most effective ways of improving the situation and decreasing the volume of problematic wines.

However, it is a long term process which requires the full support of the growers.

Micro-oxygenation was considered as an alternative for short term improvement.

Figure 2 shows schematically the effects expected by using the technique on existing wines.

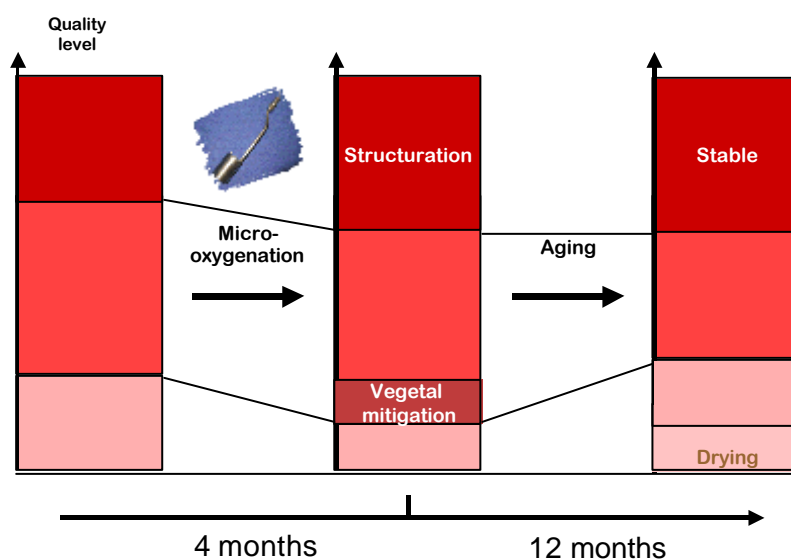


Figure 2 expected evolution of the range of wines treated with micro-oxygenation without pre re-organisation.

In this case, the premium wines (balanced and concentrated) would entirely benefit from the technique, obtaining more tannic structure and fullness. The medium wine may gain some fruit and weight but would lack some concentration in order to be substantially improved.

Most of the lesser ones would be too unbalanced or dry to even be able to be treated without drying out, thus gaining some dry vegetal aromas such as hay. Only a small portion may benefit of some herbaceousness mitigation, revealing some fresh fruit.

In any case, no significant improvement can be obtained that way in terms of longevity.

The situation after 12 months may even be worse for the lesser wines that it would have been without treatment.

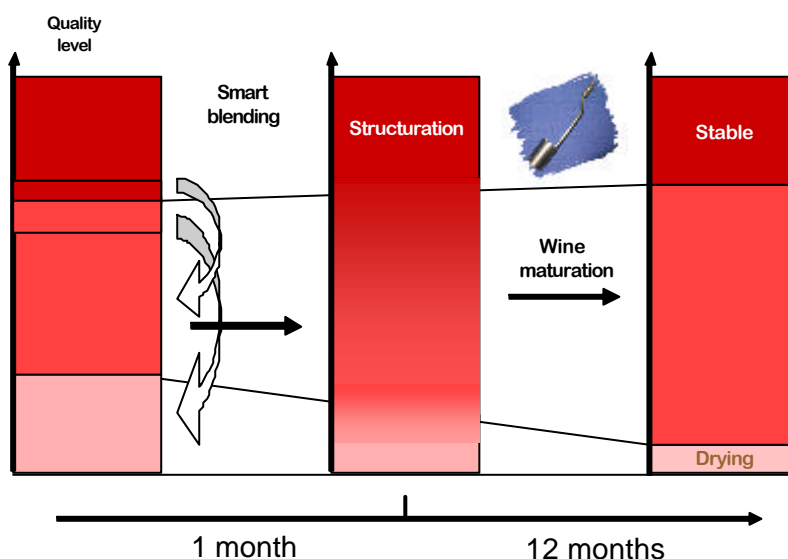


Figure 3 shows the evolution of the range of wines treated with micro-oxygenation after re-organisation by early strategic blending.

Blending some small portions of concentrated wines with lower quality wines doesn't make them good but, if done properly, can improve their balance enough to be able to take benefit from the maturation techniques such as oak additions (barrel ageing in the case of Rauzan), oxygenation, lees management ...

This type of blending is somewhat different from the usual final blending, well known by winemakers and wine consultants.

There's no need to find the perfect blend in term of aromas, acidity, fullness... but just enough of the characteristics required for the techniques which are about to be used.

In the case of micro-oxygenation, the following criteria are necessary:

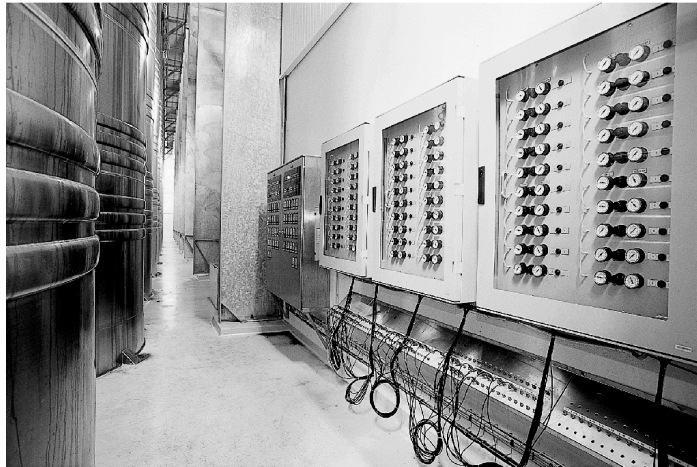
- Ratio between tannins and anthocyanins of $\frac{1}{4}$ or more. The more free anthocyanins the better.
- As little as possible of dry vegetal, degraded fruit and dry tannins in the blend.

3.4 Equipment & procedures

The 165 units used in Rauzan are spread out in 5 different cellars. All doses and treated wine volumes are entered through the PC which keeps track of the history of treatment and links it to the general production tracking software.

As explained earlier, being able to build experience by linking together analysis, tasting results and treatment data is the key to success.

Rauzan uses standard OENODEV equipment based on separate interchangeable dosing units (one per tank) in boxes of 20. All tanks are equipped with one low pressure pipeline. One standard diffuser is used per treated tank.



Micro-oxygenation dosing units (60)

The winery purchased an oxygen meter (WTW Oxy 330) as well as a turbidity meter.

It has a centrifuge and two lees tanks so that the red wines can be racked of the lees. This helps avoid interference between the consumption of O₂ by the lees and by the phenols. The lees kept separate and properly treated can be reincorporated later on for macro-molecules release and an increase of viscosity.

3.5 Monitoring

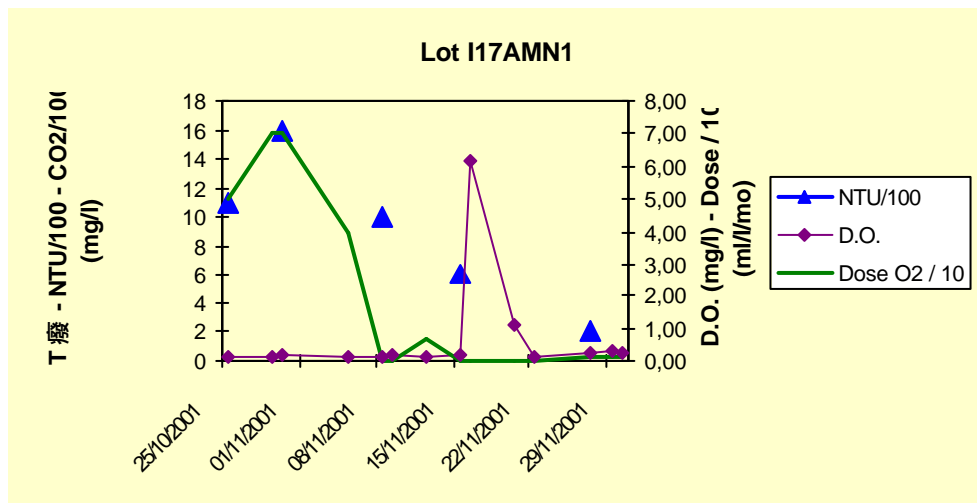
Although maybe not quite so important as the initial strategic and technical decisions, monitoring is of course a key element as each wine is slightly different from the others and the reactions cannot be entirely predicted.

3.5.1 Analysis for monitoring

- Dissolved oxygen (DO)
- Turbidity
- Free SO₂ (when applicable)
- Malo-lactic fermentation (paper chromatography)

More analysis in routine should be coming soon through the IRFT equipment.

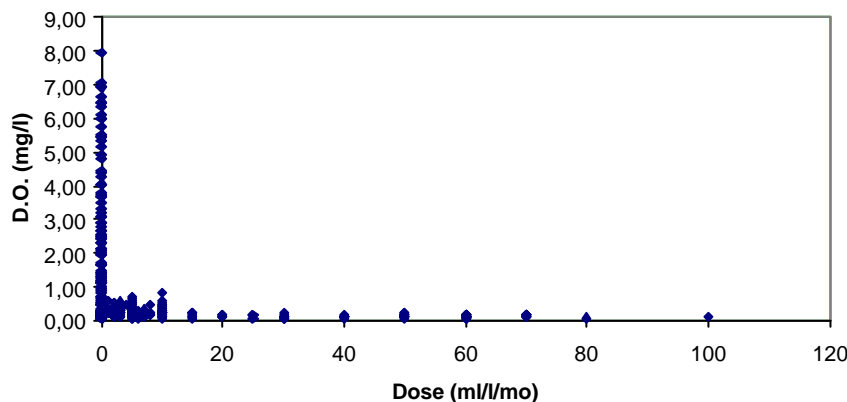
The figure 4 is an example of one tank treated with micro-oxygenation pre SO₂ addition.



The chart shows, besides a usual decrease of turbidity, a DO remaining very low despite some significant doses of oxygenation (40 to 70 ml/l/mo during the first 10 days after alcoholic fermentation completion). The peak of DO corresponds to the post malo-lactic aerated racking, the micro-oxygenation being turned off.

The figure 5 shows that the conditions of micro-oxygenation were well respected in the 70 tanks represented here, since no high DO is found while oxygenation is applied.

D.O. / Oxygen flow rate for all 570 measures 2001



3.5.2 Steering tasting

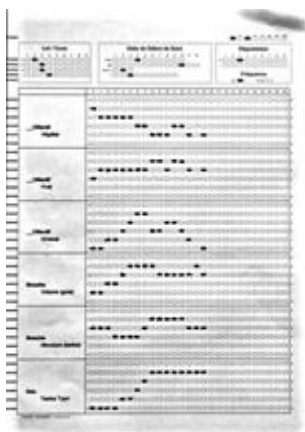
Figure 5 : D.O. monitoring for 70 tanks oxygenated (First month after harvest)

As explained in the introduction, tasting is necessary along with DO measurement to drive micro-oxygenation, to adjust the dose and decide when to stop.

The method being used, although not yet completely functional, is:

- 2 to 3 tasters, proper training
- 4 to 6 straight forward descriptors
- Tasting in the winery is OK
- Using scannable tasting sheets (one per wine and per 30 days)

Prior to SO₂ addition, the descriptors typically used are : fruit intensity, vegetal intensity, aldehyde, weight (viscosity, fullness), tannic intensity, type of tannins



example of steering tasting sheet.

3.5.3 Evaluation and Decision tasting

The group of La Cave de Rauzan developed its own expert panel including winemakers from both wineries, sales and marketing personnel and the director.

Frequent tastings take place from January through August with several purposes :

- Defining the goals
 - Early and late blendings
 - Result evaluation
 - Competition evaluation
- Some of the elements of the method being used are :
- 5 to 10 tasters
 - Proper training
 - 10 to 25 descriptors
 - Tasting room

The image shows a descriptive tasting sheet form. It has a header section with fields for 'Name', 'Date', and 'Taster'. Below this is a table with columns for 'Wine Sample', 'Blind Tasting 1', 'Blind Tasting 2', 'Blind Tasting 3', and 'Blind Tasting 4'. Each column contains a grid of small circles, likely for marking scores or observations for various descriptors listed on the left side of the page. The descriptors include terms like 'Appearance', 'Nose', 'Palate', 'Finish', etc.

- Real time feed back

descriptive tasting sheet

3.6 General organisation

Tasting becomes more and more the centre of the organisation in the group. Having all major functions, from winemaking to sales and marketing, in the same expert panel is very challenging but appears to be very effective. Indeed the communication around technical facts is eased significantly and therefore more general communication is improved.

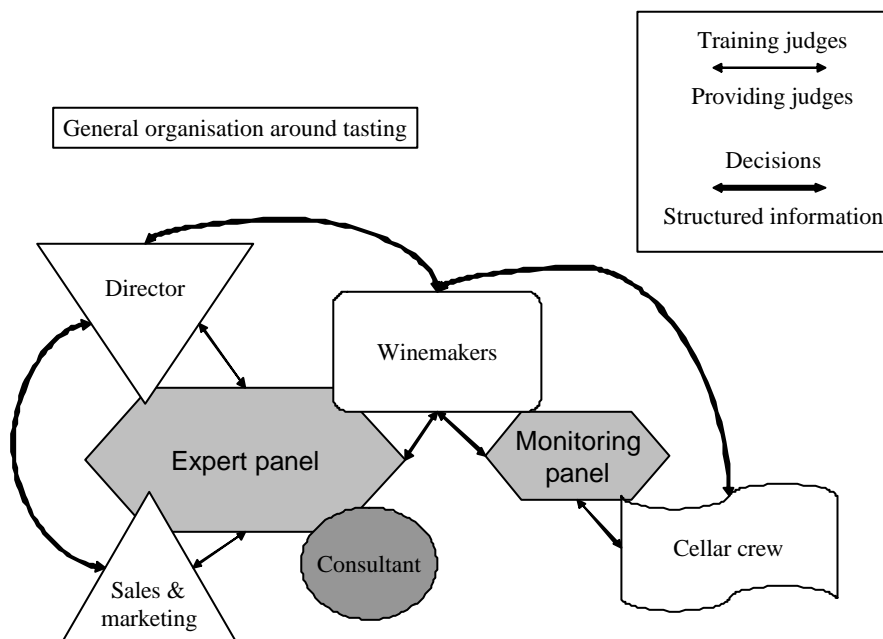
The main expert panel involves people from management, salesmen, winemakers and assistant winemakers. The consultant helped to put this in place and animates it on a regular basis so that it doesn't die. As a matter of fact, it requires continuous impulsion to keep going, the activities of all judges having the tendency to pass over the functions of the panel.

All judges are calibrating and training due to their participation to the panels. On the other hand, the panel benefits from the experience and the information of all the judges.

Not all technical or commercial decisions can be made by the panel, so each team organises its own tasting for its

own purposes but when the time comes for consolidation, a common language can be used.

From the micro-oxygenation point of view, the general blending decisions as well as the intermediate results evaluation are made by the main panel. The day to day monitoring is conducted by informal panels including the winemakers so that, again, a common language can be used.



The process is certainly still in progress but has already borne its fruit. For instance, micro-oxygenation is now perfectly integrated in the winemaking scheme and is used as well as one could expect in the conditions of a coop. Consequently, the two last vintages have been sold at an average price of 15€HI more than the market price and earlier than most of the competitors.

The remaining challenges are, of course, in the vineyard, in harvesting at the right time and in selecting precisely the lots of wine for the different quality levels.

Bibliography

1. Atanasova V., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M., Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making., *Analytica Chimica Acta*, 458, 15-27, (2002)
2. Cheynier V., Mechanisms of anthocyanin and tannin changes during winemaking and aging., *Proceedings on the ASEV 50th Anniversary Annual Meeting*, Seattle, Washington June 19-23 (2000)
3. Ducournau P., Laplace F. – Patent N° 93.11073 (1993)
4. Lemaire T. –La micro-oxygénation des vins. *Rapport de D.N.O. Montpellier* June 95 105-106, 121-130. (1995)
5. Moutounet M., Ducournau P., Chassin M., Lemaire T. –In *Œnologie 95*. Ed.Lavoisier Tech et Doc. 411-414. (1995).

大规模微氧及熟化技术管理：充分协调，抛弃教条做法 波尔多酒庄 Caves De Rauzan 的应用实例

Jimmy BETEAU
(OENODEV, France)

提 要 微充氧技术 12 年前起源于法国西南部一个小型酒庄。经过一系列实验与测试,该技术于 1993 年成功得到应用。之后,此项技术在全球范围内广泛推广。今天,如果说某些酒厂还在微充氧应用方面徘徊的话,但更多的酒庄已经完全将此技术运用在葡萄酒的酿制过程之中。The Caves de Rauzan,它是波尔多地区酒类生产合作社最大的酒厂,该合作社每年生产量约为 2400 万瓶。经过 6 年的应用与实践,它的不同档次的大部分的产品都已经正确使用微充氧。

对全体工作人员来说,专门培训与经常性品酒至关重要。经验的积累与信息的收集需要一套新的跟踪系统软件。

对先进的陈酿技术的优势与局限性的更好理解可以明显区分葡萄品种的好坏。因此在葡萄园里,就应做一些相应的改善,并采用新的葡萄成熟评估方法。这样更多的进步与惊喜接踵而来。

从首次实验的两个大罐算起,至今已有很长时间。当时,氧气添加量是我们考虑的惟一因素。而今天,微氧技术已相当成熟,氧气添加量仅是众多参数中的一种,其它重要的因素如:所期望的葡萄酒风格、陈酿时间长短的控制以及葡萄质量的分级。

这样,在酒的处理上,我们拥有更多的时间主动权。所以,二年之前,酒庄较早的以均价 150 欧元每 900 升销售产品,超过他们的竞争对手。

关键词 微氧处理;后熟技术;波尔多葡萄酒

(翻译:康文怀)

模拟体系中表儿茶素的氧化

张影陆 郝慧英 徐 岩 赵光鳌

(江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

提 要 白葡萄酒等果酒氧化褐变与多酚物质有很大关系。为深入研究白葡萄酒的氧化褐变机理, 设计了用表儿茶素氧化模拟体系, 研究了不同浓度、不同 pH、不同温度及乙醇、SO₂ 对表儿茶素氧化褐变的影响。

关键词 表儿茶素; 果酒; 褐变; 氧化

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

高效液相色谱: 惠普高效液相色谱仪 1100 系列。色谱柱: Exclips XDB C18 4.6×250 mm。流动相 A: 5% 醋酸水溶液; 流动相 B: 40% 乙腈水溶液。

UV-3000 紫外可见分光光度计, 日本东芝制造。

pH-S 酸度计, 上海轻工机械厂制造。

表儿茶素, Sigma 公司。

配制 20mmol/L 的表儿茶素酚母液。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度表儿茶素的氧化

将表儿茶素配制成 0.5 mmol·L⁻¹、1.0 mmol·L⁻¹、2.0 mmol·L⁻¹ 的母液。取酚母液各 2.5、5.0、10.0 mL, 分别定溶于 100 mL, 用 10% KOH 溶液调整 pH 至 7.0, 在 25 °C 条件下反应, 分别在 0、9、24、48、72、268、292、316 h 取样测定表儿茶素的含量和褐变程度。

1.2.2 不同 pH 表儿茶素的氧化

配制 2.0 mmol·L⁻¹ 的表儿茶素溶液, 调整 pH 分别为: 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0, 在 25 °C 条件下, 其余操作同上。

1.2.3 不同温度表儿茶素的氧化

配制 2.0 mmol·L⁻¹ 的表儿茶素溶液, 调整 pH 至 7.0, 分别在 5 °C、25 °C、35 °C 时反应, 其余操作同上。

1.2.4 乙醇和 SO₂ 对表儿茶素氧化的影响

配制 2.0 mmol·L⁻¹ 的表儿茶素溶液, 其中含有 10% 乙醇和 40 mg·L⁻¹ 的 SO₂ (以偏重亚硫酸钾计), 其余操作同上。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度对表儿茶素氧化褐变的影响

表儿茶素的浓度分别为 0.5, 1.0, 2.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.0 时在空气中氧化, 测定浓度随时间变化及褐变情况, 见图 1 和 2。

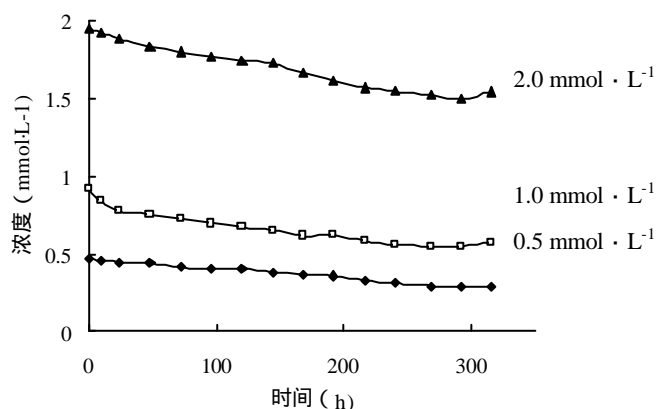


图 1 表儿茶素浓度随时间变化图

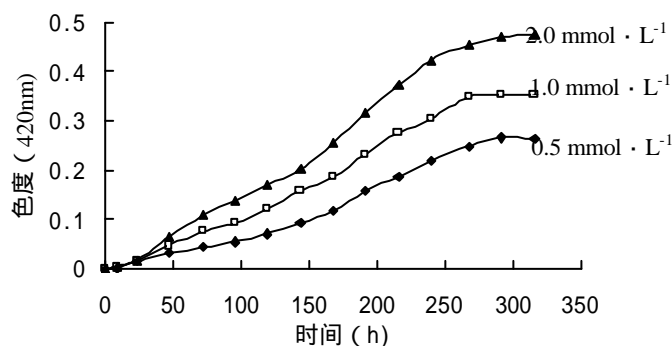


图 2 不同浓度表儿茶素氧化褐变图

从以上两图可以看出, 随着时间的延长, 表儿茶素浓度越来越小, 褐变程度越来越大。浓度越高, 浓度下降趋势越大, 褐变程度越高。因此, 在不影响产品风味的情况下, 尽量减少多酚类物质的含量, 可以有效降低褐变程度。从图 2 发现, 开始时表儿茶素褐变程度变化缓慢, 随着时间的延长, 褐变程度陡然增大, 之后又逐渐变平缓。这与图 1 中表儿茶素氧化过程中浓度的变化相一致: 在自动氧化褐变过程中, 反应初始有一个滞后阶段。与酶促褐变实验相比较, 表儿茶素褐变陡然上升的变化趋势不同。

2.2 不同 pH 对表儿茶素氧化褐变的影响

2.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的表儿茶素在 25 $^{\circ}\text{C}$ 、不同 pH 条件下测定表儿茶素的氧化褐变情况。以 pH 7.0 时氧化两周的色谱图为例, 见图 3。

从图中可以看出, 表儿茶素在自动氧化过程中, 也形成几种产物, 其中 D、E 是主要的两种产物, 氧化产生的多数物质比表儿茶素先洗脱出, 这说明这些产物的极性比表儿茶素要大。与表儿茶素的酶促氧化实验相比, 多数产物与表儿茶素后洗脱出现象不同, 这说明酶促氧化反应同非酶促氧化反应形成的氧化

产物并不完全相同，自动氧化褐变过程图见图 4。对于酒生产过程中，既有酶促褐变又有非酶促褐变，因而使酒中生成了一系列复杂的成份，不仅影响了酒的颜色，而且对酒的风味也有一定程度的影响。

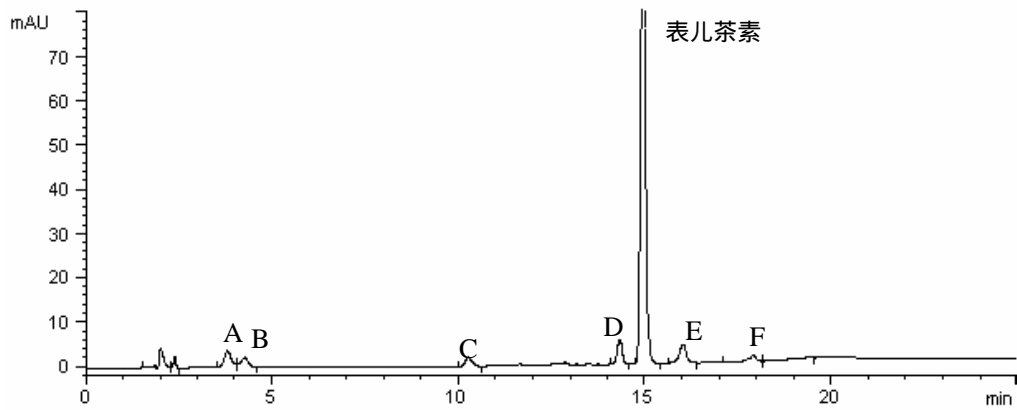


图 3 pH 7.0, 25 时,表儿茶素溶液氧化褐变两周的色谱图

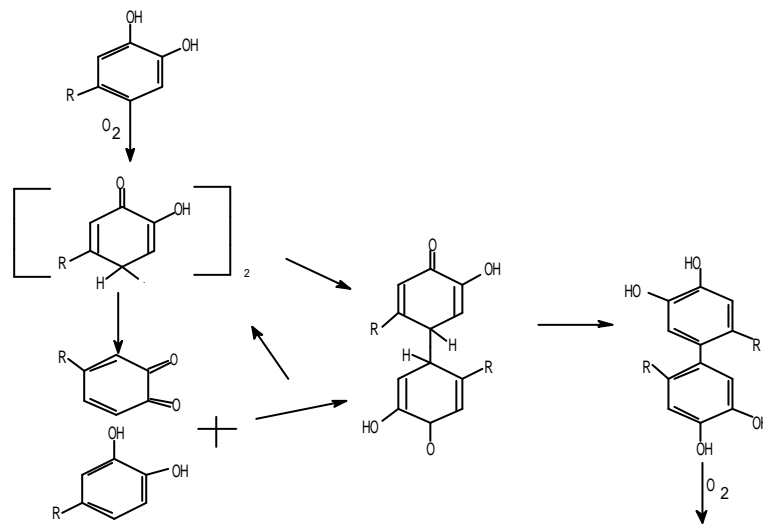
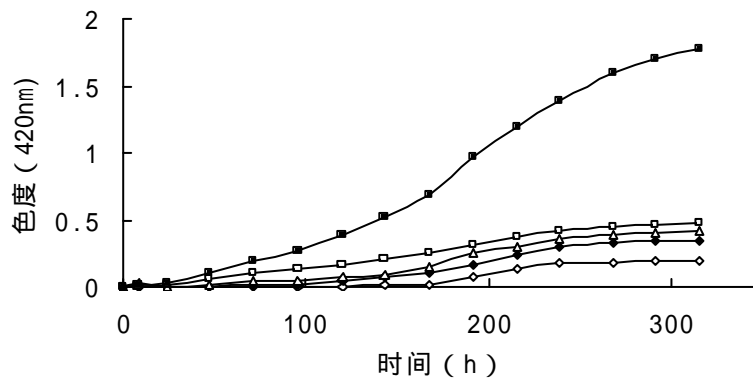


图 4 邻二酚自动氧化褐变过程图



◇ pH 4.0 pH 5.0 △ pH 6.0 □ pH 7.0 pH 8.0

图 5 不同 pH 对的表儿茶素氧化褐变程度的影响

由实验结果得知，不同 pH 时，氧化产物基本类似，这说明在不同 pH 时，氧化反应的作用机制是相似的，尤其是在 pH 6.0-8.0 时，只不过氧化产物的量和比例并不相同，氧化反应速度（表 1）及褐变程度（图 5）也不相同。

从不同 pH 的表儿茶素氧化褐变程度图中可以看出，pH 不同，表儿茶素的氧化褐变趋势大体相同：随着时间的延长，褐变程度越来越大。pH 越低，褐变程度越小，随着 pH 的升高，褐变越来越明显。说明在碱性条件下，多酚易于被氧化。因此，要想降低褐变程度，可尽量降低 pH。

表 1 表儿茶素在不同 pH 时的自动氧化褐变速度 ($\times 10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

pH	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
表儿茶素	2.25	7.37	8.94	12.85	33.20

从表 1 中可以看出，随着 pH 的上升，表儿茶素的氧化反应速率显著上升，pH 8.0 时的反应速率约为 pH 4.0 时反应速率的 16 倍。降低 pH 可以明显的控制氧化速率。

2.3 不同温度对表儿茶素氧化褐变的影响

2.0 mmol/L 的表儿茶素在 pH 7.0、不同温度（5、25、35）条件下测定氧化褐变情况，见图 6。

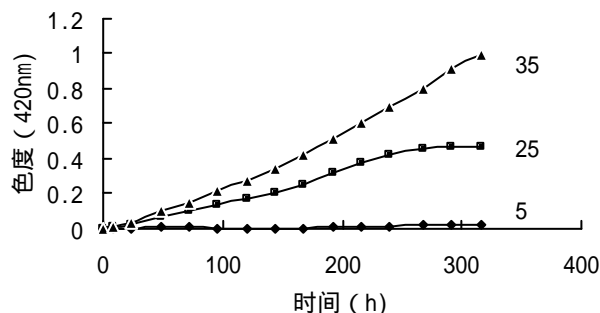


图 6 不同温度对表儿茶素氧化褐变程度的影响

从图中可以看出，温度越高，褐变越明显。温度对褐变程度的影响同 pH 的影响基本类似，降低温度可有效的降低褐变程度。

2.4 乙醇、SO₂ 对表儿茶素氧化褐变的影响

在 2.0 mmol · L⁻¹ 的表儿茶素溶液中分别添加乙醇和 SO₂，使其一种溶液为含有 10% 乙醇的溶液，另一种溶液为含 10% 乙醇和 40 mg · L⁻¹ SO₂ 的混合溶液。在 25、pH 7.0 条件下，用 HPLC 测定氧化两周的色谱图（图 7 和 8）。

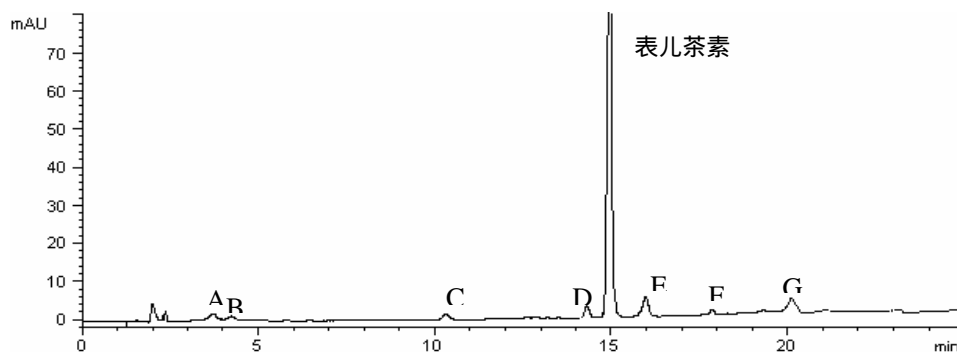


图 7 含乙醇的表儿茶素溶液在 pH 7.0, 25 时，氧化两周的色谱图

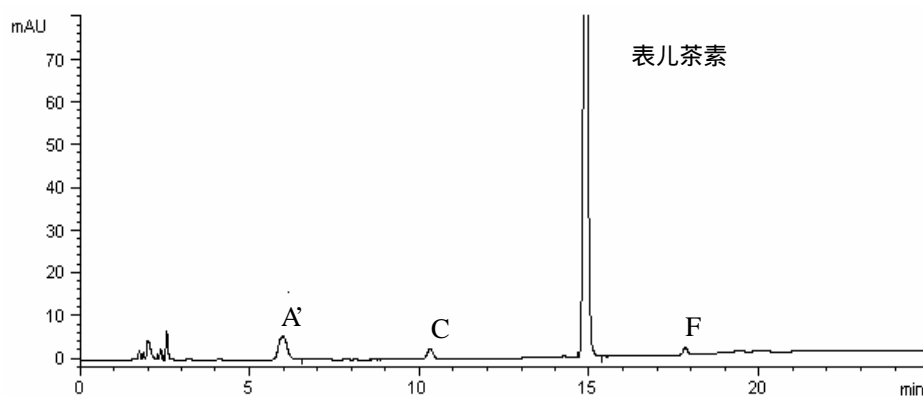


图 8 含乙醇和 SO_2 的表儿茶素溶液在 pH 7.0, 25 °C 时, 氧化两周的色谱图

从图 7 中可以看出, 含 10% 乙醇的表儿茶素溶液的氧化产物主要有七种, 其中 D、E、G 是主要的三种产物。对比色谱图 7 和 3, 可以发现乙醇存在时, 有一种新物质峰 G 出现, 这说明乙醇参与了表儿茶素的氧化反应。由实验可知, 这个峰在第十天时开始出现, 并随着时间的延长, 逐渐开始增大。这可能是引起褐变程度突然开始增大超过不含乙醇的表儿茶素溶液褐变的原因。

从图 8 可以看出溶液中含有 SO_2 时, 主要形成三个峰 A'、C、F, 而且, A' 为主要产物。对比色谱图 3、7 和 8 可以看出, 当溶液中含有 SO_2 时, 新生成一种物质 A'。同时图 8 少了 A、B、D、E 四个峰。这说明 SO_2 参与了氧化反应, 生成一种物质 A', 从而抑制了褐变。有报道称, 乙醇和 SO_2 参与反应是由于邻二酚氧化形成了过氧化氢, 过氧化氢再氧化乙醇和 SO_2 。

同样条件下测定表儿茶素的褐变程度, 见图 9。从图中可以看出, 随着时间的延长, 褐变程度越来越大, 但是变化情况并不相同。含乙醇和 SO_2 的表儿茶素溶液褐变程度最低。其次是含乙醇的表儿茶素溶液, 最后是表儿茶素溶液。在反应的前十天, 含乙醇的表儿茶素溶液褐变程度低于表儿茶素溶液, 第十天时, 褐变程度突然增大, 超过表儿茶素溶液。这种现象可能是 G 峰在第十天的出现而导致的结果。

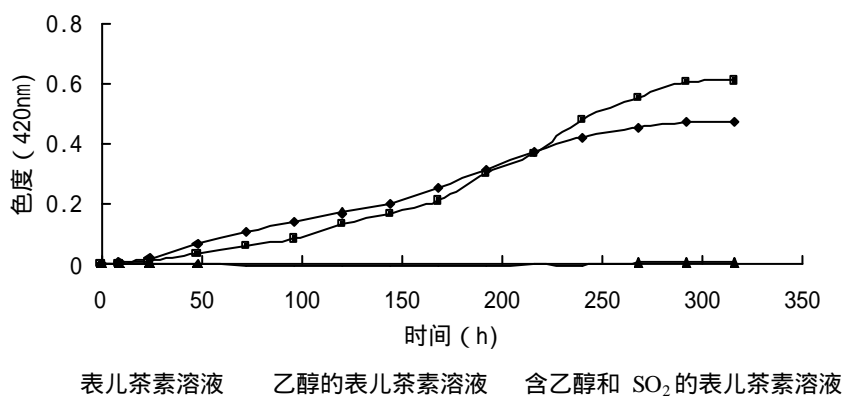


图 9 乙醇、 SO_2 对表儿茶素的氧化褐变程度的影响

参 考 文 献

1. 赵光鳌等译. 葡萄酒酿造学——原理及应用. 北京：中国轻工业出版社，2001
2. 李 华编著. 葡萄酒酿造与质量控制. 杨凌：天则出版社，1990
3. Vernon L. Singleton. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *Am. J. Enol. Vitic.* [J] VoL.38, No.1, 1987: 69-77

Oxidation of Catechin in Simulation System

Zhang Yinglu, Hao Huiying, Xu Yan and Zhao Guang'ao

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu, 214036 China)

Abstract The relation between polyphenol and browning was discussed. Using the oxidation simulation system, designing different concentration, pH, temperature, ethanol and SO₂ to study the oxidation mechanism of catechin and browning.

Key word Catechin, Wine, browning, oxidation

葡萄与葡萄酒花色素苷的 HPLC 分析研究进展

韩富亮¹ 王华^{1,2}

¹ 西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100;

² 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 花色素苷在葡萄与葡萄酒中有着重要的作用。随着色谱技术的发展, 高效液相色谱 (HPLC) 成为研究花色素苷的有力工具。本文主要从葡萄花色素苷的提取、HPLC 分离花色素苷的色谱条件、花色素苷的定性分析、定量分析、HPLC 分析方法的可靠性及其存在的问题等 6 个方面对花色素苷的 HPLC 分析方法进行了概述, 并展望了葡萄与葡萄酒花色素苷 HPLC 指纹图谱的应用前景。

关键词 葡萄; 葡萄酒; 花色素苷; HPLC; 进展

花色素苷是葡萄果皮中的黄酮类化合物, 是赋予红葡萄酒颜色的主要物质, 其种类、含量对葡萄与葡萄酒的感官品质有着重要的影响。国外对葡萄与葡萄酒花色素苷进行了比较广泛而深入的研究, 葡萄与葡萄酒中常见的花色素苷见表 1。我国在此领域的研究还很少, 尤其是用高效液相色谱法分析研究葡萄与葡萄酒花色素苷的种类、含量及其相关的研究还未见报道。

表 1 葡萄与葡萄酒中常见的花色素苷

英文名称 (简写)	中文名称
Dp 3-O-Glu	花翠素 3-O-葡萄糖苷
Cy 3-O-Glu	花青素 3-O-葡萄糖苷
Pt 3-O-Glu	3'-甲花翠素 3-O-葡萄糖苷
Pn 3-O-Glu	甲基花青素 3-O-葡萄糖苷
Mv 3-O-Glu	二甲花翠素 3-O-葡萄糖苷
Dp 3-O-(6-O-Acet)-Glu	花翠素 3-O-(6-O-乙酰)葡萄糖苷
Cy 3-O-(6-O-Acet)-Glu	花青素 3-O-(6-O-乙酰)葡萄糖苷
Pt 3-O-(6-O-Acet)-Glu	3'-甲花翠素 3-O-(6-O-乙酰)葡萄糖苷
Pn 3-O-(6-O-Acet)-Glu	甲基花青素 3-O-(6-O-乙酰)葡萄糖苷
Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu	二甲花翠素 3-O-(6-O-乙酰)葡萄糖苷
Dp 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu	花翠素 3-O-(6-O-对香豆酰)葡萄糖苷
Cy 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu	花青素 3-O-(6-O-对香豆酰)葡萄糖苷
Pt 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu	3'-甲花翠素 3-O-(6-O-对香豆酰)葡萄糖苷
Pn 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu	甲基花青素 3-O-(6-O-对香豆酰)葡萄糖苷
Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu	二甲花翠素 3-O-(6-O-对香豆酰)葡萄糖苷

Dp: Delphinidin

Cy: Cyanidin

Pt: Petunidin

Pn: Peonidin

Mv: Malvidin

Glu: Glucoside

Acet: Acetyl

Coum: Coumaryl

20 世纪 60 年代, Riberean-Gayon 教授用色谱技术成功地分离和鉴定了葡萄与葡萄酒中的花色苷。现在, HPLC 已经成为分析花色苷的有力工具^[1]。用光电二极管阵列检测器 (DAD) 进行检测, 可以对分离的花色苷色谱峰进行光谱定性鉴定和纯度鉴定^[2]。

高效液相色谱分析方法已经被用来分析葡萄与葡萄酒中花色苷的成分组成和变化, 并对其 HPLC 图谱进行多元统计分析, 以便对葡萄品种、葡萄酒原料品种、葡萄酒产地进行鉴定, 甚至应用于葡萄分类和遗传谱系的鉴定^[3,4,5]。

1 葡萄花色苷的提取

葡萄果实中的花色苷主要存在于果皮, 少数品种的果肉中也含有花色苷。采集样品后, 先在-20 左右低温下贮藏, 这是因为低温有利于花色苷的提取^[2,5-10]。低温放置一段时间, 再放到较高温度 (室温以下) 进行融化, 以利于果皮与果肉分离^[5,10]。根据不同的条件, 花色苷提取可以加液氮研钵研磨提取、匀浆提取, 或搅拌振荡提取^[2,6-12]。

常用的提取溶剂有水、酸和有机溶剂^[2,4-15]。有机溶剂主要为甲醇、乙醇和丙酮。常用的酸主要为甲酸、乙酸、盐酸和酒石酸等。在低温、避光条件下提取多次^[5,8-9,11,15], 合并提取液, 用旋转蒸发仪在 35 以下浓缩^[8,11-12,15], 离心 5~15min, 1200 × g~15000 × g 离心力^[6,9-10,12]。提取液进行 HPLC 分析前需经 0.45μm 膜过滤。花色苷的提取方法归纳见表 2。

Eugenio 等 (1998) 报道: 用含 1% 12 N 盐酸的甲醇提取, 总花色苷含量高, 但乙酰化的花色苷分解, 含量减少, 因此, 花色苷的提取应避免使 12 N 盐酸的含量超过 1%^[16]。

提取程度不同会影响花色苷含量的测定结果。Bakker J. 和 Timberlake C. F. (1985) 用 Touriga Nacional (*Vitis vinifera*) 作为提取材料作了三种不同程度的提取, 结果表明: 随提取程度的加重, Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu 从 26% 增加到了 33%, 而其他主要的花色苷和 Pn 3-O-Glu 的含量则有所下降 (3%)^[7]。

表 2 葡萄花色苷的提取方法

样品贮存	提取溶剂	溶剂比例 (v/v)	提取体积	保存条件	参考文献
-20	甲醇	—	10ml/12 粒浆果	避光	Bakker J.,1985
-20	甲醇/12NHCl	99/1	—	—	Gao Y.,1995
—	甲醇/丙酮/水	—	—	4	Ryan J. M.,2003
-20	甲醇/甲酸	97/3	4mL · g ⁻¹ 鲜重	—	Cantos E.,2002
-30	甲醇/甲酸/水	50/1.5/48.5	—	=-35	Mazza G.,1999
-23	80%乙醇	—	—	—	Baldi A.,1995
-20	甲醇/盐酸	95/5	—	—	Esteban M. A.,2001
—	丙酮/水	66/34	1 mL · g ⁻¹ 鲜重	-20	Kennedy J. A.,2002
—	甲醇/盐酸	99/1 (冷)	—	—	Koki Y.,2001
-35	乙醇/盐酸	99.8/0.2	—	-5 充 N ₂	Spayd S.E.,2002
—	甲醇/盐酸	99/1 (冷)	—	—	Hong V.,1990
—	甲醇/甲酸	98/2 (冷)	1 mL · g ⁻¹ 干重	—	Koki Y.,1999

“—”: 参考文献中未列出

2 花色素苷 HPLC 分析的色谱条件

2.1 色谱柱

花色素苷是极性化合物, 因此, 常用的分析色谱柱是 250×4 mm i.d.、250×4.6 mm i.d.或 150×3.9mm i.d., 颗粒直径为 3、4 或 5 μ m 的反相色谱柱, 以使用较高的柱效使众多的花色素苷达到较好的分离^[1-16]。

Lbern-Gó mez M.等 (2002) 用 30×4.6mm i.d., 颗粒直径为 3.5 μ m 的 Zorbax StableBond C18 柱用 18 分钟快速分析了红葡萄酒中的酚类物质, 但只检测鉴定了 6 种花色素苷^[17]。而 Esteban M. A.等 (2001) 用 μ Bondapak300×3.9mm i.d., 颗粒直径 10 μ m, 1.5mL·min⁻¹ 流速, 在 35 分钟的梯度时间鉴定了 Tempranillo (*Vitis vinifera*) 葡萄中的 11 种花色素苷^[8]。

分离柱的柱效受柱长和填充颗粒直径的影响。柱越长, 填充颗粒直径越小, 柱效越高, 但柱压也会升高, 而温度对提高花色素苷的分离效果并不明显。由于花色素苷的特性和种类, 分离花色素苷的分析柱除柱效要高外, 还必须对低 pH 条件稳定。

2.2 色谱条件

HPLC 测定葡萄与葡萄酒中花色素苷的柱温一般在 20~40 之间, 过高的温度和流动相的低 pH 值 (pH1.0~2.5) 共同作用会显著降低色谱柱的使用寿命^[1,3,7,9-10,17-26]。检测波长为 520nm, 这是因为花色素苷在 520nm 左右有最大吸收。若有光电二极管阵列检测器, 还可对检测的花色素苷进行定性和纯度鉴定^[1-2,4-8,14,16,28-29]。

进样体积一般为 10 μ L 或 20 μ L, 这与色谱柱的分离承载能力有关, 增加进样量, 分离效果就会相应地降低^[9,16,18,21,25,29-32,34]。流速通常为 1mL·min⁻¹ 或 1.5 mL·min⁻¹, 流速的增大或减小在一定程度上会相应地缩短或增加花色素苷的保留时间^[1-5,7-9,14,16-18,20-22,24-26,28-34]。

流动相可分为有机溶剂和无机溶剂。有机溶剂主要是乙腈、甲醇和有机酸。有机酸主要是甲酸、乙酸、三氟乙酸 (TFA) 和三氯乙酸。无机溶剂主要是水和无机酸, 磷酸和高氯酸^[1-5,7,9,14,16-26,28-36]。在流动相中甲酸或乙酸的比例一般不超过 10% (v/v), 以避免太多的酸造成花色素苷的降解或形成它们的矫作物^[1-10,14,25,28-32,34]。磷酸不常用, 而高氯酸的含量一般为 0.6%。流动相一般用酸调到 pH1.5 左右, 并采用梯度洗脱, 以利于花色素苷的分离检测, 60min 左右即可洗脱出全部的花色素苷^[1-5,7-9,14,16-26,28,30-34]。

3 花色素苷的 HPLC 分析

3.1 花色素苷的 HPLC 定性分析

花色素苷主要是根据它们的保留时间来定性分析, 而光谱特性和洗脱顺序并不能鉴别所有的花色素苷, 因此, 光谱特性和洗脱顺序只能是辅助鉴定^[1-5,7-8,14,16-17,19,21,28-29,32]。

对香豆酰化花色素苷在 280~340nm 之间的光谱吸收高于它们相应的非酰化的花色素苷, 这是因为前者含有的对香豆酸增加了其光谱吸收^[2,16]。Gao Y. 和 Cahoon G. A. (1995) 在 250~650nm 范围内对花色素苷进行了扫描, 根据花色素苷紫外和可见光最大吸收波长、两波长最大吸收之比、440nm 最大吸收和可见光最大吸收之比, 以及花色素苷溶液在加入一滴 AlCl₃ 溶液 (1%) 后光谱吸收是否蓝移对花色素苷进行了定性鉴定^[5], 结果见表 3。

表3 三种花色素苷在 0.01% 盐酸甲醇溶液中的光谱性质 (Gao Y. 和 Cahoon G.A.1995)

花色素苷	Amax(nm)	Euv,max/Evis,max	E ₄₄₀ /Evis,max	AlCl ₃ 蓝移
DP 3-O-Glu	278,542	50%	18%	是
Cy 3-O-Glu	282,530	60%	24%	是
Pn 3-O-Glu	280,528	60%	24%	否

Jennifer B. 等 (2002) 根据花色素苷的保留时间、洗脱顺序和光谱特性对花色素苷进行了鉴定。花色素苷的洗脱顺序^[1,3,5,8] : Dp 3-O-Glu , Cy 3-O-Glu , Pt 3-O-Glu , Pn 3-O-Glu , Mv 3-O-Glu , Dp 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Cy 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Pt 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Pn 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Cy 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu , Pt 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu , Pn 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu , Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu。只有 Dp 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu 的洗脱顺序例外, 其保留时间早于 Pn 3-O-(6-O-Acet)-Glu 和 Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu^[1]。

此外, 液质联用 (LC-MS) 和核磁共振 (NMR) 也是花色素苷常用的定性分析方法^[2,6-7,20-21,33]。

3.2 花色素苷的 HPLC 定量分析

葡萄与葡萄酒中的花色素苷在低 pH 条件下, 520nm 左右有最大吸收。花色素苷的定量分析就是根据花色素苷的含量与峰面积在一定范围内呈线性关系, 建立线性方程从而求出相应的花色素苷含量^[4,6-7,9-11,14,16,25,29-30,32]。

Dallas C. (1994)、Eugenio R. (1998)、Mazza G. (1999)、Esteban M. A (2001)、Morata A. (2003)、Ryan J.M. (2003)、Monagas M. (2003) 和 Dallas C (2003) 等用外标法以 Mv 3-O-Glu 作为标样建立标准曲线, 各花色素苷的含量表示为 Mv 3-O-Glu Chloride(氯化二甲花翠素 3-O-葡萄糖苷) 的含量^[4,8-9,16,19,25,30,32]。

Bakker J. 和 Timberlake C. F. (1985) 用 7 种花色素苷峰面积总和的百分数表示 7 种花色素苷各自的含量, 这 7 种花色素苷分别是: Dp 3-O-Glu , Cy 3-O-Glu , Pt 3-O-Glu , Pn 3-O-Glu , Mv 3-O-Glu , Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu , Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu^[7]。Jennifer B. 等 (2002) 采用相同的方法, 用 9 种花色素苷峰面积总和的百分数比较了赤霞珠葡萄酒和杂交种葡萄酒的花色素苷分布, 另外两种花色素苷是 Pn 3-O-(6-O-Acet)-Glu 和 Pn 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu^[3]。

Dallas C. 和 Laureano O. (1994) 用外标法以 Mv 3-O-Glu Chloride (氯化二甲花翠素 3-O-葡萄糖苷) 为标样, 在 25~500mg · L⁻¹ 的浓度范围建立标准曲线, 计算花色素苷的含量^[30], 而 Esteban M. A. 等 (2001) 则是在 10~350 mg · L⁻¹ 浓度范围建立标准曲线^[8]。Ju Z. Y. 和 Howard L. R. (2003) 用 Dp 3-O-Glu、Cy 3-O-Glu、Pt 3-O-Glu、Pn 3-O-Glu、Mv 3-O-Glu 作为标样分别计算它们各自的含量, 而酰化的花色素苷含量用 Mv 3-O-Glu 表示^[29]。Guidoni S. 等 (2002) 用各花色素苷的百分数与光谱法测定的花色素苷总量的乘积来表示其含量^[14]。

葡萄花色素苷含量的表示单位为 mg · kg⁻¹ (鲜重) 或 mg · g⁻¹ (干重), 而葡萄酒中花色素苷含量单位为 mg/L^[4,6,8-9,25,29-30,32]。Spayd S. E. 等 (2002) 用每平方厘米果皮 Mv 3-O-Glu 的微克数, 即 μ g/cm² 表示所测定的花色素苷含量^[10]。

3.3 HPLC 分析花色素苷的可靠性

García-Beneytez E. 等 (2002) 用绝对保留时间和其相对保留指数 (Mv 3-O-Glu) 的标准差表示 HPLC 测定方法的可靠性, 两者的标准差分别为 1.96~3.55% 和 0.00~1.72%^[20]。Esteban M. A. 等 (2001) 用线形范围、

检测限、精确度和准确度来衡量 HPLC 分析的可靠性。线性范围和不同成分的分析范围用标准溶液的增量来确定, 变量回归分析的相关系数大于 0.9995, 其变异系数小于 3.0%^[8]。

Mateus N. 等 (2001) 分析花色素苷的检测范围为 0.01 ~ 100.0 mg · L⁻¹, 检测限是 0.01 mg · L⁻¹, HPLC 分析重复之间差异的变异系数小于 7%^[28]。Lbern-Gó mez M. 等 (2002) 用花色素苷的保留时间和峰面积的变异系数表示其分析精确度, 其保留时间的变异系数小于 0.5%, 峰面积的变异系数在 1~4.3% 的范围之内, 线性范围用相关系数表示, $r > 0.999$, 灵敏度用检测限和定量限衡量, 花色素苷的检测限和定量限分别为 0.1 ~ 0.3 mg · L⁻¹ 和 0.5 ~ 1.0 mg · L⁻¹^[17]。

HPLC 分析的这些计算是对花色素苷保留时间和其含量的精确度和准确度的衡量, 也即衡量定性和定量分析的可靠性。

4 HPLC 分析花色素苷存在的问题及展望

4.1 HPLC 分析花色素苷存在的问题

定性分析: 花色素苷的 HPLC 定性分析主要是根据保留时间, 光谱特性和洗脱顺序是辅助鉴定。不同花色素苷的极性不同, 它们在反相色谱柱中的洗脱顺序有一定的规律, 因此它们的洗脱顺序对定性鉴定有一定的帮助。葡萄与葡萄酒中含有几十种不同的花色素苷, 它们的分离特性相近, 难于完全分离, 加上标样种类少且价格昂贵, 因此, 花色素苷的 HPLC 定性分析只能鉴定少部分的花色素苷。

定量分析: 花色素苷的含量测定主要是用有限的几种花色素苷标样来定量分析, 但不同花色素苷的色谱峰单位面积所代表的含量可能不同, 用一种花色素苷标样建立的标准曲线来确定多种花色素苷的含量就存在一个校正问题, 因此, 花色素苷的真实含量比较难于测定。此外, 葡萄花色素苷含量的表示单位 mg/kg (鲜重) 易受水分等物质的影响, 而用葡萄皮的干重、表面积或花色素苷的相对百分含量表示则受的影响相对较小。

花色素苷的降解 流动相中的甲酸可能会引起花色素苷的降解, 尤其是 Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 的降解。Bakker 和 Timberlake (1985) 报道, Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 溶解到初始流动相浓度中, 在 35 °C 的避光条件下, 其含量每 20min 下降 1%, 而 Mv 3-O-Glu 的含量则相应增加 1%。但由于 Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 在分离柱中的保留时间是 20min 左右, 并且这时流动相中 HClO₄ 的含量也只有 0.36%, 所以, Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 的降解不会超过 0.15%^[7]。Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu 比 Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 稳定, 2h 后没有测到降解, 24h 后的降解小于 0.5%^[7]。因此, 柱温和流动相中酸的含量会影响乙酰化花色素苷的含量。

甲酰化矫作物 (Formyl Artefacts): Mv 3-O-Glu 可与提取溶剂或流动相中的甲酸生成 Mv 3-O-Glu 的甲酰基衍生物, 因此, 用含有甲酸的提取剂提取或流动相中含有甲酸都可能使测定结果中 Mv 3-O-(6-O-Form)-Glu (二甲花翠素 3-O-(6-O-甲酰)葡萄糖苷) 的含量增加, 这些在人为的实验条件下生成的产物, 称为甲酰化矫作物。Mv 3-O-Glu 也可与乙酸反应生成 Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu, 在浓盐酸存在的条件下, Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu 的生成量可能会更多^[7]。

花色素苷形式的转化: HPLC 分析的是 镨 盐离子态的花色素苷, pH 值会影响它的峰形。在 pH 为 2.5 时, 会有一定量的查耳酮存在。查耳酮和 镨 盐离子两种形式在分离柱中的转化而使可见光区的峰变宽, pH 降低到 1.5, 可减少查耳酮的影响, 使 镨 盐离子态花色素苷形成锐峰, 但又到了反相色谱柱 pH 值稳定性的下限^[37]。因此, 花色素苷的分析检测需要选择对低 pH 稳定的色谱柱。

4.2 HPLC 分析花色素苷的应用前景

HPLC 可以高效分离、检测、定性和定量分析葡萄与葡萄酒中的花色素苷, 对样品处理少, 不需衍生

化。Bakker 等 (1986) 比较了 HPLC 和光谱法测定花色苷含量的差异, 认为 HPLC 可以真实地测定红葡萄酒中游离的花色苷含量, 而光谱法得到的结果则偏高^[27]。

HPLC 分析能够利用的商业标样少, 并且价格昂贵。花色苷的紫外-可见光谱和洗脱顺序也只是辅助鉴定, 不能鉴定大部分的花色苷, 但可以借助质谱和核磁共振对花色苷进行鉴定^[1]。

随着我国葡萄与葡萄酒市场和行业的不断发展, 葡萄酒原产地保护和其他葡萄与葡萄酒法规的完善与实施, 从技术上为葡萄与葡萄酒的鉴定提供一种客观可行的标准是葡萄与葡萄酒科研、行业和市场发展的必要补充。国外花色苷指纹图谱的研究已经表明花色苷 HPLC 指纹图谱为葡萄分类、品种和遗传谱系鉴定、葡萄酒原料品种、葡萄酒产地和假酒鉴定, 以及研究葡萄花色苷生物代谢机理和葡萄酒花色苷变化机理, 甚至葡萄酒酒龄的鉴定提供了一种新的研究方向和可能的鉴定方法^[3-5,38-40]。

目前, 我国对花色苷的研究, 尤其是关于花色苷 HPLC 指纹图谱的研究还很少, 因此, 花色苷及其图谱的研究在我国及其他葡萄与葡萄酒产业大国都有着重要的意义, 正如指纹图谱在我国传统中药质量控制中的重要作用一样, 葡萄与葡萄酒花色苷的 HPLC 指纹图谱和其他成分的指纹图谱以及其他方法所建立的指纹图谱如液质联用、气质联用等将大大促进葡萄与葡萄酒花色苷及其相关的科学研究。

参 考 文 献

1. Heier A., Blaas W., Droß A. and Wittkowski R.. Anthocyanin Analysis by HPLC/MS[J].Am.J.Enol.Vitic, 2002,53(1):78~86
2. Alessandro Baldi, Annalisa Romani, Nadia Mulinacci *et al.* HPLC/MS application to anthocyanins of *Vitisvinifera* L[J]. J. Agric. Food Chem,1995,43:2104~2109
3. Jennifer B., William M., Nicholas L. *et al.* Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid Grapes[J]. J.Agric.Food Chem,2002,50(14):4096~4102
4. Ryan J. M. and Eugenio R.. Anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes at different stages of ripening[J]. J.Agric.Food Chem,2003,51:3372~3378
5. Gao Y. and Cahoon G. A.. High performance Liquid Chromatographic analysis of anthocyanins in the red seedless table grape reliance[J]. Am.J.Enol.Vitic,1995,46(3):339~345
6. Cantos E., Espín J. C. and Francisco A. Tomás-Barberán. Varietal differences among the polyphenol Profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS[J]. J.Agric.Food Chem,2002,50:5691~5696
7. Bakker J. and Timberlake C. F.. The distribution of anthocyanins in grape skin Extracts of Port Wine cultivars as determined by High Performance Liquid Chromatography[J]. J.Sci.Food Agric, 1985,36:1315~1324
8. Esteban M. A., Villanueva M. J. and Lissarrague J. R.. Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo(*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening[J]. J. Sci. Food. Agric, 2001,81:409~420
9. Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P. *et al.* Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia[J]. J.Agric.Food Chem,1999,47:4009~4017
10. Spayd S E., Tarara J M., Mee D L. *et al.* Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries[J]. Am.J.Enol.Vitic,2002,53(3):171~182
11. Kennedy J. A., Matthews M. A. and Waterhouse A. L.. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids[J].Am.J.Enol.Vitic,2002,53(4):268~274
12. Koki Y., Akitoshi N., Kazuo N. *et al.* Changes in anthocyanins in berry skins of Merlot and Cabernet

- Sauvignon grapes grown in two soils modified with limestone or oyster shell versus a native soil over two years[J].*Am.J.Enol.Vitic*, 1999,50: 1~12
13. Koki Y. and Singleton V. L.. Effects of seed tannins on enzymatic decolorization of wine pigments in the presence of oxidizable phenols[J]. *Am.J.Enol.Vitic*,2001,52(2):93~99
 14. Guidoni S., Pierpaolo A. and Andrea S.. Effect of cluster thinning on berry skin anthocyanin composition of *vitis vinifera* cv. Nebbiolo[J]. *Am.J.Enol.Vitic*,2002,53(3):224~226
 15. Victor H. and Wrolstad R. E.. Use of HPLC Separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins[J]. *J.Agric.Food Chem*, 1990,38(3):708~715
 16. Eugenio R., José-María R. and Martín-Ortega G.. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes[J]. *J.Agric.Food Chem*,1998,46(11):4592~4597
 17. Ibern-Gó mez M., Andrés-Lacueva C., Lamuela-Raventó s R M. *et al.* Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines[J]. *Am.J.Enol.Vitic*,2002,53(3):218~221
 18. Romero C. and Bakker J.. Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions[J]. *J.Agric.Food Chem*,1999,47(8):3130~3139
 19. Sánchez-Moreno C., Cao G.H., Boxin ou *et al.* Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines.Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry[J]. *J.Agric.Food Chem*,2003,51(17):4889~4896
 20. García-Beneytez E., Eugenio R. and Cabello F.. Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines Made from them[J]. *Eur Food Res Technol*,2002,215:32~37
 21. Wang H.B., Edward J. R. and Shrikhande A. J.. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid Chromatography-Mass Spectrometry[J]. *J.Agric.Food Chem*,2003,51(7):1839~1844
 22. Fulcrand H., Benabdeljalil C., Rigaud J. et al. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins[J]. *Phytochemistry*,1998,47(7):1401~1407
 23. Bakker J., Bridle P., Honda T. et al. Identification of an anthocyanin occurring in some red wines[J]. *Phytochemistry*,1997,44(7):1375~1382
 24. Rivas-Gonzalo J. C., Baro-Haro S. and Santos-Buelga C.. Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-Monoglucoside and catethin in the presence of acetaldehyde[J]. *J.Agric.Food Chem*,1995,43:1444~1449
 25. Monagas M., Nú ñ ez V., Bartolomé B. and Gó mez-Cordovés C.. Anthocyanin-Drived pigments in graciano tempranillo, and cabernet sauvignon wines produced in spain[J]. *Am.J.Enol.Vitic*,2003,54(3):163~169
 26. Nour-Eddine Es-Safi, Fulcrand H., Cheynier V. et al. Studies on the acetaldehyde-Induced condensation of (-)-Epicatechin and malvidin 3-O-glucoside in a model solution system[J]. *J.Agric.Food Chem*,1999,47(5):2096~2012
 27. Bakker J., Prestem N. W. and Timberlake C. F.. The determination of anthocyanins in aging red wines: comparison of HPLC and spectral methods[J]. *Am.J.Enol.Vitic*,1986,37(2):121~126
 28. Mateus N., Artur M.S. Silva, Vercauteren J. et al. Occurrence of Anthocyanin-Derived pigments in red wines[J]. *J.Agric.Food Chem*,2001,49:4836~4840
 29. Ju Z. Y. and Howard L. R. . Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin[J]. *J.Agric.Food Chem*,2003,51:5207~5213
 30. Dallas C. and Laureano O.. Effects of pH, sulphur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on

- colour composition of a young portuguese red table wine[J]. *J.Sci.Food Agric*,1994,65:477~485
31. Schwarz M., Wabnitz T.C. and Winterhalter P.. Pathway leading to the formation of anthocyanin-Vinylphenol adducts and related pigments in red wines[J]. *J.Agric.Food Chem*, 2003,51:3682~3687
 32. Morata A., Gó mez-Cordovés M .C., Suberviola J. et al. Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines[J]. *J.Agric.Food Chem*,2003,51:4084~4088
 33. Monica Giusti M., Rodríguez-Saona L. E., Griffin D. et al. Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization[J]. *J.Agric.Food Chem*,1999,47(11):4657~4664
 34. Zafrilla P., Morillas J., Mulero J. et al. Changes during storage in conventional and ecological wine: Phenolic content and antioxidant activity[J]. *J.Agric.Food Chem*,2003,51:4694~4700
 35. Gó mez-Plaza E., Gil-Muñ oz R., Ló pez-Roca J.M. et al. Phenolic compounds and color stability of red wines: effect of skin maceration time[J]. *Am.J.Eonl.Vitic*,2001,52(3):266~269
 36. Williams M. and Hrazdina G.. High-Pressure liquid chromatographic separation of 3-glucosides,3, 5-Diglucosides, 3-(6-*O-P*-Coumaryl)glucosides and 3-(6-*O-P*-Coumarylglucoside) 5-diglucosides of Anthocya-Nins[J]. *Journal of Chromatography*, 1978,155:389~398
 37. Preston N. W. and Timberlake C. F.. Separation of anthocyanin chalcones by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography*,1981,214:222~228
 38. Berente B., D. De la Calle García, Reichenbächer M. et al. Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high-performance liquid chromatography and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods[J]. *Journal of Chromatography.A*, 2000,871:95~103
 39. Eugenio R., García-Beneytez E., Cabello F. et al. Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them[J]. *Journal of Chromatography A*,2001,915:53~60
 40. Arozarena I., Casp A. and Marín R. . Differentiation of some spanish wines according to variety and region based on their anthocyanin composition[J]. *Eur Food Res Technol*.2000,212:108~112

Advance in Research of Anthocyanin Analysis in Grape and Wine by HPLC

Han Fuliang¹ and Wang Hua^{1,2}

¹ College of Enology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China;

² College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract Anthocyanin plays an important role in the grape and wine. With the development of chromatography, high-performance liquid chromatography(HPLC) has become a strong tool to analyze the anthocyanin. Six aspects were elaborated in this paper, including the extraction of grape anthocyanin, the chromatographic condition of anthocyanin separation by HPLC, the qualitative analysis of anthocyanin, the quantitative analysis, reliability of the method and the problems existed in HPLC analysis. In addition, the application of HPLC fingerprint of anthocyanin have also been prospected.

Key words Grape, Wine, Anthocyanin, HPLC, Advance

微氧处理对葡萄酒的影响

李华¹ 康文怀¹ 杨雪峰² 严升杰²

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100;

²华夏葡萄酿酒有限公司, 河北省昌黎县 066600)

提 要 微氧技术的应用, 可以改善葡萄酒陈酿的环境, 促进葡萄酒在可控制性氧化条件下成熟, 改善葡萄酒品质。本文重点研究了微氧处理对葡萄酒酒精度、残糖、干浸出物、总酸、挥发酸、色度, 色调的影响, 结果表明: 适宜的微氧处理对酒精度、残糖、干浸出物、总酸无显著影响, 不会增加葡萄酒中挥发酸, 可以增加葡萄酒的色度, 使 420nm 的吸光值增加, 促进葡萄酒颜色的稳定。

关键词 微氧技术; 干红葡萄酒; 陈酿; 色度

我们常用橡木桶陈酿优质干红葡萄酒, 利用橡木桶的通透性可使微量的氧不断地补充到葡萄酒中, 为其成熟创造了一种有利的微氧环境。1991年, Patrick D.^[1-3]在法国首次将微氧技术应用到大型不锈钢贮酒罐中, 取得了理想效果。所谓微氧技术是指: 在葡萄酒陈酿期间, 添加不同微量氧以满足葡萄酒在陈酿期间各种化学和物理反应对氧的需求, 模拟葡萄酒在橡木桶中陈酿、成熟的微氧环境, 达到促进葡萄酒成熟、改善葡萄酒品质的目的。此外, 微氧技术的应用还可产生不同于以往的优点^[1,2]。本试验重点研究了不同微氧处理对葡萄酒酒精度、残糖、干浸出物、总酸、挥发酸、色度、色调等方面的影响, 以便为不锈钢罐内葡萄酒的陈酿提供最佳工艺参数, 人为创造一种理想的陈酿环境, 以替代橡木桶陈酿葡萄酒, 为企业节约大量生产成本。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验于 2002.10~2003.6 在华夏葡萄酿酒有限公司进行。葡萄酒是 2002 年度的新酿造的葡萄酒, 酒样取自 200,000 L 贮酒罐, 葡萄品种是赤霞珠 (Cabernet Sauvignon)。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

供试酒样的处理: 本实验于 2002 年 11 月将贮酒罐内的葡萄酒经除菌过滤后, 直接分装到各容器中, 并及时往容器中添加保护性气体——氩气, 密封保存葡萄酒酒样。

试验方案: 微氧技术的试验方案见表 1, 共设置 5 个处理, 包括两个对照。每个处理重复 3 次。微氧添加采用自行研制的微氧添加装置。

本实验在大量实测数据与参考文献的基础上, 确定氧气添加方案如下: 在 Oxy-A 处理中, 间隔时间为

一周, 氧气添加量为 $10\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶解氧增加约 $0.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 在 Oxy-B 处理中, 间隔时间为一个月, 氧气添加量为 $40\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶解氧增加量约 $2.8\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 在 Oxy-C 处理中, 间隔时间为二个月, 氧气添加量为 $40 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$; CK1 为对照 1, 贮存在 10 L 的容器中; CK2 为对照 2, 贮存在容积为 300 L 的橡木桶中。

表 1 微氧技术试验方案

处理	试验安排
Treats	Arrangement of experiments
Oxy-A	葡萄酒贮存在 10 L 广口瓶, 充氧间隔时间一周, 氧气添加量 $10 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ /次。
Oxy-B	葡萄酒贮存在 10 L 广口瓶, 充氧间隔时间一个月, 氧气添加量 $40 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ /次。
Oxy-C	葡萄酒贮存在 10 L 广口瓶, 充氧间隔时间二个月, 氧气添加量 $40 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ /次。
CK1	葡萄酒贮存在 10L 广口瓶。
CK2	葡萄酒贮存在橡木桶中。

待葡萄酒分装到各个容器, 依照试验安排分别往 Oxy-A, B, C 中通入氧气, 再添加惰性气体——氩气, 满 120 d 后停止添加微量氧。葡萄酒中各项指标分别在 0 d, 120 d, 150 d 进行测定。

1.2.2 分析方法

常规理化指标如酒精度、残糖、总 SO_2 、游离 SO_2 、总酸、挥发酸、pH、干浸出物等的测定等参照《葡萄酒实验操作规范》进行^[4]。

色度的测定^[5,6]: 红葡萄酒经 $0.45\mu\text{m}$ 孔径的滤纸过滤, 取酒样放于 1mm 的比色杯中, 在分光光度计波长 420nm、520nm 和 620nm 下分别测定其吸收值 $A_{420\text{nm}}$, $A_{520\text{nm}}$, $A_{620\text{nm}}$, 并将三者相加即为该红葡萄酒色度。

色调的测定^[5,6]: $A_{420\text{nm}}$ 和 $A_{520\text{nm}}$ 比值规定为葡萄酒的色调, 计算二者比值即为该红葡萄酒的色调。

2 结果与分析

2.1 对葡萄酒酒精度、残糖、干浸出物的影响

测定了葡萄酒陈酿 0 d, 60 d, 150 d 的酒精度、残糖、干浸出物的变化, 结果见表 2。

表 2 微氧处理对酒精度、残糖、干浸出物的影响

处理	0 d			60 d			150 d		
	酒精度	残糖	干浸出物	酒精度	残糖	干浸出物	酒精度	残糖	干浸出物
Oxy-A	11.9	3.2	26.4	12.00	3.3	25.65	12.0	3.4	24.25
Oxy-B	11.9	3.2	26.4	11.90	3.3	25.80	11.97	3.4	24.57
Oxy-C	11.9	3.2	26.4	11.83	3.3	25.73	11.93	3.4	24.5
CK1	11.9	3.2	26.4	11.83	3.2	25.53	12.0	3.4	24.67
CK2	11.9	3.2	26.4	11.85	3.3	25.65	12.0	3.4	24.85
显著性分析	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

*“NS”表示差异不显著

酒精是葡萄酒中香气和风味物质的支撑物, 也使葡萄酒具有醇厚和结构感。不同处理在各个阶段, 其酒精度无显著性差异, 其细微差别可能是由于试验误差引起的。酒精在氧化条件下, 会生成乙醛, 但酒精

转化成乙醛的数量极少，不会影响葡萄酒的酒精度。

不同阶段的残糖略有变化，这受试验条件、操作人员等因素的影响。同一阶段不同处理间，其残糖无显著差异，说明微氧处理对残糖无影响。

干浸出物随着时间的延长成下降趋势。在试验中发现，广口瓶的底部有许多酒石酸沉淀，并伴随有色素及其他物质。笔者认为，正是葡萄酒在冬季所发生的沉淀现象才导致了干浸出物含量的降低。在同一处理间，葡萄酒的干浸出物含量没有显著差异，表明微氧处理对葡萄酒干浸出物的变化无显著影响。

2.2 微氧处理对葡萄酒中总酸及挥发酸的影响

葡萄原酒中有好气性微生物，通入微量氧是否会造成微生物繁殖、引起葡萄酒微生物败坏呢？为此，对葡萄酒中总酸和挥发酸含量进行了分析检测，结果见表 3。

表 3 不同处理对葡萄酒中总酸和挥发酸的影响

处理	0d		60d		150d	
	总酸	挥发酸	总酸	挥发酸	总酸	挥发酸
Oxy-A	6.7	0.18	6.35 a	0.195 a	6.20 a	0.205 b
Oxy-B	6.7	0.18	6.43 a	0.198 a	6.21 a	0.20 b
Oxy-C	6.7	0.18	6.43 a	0.18 a	6.20 a	0.207 b
CK1	6.7	0.18	6.40 a	0.18 a	6.21 a	0.20 b
CK2	6.7	0.18	6.50 a	0.195 a	6.23 a	0.245 a

* 表中 a、b、c 表示 $\alpha = 0.05$ 水平上 SSR 测验的结果。

从表 3 中可知，经过 60 d 陈酿后，Oxy-A, Oxy-B, Oxy-C 酒样中的总酸和挥发酸，与 CK1 和 CK2 相比变化不大，它们处于同一水平。葡萄酒经 150 d 陈酿后，Oxy-A, Oxy-B, Oxy-C 酒样中总酸和挥发酸与 CK1 处于同一显著水平；CK2 酒样中总酸尽管与其他酒样处于同一显著水平，但其总酸含量略高；CK2 中的挥发酸含量显著高于其他处理。

上述结果说明：尽管 Oxy-A, Oxy-B, Oxy-C 中总体溶解氧含量明显高于 CK1 和 CK2，但其葡萄酒表面在氩气保护作用下，好气性微生物受到了抑制；CK2 贮存于橡木桶中，其酒体表面溶解氧含量高，会引起微生物活动造成挥发酸升高。

2.3 微氧处理对葡萄酒颜色的影响

优质葡萄酒是葡萄酒外观、口感、香气、典型性的完美结合，其中颜色对葡萄酒品质有最直接的影响。Peynaud (1993 年)^[7]所做的蒙眼品尝实验充分说明，对于那些个性不突出、质量一般的葡萄酒，颜色吸引力是消费者判断其质量的主要因素之一。本实验分别测定了不同阶段、不同波长下的吸光值来反映葡萄酒颜色的变化情况，结果见图 1

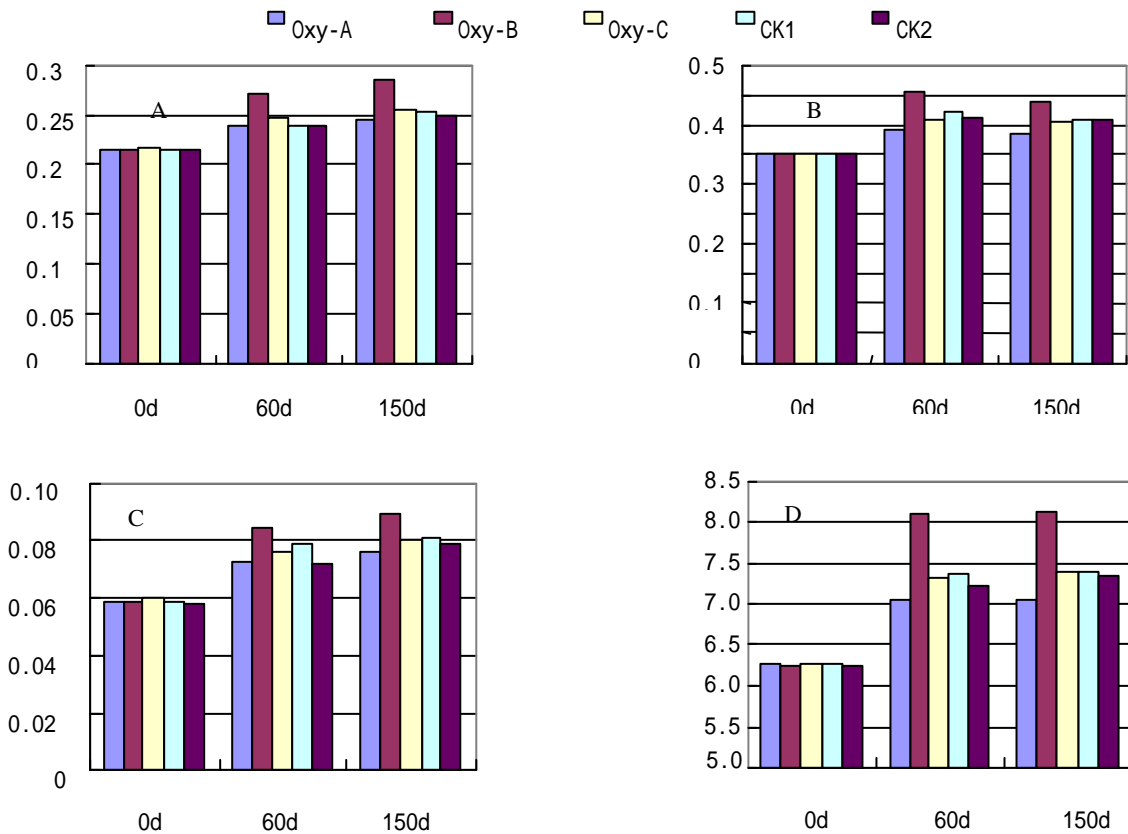
420nm 处的吸光值反映的是葡萄酒中黄 - 紫色，是陈年葡萄酒中常呈现一种色调^[4,5,7]。从图 1 A 中可以看出，A420nm 随陈酿时间的延长呈显著的增加趋势。葡萄酒陈酿 150 d 后的测定结果表明，Oxy-B 极显著地高于其他酒样；Oxy-A 略低于 Oxy-C, CK1 和 CK2，但它们之间差异不显著。

新鲜葡萄酒中 520 nm 处的吸收作用最大，这是有葡萄酒的花色素具有爽朗的红色所引起的。从图 1 B 得知，Oxy-B 的吸光值显著高于其他处理；Oxy-C 与 CK1 和 CK2 间差异不显著，Oxy-A 略低于 CK1 和 CK2。可见，通入的氧若过多，则易导致葡萄酒颜色的下降，若适宜则会使葡萄酒颜色增加。

经近半年陈酿后，各个酒样的吸光值在 620 nm 处均有升高，它们之间差异不明显（见图 1 C）。

可见，微氧条件适宜时（如 Oxy-B），可以促进葡萄酒颜色向成熟葡萄酒的颜色转变，在 420nm 下的吸光值可增加约 13%。

葡萄酒色度是指其在 420 nm、520 nm 和 620 nm 处的色度之和，可较满意地说明葡萄酒的颜色强度。图 1 D 反映的就是葡萄酒中总色度的变化，经多重比较得知，Oxy-B 的总色度显著高于其他处理，Oxy-C 与 CK1 相当，Oxy-A 略低于 CK1 和 CK2。该现象揭示了葡萄酒在陈酿过程中适宜的微氧处理可以促进葡萄酒的成熟。据 Castellari M. 等^[9]报道，经过通氧处理后，单宁 - 花色素苷，单宁 - 乙醛 - 花色素苷，吡喃型花色素苷含量增加，它们化学性质稳定，呈色作用强。可见，微氧处理促进了游离花色素苷与其他酚类物质的聚合、缩合，有利于颜色的稳定，在适宜情形下能够显著提高葡萄酒的颜色强度。



“ A,B,C”分别表示 420nm，520nm 和 620nm 处的吸光值；D 表示色度。

图 1 不同处理对葡萄酒中颜色的影响

2.4 对葡萄酒色调的影响

葡萄酒色调是从另一个侧面来反应葡萄酒颜色变化的^[5]。经长期陈酿后，葡萄酒在 520nm 处的吸收作用会消减，420 nm 的吸收作用将增强，其颜色将由爽朗的红色向橙砖红色推演，色调能够正确反应这种演变过程。从表 4 可知，随陈酿时间延长，其色调明显增加。在 60d 时 Oxy-A, Oxy-B, Oxy-C 明显高于 CK1, CK2。在 150d 时，Oxy-A、Oxy-B 和 Oxy-C 酒样中的色调显著高于 CK1 和 CK2。黄色色调的形成可能是因花色素苷，单宁及其他酚类物质在半有氧途径下发生了聚合，缩合反应的结果，导致葡萄酒在 420 nm 处的吸光值增加。可见，微氧处理促进了新鲜葡萄酒向陈年葡萄酒的转化，使葡萄酒呈现了一种成熟葡萄

酒的色调。

表 4 不同处理对葡萄酒色调的影响

处理	0d	60d	150d
	色调	色调	色调
Oxy-A	0.615 a	0.607 a	0.638 a
Oxy-B	0.614 a	0.597 a	0.648 a
Oxy-C	0.618 a	0.605 a	0.634 a
CK1	0.614 a	0.569 b	0.618 b
CK2	0.617 a	0.580 ab	0.616 b

3 讨论

对葡萄酒中酒精度、残糖以及干浸出物的分析结果表明，微氧处理对酒精度、残糖以及干浸出物没有显著的影响。其酒精度在不同阶段的细微差异可能是由于测定的误差引起的，微氧处理对葡萄酒中乙醛以及乙酸乙酯的生成还有待于进一步深入研究。不同时期测定的残糖略有变化，笔者认为，这主要是试验条件变化及实验人员误差引起的。干浸出物随时间延长而降低可能是酒石酸盐的沉淀引起的，试验同时表明，微氧处理对干浸出物无显著影响。

总酸在随时间延长成显著的下降趋势。葡萄酒中酒石酸盐随冬季低温来临以及陈酿时间的延长，会发生沉淀现象，试验中也看到瓶底部沉积的片状物。正是酒石酸盐的沉淀引起了总酸的降低。不同处理间的总酸变化表明，微氧处理对葡萄酒中总酸无显著性的影响。同时还研究了微氧处理对挥发酸的影响，发现微氧处理不会增加葡萄酒的挥发酸。

微氧对葡萄酒中的颜色影响非常明显。据 Catellari M.等^[9]研究，葡萄酒在 6 个月陈酿后，420 nm 处的吸光值会逐渐增加，微氧条件可显著促进这一变化过程，在 520 nm 处，对照中的吸光值略有下降，而微氧处理后的吸光值先升高，而后下降。本试验中，葡萄酒经 150 d 陈酿后，420 nm 处的吸光值普遍升高，在 520 nm 处变化不一，微氧处理后对 420 nm 吸光值影响明显。据 Atanasova V. 和 R.Gayon 等研究^[10,11]，微氧条件下陈酿可促进葡萄酒色度增加。本试验中，Oxy-B 酒样色度高于其他处理，而 Oxy-A, C 与 CK1 和 CK2 间差异不大，究其原因，可能与添加氧气的方式和数量有关。色调可反映葡萄酒由原来爽朗的红色向砖红色转变的过程。Castellari M.等^[9]认为，微氧对葡萄酒中的色调影响不显著。在本试验中，葡萄酒经 150d 陈酿后，酒样的色调明显高于对照。总之，适宜的微氧处理可以增强葡萄酒颜色，有利于其颜色的稳定。

参 考 文 献

1. Miller C. Young wines thrive on a breath of bresh air. *Wine Industry J.*, 2001,16(1): 73 ~ 75
2. 刘延琳, 李华, 张予林. 葡萄酒的微氧酿造技术简介. *酿酒科技*, 2002, (5): 54 ~ 55
3. 康文怀, 李华, 秦玲. 葡萄酒中溶解氧与酚类物质的研究进展. *酿酒*, 2003, 30 (4): 44 ~ 46
4. 王华. 葡萄与葡萄酒实验室技术操作规范. 西安: 西安地图出版社, 1999
5. 朱宝镛主编. 葡萄酒工业手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
6. 秦含章. 葡萄酒分析化学. 北京: 轻工业出版社, 1991
7. 李华. 葡萄酒品尝学. 北京: 中国青年出版社, 1992

8. 李华 . 现代葡萄酒工艺学(第二版) . 陕西杨凌 : 陕西人民出版社 , 2000
9. Castellari M., Matricardi G ., Arfelli.S., et al. Level of single bioactive phenols in red wine as a function of oxygen supplied during storage. *Food Chem.*, 2000, 69: 61 ~ 67
10. Atanasova V., Fulcrand H., Cheynier V., et al. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta* . 2002 , 458: 15-27
11. R-Gayon P., Pontallier P., and Glories Y. Some interpretations of colour in young red wines during their conservation. *J. Sci. Food Agric.*, 1983,34:505 ~ 516

Effect of Micro-oxygenation on Quality of Wine

Li hua¹, Kang Wenhui¹, Yan Shengjie² and Yang Xuefeng²

(¹College of Enology, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi, 712100 China

²HuaxiaWinery Co.Ltd Changli, Hebei, 066600 China)

Abstract Application of micro-oxygenation technique may improve the environment of wine during aging, being advantageous to maturation of wine under control of oxidation, and modifying the quality of wine. The paper research the effect of micro-oxygenation on alcohol, sugar, extract, total acid, volatile acid, color density and color hue of wine. As the result, appropriate micro-oxygenation treatment have no significant effect on alcohol, sugar, extract and total acid, and have not increased volatile acid of wine. At the same time, the color density and absorbance at 420nm was increased, and the color of wine was more stable.

Keywords Micro-oxygenation technique, Dry red wine, Aging, Color density

葡萄酒生产废水处理方法的选择

来疆文 李甲贵 张予林 李 艳

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 文章在研究食品行业废水生物处理方法的基础上, 针对葡萄酒生产废水的特点, 探讨了葡萄酒企业废水处理的技术, 确定厌氧、好氧联合生物法处理葡萄酒废水是目前可取的主要方法。

关键词 废水; 葡萄酒; 生物处理; 厌氧处理; 好氧处理

随着我国经济的快速发展, 人民生活水平的提高, 葡萄酒消费逐渐成为时尚。我国的葡萄与葡萄酒产业在这一阶段得到了迅猛发展, 葡萄酒生产企业由上世纪 90 年代的不足 10 家一跃升至现今的 800 多家, 新建、改建、扩建的数目仍在不断增加。葡萄酒生产企业的剧增带来的不仅是越来越多提供给消费者愉悦感受的产品, 伴随而来的是生产废水的大量增加, 造成地表水、甚至地下水的污染, 尤其会造成水体的富营养化, 破坏水体的自净能力。使水复用率低, 水资源逐渐枯竭。水资源是有限的, 合理和有效的开发与使用淡水资源直接关系到世界可持续发展, 合理和有效的进行葡萄酒生产废水处理直接关系到葡萄酒产业可持续发展。

目前国内外葡萄酒企业主要根据生产废水的成分以及季节性确定废水处理方法, 废水处理主要采用物理净化法、生物净化法。前一类指吸附、静止蒸发、格栅(滤网)拦截过滤、重力沉降、离心等, 后一类包括好氧生物处理法、厌氧生物处理法、厌氧和好氧联合法、生物自然净化法等。处理在一定程度上减少了环境的污染, 但随着环保要求的提高, 对目前的处理方法和技术也提出了更高的要求。

1 废水处理主要技术与方法

废水处理作用基本原理主要有分离、转化和利用三项。废水处理方法主要有物理法、化学法、生物法及其他方法。

1.1 物理处理法

包括吸附法、重力法和离心法等。

1.2 化学处理法

包括凝聚法、提取法、氧化法、离子交换法和沉淀法等。

1.3 生物处理法

包括好氧生物处理法、厌氧生物处理法、厌氧和好氧组合法、生物自然净化法等。

1.4 其他方法

冷冻处理法、高梯度磁分离处理技术、生态技术处理系统(ETTS)、传统氧化法(Fenton)、高级氧

化技术等。

近年来，高级氧化技术用于处理难降解有机废水的研究已获得显著的进展。高级氧化技术又称深度氧化技术，汇集了现代光、电、声、磁、材料等各相近学科的最新研究成果，有望成为有机废物尤其是难降解有机废物处理的一把“杀手锏”。它主要包括电化学氧化法、湿式氧化法、超临界水氧化法、光催化氧化法和超声降解法等。是一种具有很大应用潜力的废水处理技术。随着研究的深入，Fenton 法得以不断的改进和发展，出现了各种组合体系。总的来看，是由普通 Fenton 法朝光化学和电化学两个方向发展的。

2 食品工业废水处理技术与方法

食品工业废水一般含有高浓度有机物，如蛋白质、脂肪等，COD_{Cr} 值较高且水量大，根据其特点多采用生物法处理。

2.1 好氧生物处理法

废水的好氧处理是在提供游离氧的情况下，以好氧微生物为主，使有机物稳定降解的处理方法。微生物利用废水中的有机污染物作为营养源进行好氧代谢。高能位的有机物经过一系列生化反应，逐级释放能量，最终以低能位的无机物形式稳定下来，达到无害化的要求。主要技术包括活性污泥法和生物膜法。

2.1.1 活性污泥法

活性污泥法是应用最早、最广泛的好氧生物处理技术。利用活性污泥上的微生物，以存在于污水中的各种有机基质为营养，在溶解氧充足的情况下，让这些生物絮凝体悬浮在污水中形成混合液，让污水中的有机物同活性污泥微生物充分接触。溶解性的有机物将被吸附和吸收，进入细胞原生质内，并在细胞内酶的作用下进行氧化分解。

活性污泥法自 1914 年首先在英国应用后，随着现代工业的迅速发展，废水的种类和组成变得越来越复杂，现有的处理技术受到来自各方面要求的挑战，活性污泥法作为废水生物处理技术中历史最长，工业化实践最多，操作运转经验最丰富的技术，已不能满足处理要求。因此人们对传统活性污泥法进行了很多工艺方面的改革和提高净化功能的研究，并产生了一批新型的活性污泥工艺。

(1) 传统活性污泥法(CAS)

工艺性能熟悉，设备容易设计，运行参数熟悉，应用广；投资和运行费用中等，污泥沉降性能一般，投资和运行费用中。

(2) 完全混合法(CMAS)

设计运行简单，抗毒性负荷强，应用广泛；投资和运行费用中等，对丝状微生物生长敏感。

(3) 延时曝气法(EAAS)

设计运行简单，污泥产量低，剩余污泥稳定性好，硝化程度高，出水好；反应器体积大，污泥沉降性能差，需氧量高。

(4) 高纯氧法(HPOAS)

反应器体积小，抗有机负荷冲击能力强，溢出气体少；机械复杂，不适应低负荷运行。

(5) 选择器法(SAS)

污泥沉降性能好，与大多数活性污泥法相适应；应用时间短，经验少，机械复杂，对毒性有机物敏感。

(6) 批处理反应器法(SBRAS)

设计运行简单，出水质量高，工艺运行模式容易调整；出水不连续，反应器体积相对较大。

2.1.2 生物膜处理法

生物膜处理法是一类与活性污泥法并列迅速发展的废水好氧生物处理技术。这种处理法的实质是使细菌和菌类一类的微生物和原生动物、后生动物一类的微型动物附着在滤料或某些载体上生长繁育，并在其上形成膜状生物污泥——生物膜。废水与生物膜接触，其中的有机物作为营养物质，为生物膜上的微生物所摄取，废水得到净化，微生物自身也得到繁衍增殖。早期的生物膜反应器，由于其水力负荷低的缺点，曾一度被活性污泥法所代替。20世纪60至70年代后，材料科学的发展为生物膜反应器提供了大量的高性能有机人工合成填料。与传统载体相比，比表面积和空隙率大大提高，出水水质和处理效率明显改善，生物膜反应器的研究与开发获得了新的发展。除普通生物滤池外，相继涌现出生物接触氧化池，生物转盘和生物流化床等一批新技术，并正由单一反应器向复合反应器发展。

(1) 生物滤池

运行稳定可靠，能耗低，操作简单，较经济；投资大，负荷或性能发生变化时调节工艺操作较困难。

(2) 生物转盘

动力消耗及费用较低，运行管理简单，无污泥膨胀，耐冲击负荷强，污泥量少且易沉淀脱水，环境优；占地面积大，转盘上的生物膜易被冲刷，需加以保护。

(3) 生物接触氧化法

运行稳定，氧利用率高，耐冲击负荷能力较强，剩余污泥量少，不膨胀；接触时间长，水力冲刷力小，动力费用高。

(4) 生物流化床

具有较高的生物量，耐冲击负荷高，运行稳定管理方便，产污泥量少；投资大，运行费用高。

以上多种生物膜处理法对流入原废水水质、水量变化都有较强的适应性。由生物膜上脱落下来的生物污泥，所含动物成分较多、比重较大，且污泥颗粒个体较大，污泥沉降性能良好，易于固液分离。

生物膜处理法能够处理低浓度的废水，而活性污泥法不适宜，如：原废水的BOD值长期低于50~60mg/L将影响活性污泥絮凝体的形成和增长，但生物膜法可使BOD为20~30mg/L的原废水正常运行降至5~10mg/L。近年来我国在生物膜处理法方面已开始进入大量研究和实质性应用阶段。主要用在处理生活污水，酿造及屠宰行业等工业有机废水。

2.2 厌氧生物处理法

厌氧生物处理法是厌氧微生物在无氧条件下，使有机物转化为甲烷和二氧化碳的一种处理方法。厌氧生物处理最早可追溯到1880年Louis Mouras发明的处理污水污泥的自动净化器，被后人誉为人工厌氧生物反应器的开端。70年代起，由于世界性的能源紧张，厌氧消化工艺作为兼备产能和低能耗双重优点的废水处理技术进一步引起人们重视。加之厌氧消化“三阶段理论”的阐述与深入研究，更使现代厌氧消化技术的发展有了可靠的理论指导，一大批高速厌氧反应器相继被研究开发。

2.2.1 厌氧消化

能有效处理悬浮物浓度高的废水，处理性能与污泥沉降性无关，能对剩余污泥进行；消化反应器体积大，稳定性不够高，需设置单独机械搅拌。

2.2.2 低速厌氧

工艺简单经济，能有效处理悬浮物浓度高的废水，处理性能与污泥沉降性无关，能对剩余污泥进行消化；反应器体积大，占地面积大；反应器内条件不易控制，工艺可控制性有限。

2.2.3 厌氧接触

工艺容易混合，出水水质比较好，能对剩余污泥进行消化，工艺可控制好；处理性能与污泥沉降性关系密切，系统原理相对比较复杂，工艺均衡调节能力和对有毒物质的稀释能力都较差。

2.2.4 升流式厌氧污泥床

微生物浓度高，体积有机负荷高，原理简单，系统紧凑，混合充分；处理性能与污泥沉降性关系密切，需特殊构型反应器，经验性强，工艺可控性差。

2.2.5 厌氧滤池

微生物浓度高，体积有机负荷高，出水水质比较好，原理简单，系统紧凑，混合充分，处理性能与污泥沉降性无关；悬浮物积累会影响工艺性能，工艺可控性差，滤料和撑托层成本高，工艺均衡调节能力和对有毒物的稀释能力都较差。

2.2.6 下向流固定膜

微生物浓度高，体积有机负荷高，出水水质比较好，原理简单，系统紧凑，混合充分，处理性能与污泥沉降性无关；不适用于悬浮物浓度高的废水，滤料和撑托层成本高，有机物去除效率低，工艺可控制性差。

2.2.7 流化床/膨胀床

混合非常充分，微生物浓度高，体积有机负荷高，传质效率极高，出水水质比其他工艺都好，系统紧凑，可控制好；启动时间长，床层流态化和膨胀消耗的功率大，原理复杂，工艺均衡调节能力和对有毒物质的稀释能力都较差。

它们的推广应用使污水处理实现了向节能和能源化方向的理性发展，对缓解污水处理厂建得起、养不起的矛盾起到了良好的效果。但是，近年来在废水厌氧生物处理中，人们意识到厌氧处理后的出水水质仍不能满足直接排放要求，并由此引发的后处理等问题，是导致厌氧生物处理技术在废水处理领域应用缓慢的主要原因。

2.3 厌氧和好氧组合法

在提高有机负荷的同时加强脱氮除磷效率是摆在废水好氧处理技术系统面前的重要课题，而出水的后处理问题正是厌氧生物处理技术的一大弊端。因此，厌氧和好氧生物处理技术的优与劣正是厌氧和好氧组合法实现扬长避短的理论基础。国外从60年代，国内从80年代起先后围绕研究开发新的生物脱氮除磷工艺来对生物好氧与厌氧工艺组合进行了广泛研究，相继产生了一批可行的组合工艺。于得爽等应用厌氧-缺氧-好氧(A/O₂)法处理炼油废水，COD去除率可达95%以上，出水氨氮浓度小于15mg/L，满足国标对氨氮的排放要求。好氧与厌氧工艺组合一方面能满足常规处理去除有机物、悬浮物的要求，另一方面又能除磷，并通过硝化、反硝化达到脱氮的目的。如何进一步优化工艺组合，实现厌氧、缺氧、好氧三种状态在数量和时空分布上理想交替，形成更加高效经济的脱氮除磷组合工艺仍是这一领域主要的研究目标与任务。

2.4 生物自然净化法

生物自然净化一般包括稳定塘和污水土地处理系统。它们均具有投资少和运行费用低等特点，比较适合中小城镇和干旱缺水地区的污水处理要求。稳定塘主要利用菌藻共生的作用处理废水，即塘中的异养型细菌将水中的有机物降解成二氧化碳和水，同时也消耗水中的溶解氧，而塘中藻类则利用太阳光能进行光合作用，将二氧化碳中的碳作为碳源，合成其自身机体并放出氧气。据统计，目前全世界有50多个国家在使用稳定塘系统处理污水。值得一提的是，在考虑曝气、水生植物、水产养殖等多个生物处理单元综合的基础上，设计构建的综合生物塘将是现代稳定塘技术发展的必然趋势，也是现代污水处理较理想的方法之一。因此，稳定塘作为一种高效率、低能耗的废水处理技术具有广阔的前景。稳定塘按功能可分为兼性塘、

厌氧塘、好氧高效塘、精制塘、曝气塘等。污水土地处理法是一种以土壤作为介质的净化污水的方法。污水进入土壤后,部分水分被蒸发,余下的成分不断扩散、下渗,土壤能去除水中悬浮颗粒。按处理方式可分为地表漫流系统、慢速渗透系统、快速渗滤系统、自然湿地系统和地下灌溉系统五类。污水土地处理法是在灌溉的基础上发展起来的,因投资少、能耗低,是一条既可解决水资源短缺又可解决化肥供应问题的较好途径。我国从二十世纪九十年代起在污水土地处理系统的理论研究与应用推广方面相继做了大量工作,并取得了较好的成绩。

3 葡萄酒废水的特点

葡萄酒生产企业一般具有废水水量大,废水有机物浓度低,水质特性变化大,排放季节性强等特点。

3.1 葡萄酒生产工艺

葡萄酒废水水质与不同的发酵方式、贮藏管理及产生的副产品和贮藏地点有关,葡萄酒工艺不同产生的废水水质也不相同。在法国很多葡萄酒产区根据不同工艺对酿酒废水特性进行了详细的研究,为废水处理方式选择提供了依据。

葡萄酒工艺一般为原料、分选、除梗破碎、分离、澄清、发酵(加酒母)、原酒储存、调配、陈酿、稳定处理、灌装、产品。排放的废水主要有发酵车间、调配车间、灌装车间及动力车间的洗涤水、冲洗水、冷却水和生活污水,排放废水以有机物为主。

3.2 葡萄酒废水的水质特点

葡萄酒废水一般含有泥沙、皮渣、糖、酸、酒精、多酚物质、酵母菌等物质,重要的废水成分是生物需氧量 BOD、PH 或悬浮物含量 SS、微生物抑制剂及微生物有机体营养成分。主要的 BOD 成分来自于葡萄汁的糖、葡萄糖、果糖和来自于葡萄的乙酸、甘油、酒石酸和苹果酸。大量糖类、蛋白质、微生物菌体和 N、P 的化合物,造成废水的水力负荷和有机负荷(如 BOD 等)都较高。葡萄酒中显著的化学需氧量(COD_{Cr})是酚和亚硫酸盐。

4 葡萄酒废水处理

根据葡萄酒废水主要成分为有机物的水质特点,采用生物技术处理是比较经济的方法。

一般认为 COD_{Cr} 低于 1000mg/L 的废水为低浓度废水,可生化比大于 2.5 的废水易于降解,用好氧生物处理方法较好。若废水有机物浓度太高,应先经过厌氧处理或稀释。好氧处理反应随着温度的增加,效率也增加;如果水温低于 10℃,好氧处理效果明显下降。好氧处理适用于可生化性好的废水。买文宁等处理某葡萄酒有限公司废水采用周期循环活性污泥系统(CASS),出水水质达到《污水综合排放标准》GB8978-1996 中的一级排放标准。马可民等对中国长城葡萄酒有限公司白兰地蒸馏残液和洗涤水、冲洗水、生活污水构成的废水采用厌氧-好氧工艺处理,厌氧采用上流式厌氧污泥床和厌氧-水解两种工艺,好氧采用生物接触氧化工艺,出水水质低于国家标准一级排放标准。

葡萄酒废水随不同工艺有机物浓度变化较大,应在仔细研究酿酒废水特性及水质特点后采用相适应的处理方法。随着葡萄酒企业生产品种的多样化,多数情况下葡萄酒废水 COD_{Cr} 大于 1000mg/L,采取厌氧、好氧联合处理工艺是较为可取的方式。对于可生化性好的低浓度废水也可以采取污水土地处理系统处理。

葡萄酒废水虽然可以通过一定的处理方法减少或降低对环境的影响,但最终保护和使用水资源,实现可持续发展,要求酿酒企业在工艺上尽量避免自身生产活动对环境的影响,真正做到清洁生产。

参 考 文 献

1. 李世娟.污水处理工艺简介.北京水利, 2004, (4): 26~27
2. 任晓林, 周迟骏.废水生物处理技术发展浅谈.化工时刊, 2004, 18(2): 32
3. 郑必胜, 郭祀远, 李琳等.磁分离技术处理食品发酵工业废水.食品与发酵工业, 1998, 25(1): 74
4. 张丽, 窦贻俭, 安立超.ETTS工艺处理食品废水.污染防治技术, 2004, 17(1): 119~120
5. 张乃东, 郑威.Fenton法在水处理中的发展趋势.化工进展, 2001, (12): 1~3
6. 闵怀, 傅亮, 陈泽军. Fenton法及其在废水处理中的应用研究.环境污染与防治, 2004, 26(1): 28
7. 许怡, 杜国勇, 赵立志.生物法处理废水的现状与展望.环境技术, 2004, (6): 40~43
8. 吴婉娥, 葛红光, 张克峰.废水生物处理技术.北京: 化学工业出版社, 2003
9. 张锡辉, 刘勇弟.废水生物处理.北京: 化学工业出版社, 2003
10. 张敬东, 高顺明.SBR法处理柠檬酸废水的试验研究.环境污染治理技术与设备, 2002, (7): 61~63
11. 张锦荣.生物接触氧化法处理生活污水.油气田环境保护, 1997, 7(4): 16~19
12. 张保森, 等.序批式生物膜法处理屠宰废水.油气田环境保护, 1997, 7(3): 48~52
13. 龚云华.污水生物脱氮除磷技术的现状与发展.环境保护, 2000, (7): 23~25
14. 于得爽, 凌云. A/O₂法在炼油污水处理中的应用.油气田环境保护, 1999, 9(1): 22~25
15. 吴振斌.综合生物塘处理城镇污水研究.环境科学学报, 1994, 14(2): 222~224
16. 郭笃发.污水土地处理系统的应用分析.环境科学进展, 1995, 3(6): 64~69
17. 赵光鳌等译.葡萄酒酿造学原理及应用.北京: 中国轻工业出版社, 2001
18. 买文宁, 苗丽, 曾科.葡萄酒废水处理工程的设计与运行.工业用水与废水, 2002, 33(2): 48~49
19. 马可民, 曲颂华.厌氧-好氧工艺在长城葡萄酒厂废水处理中的应用.环境保护, 1999, (1): 13, 17

Treatment method selection of winery waste water

Lai Jiangwen, Li Jiagui, Zhang Yulin and Li Yan

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi, 712100 China)

Abstract Based on research of food waste water biological treatment method, aiming at the characteristics of winery waste water, we discussed the techniques of winery waste water treatment and confirmed that anaerobi-aerobic biological treatment is a current commendable and main treatment method.

Key words Waste water, Wine, Biological treatment, Anaerobic treatment, Aerobic treatment

用体积膨胀率监控红葡萄酒 发酵过程实用性研究

高 畅 高树贤 张艳芳 魏冬梅

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 文章介绍了监测干红葡萄酒发酵过程参数的现状; 分析了引起干红葡萄酒发酵体积膨胀的原因; 定义了体积膨胀率; 对体积膨胀率作为发酵过程物理参数的实用性进行了探讨。

关键词 干红葡萄酒; 发酵; 体积膨胀率

1 干红葡萄酒发酵过程参数概述

反映发酵过程参数有物理参数、化学参数和生物学参数。物理参数包括发酵液温度、密度、比重、液位、发酵液体积等。化学参数在发酵反应中普遍作为发酵过程的监测参数。典型的化学参数有 pH、溶解氧(DO)、氧化还原电势。目前已有成熟的 pH、溶解氧和氧化还原电极, 可以实现在线测定。生物学参数通常包括微生物呼吸代谢参数, 如微生物浓度(菌体浓度)、底物浓度、代谢物浓度(中间及最终代谢物浓度)、产物浓度、溶解氧、CO₂ 释放速率(或排气 CO₂ 浓度)、呼吸商等^[1]。

葡萄酒发酵过程是葡萄汁在酵母菌作用下, 从发酵到生成葡萄酒的生物化学反应变化的过程, 在此过程中发酵液的糖浓度降低, 酒精浓度升高, 使得发酵液密度发生变化。密度变化实际上是发酵液中糖、酒精浓度等化学成分变化的外在表现。葡萄酒生产中因发酵液的糖浓度和酒精浓度等化学参数测定的工作量大、测定时间长, 在发酵过程中一般不测定糖浓度和酒精浓度, 只在发酵结束时测定残糖和酒度。在发酵过程中通常是根据比重的变化来监测发酵。

发酵醪在发酵过程中发生生物化学变化的同时也进行着一系列物理变化, 包括比重、温度、体积等。可否找到能够反映发酵过程化学变化和生物学变化、便于测定的物理参数来监测发酵过程?

2 引起体积膨胀的原因

在发酵实验中, 注意到发酵过程的体积变化是非常明显的物理现象, 引起该现象的主要原因是发酵液中酵母细胞释放 CO₂。

2.1 酵母细胞释放 CO₂ 引起发酵醪体积膨胀

发酵过程酵母细胞连续释放 CO₂, 从两个方面引起发酵醪体积膨胀, 其一是 CO₂ 溶解于发酵液中, 使发酵过程中的液体较发酵前的葡萄汁体积增大; 其二是 CO₂ 存在于果皮的孔隙中, 使发酵果皮在形成皮帽的同时引起皮帽整体的体积膨胀。

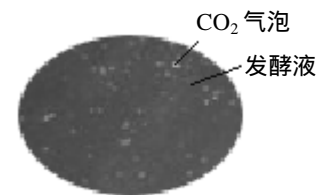


图 1 发酵液中溶解的 CO₂

2.1.1 发酵液吸收溶解 CO₂ 引起发酵液体积膨胀

根据酒精发酵的化学反应方程，酵母菌有氧时 1mol 葡萄糖生成 6 mol CO₂，在厌氧发酵时 1mol 葡萄糖生成 2mol 酒精和 2mol CO₂。在发酵开始的某一段时间内，酵母细胞释放的 CO₂ 溶解于发酵液中，这是在发酵特定的温度和压力下发酵液体吸收 CO₂ 气体的过程^[2]。发酵液中溶解的 CO₂ 情况如图 1。该吸收过程的特点是：被溶解的气体是液体中的微生物发生生化反应产生的；发酵产生大量能量，使发酵液温度上升，发酵液中溶解的 CO₂ 随发酵液温度不同而达到与该温度相应的溶解度。

2.1.2 发酵液脱吸 CO₂ 过程

发酵液中溶解的 CO₂ 与发酵液上方气相中 CO₂ 浓度达到平衡，即从液相进入气相的与从气相进入液相的 CO₂ 分子数相等时，不再有 CO₂ 分子逸出。只有当发酵液体中溶解的 CO₂ 达到饱和，而且液相中 CO₂ 分子数大于气相中 CO₂ 分子数时，才会有 CO₂ 分子逸出液-气相界面^[3]。此时 CO₂ 在发酵液中从吸收状态转变为脱吸状态。

在吸收与脱吸过程中，液体中的 CO₂ 始终会引起发酵液的体积膨胀。

2.1.3 逸出液相的 CO₂ 气体存在于果皮孔隙中使发酵醪中果皮体积膨胀

干红葡萄酒酒精发酵是带皮发酵，在发酵的同时还对果皮及种子进行浸渍，使存在于果皮中的优质单宁、天然色素等酚类物质充分浸渍出来。发酵形成的果皮浮在液面，俗称“皮帽”。皮帽的存在阻碍了刚刚逸出液-气相界面的 CO₂ 气体直接进入罐的上部空间，CO₂ 气体必须穿越皮帽层的孔隙通道，才能够占据并分布在容器的上部空间，再经发酵罐口排出。发酵醪包括葡萄汁液和葡萄果皮果肉、果籽等固体，CO₂ 气体穿越的皮帽层形成了 CO₂ 与果皮、发酵液组成的三相区（如图 2），气体的存在使葡萄皮帽层的体积增加。

酵母细胞释放 CO₂ 引起发酵醪体积膨胀的主要原因包括酵母细胞释放 CO₂ 溶解于发酵液；逸出液-气相界面的 CO₂ 存在于果皮层不能及时排出；细胞释放 CO₂ 速率大于发酵容器的排气速率三个方面的因素。

2.2 加糖引起的体积膨胀

当葡萄汁含糖量达不到标准酒度 12% 要求时，人为添加糖也会引起的体积微小膨胀^[4]。一般对葡萄原料的成熟度是有要求的，添加的糖量很少，由此引起的体积膨胀可忽略。

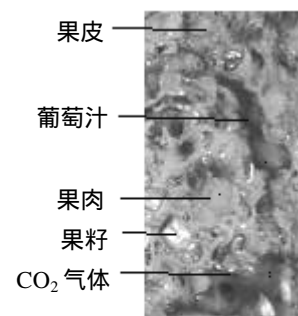


图 2 CO₂ 气体与葡萄汁、果皮、果籽、果肉组成的三相区

3 体积膨胀率的定义

体积膨胀率是发酵过程中某一瞬时罐内发酵醪体积与罐内原始进料体积之差与罐内原始进料体积之比的百分数。

$$g = \{ (V' - V) \times 100\% \} / V$$

式中：g —— 体积膨胀率；

V' —— 发酵过程中某一瞬时罐内发酵醪体积；

V —— 罐内原始进料体积；

当发酵罐的直径为常数时，发酵醪体积仅是高度的函数，体积膨胀率还可以表示为：

$$g = (H' - H) \times 100\% / H$$

H —— 罐内原始进料量所对应的高度；

H' —— 发酵过程中某一瞬时测得的料位高度。

4 体积膨胀率作为发酵过程物理参数的实用性研究

4.1 无须人工频繁取样

目前葡萄酒生产中判断发酵进行的正常与否是通过监测发酵过程发酵液密度（或比重）的变化，监测干红葡萄酒发酵过程是从发酵醪中取出发酵液样品测定比重，取样操作麻烦，尽管测比重方法简单，却不能适应工业化、规模化、自动化生产的要求。测定体积膨胀率变化无须人工取样。

4.2 容易实现在线测定且对测定仪器的精确度要求不像密度传感器那样高

发酵过程体积变化和密度变化虽然都能够进行在线测定，但发酵液密度作为被测信号，其绝对变化量及相对变化量都非常小。以葡萄汁中 18g/l 糖生成 1% (v/v) 酒精，若生产 12% (v/v) 葡萄酒，要求葡萄汁的比重约为 1.092，密度约为 1092g/l，与之对应的葡萄汁中含糖为 216g/l。酒精度为 12% 的葡萄酒比重约为 0.992-0.996。从葡萄汁到发酵结束成为葡萄酒其比重的绝对变化量为 0.096-0.100，是非常小的。比重变化量小，干扰对测试结果的影响使得测定结果难以辨认和区分干扰信号与被测信号^{[7][8]}。这就要求密度传感器及其测试系统具有很高的精度和分辨率，密度传感器及其在线测定的仪器价格高，难以推广普及。而采用体积膨胀率作为被测参数，由于体积膨胀明显、体积变化量大，采用在线测定料位高度传感器的精确度要求不像测定密度要求那样高，易于推广普及。

4.3 便于非接触式测定

发酵过程中物料体积膨胀，物料位置升高。对于干红葡萄酒发酵，由于果皮形成的皮帽浮在液体上面，体积膨胀表现出来的是料位升高。用料位传感器及其测试系统可容易实现非接触式在线监测料位高度，通过运算可以得到发酵醪体积变化率。

4.4 可采用软测量技术监测发酵过程

可采用软测量技术监测发酵过程。只要测定发酵过程的间接参数如体积、料位高度，通过运算可得到发酵醪体积变化率。根据发酵醪体积变化率间接得到发酵状态的信息，推测发酵状态。

5 结语

以体积膨胀率作为干红葡萄酒发酵过程物理参数是根据目前干红葡萄酒发酵实际状况及发酵过程测定中存在的问题提出的。引起干红葡萄酒发酵体积膨胀的主要原因是发酵产生的 CO₂ 气体。体积膨胀表现的形式是料位升高。采用软测量技术，用料位传感器及其测试系统容易实现非接触式在线监测料位高度及发酵醪体积变化率。根据发酵醪体积变化率间接得到发酵状态的信息，推测发酵状态。基于以上分析，体积膨胀率作为干红葡萄酒过程发酵过程参数是可行、实用的。

参 考 文 献

1. 高畅. 新世纪青年科学家论坛中国科协第四次学术会议陕西青年卫星会议论文集. 西安：西北大学出版社，2002:176-177
2. 姚玉英. 天津大学化工原理教研室. 化工原理. 下册. 天津科学技术出版社，1998
3. 唐有祺，相平衡. 化学平衡和热力学. 科学出版社，1984
4. 董元彦，李宝华. 物理化学. 北京：科学出版社，1998
5. 姚汝华. 微生物工艺工程原理. 广东：华南理工大学出版社，1994
6. 朱梅. 葡萄酒工艺学. 轻工业出版社，1983

7. 高畅.葡萄酒酒精发酵二氧化碳浓度及比重变化规律研究.西北农林科技大学硕士学位论文, 2000.10
8. 高畅.干红葡萄酒发酵尾气二氧化碳浓度变化规律数学模型的建立.农业工程学报 2004(20):53 ~ 57

Volume Expansion of Rate in the Dried Wine Fermentation Process of Parameter Rresearch

Gao Chang, Gao Shuxian, Zhang Yanfang and Wei Dongmei

(College of Enology , Northwest A&F University, Yangling Shaanxi, 712100 China)

Abstract The article introduces to monitor the grape wine that fuck the present condition ferments the process parameter, analyzing to cause the grape wine that fuck the reason ferment the physical volume inflation, definition physical volume rate of expansion, the meaning of the study measurement physical volume rate of expansion ferments and affects the physical volume rate of expansion factor for the function that monitors.

Key words Dry red wine , Fermentation , Volume rate of expansion parameter

The latest innovation from the inventor of the pneumatic pressing process

Andreas Fuchs

(Willmes Anlagentechnik GmbH, D 68623 Lampertheim, Germany)

Abstract Between the grape production and the wine making the grape processing is a determining step for wine quality and type. Here the right working methods are very important to produce out of good grapes market conform and pleasant quality wines. The patented pressing principle of Willmes was enlarged to all the products of the Company. The offer is still the very well known Merlin range from 1,200 to 8,000 litres tank capacity and the new generation of the hermetically closed tank press Sigma from 2,000 to 34,000 litres drum Volume.

Especially the new generation offers some very decisive advantages in comparison to the classic tank press. The advantages refer the working style, the performance but also the quality of the juice and the possibilities of wine making. The wine quality can be improved long-term and lasting with the right application of this technology. The aim has to be to bring the optimised wine quality into the market, especially when the markets are getting more and more transparent.

The article shows the principle of the press and the connected advantages. We show also a few results of comparing tests of the last years which show the superiority of the new system and the superiority of the new gentle processing of the grapes and the result for the wine quality. Most important parameters are the solid content of the must and also the phenols. These contents are very determining for the following steps and for the wine quality and so have to be kept in mind during grape processing where they originate.

Key words pneumatic pressing process

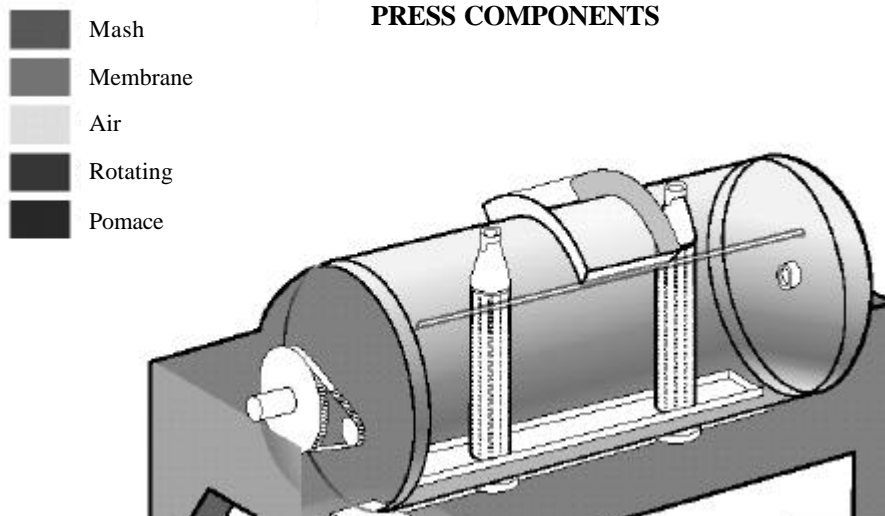
1 Description of the press

The SIGMA was developed during the years 1999 and 2000. It combines the positive characteristics of vertical juice extraction with those of the conventional tank press. The result is this new, unique, world wide patented grape press.

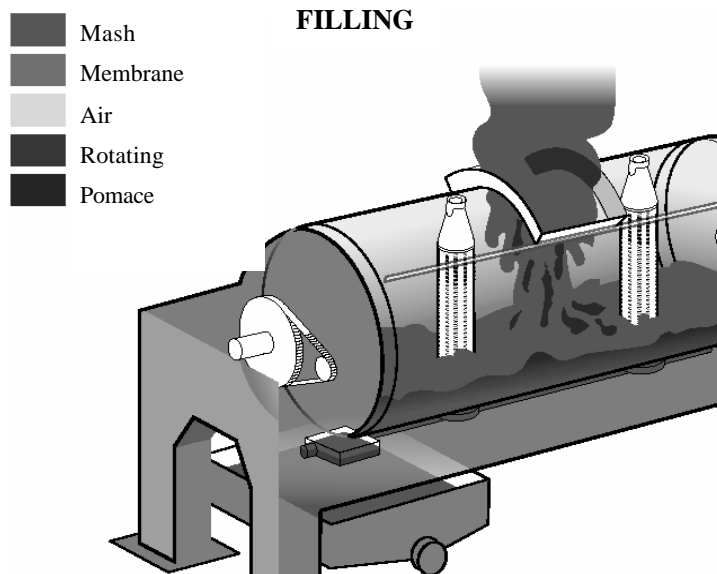
The development of the new series of presses was based of the PP press system and combined with the advantages of the tank press. So emerged a press with all the advantages of the central drainage combined with a hermetically closed tank press. The predecessor Willmes PP is working a few hundred times worldwide with great success.

The outstanding characteristics of this new system for the fast pressing of dry grapes include minimal pressure

requirement, short crumble time and utterly phenomenal levels of juice output.

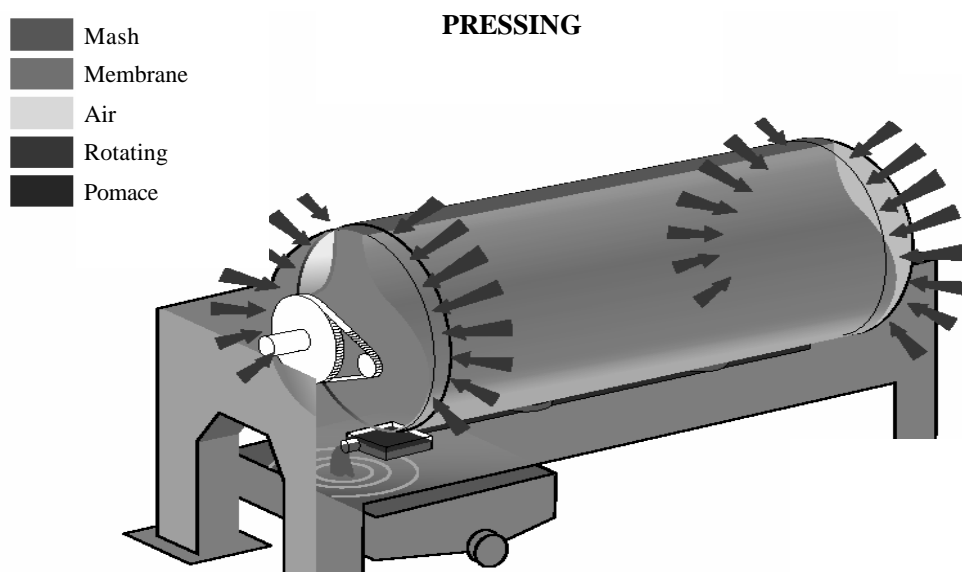


The newest sophisticated pressing system is a pneumatic membrane press, which is hermetically closed. Therefore it gives the wine maker all the possibilities he needs to produce the different wines that the market demands. Compared with the classic style tank press the system is different. The drum has one or two big diaphragms, which cover almost the complete drum. So there are no slots nor juice drains at one side of the drum. To get the juice out of the mash, in the centre of the drum there are vertical juice channels. They divide the whole drum in small parts. So on the top side of the drum the drum is closed, only at the bottom the drum is opened and the juice can flow out by the channels. Outside the juice flows into a tube, which is closed by a butterfly valve. The butterfly opens when the machine is in pressing position, so the juice can flow into the juice tray. In any other position the valve is closed.



While filling by the door, there is on every filling height a new hole surface. The juice can flow out from the

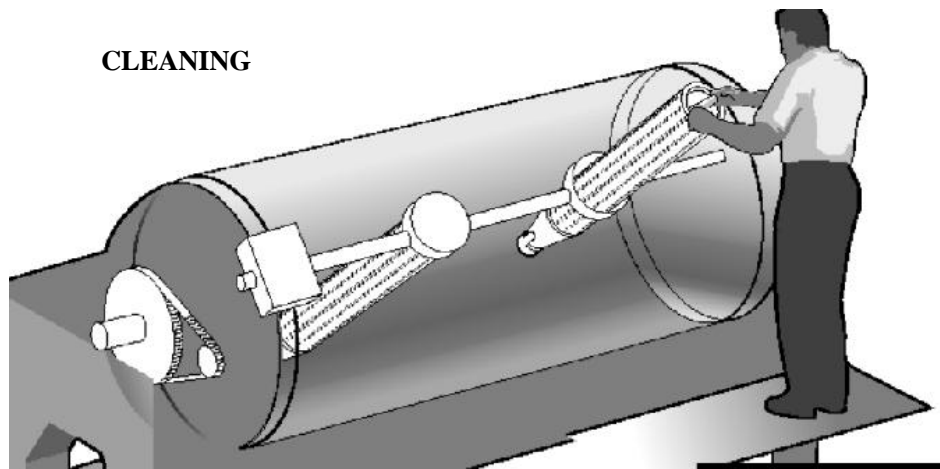
beginning of the filling, because the drains start at the bottom of the press. So the filling amount is much higher than in an old style tank press.



While pressing, the diaphragm is pressing the juice from the outside towards the centre, where the juice channels are standing. So the way for the juice inside the mash is much shorter, only half way compared to old style tank presses. This has the advantage that the mash is not blocking so much, therefore the pressing cycle does not need as much time and not so much pressure. After the pressure phase the membrane is pulled back by vacuum. In this phase the mash cake begins to brake, because it is standing in the centre, so without the membrane pressure it falls down. For crumbling there are only very few rotations necessary. In normal program structures 1 to 3 rotations in-between the pressing cycles are sufficient, because the vertical channels help to break to cake. With this system the number of rotations needed in a complete pressing cycle are very few, less than half of a standard machine. Thus the lees and solids in the juice are much less, and the structure of these lees is different. The parts are bigger because there are less shear forces, which destroy the solids while rotations. So these lees can be separated from the must much easier. The same reasons make the phenol structure different, there are much less phenols in the wine.

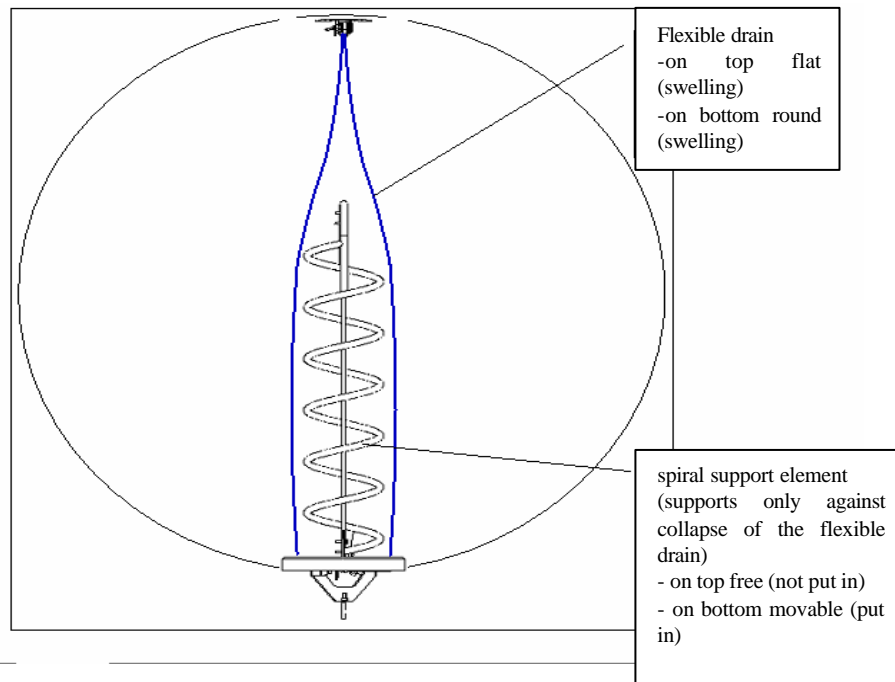
The cleaning of the machine is another big advantage. Inside the drum there is a lot of membrane material, which is very easy to clean. For a perfect hygienic cleaning the drains can be dismantled very easily within 2 minutes without any screw. To wash the machine with water or detergent water no other work than filling the machine and closing the valve on the remote control is needed. So after the machine is closed and filled the drum can rotate and with very little water the inside of the drum can be washed.

The newest innovation are the Flexidrains, which are standard in the machines bigger than 10.000 litres of volume. The material, which consists of foodstuff consistent plastic has a very high dejuicing surface. By the flexible surface, the grapes are shacked off by rotations of the drum. So the surface will not block at any time of the pressing. This surface is about 30% bigger than any stainless steel screen can be. The drain has through the whole length the same diameter. The length is the same as the diameter of the drum.



The drains can be cleaned from both sides. The channel is made of blue material, so every dirt is visible. While cleaning the machine with a water hose, to help cleaning the drains from the inside there are doors at the drum, which can be opened very easily. These doors have a diameter of about 30 cm which gives enough space for the work. Easy and hygienic cleaning while harvesting without taking out the drains. Simple water rinsing is sufficient.

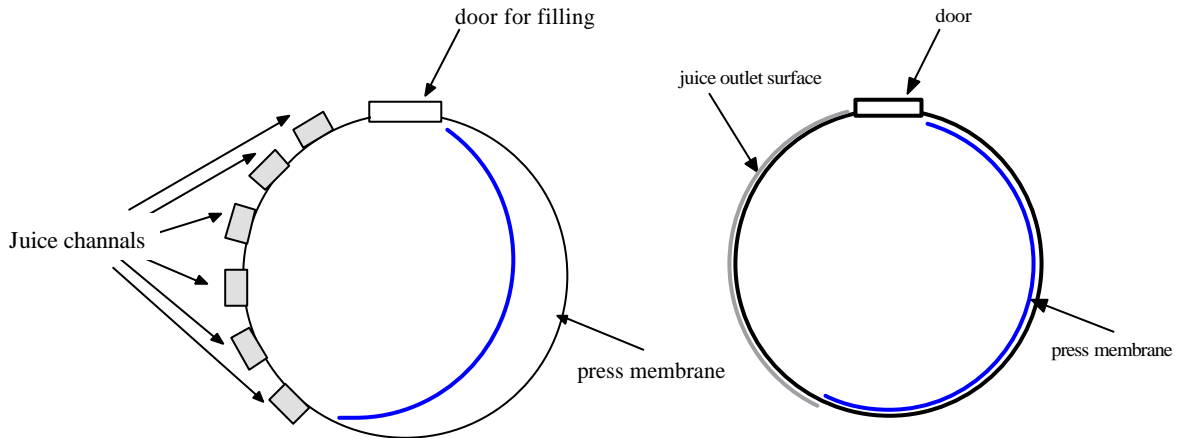
The material is very light, so the biggest channels in the Sigma 34 weigh about 5 kg. This makes the dismantling of the Flexidrains extremely easy. Inside the Flexidrain there is a spiral support element, which is made of stainless steel and avoids the collapsing of the Flexidrain while pressing. This is to make sure that the juice, once reached the drain, can flow out quickly without any other obstacle.



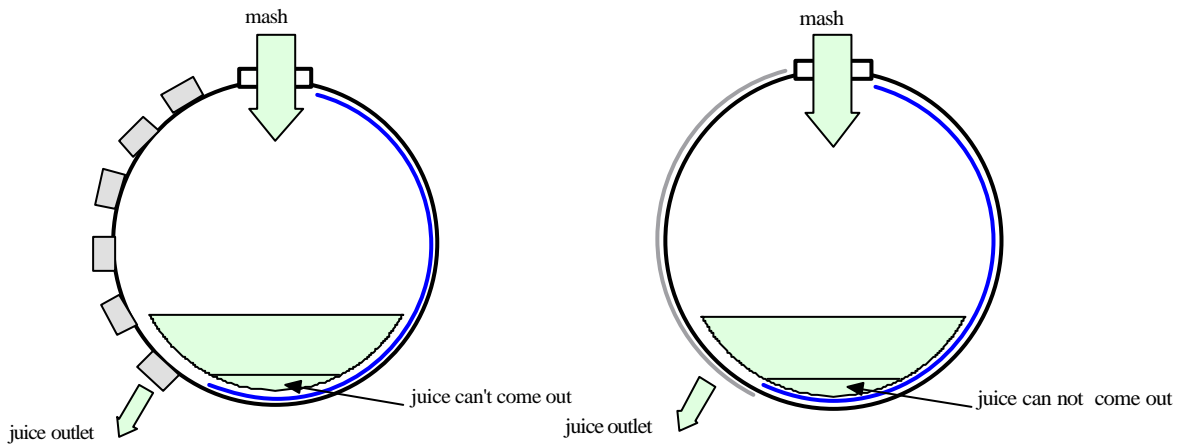
Scheme of the Flexidrains in the drum

2 Comparison of pressing systems

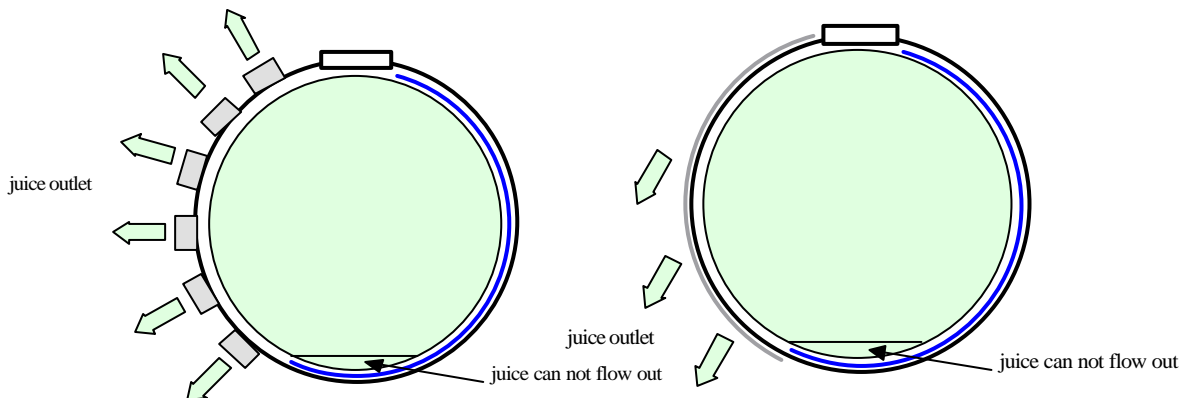
2.1 Tank press and half slotted drum



At the classic tank press, also at the half slotted machine, while the machine is in filling position the juice drains and the juice outlets are on the side of the drum. The membrane is between the door and the first juice drain.



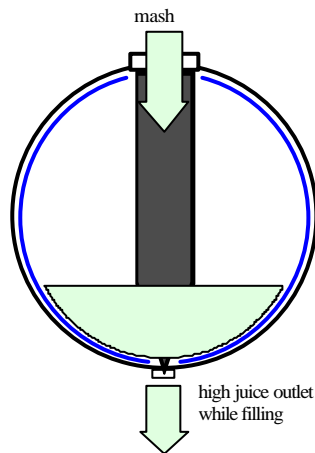
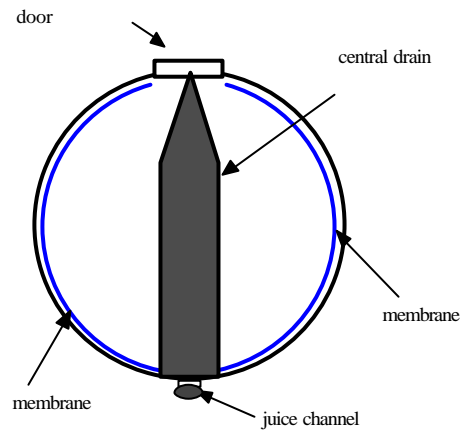
If the press is filled by the door, the juice can only come out by the drains, which are on the side of the drum. So the juice outlet is very little, because the juice, which can not flow down is collected on the floor of the drum, where the membrane is!



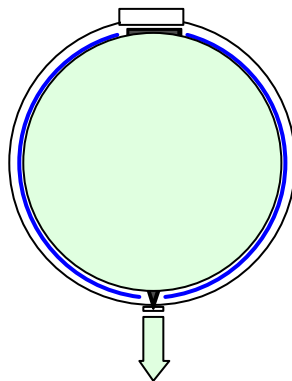
To fill the press completely, after the first filling the door must be closed and the drum has to rotate to make sure that the mash is mixed. The juice which was collected, has to cross the complete mash to reach the juice outlet. The juice outlet through the sided located juice drains is very little.

2.2 Central dejuicing

The system of the central dejuicing, with the vertical juice drains is the basics of an optimised juice outlet. The central drains are in the middle of the drum and the pressure is made by two membranes from both sides.



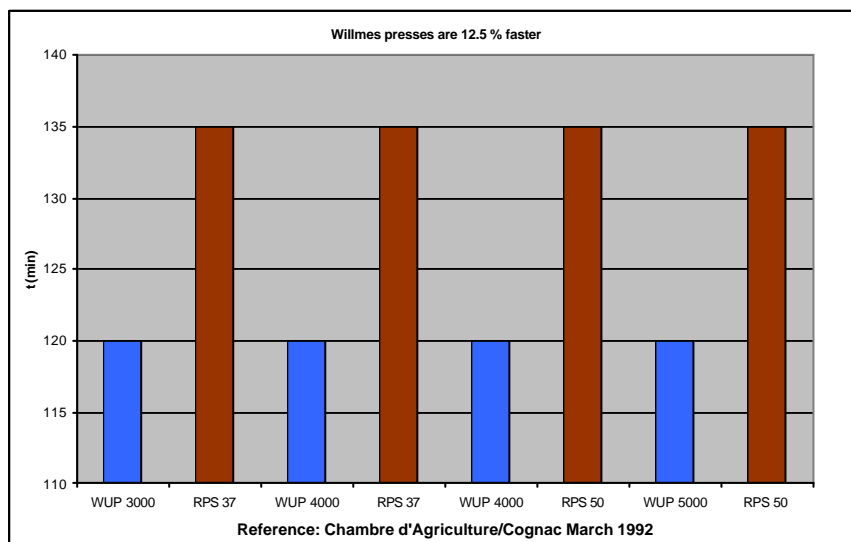
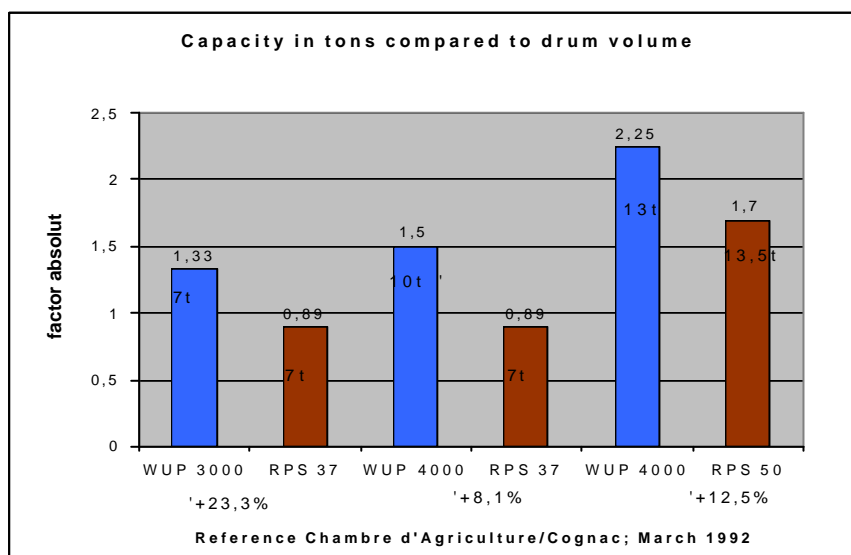
At the filling a very high juice outlet is granted, because the juice drains are in the centre of the mash. The juice has a very short way to the drains, because it only has to flow to the middle of the drum and not from one side to the other. Also the juice can flow out through the drains into the juice collector and is not stopped by the membrane.



The juice flows out through the central drains much faster than at the two other systems. After the filling the doors are closed, the drum is rotated and the rest of the mash is put into the machine. The juice outlet is granted by the central drains. With this system the shortest filling times are possible. This good juice outlet is also responsible for shorter pressing cycles.

3 Comparison of the performance

In tests made by the chambre d'Agriculture in Cognac it was already found out that the presses with the central dejuicing system have a bigger filling capacity compared with the standard tank presses!



In the same tests also the performance of the presses has been tested. Here also the central dejuicing system is faster than that of the standard tank press. The WUP presses are the old Willmes Universal presses, which were the first machines with the central dejuicing system in the market.

4 Advantages of the central dejuicing

Compared with other tank press systems there are a lot of advantages which are summarized in the following:

- **Four vertical central channels** with a big surface mean that the juice flows out far faster with the central draining system. The juice conduits divide the machine, running across the press lengthwise and widthwise

and thus ensuring that the juice flows out via the shortest possible route. The gains are many:

- Faster filling
- Higher filling quantities
- Lower pressing power requirement
- Shorter pressing times
- Fewer rotations
- Better-quality juice with less sludge
- No problem with hard-to-press grape varieties
- **Sealed to prevent liquid escaping**, the juice outlet is actuated by compressed air from the control console and the juice is collected in a tube outside the press
 - This means the juice only flows when the outlet is actually above the juice tray, thus preventing any uncontrolled splashing of juice
 - No uncontrolled oxidation
 - Maceration and fermentation without loss of liquid
- **Presses in filling position**
 - Fewer rotations
 - Time -saving
- **Single-point juice outlet**
 - Solids do not get into the juice tray
 - The drum remains clean
- **All-in-one fermentation device**, with valve that regulates the rate of juice flowing out and also functions as a vent valve
- **Control system**, self-regulating and highly-flexible (UCE program with pressure-drop control)
 - Ease of handling
 - Optimum adjustment to any variety of grape
 - Automatic shutdown once optimum yield is reached
- **Blower unit**, producing both vacuum pressure and positive pressure of up to 0.1 bar – without any need for an external compressor
- Maximum adjustable **pressing power** of 1.6 bar, of which 1.2 bar are required for dry-pressing of the grapes, **reason:** The press produces the major part of the juice obtained when it is operating at low pressure (thanks to the short juice outlet conduits)
- **Press cycles** (for normal grapes) of about two hours or less – with full yield
- **Easy, hygienic cleaning from outside**
 - No complicated system of conduits to dismantle
 - Does not require the added bother of an automatic cleaning system
- With centrally-located **door**, actuated by compressed air (stepped actuation possible), available as option 2 (door)
- Only high-quality components are used

- TÜV-tested
- Easy to operate and service

Advantages referring to the direct costs of wine production:

- Machine is easy to handle, that means no high quality staff required
- Easy and hygienic cleaning means less working time required
- Higher filling amount means more work with smaller machines
- Less time requirement for pressing means more pressing cycles a day, this means more work with a smaller press.
- Produced completely of stainless steel with only high quality components means less repairing time and costs after years and a very high resells value.
- Less investments in the pressing system because of smaller machine requirements and less space for the press and its components

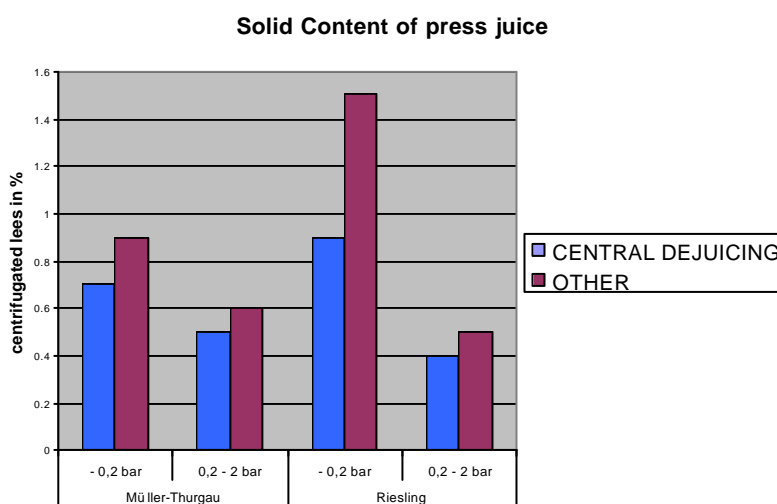
5 Effects on the quality of the wine.

As already described at the pressing principle of the central dejuicing system, there are big advantages referring to the compound of lees and phenolic components. These effects can be proven by the following tests:

During the last years several tests comparing the central dejuicing system with the standard machines of different types were made and always the new system showed it's superiority.

In 2002 tests were made, which were more interested in the quality, especially the phenol components and the solids in the juice. Here also the central dejuicing system was far over the standard system. In these tests the grapes of one vineyard were mechanically picked and pumped onto two different presses by the same pump. The juice was separated into 2 parts. The first only free run juice was up to 0.2 bar pressure. And all of the rest of the juice was the other part.

You can see in the sheet that also here the central dejuicing system has less solids in the juice. The average difference was about 20% all over all the tests made in this year, varying between 10% and almost 35% difference with the same grapes! Unexpected was the result that there is also a difference in the free run of the two presses, because in this period the machine has only little effects on the solid content. While filling there is no self filtration of the mash, so only when the pressure starts, the effect of the machine is working.



Reference: SLVA Oppenheim 2002: Solid content of the juices.

The other machine was a machine with half-slotted drum, so the oxygenation of the juice was much higher than in the closed machine with central dejuicing. The phenols react with the oxygen and fall off, so the oxygenated juice has much less phenols than the normal juice. In the test the result was different. The juice of both machines had the same phenol content!

But if we compare with a closed standard tank press the phenols are about 30% less with the central dejuicing system! This is a very important point on the quality of the wine and also has a big influence on the work and finning that has to be done!

6 Gentle processing

We distinguish between standard processing of the grapes and gentle processing.

Standard processing means the grapes will be manually or mechanical harvested and then put into a destemmer crusher. The mash is pumped into a maceration tank, or directly into the press. So we pump the mash at least one time, and we have most times some conveying screws for the mash.

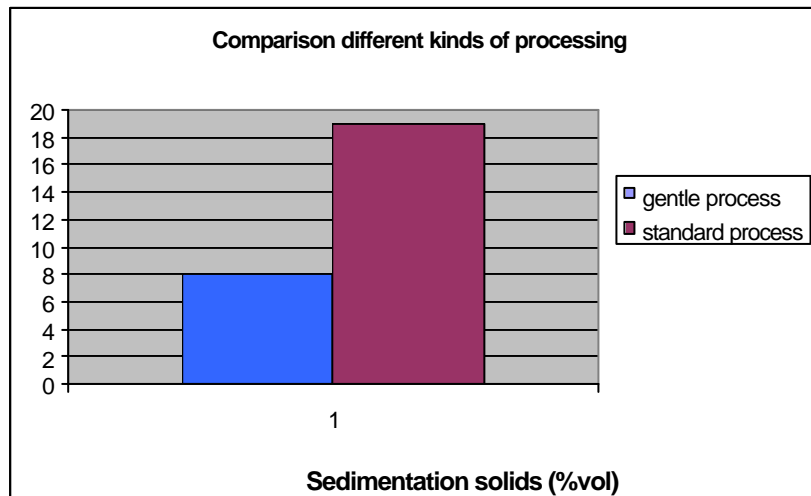
Gentle processing just does without pumping. So the grapes can be picked manually or mechanically. After picking they can be destemmed and crushed or only crushed, which is recommended for white grapes. After crushing the mash is filled into the presses with a gravitation system. For example with a forklift and a hopper, or with a screw the press is filled by the door.

The gravitation system needs mostly less investments than the standard system with the pumps, mash tubes and valves needed in a bigger installation. The handling and cleaning of the system is faster and easier when there are neither tubes nor valves.

The quality aspects of the system will be shown in the following:

Example of a test in 1994 showed that here is a big difference in the solids and in the phenols. Here we have also a difference within the phenols. There are phenols which are responsible for the tanning and astringent effect and the others which are responsible for the browning of the wine.

Kind of working	Sedimentation solids (%vol)	Centrifugal solids (% weight)	Phenols mg/l
No pumps (gentle process)	8.0	1.32	200
Standard process	19.0	2.81	404



Kind of working	Phenolic contents, tanning (mg/l gallo tannin)	Phenolic contents, browning (mg/l gallo tannin)	Total polyphenol content (mg/l gallo tannin)
Gentle process	39.9	129.3	285.5
Standard process	294.4	360.3	487.7

You can see here that the gentle process produces on average less than half of the solids and phenols than the standard process! This, of course, has also big effects on the quality of the wine. In all cases these wines were tested in different periods and in most cases the wine which was processed more gentle was better! The older the wine was, in these tests up to 3 years, the better was the gentle processed wine. All the problems the standard wines had after this period were not recognized in the others. The wines were more fruity and have a clear flavor and taste. They are young, more fruity and elegant. And also important is that they can be stowed longer.

If we consider these facts the aim of grape processing should be:

Preserve the quality which the grapes bring from the vineyard to the bottle. (You can't take out more than there is in the grapes)

All the value giving parts are concentrated in the pulp. This means grape processing has to be orientated to very gentle work without high strains and exhaust of the skin to gain the juice of the pulp. When transported, crushed and by mash conveying the cells of the pulp are destroyed. If the skin also is destroyed microbiologic and enzymatic processes can start by the out coming juice, mainly in dissolving the cell wall by native enzymes.

The demand is to reduce the part of lees before fermentation under 0.6 % (or 50 to 100 TE / F,) to bring nearly shiny must to fermentation. Higher shares of lees cause a higher demand of Sulphur through an increase of acetaldehyde, tumultuous fermentation with higher demand for cooling or higher loos of aroma. Also filtration of the wine can become worse by the stabilisation of the lees.

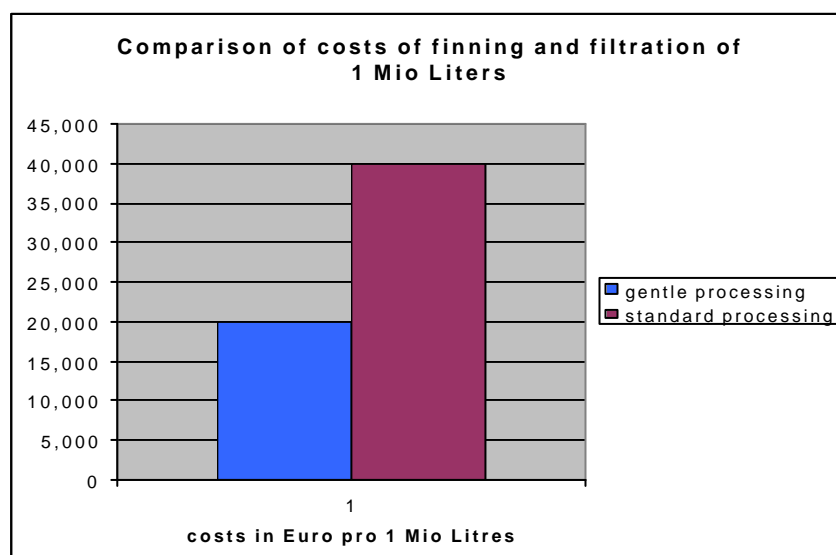
So there are big effects of the grape processing to the costs of the wine making.

Less solids mean 1/2 filtration costs, about 10 Euro or 20 Euro pro 1,000 Liter means a difference of 10,000 Euro per 1,000,000 liters!

Less phenol components mean less costs for finning; only 50% of finning needs also 10 Euro instead of 20 Euro per 1,000 liters!

Less solids means more effective wine for 1,000,000 Liters of wine with 1.5% smaller sludge are 15,000 Liters of wine.

All together it is a fact that a gentle processing is much cheaper than a standard processing, and it has a much higher quality of the wine! Consider this for all investment decisions.



7 Summary

The new central drainage system has a lot of advantages. The winemaker gets all the needed possibilities to produce the wine style the market demands. The program structures of the SPS are very flexible, so everything is controllable. Reduced oxygenation and reduced phenol production are the standard, but also higher phenol contents in the must or wine are possible. A higher oxygenation in the must after pressing is always possible, but a reduction is impossible.

Also the maintenance and the cleaning of the press are very simple and fast. The operation and the service are very easy. This machine will come with a very high-quality production standard and high-quality components. So the central drainage system is a highly recommendable investment, which will be paid within a very short time, and which will last for a very long time. The owner, the winemaker and the operators will all be delighted with this system for a long time.

发明者对气囊压榨的最新革新成果

Andreas Fuchs

(*Willmes Anlagentechnik GmbH, D 68623 Lampertheim, Germany*)

提 要 在葡萄加工与葡萄酒酿造过程中，压榨是生产优质、具有独特风格葡萄酒的决定性工序。要生产符合市场要求，令人愉快的葡萄酒，正确的操作方法至关重要。Willmes 的专利压榨技术已经在本公司得到应用(主要生产压榨机)。我们提供的产品有 Merlin 品牌(压榨容积从 1200-8000 升)和新一代 Sigma 密封压榨机(压榨容积从 2000-34000 升)。

较传统的压榨机相比，新产品在操作(工作)方式、设备性能、果汁的质量以及葡萄酒酿造的方便性具有明显的优点。目前，在市场变竞争越来越激烈的情况下，正确使用该技术能够长期改善并保持葡萄酒质量，为市场提供理想的产品。

文章讨论了新型压榨机的原理及其优点，同时也介绍了去年进行的一些对比实验，以此说明新产品的优越性以及葡萄酒质量改善的效果。果汁中固形物和酚类物质的含量是影响葡萄酒质量的重要参数，并且将决定后续的工艺，因此，在压榨时应特别给予关注。

关键词 气囊压榨

小型葡萄酒酿造设备的应用及发展趋势

陈茂彬

(湖北工业大学生物工程学院, 430068)

提 要 小型葡萄酒酿造设备具有广泛的用途和良好的应用前景。小型葡萄酒酿造设备可分为小型葡萄酒生产线、多功能教学实习设备、微型葡萄酒试验设备、家庭自酿设备。简要介绍了每种类型设备的特点和应用,探讨了小型葡萄酒酿造设备的发展趋势。

关键词 葡萄酒;设备;小型;发展趋势

我国葡萄原料已向区域化、基地化、良种化、规范化的模式发展,葡萄酒生产工艺、技术装备不断更新和完善。通过对国际葡萄酒酿造业关键设备的引进、消化吸收,缩小了我国葡萄酒工业与国际水平的差距,国内的大型葡萄酒企业以及新兴的葡萄酒企业的技术装备已基本上与发达国家葡萄酒设备保持同步。但小型葡萄酒酿造设备的专业化生产在中国几乎还是一片空白,事实上,小型葡萄酒酿造设备具有广阔的应用前景和市场潜力,蕴藏着巨大的商机。

1 小型葡萄酒酿造设备的分类

所谓小型葡萄酒酿造设备是对应工厂化葡萄酒生产而言,从设备生产能力上讲,一般是指每批次生产能力在2000升以下的葡萄酒生产成套设备。小型葡萄酒酿造设备根据其生产能力分为微型试验设备和小型葡萄酒生产线;根据其材质为普通型和豪华型;根据其功能可分为专用型和多功能型。依据使用的目的不同,小型葡萄酒酿造设备大致可分为四类:

- (1) 小型葡萄酒生产线;
- (2) 多功能教学实习设备;
- (3) 微型葡萄酒试验设备;
- (4) 家庭自酿设备。

2 小型葡萄酒酿造设备的应用和特点

2.1 小型葡萄酒生产线

中国葡萄酒产业应象世界上其他葡萄酒新兴国家那样,重视特色鲜明的葡萄酒庄的发展。葡萄酒庄是传统工艺和高质量、高品位葡萄酒的象征,葡萄酒庄最主要的功能是生产独具特色的优质葡萄酒。葡萄酒的酿造离不开葡萄原料、酿酒设备及科学合理的酿造工艺技术,小型葡萄酒生产线设备为在我国大力推广建立小型葡萄酒庄提供了发展的基础和必要的保证。

将具有“小规模、大群体、大基地”特征的葡萄酒庄与规模化大酒厂相结合,将是中国葡萄酒产业发展

的必由之路。专家认为,我国在规划建设葡萄酒庄时,应走出求大求全、片面追求酒庄规模的误区,可在我国的主要葡萄栽培区域大力推广小型葡萄酒庄,在消费者周围建立成千上万个小酒庄,让消费者可以参观葡萄酒的酿造过程并品鉴鉴赏,亲身感受到源于葡萄酒的各种文化,逐步培养出他们对葡萄酒的兴趣和饮用习惯。集种植、加工、旅游观光和生态建设为一体的别具特色的“葡萄酒庄”不仅对传播葡萄、葡萄酒文化,推动地名酒、品种酒、年代酒的发展具有重要意义,成为规模化、工业化大酒厂的补充和基石,而且还有利于振兴果区经济,推动“美酒、美景、美食”相结合的乡村旅游业的发展,成为农民种植酿酒葡萄实现产后增值的重要途径。

葡萄酒厂大生产中的生产设备主要包括葡萄输送、除梗破碎设备,原酒酿造设备,贮酒设备,后处理设备和包装设备。小型葡萄酒生产线将葡萄酒酿制设备微缩化,由于生产能力小,整套设备组合严谨,选择的设备配置和容器规格与大型葡萄酒生产线有一定的区别。一般来说,一套小型葡萄酒生产线主要包括以下系统:

- (1) 前处理(制汁)系统:小型葡萄破碎除梗机、葡萄压榨机、输液(酒)泵。
- (2) 发酵系统:根据生产能力大小不同,配置数只小型不锈钢发酵罐、贮酒罐及橡木桶。
- (3) 过滤系统:小型硅藻土压滤机、板框式压滤机及超滤膜压滤机,小型薄板换热器。
- (4) 包装系统:半自动灌酒打塞机、手动贴标机及压盖机。
- (5) 辅助系统:CIP自动清洗、杀菌系统、移动循环喷淋系统、制冷设备等。

由于小型葡萄酒生产线主要应用于小型葡萄酒庄,生产规模以每批次生产能力1000升~2000升为主。要求整体设备布局美观大方,设备之间的管道采用卫生级连接、管道布局无死角,拆卸、组装、移动方便;自动与手动相结合,操作方便、简单、灵活、安全,设备维护简单。

2.2 多功能教学实习设备

我国葡萄酒产业的专业技术人才的匮乏问题相当严重,造成技术创新、工艺创新的后备力量薄弱,远远不能适应葡萄酒业迅猛发展的需要,人才问题很有可能成为葡萄酒行业发展的瓶颈。随着我国葡萄酒业的迅速发展,对葡萄酒行业专业技术人才的需求量陡然增加。为满足葡萄与葡萄酒行业对高级专门人才的多样化需求,西北农林科技大学于1994年创办了全国第一所葡萄酒学院。2003年,中粮集团与中国农业大学合作,在昌黎产区华夏酒厂建立“中国农业大学长城葡萄酒学院(硕士、博士)研发中心”,有针对性的为全国葡萄酒及相关行业培养高级专业和管理人才。目前,全国有多家大专院校、职业技术学院、技工学校也相继开办了相关的专业,将为葡萄酒企业培养和输送大量技术人才。

多功能教学实习设备主要应用于大专院校、职业技术学院、技工学校等教学单位,用于生物工程、发酵工程专业的教学、演示、工艺实验,同时可满足学校酿酒科研的需要。教学实习设备可以展示葡萄酒酿造的整个过程,说明酿造工艺。操作为手动控制,可培养和提高学生的动手能力,对所学的专业理论知识有更深入的理解。多功能教学实习设备应体现其多功能的特点,可根据各个院校的专业设置要求、实验教学目的、具体科研内容以及经费投入情况,灵活选择设备的配置。考虑到实验经费问题,教学实习设备规模不宜大,以每批次生产能力在100~300升为主。

2.3 微型葡萄酒试验设备

微型葡萄酒试验设备主要应用于大型葡萄酒厂、科研院所等单位,多用于葡萄酒新工艺、新技术、原料品质试验或葡萄酒新品种的研究与开发。我国葡萄酒行业目前正面临企业发展后劲不足、研究开发能力弱、产品发展不平衡等问题。国内缺乏专业性的对葡萄酒及其产业链相关技术进行系统研究的机构,导致国内酿酒业技术水平相对落后,葡萄酒生产企业参与国际竞争的能力弱,直接影响我国葡萄酒行业的健康

可持续发展。

微型葡萄酒实验设备可用于对原料品质、指标的检验，这种试验更加接近大生产，避免因原料质量问题而影响葡萄酒的质量。此外，还经常用于葡萄酒生产企业的新产品开发，因为新产品在试验阶段不能马上上市，在开发阶段还会出现一些问题，如在大生产中试验，不但经济上造成浪费，还会影响生产。微型葡萄酒实验设备规模以每批次生产 100~500 升为主。由于各葡萄酒生产企业的工艺存在一定的差别，设备配置也不尽相同，故微型试验设备应尽最大限度模拟大生产中的设备，使试验能够对大生产具有指导性，并且一些工艺参数可以调节，使之对生产中的工艺参数进行变化试验。

2.4 家庭自酿设备

家庭自酿设备为个人休闲娱乐的微型设备，多配置一些专用的工具、容器和半成品原、辅料、添加剂，借助家庭厨房设施和冰箱完成葡萄酒酿造。

3 小型葡萄酒酿造设备的发展趋势

3.1 向规范化和先进化发展

在设备加工制造质量上，引入大生产新采用的工艺技术进行设计，实现模拟功能，保持先进性。不断提高酿酒新工艺和新设备的引进步伐，采用气囊压榨机、旋转式发酵罐、定量添加系统、移动循环喷淋系统等先进设备。提高自动控制和在线检测水平，真正做到“小而精”，以便能进行深层次的研究试验。

3.2 向多功能化发展

小型葡萄酒酿造设备应通过灵活的配置，向一机多能方向发展，提高设备利用率。可以在添加少量专用设备的基础上使生产品种多元化，一套生产线既能酿造红葡萄酒、白葡萄酒、起泡葡萄酒、葡萄蒸馏酒（白兰地）等不同种类的葡萄酒，也能生产其他类型的酿造酒（如苹果酒等其他果酒）米酒以及果汁饮料。

3.3 向观赏化发展

小型葡萄酒酿造设备不仅可供葡萄酒企业试验，也是展示企业的一个窗口，是正在兴起的农业和工业旅游的一个重要景点。小型葡萄酒设备在选择设备上要求精美小巧、能引起消费者的观赏兴趣，在外观上美观大方，整体设备具有很强的观赏性。

3.4 向技术服务配套化发展

小型葡萄酒酿造设备的专业化生产商应提高各种配套技术服务质量，降低设备成本，完善售后服务。如提供全套设计、技术人员培训及安装工程服务；不断提供维修保养、零配件更换、设备更新、升级改造服务；提供优质活性干酵母、果胶分解酶、皂土、硅藻土等酿酒新材料等。

4 结语

我国葡萄酒生产机械设备制造企业总体实力不强，研发工作落后，小型葡萄酒酿造设备的专业化生产在中国还是一块刚开垦的处女地，潜在市场很大。目前，我国一些企业正在使用的小型葡萄酒酿造设备大多是从法国、意大利等国引进的进口设备，应由葡萄酒行业协会组织各方面的专家学者和工程技术人员进行协作攻关，吸收国际上小型葡萄酒酿造设备的先进经验和先进成果，在设备的设计、制造国产化以及与之相配套的酿酒工艺技术等方面取得突破性的进展。我国葡萄酒业仍处于前期起步和成长阶段，发展葡萄酒符合国家酒业发展的产业政策，市场将稳步扩大。与之相适应，小型葡萄酒酿造设备有着相当大的成长空间，市场前景十分光明。

参 考 文 献

1. 朱林.葡萄酒庄和乡镇葡萄酒：中国葡萄酒发展之路的探索.中外葡萄与葡萄酒，1999，(3)：11～12
2. 刘俊，修德仁，王世军.河北省农民家庭式葡萄酒庄调查.河北林业科技，2004，(5)：113～115
3. 王宝林.中国小型啤酒酿造设备发展现状.酒.饮料技术装备，2004，(4)：41～42
4. 李华.小容器酿造葡萄酒.酿酒科技，2002，(4)：70～71，74

Application and Developing Trend of the Small-scale Wine Brewing Equipment

Chen Maobin

(School of Bioengineering, Hubei University of Technology, 430068 China)

Abstract The small-scale wine brewing equipment has has broad usage and upstanding application foreground. The small-scale wine brewing equipment can be divided for the small-scale production line, multifunctional teaching practice equipment, mini-type testing equipment, family self-brewing equipment. The characteristic and application of every kind equipment are introduced briefly, and the development trend of the small-scale brewing equipment are discussed in this paper.

Key words Wine, Equipment, Small-Scale, Development trend

葡萄酒品种香气研究进展

李记明

(张裕集团有限公司技术中心, 山东烟台 264001)

提 要 组成葡萄酒品种香气的主要成分有萜烯类、C₁₃-降异戊二烯及其衍生物、甲氧基吡嗪、硫醇类化合物等；萜类化合物以游离态和糖苷态形式存在，芳香型品种（Muscat type）和弱香型品种（Simple-flavour）的差别主要在于其含有的萜烯类浓度不同；甲氧基吡嗪存在于赤霞珠、品丽珠、长相思等许多葡萄品种中，使得其品种葡萄酒具有青椒（Green pepper）、芦笋（Asparagus）等香气；某些硫醇类化合物与长相思葡萄酒的品种香气有关，但它们大多数使葡萄酒产生感官缺陷；美洲葡萄品种的典型香气成分除了邻氨基苯甲酸甲酯外，还与几种呋喃酮有关；应用外源酶可以增加某些品种香气，而成熟期的光照和温度条件可以提高葡萄的香气浓度，改善其香气质量。

关键词 品种香气；萜烯类；C₁₃-降异戊二烯；甲氧基吡嗪；硫醇类；糖苷态

1 品种香气概念（Varietal Aroma）

葡萄酒香气是由数百种挥发性物质组成，浓度从数 mg/L 到几 ng/L，甚至更少。品种香气（反应特定的品种、气候和土壤）是决定葡萄酒种差异及其典型性的主要成分。这些物质的感官作用取决于浓度、类型和感官阈值。一些物质虽然含量以 ng/L 计，但对香气的表现起着重要的作用，另一些虽然含量很高，但所起的作用却很小。

“品种香气”不是简单的指每一种葡萄品种具有特定的香气成分。事实上，在同一家族的许多品种的葡萄醪和葡萄酒及其它水果和植物中，存在着同样的香味化合物及其前体物。单品种酒香气的独特性是由于各种化合物的组成及浓度的不确定变化。

对欧洲葡萄的香气化合物，研究最详细的是萜类化合物。这些香气化合物是玫瑰香葡萄及其酒的典型香气，它们也以游离和无味的糖苷态形式存在于弱香型(simple-flavoured)品种中，但浓度很低。降异戊二烯是一种广义的萜烯类，是类胡萝卜素的化学和酶解物。它们也以糖苷前体物的形式存在。

赤霞珠等品种中，青草型香气的存在是甲氧基吡嗪的作用。这些化合物在葡萄中以游离态形式存在，没有鉴定出前体物。

某些高度有味的化合物，例如硫醇，参与某些葡萄品种香气，尤其是长相思。这些化合物在葡萄中以 S-半胱氨酸（S-cys）结合的形式存在（P.Ribereau-Gayon et al 2003）。

2 萜烯类化合物（Terpene Compounds）

2.1 有味的萜类（Odoriferous Terpenes）

萜类化合物(约4000种)广泛存在于各种植物中。其中,有味的化合物是单萜(含有10个碳原子的萜)和倍半萜类(15个碳原子),分别由两个和三个异戊间二烯(isoprene)单元组成,以简单的碳水化合物(柠檬油精、香叶烯)、醛(里那醛、香叶醛)、醇(里那醇、香叶醇)、酸(里那酸、香叶酸)、甚至酯(乙酸里那酯)的形式存在。

1946年,Austerweil首次提出假说认为萜类化合物与玫瑰香香气形成有关。1956年Cordonnier提出猜想,玫瑰香型葡萄中存在三种单萜(里那醇、 α -萜品醇和香叶醇)。从那时起,对萜类化合物研究不断深入(Ribereau-Gayon et al 1975; Marais, 1983; Strauss et al, 1986; Rapp, 1987; Bayonove, 1993)。

在葡萄中已经鉴定了大约40种萜类化合物,一些单萜醇具浓郁的香味,尤其是里那醇(linalol)、萜品橙花醇(α -terpinol)、香叶醇(geraniol)、柠檬醇(citronellol)和ho-trienol,它们具有玫瑰香料香气。这些化合物的感官阈值相当低(几百mg/L)。香味最浓的是柠檬醇和里那醇。同时,萜类化合物的感官作用是相互促进的。当浓度达在感官阈值之上时,它们在玫瑰香型葡萄与葡萄酒(muscat a Petirts Grains, 亚历山大玫瑰、昂托玫瑰、Alsace 玫瑰)的香气表现中起主要作用。

在一些Alsatian和德国葡萄(琼瑶浆、灰比诺、雷司令、Auxerrois、Scheurebe、米勒-吐尔高等)的“Muscat”香气中,这些化合物也起着重要的作用。然而,萜类在这些葡萄酒的品种香气中只起部分作用,而不能解释所有的细微差别。单萜也给予Viognier、Albarino、和Muscadelle的“玫瑰香型”的典型性。

用弱香味的葡萄(长相思、西拉、赤霞珠、品丽珠、梅鹿特等)酿造的葡萄酒,单萜的浓度通常低于感觉阈值。一些霞多丽株系具玫瑰香的典型特征,由于不断进行的对株系的无性选择使得它们的葡萄酒品种香气降低。

在玫瑰香型品种中,已经鉴定出大约14种主要的单萜醇氧化和羟基化的形式(Rapp 1987, Strauss et al 1988)。

由于具有较高的感觉阈值(1-5mg/L),里那醇和橙花醇氧化物对葡萄酒的感官影响很小。Rose氧化物是更具香味的化合物。Guth认为(1997),它部分与琼瑶浆葡萄酒的花香有关。

存在于葡萄中的单萜多醇(二醇和三醇)的浓度达1mg/L,甚至更高,但没有太多的香气。在酸性PH值下,它们也可以经过水解作用形成其他的单萜,其中一些是有味的。因此,3,5-二甲基-1,5-辛二烯-3,7-二醇(3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol)经过酸解产生ho-trienol。

大量单萜和倍半二萜碳水化合物带有类似树脂的气味,包括柠檬油精(limonene)萜品烯(α -terpinene)、p-cimene、香叶酸(myrcene)、及farnesol等。目前,还不清楚这些化合物在葡萄酒中的感官作用(Bayonove et al 1993)。

在葡萄酒中已经鉴定出醛(香叶醛和里那醛)、酸(转-香叶酸)和单萜酯。醛在发酵过程中被还原成醇。最近的研究显示,某些来源于 α -萜品醇的甲硫醇香味并不浓(Sefton et al 1994)。

在酸性介质中,萜类化合物可以重排产生其他的单萜醇(Voirin et al 1990)。灰霉菌在葡萄上的发育可以分解主要的单萜,将它们转化成几乎无味的化合物而调节单萜成分。里那醇通过灰霉菌酶的氧化作用产生8-羟基里那醇。但是,在非灰霉菌感染的葡萄醪中,这种反应也会自然发生(Rapp 1987)。

2.2 挥发萜的糖苷形式(Glycosylated Forms of Volatile Terpenes)

Cordonnier和Bayonnve(1974)首次通过化学和酶的作用揭示玫瑰香葡萄中存在萜类香气的非挥发、无味组分。之后,一些研究(Williams et al, 1982; Gunata, 1984; Voirin et al 1990)显示葡萄中主要的单萜和萜醇是以糖苷形式存在的,包括基本的“oses”:葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖和芹菜糖(apiose)。并且鉴定出了四类糖苷:三种双糖苷,6-O- α -L-阿拉伯糖呋喃糖— β -D-吡喃葡糖苷(6-o- α -L-arabinofuranosyl-

-D-glucopyranoside), 6-O- α -L-鼠李糖苷— -D 吡喃葡萄糖苷 6-o- α -L-rhamnosyl- β -D-glucopyranoside), 6-O- β -D-吡喃半乳糖苷或芸香糖苷 (6-O- α -L-rhamnosyl- β -D-glucopyranoside 或 rutinoside), 6-O- β -D-芹菜糖— -D-吡喃葡萄糖苷 (6-O- β -D-apiosyl- β -D-glucopyranoside) 和一种单糖苷: -D-吡喃葡萄糖苷 (β -D-glucopyranoside)。

所有的葡萄都含有相似的糖苷, 但以玫瑰香型品种的浓度最高。通常糖苷态比游离态更普遍。大多数的糖苷对应着有味的配基 (aglycone), 最普遍的是芹菜葡萄糖苷 (apiosylglucoside) 和阿拉伯葡萄糖苷 (arabiosylglucoside), 其次是芸香糖苷 (rutinosides) 和 β -葡萄糖苷。与其他植物相比, 葡萄中存在的双糖苷比单糖苷更多。

葡萄果实中, 果皮比果肉和果汁含有更高浓度的游离和糖苷类单萜。在葡萄的不同部位游离萜变化很大, 果皮中的香叶醇和橙花醇比果肉、果汁中更多。各种结合态萜的比例在整个葡萄中是相同的, 游离态和结合态萜的相对比例取决于葡萄品种: 亚历山大玫瑰的汁中含有更多的结合态萜, 而果皮含有的结合态萜和游离态萜几乎相同, 昂托玫瑰中, 果汁和果皮中的游离态和糖苷态萜的比例基本相等 (P. Ribereau-Gayon et al 2003)。

由于糖苷比糖苷配基更易溶于水, 因此, 被认为是植物中单萜的传递和积累的中间体 (Stahl-Biskup, 1987)。糖苷主要在葡萄叶片和叶茎中被鉴定出 (Di Stefano and Maggiorotto, 1993)。

在这些糖苷衍生物中, 糖苷配基也包含在醇和萜醇之中: 线形或环状醇 (己醇、苯乙烯醇、苯醇) 一些 C_{13} -降异戊二烯、香兰素等挥发酚。

3 C_{13} -降异戊二烯衍生物 (C_{13} Norisoprenoid Derivatives)

3.1 有味的 C_{13} -降异戊二烯衍生物

类胡萝卜素及含 40 个碳原子的萜 (tetraterpenes) 的氧化型降解, 产生 9、10、11、或 13 碳原子的衍生物。在这些化合物中, 含 13 个碳原子的 C_{13} 降异戊二烯衍生物具有有趣的香味特性。这些化合物普遍存在于烟草, 也存在于葡萄中 (Schreier et al 1976; Sefton et al 1989; Winterhalter 1993)。 β -大马士酮 (β -damascenone) 具有复杂的花香、热带水果和煮苹果香气, 在水中感官阈值很低 (2ng/L), 在酒精溶液中较低 (45ng/L), 红葡萄酒中, 它的可接受阈值是 5000ng/L。它最早在雷司令、Scheurebe 葡萄汁和玫瑰香葡萄中被鉴定出 (Schreier et al 1976; Etievant et al 1983), 但很可能存在于所有的葡萄品种中 (Baumes et al, 1986; Sefton et al, 1993)。白葡萄酒和红葡萄酒中, β -大马士酮的浓度变化很大。其在红葡萄酒中的浓度比白葡萄酒中的高, 在玫瑰香自然甜型酒含量尤其高。在赤霞珠、梅鹿特和品丽珠葡萄酒中平均浓度变化不大。

由于具有典型的紫罗兰香味, β -芹菜酮 (β -ionone) 在水中和稀酒精溶液中的感觉阈值分别为 7ng/L 和 800ng/L, 在葡萄酒中的辨别阈值是 1.5 μ g/L。和 β -大马士酮一样, 它存在于所有的葡萄品种中。 β -芹菜酮对白葡萄酒香气的贡献可以忽略。但在红葡萄酒香气中起着显著的作用, 它比 β -大马士酮的浓度变化更大, 葡萄品种并不是造成这些差异的主要因素。

在葡萄酒中鉴定出的其他的氧化 C_{13} -降异戊二烯, 由于它们的感官阈值相当高, 对葡萄酒的影响可以忽略。在衍生物中, 最重要的是 TDN (1,1,6-三甲基-1,2-二萘基萘 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene), 具典型的汽油味。在老的雷司令葡萄酒中, 这种汽油味起重要的作用。通常, TDN 在葡萄和新酒中没有, 但是, 在瓶内陈酿过程中出现, 浓度达 200 μ g/L, 而它的感觉阈值为 20 μ g/L。瓶贮过程中形成的 vitispirane, 使葡萄酒的带有樟脑气味的感官缺陷。

3.2 有味的 C₁₃-降异戊二烯衍生物的前体物

在酸性介质中，许多香味不浓的氧化 C₁₃ 降异戊二烯可以通过化学调节产生有味的 β -大马士酮。C₁₃-降异戊二烯主要以非挥发性前体物的形式存在于葡萄中（类胡萝卜素和葡萄糖苷）(Skouroumounis et al, 1992; Winterhalter, 1993)。

和单萜一样，某些 C₁₃-降异戊二烯（vomifoliol, 3-oxo- α -vionol, 3-羟基大马士酮）以糖苷化形式存在。现在鉴定的 C₁₃-降异戊二烯的糖苷配基全部是单糖。它们不能被葡萄和酵母的糖苷酶所水解。但是，可以被外源的真菌糖苷酶作用。而释放的挥发性化合物并不是高度有味的。理论上讲，其中一些能够在酸性介质中产生 β -大马士酮，尤其是 3-羟基大马士酮，但它们在酿造过程中的实际作用并没有被证实。

4 甲氧基吡嗪 (Methoxypyrazines)

甲氧基吡嗪是由氨基酸代谢产生的含氮杂环化合物。2-甲氧基-3-异丙基吡嗪、2-甲氧基-3-sec-丁基吡嗪、2-甲氧基-3-异丙基吡嗪，具有青椒 (Green pepper)、芦笋 (Asparagus) 甚至泥土味 (Earthy tones)。这些香味浓郁的化合物在水中具极低的感受阈值（以每升 ng 计）。许多植物，包括青椒、豌豆及土豆均含有 2-甲氧基-3-异戊基吡嗪。1975 年，Bayonove et al 首次在赤霞珠中鉴定出该物质。从那时起，在许多葡萄品种及其酒中鉴定出了（赤霞珠、品丽珠、梅鹿特、黑比诺、琼瑶浆、霞多丽、雷司令等）2-甲氧基-3-异戊基吡嗪和其他的吡嗪；在长相思、赤霞珠和品丽珠葡萄和葡萄酒中，这些化合物的浓度显著高于其辨别阈值，有时，梅鹿特也如此。这种甲氧基吡嗪的青草香气，常常是在葡萄不充分成熟时出现的，波尔多葡萄酒并不欣赏它。

长相思和赤霞珠葡萄醪和葡萄酒中的 2-甲氧基-3-异丁基吡嗪浓度在 0.5-50ng/L。在波尔多红葡萄酒中，该化合物的辨别阈值是 15ng/L。2-甲氧基-3-异丁基吡嗪主要存在于赤霞珠葡萄的果皮上，因此，发酵过程中异丁基甲氧基吡嗪浓度增加，压榨酒比自流酒含量更高 (Roujou de Boubee, 1996)。

在长相思和赤霞珠葡萄酒中，2-甲氧基-3-异丙基吡嗪和 2-甲氧基-3-sec-丁基吡嗪总体上低于 2-甲氧基-3-异丁基吡嗪的浓度，它们对滋味没有影响。

在葡萄和葡萄酒中还鉴定出了下列甲氧基吡嗪：2-甲氧基-3-甲基吡嗪和 2-甲氧基-3-乙基吡嗪，它们比 2-甲氧基-3-异丁基吡嗪香味更弱。Alaen et al (1995) 等认为葡萄酒中的一些甲氧基吡嗪也可能来源于微生物。

5 具有硫醇功能的硫化物 (Sulfur Compounds With a Thiol Function)

5.1 有味的挥发性硫醇化合物

醇家族中的含硫化合物（或硫醇）通常与感官缺陷有关，它们对某些水果和芳香性植物起作用。例如，黑加仑、葡萄果实的典型香气含有特定的硫醇 (Demole et al 1982; Engel and Tressel 1991)。已经鉴定出乙基-3-巯基丙酸 (mercaptopropionate) 和乙基-2-巯基丙酸 (乙基--2-mercaptopropionate) 是美洲葡萄的香气成分 (Kolor, 1983; Winter et al 1990)。

最近，在长相思葡萄酒中已经鉴定出一些具浓郁气味的硫醇。它们具有非常典型的香气，具各种青草和果实香气：青椒，黄杨木，金雀花，葡萄，西番莲，烟熏香气。目前，除了甲氧基吡嗪，还没有鉴定出与长相思葡萄酒典型香气有关的化合物，在不成熟果实中它的青椒香气更明显 (Augustyn et al, 1982; Allen et al 1989)。

长相思葡萄酒香气的典型成分中，发现的第一个分子是 4-巯基-4-甲基-2-戊酮。这种香味浓郁的巯基戊酮具有明显的黄杨木和西番莲香气，在模拟溶液中的感官阈值是 0.8ng/L。当浓度达到 40ng/L，它具有

难以接受的感官缺陷。这种化合物存在于黄杨叶和叶状的西番莲嫩枝中，浓度在以鲜重计几 ng/L 到几十 ng/g 之间。因此，葡萄酒品尝者用“黄杨木”和“西番莲”来描述长相思香气是有化学基础的（Bouchilloux et al., 1996；Tominaga et al 1997）。

在长相思葡萄酒中还鉴定出了其他一些挥发性硫醇：乙酸 3-巯基己酯，4-巯基 4-甲基戊醇，3-巯基己醇，3-巯基 3-甲基丁醇。乙酸 3-巯基己酯的复杂气味是黄杨木、葡萄果实的辛辣味和西番莲果实的气味。它的感觉阈值是 4ng/L，一些长相思葡萄酒含有数百 ng/L。随着葡萄酒的陈酿，形成 3-巯基己醇（Tominaga et al 1998）。

3-巯基己醇的香气是葡萄果实和西番莲果实芬芳的气味，感官阈值是 60ng/L。长相思葡萄酒中的含量为数百 ng/L，也可达到数 ug/L。

4-巯基 4-甲基戊醇具柠檬的芬芳，葡萄酒中的浓度很少超过感官阈值（55ng/L），但在某些葡萄酒中可以达到。

香味弱的 3-巯基-3-甲基丁醇闻起来有烹调的非葱味。在葡萄酒中它很少达到 1500ng/L 的感觉阈值。

在波尔多葡萄酒中（赤霞珠和梅鹿特）已经鉴定出这样一些化合物。但是，还没有评估它们的感官作用。波尔多红葡萄酒中巯基己醇的浓度高于其感觉阈值（Darriet 1997；Blanchard，1997）。

对 30 多种葡萄酒进行的试验显示：4-巯基-4-甲基戊酮（4MMP）和 3-巯基己醇（3MH）在 Alsace 葡萄品种中有重要的作用。琼瑶浆葡萄酒含有 3200ng/L 的 3MH，几乎超过感官阈值的 50 倍，而对于香叶醇，这一比值几乎没有超过 2。有时用“长相思香气”描述 Alsace 玫瑰香或雷司令葡萄酒，是因为大量的 4-巯基-4-甲基戊酮的存在（4MMPOH）（有时甚至超过长相思葡萄酒本身的量）。这些挥发性硫醇很可能部分的与其他品种的香气有关（Petit and Grand Manseng, Arvine, Colombard 和白诗南）（Baltenweck-Guyot et al., 1998）。

5.2 来源于半胱氨酸的挥发性硫醇的前体物

和许多弱香型的葡萄品种一样，长相思葡萄醪香味并不浓。该品种的典型香气出现在酒精发酵过程中，很可能有一种特殊的 -酶的作用。

当我们品尝长相思葡萄时，它得香味并不浓，但是，当吞咽 20-30 秒之后，强烈的香气出现在后咽腔，估计在品尝过程中口中的酶使它们从束缚态释放出香气。在抗坏血酸存在时，长相思无味的香味前体物放出有味的分子，这些化合物在强度上的变化取决于所用酵母菌株系的种类。生产上可以通过选择某些酵母株系（Zymaflore VL3）来增强长相思葡萄酒的香气（Darriet 1993；Masneuf 1996）。

3-巯基-己醇等一些硫醇化合物以 S-半胱氨酸键合的形式存在于葡萄醪中，它们在葡萄醪中存在的量比葡萄酒中产生的香气量更大。酵母菌作用于挥发性硫醇半胱氨酸结合态前体物的方式还不清楚（Peyrot des Gachons，1997）。

6 美洲葡萄的香气

长期以来，邻氨基苯甲酸甲酯被认为是美洲葡萄和园叶葡萄“狐臭味（foxy）”的唯一物质。现在认为与这些品种香气有关的还有其他化合物：低浓度的乙基-2、3-巯基丙酸具果香，高浓度时具硫味。Acree et al（1990）也证实美洲葡萄中存在 2-氨基乙酰醛（2-amino-acetophenone）及两种呋喃酮（4-羟基-2，5-二甲基-3-呋喃酮（4-hydroxy -2，5-dimethyl-3-呋喃酮）4-甲氧基-2，5-二甲基-3-呋喃酮（4-methoxy-2，5-dimethyl-3-呋喃酮）具草莓香气。这样化合物的大多数已经在欧洲葡萄酒中被鉴定，但是浓度很低。

7 影响品种香气的因素

7.1 糖苷酶

葡萄含有能够从无味的糖苷释放某些游离态、有味萜类的糖苷酶。在正常的酿酒条件下，因为种种原因，这些内源酶对葡萄醪香气的发育作用有限。首先，这些酶的最适活性出现在 PH5 时，而在葡萄醪中很低。葡萄糖苷酶不能水解第三位醇的糖苷，例如里那醇，由于缺乏与某些糖苷配基的反应。另外，葡萄醪的澄清抑制了某些糖苷酶的反应。

应用外源酶增强香气潜力已经受到重视。这些酶以污染物活性存在于工业化果胶酶制品中。一些酶系统涉及到两相过程：首先， α -L-鼠李糖酶、 α -L-阿拉伯糖酶或 β -D-芹菜糖酶裂解双糖；然后， β -D-葡萄糖苷酶释放相应有味的糖苷配基。由于真菌的 β -葡萄糖苷酶能被葡萄糖抑制，所以，这些酶制品仅仅对干酒有效 (Gunata et al 1993)。它们必然会使来源于“玫瑰香型”葡萄品种产生新酒香气。由于多种原因，糖苷酶样品对于弱香型葡萄品种作用很小。首先，品种香气前体物不一定是糖苷化的，不是所有的非萜配基都是有味的。而且，如果保持品种香气的话，让所有的葡萄品种都获得萜类背景香气并不是理想的。

7.2 环境因素

在葡萄成熟过程中，游离和束缚态萜烯类的积累是从颜色的变化开始的。这种单萜的持续积累，甚至到过熟的葡萄中 (Park et al 1991)。更普遍的观点认为，当含糖量达到最大时，游离单萜开始降低。成熟过程中葡萄园条件 (尤其是温度) 与这种变化有关，葡萄植株的水分供应也会影响到香气的发育 (Marais 1983; Park et al 1991)。

C_{13} -降异戊二烯的发育与萜类相似，类胡萝卜素的降低紧随着色素的变化。这与主要以糖苷形式存在的 C_{13} -降异戊二烯衍生物 (TDN, vitispirane 等) 的浓度增加有关。这些变化很可能需要葡萄中酶的作用，开始以类胡萝卜素的氧化形式降解，然后，按糖苷化机理进行 (Razungles 1996)。

成熟过程中，葡萄的光照刺激了类胡萝卜素的分解，并伴随糖苷化 C_{13} -降异戊二烯衍生物含量的增加，在雷司令和西拉葡萄中观察到这些现象。因此，在雷司令果际区域的疏叶会产生较高浓度的糖苷化 C_{13} -降异戊二烯衍生物 (Marais et al 1992; Razungles 1996)。有时，雷司令葡萄酒在陈酿过程中，会产生过多的碳氢气味，它与葡萄成熟期的极端高温有关。虽然热的气候有利于糖的积累，但对葡萄酒质量并不是最好。

在未成熟的长相思或赤霞珠葡萄中，甲氧基吡嗪的最高浓度可达 100ng/L，成熟过程中浓度逐渐降低。在最冷区域的澳大利亚，这两个品种具有最高浓度的甲氧基吡嗪。在波尔多，对同一酒庄的葡萄酒的分析，也显示了气候对甲氧基吡嗪含量的影响 (Allen and Lacey 1993; Roujou de Boubee 1996)。

土壤对梅鹿特、品丽珠和赤霞珠葡萄酒中的甲氧基吡嗪的浓度有确定的影响。生长在良好灌溉，砾石土壤上的葡萄具有最低浓度的甲氧基吡嗪，在石灰石或粘性土壤上，赤霞珠具有较高浓度的甲氧基吡嗪，通常表现为“青草”味 (herbaceous character)。在某些葡萄酒产区，“青椒特征”与吡嗪的存在有关，被认为是赤霞珠葡萄酒的典型特征。而在波尔多，强烈的青椒气味表明葡萄的成熟度差，认为是一种缺陷。

在特定的气候条件下，成熟过程中提高葡萄的光照会降低甲氧基吡嗪含量，很可能是由于这些化合物对光敏感 (Heymann 1986; Maga et al 1989)。

对葡萄的处理会对葡萄酒品种香气产生难以预计的作用。尤其是在长相思葡萄上应用含铜试剂，由于硫醇与铜的反应引起了品种香气的显著降低 (Hatzidimitriou et al 1996)。

参 考 文 献

1. P.Ribereau-Gayon, D.Dubourdieu,B.Doneche A., Handbook of Enology 1: the microbiology of wine and vinification. 2000
2. P.Ribereau-Gayon,Y.Glories,A.Maujean,D.Dubourdieu, Handbook of enology 2 : the chemistry of stabilization and treatments. 2003.
3. Tominaga T,Dubourdieu D,Flavour and Fragrance. 1998
4. Tominaga T,Murat M-L,and Dubourdieu D. J Agri Food Chem. 1998
5. E.Gomez , A.martinez and J.laencina , Am J. Enol Vitic , 1994

The Research Advance of Varietal Aroma in Wine

Li Jiming

(Center of Science and Technology ,Changyu Group Co Ltd ,Yantai Shandong 264001 China)

Abstract The components of varietal aromas in wine include terpene compounds、C₁₃-Norisoprenoid derivatives、methoxypyrazines、sulfur compounds et al; Terpene compounds are presented as two forms:free-and glycosylated; The main difference of aromatic varietal and simple-flavour varietal is due to different terpenes concentrations ; There are some methoxypyrazines in Cabernet sauvignon、Cabernet franc and sauvignon blanc,so their wines have the aroma of green pepper、asparagus and so on ; Some thiols are involved in the characteric aromas in sauvignon blanc,but most of them are partly responsible for organoleptic defects of wines; Methyl anthranilate is responsible for aromas of American vine species, furanones are involved in the aromas of their varieties ; The application of exogeneous enzyme may enhance the aromatic potential;sun exposure and moderate temperature increase varietal concentration ,improve varietal aroma quality of wine.

Key words Varietal aroma; Terpene compounds ; C₁₃ Norisoprenoid derivatives ; Methoxypyrazines ; Sulfur Compounds ; Free-and glycosylated;

高效液相色谱法测定多菌灵在葡萄中的残留量

淑英 王华

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本文建立了酿酒葡萄‘赤霞珠’中多菌灵残留量的高效液相色谱测定法。样品以乙酸乙酯提取, 二氯甲烷萃取纯化, 以 ODS-C18 柱(粒径 $5\ \mu\text{m}$, $4.6\text{mm} \times 250\text{mm}$) 进行分析, 流动相($V_{\text{乙酸乙酯}} : V_{\text{乙酸铵}} = 55 : 45$)流速为 $1\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 多菌灵保留时间为 7.016min , 回收率为 $87.8 \sim 107.5\%$ 。

关键词 葡萄; 多菌灵; 残留; HPLC

多菌灵 (Carbendazim, MBC) 化学名称为 N-(2-苯并咪唑基) 氨基甲酸酯, 是一种广谱、内吸性杀菌剂, 可作为种衣剂、防腐保鲜剂、杀菌剂等广泛使用于蔬菜和水果中^[2,3]。但它的残效期比较长, 有一定的毒性。

在酿酒葡萄的田间管理过程中, 经常喷施多菌灵控制病虫害, 因此造成酿酒葡萄中含有大量多菌灵残留, 并带入葡萄酒中, 危害人体健康。90 年代以来, 国内外对蜂蜜、水果、蔬菜及各种食品中多菌灵残留进行了研究。但尚未见到关于酿酒葡萄中多菌灵残留的测定方法的研究。本研究对酿酒葡萄中多菌灵残留的测定方法进行了研究, 提出利用高效液相色谱(HPLC)对酿酒葡萄中多菌灵残留量进行测定。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

试验材料取自西北农林科技大学葡萄酒学院酿酒葡萄栽培基地。试验研究品种: 赤霞珠(五年生)。

1.2 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-10vP 型; 上海申生 SENCO[®] 系列旋转蒸发仪; Millipore-Q 型超纯水制备装置; 脱气机: Autoscience 系列。

1.3 试剂

乙酸乙酯、甲醇(色谱纯)、甲醇、丙酮、二氯甲烷、无水硫酸钠、盐酸、氢氧化钠、乙酸铵(除单独说明外, 均为分析纯级)、去离子水、标准品多菌灵(Carbendazim)由国家标准物质中心提供纯度(99.5%)。

1.4 实验方法

1.4.1 试剂处理

乙酸铵溶液经 $0.45\ \mu\text{m}$ 超滤, 超声波脱气后使用; 甲醇(色谱纯)超声震荡脱气后备用。

1.4.2 试验条件

色谱柱: Shim-pack-ODS-C18 ($4.6 \times 250\text{mm}$); 检测器: 紫外检测器;

流动相：甲醇 乙酸铵 (0.5%) =55 45(v v)；检测波长：280nm；

流速：1.0ml/min；进样量：10 μl。

1.4.3 标准曲线

准确称取标样多菌灵 0.005g，添加甲醇定容至 50mL，配制成 $1\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准储备液，并分别配制成不同浓度的标准溶液。

1.4.4 样品处理

准确称取 200g 葡萄果实，榨汁并取 50ml 汁于 250ml 三角瓶中，加 100ml 乙酸乙酯，震荡 3 分钟后，添加 $1.0\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 水溶液 2mL，震荡 5 分钟，静置分层，将乙酸乙酯提取液转入另一三角瓶中，再向原三角瓶中加入 50mL 乙酸乙酯，重复上述操作，合并两次的乙酸乙酯提取液。分别用 50、25ml 盐酸溶液提取乙酸乙酯提取液中的多菌灵，收集水溶液，弃乙酸乙酯相。用 NaOH 溶液调节水溶液的酸度，使 $\text{pH}=9.0$ ，用 100mL 二氯甲烷分两次从水溶液中提取多菌灵，二氯甲烷提取液过无水硫酸钠柱，并用少量二氯甲烷洗涤无水硫酸钠柱，合并流出液。将流出液在旋转蒸发仪上于 35℃ 水浴浓缩至 5mL，并用氮气吹干。用 10mL 甲醇定容，经 $0.45 \mu\text{m}$ 超滤膜过滤后，液相色谱待测^[4,5]。

2 试验结果

2.1 提取溶剂选择

多菌灵是一种两性化合物，在中性和偏碱性水溶液中溶解度低，微溶于丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂，能溶于无机酸和乙酸等有机酸，碱性条件下可增加多菌灵在有机溶剂中的溶解度。实验结果表明，以甲醇为提取剂时，提取物中含有较多杂质，影响提取效果；以丙酮为提取剂时，则在提取过程中容易产生乳化现象，不易分层，对提取液中多菌灵的提取产生一定的影响，从而影响提取效率；而以乙酸乙酯为提取剂，则含有较少的杂质，且提取效果较佳。

2.2 多菌灵标样测定结果

分别测定标样的 7 个不同质量浓度的溶液，以以多菌灵浓度 Y 对峰面积 X 作回归分析，线性方程为 $Y=7.57774 \times 10^{-5}x+0.013$ ， $r=0.9998$ 。其标样色谱图见图 1。

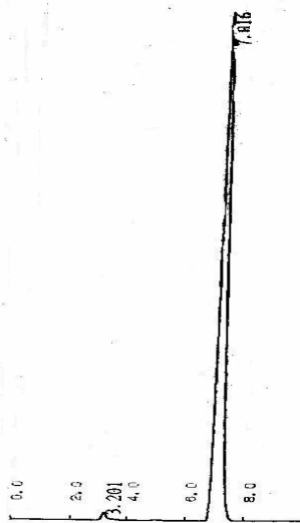


图 1 标样色谱图

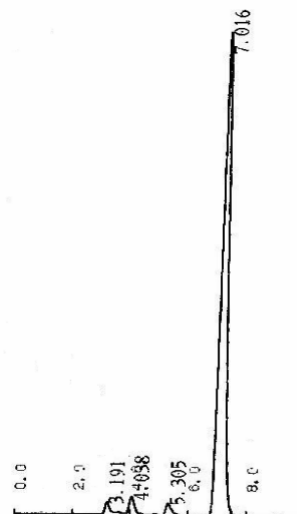


图 2 处理样品色谱图

2.3 酿酒葡萄中多菌灵残留量的测定

如图 2 所示,多菌灵在该色谱条件下,保留时间为 7.016min。由图可见,多菌灵与共存的其他物质分离良好。

2.4 流动相的组成

流动相的组成对葡萄组分的色谱分离有一定的影响。采用甲醇-乙酸铵溶液作为流动相,流速为 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,试验了流动相组成(甲醇与水的体积比分别为 70 30、60 40、55 45、50 50、40 60)对分离效果的影响。试验结果表明,在流动相中增加甲醇的比例,保留时间缩短,当甲醇与水的体积比为 55 45 时,出峰时间、峰形、灵敏度较为适宜。本试验选择流动相中甲醇与水的体积比为 55 45。

2.5 流动相的酸碱度

流动相的酸碱度影响被分析物的分离效果。考虑到所使用的色谱柱的 pH 范围及多菌灵的特性,故利用乙酸铵调节流动相的酸碱度。本实验比较了甲醇与不同比例乙酸铵水溶液(0.2%、0.5%、0.6%),实验结果表明,以甲醇和 0.5% 乙酸铵水溶液为流动相时,色谱效果较好。为减小碱性条件对色谱柱寿命的影响,本实验选择甲醇和 0.5% 乙酸铵水溶液为流动相。

2.6 流动相的流速

以流动相的流速分别为 0.8、1.0、 $1.2\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 进行试验,试验结果表明,当流速为 $0.8\text{mL}/\text{min}$ 时,色谱峰宽,出现拖尾现象,并且速度较慢;当流速为 $1.2\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,色谱峰分离效果不好;当流速为 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,色谱峰可以完全分开,分离效果较好。因此,本试验选择流动相的流速为 $1.0\text{mL}/\text{min}$ 。

2.7 回收试验

按照上述分析条件,在葡萄样品中分别添加 3 个浓度水平的多菌灵标样,每浓度作 3 个平行试验,平均回收率达 87.8% ~ 107.5%。表明本方法的准确度和精密度均符合农药残留分析的要求。

3 结论

本试验利用乙酸乙酯提取酿酒葡萄果实中多菌灵残留,通过调节提取剂的酸碱度,利用二氯甲烷进行萃取纯化,利用反相高效液相色谱进行定性定量分析,样品前处理简单,有效地去除了杂质的干扰,建立了酿酒葡萄中多菌灵残留量的测定方法:以 ODSC18 柱(粒径 $5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm} \times 250\text{mm}$)进行分析,流动相($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{乙酸铵}}=55:45$),流速为 $1\text{mL}/\text{min}$ 时,多菌灵保留时间为 7.016min,回收率为 87.8~107.5%。该方法简便,可以对葡萄果实中多菌灵残留进行快速、准确有效地分析。

参 考 文 献

1. 唐初痴.农药化学.天津:南开大学出版社,1998
2. 林郁.农药应用大全.北京:农业出版社,1989
3. 冯坚.英汉农药名称对照.北京:化学工业出版社,2003
4. Cristina Blasco, Mónica Fernández, Yolanda Picó. Simultaneous determination of imidacloprid, carbendazim, methiocarb and hexythiazox in peaches and nectarines by liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2002(461):109 ~ 116
5. Sylvaine D.Regis-Rolle, Gérard M.Bauville. High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Carbendazim Residues in Crops, Grains, and Wines with Fluorescent Detection. *Pestic. Sci.*, 1993, 37: 273 ~ 282

6. 王明月, 袁宏球, 王秀兰. 高效液相色谱法测定多菌灵农药中的有效成分含量. 热带农业科学 2004, 24 (1):23 ~ 26

Determination of carbendazim residue in winegrape by HPLC

Shu Ying and Wang Hua

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract A HPLC method was developed for determination of carbendazim residue in winegrape. Carbendazim was extracted with ethyl acetate, and purified by liquid-liquid distribution. The sample was analyzed by HPLC on ODS C₈ (4.6mm × 250mm) column, with mobile phase of methanol + 0.2% ammonium acetate (55 : 45) at a flow rate of 1.0mL · min⁻¹ and UV detection at wavelength of 280nm. The retention time of carbendazim is 7.016 min, recovery is 87.8% ~ 107.5%.

Key words Carbendazim, Winegrape, Residue, HPLC

霞多丽汽酒香气成分的 GC/MS 分析

王贞强 王华 任玉巧 淑英 张莉

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本实验采用液-液萃取法提取霞多丽葡萄酒中的香气成分, 经气相色谱-质谱联机分析, 共检出了 46 个峰, 鉴定出了 43 种挥发性化合物。相对百分含量排在前十位的分别是正戊醇、二十一烷、苯乙醇、辛酸、乙酸异戊酯、癸酸、邻苯二甲酸二异辛酯、1,3-丁二醇、己酸乙酯、二十六烷。

关键词 霞多丽; 汽酒; 香气成分; GC/MS 法

葡萄酒是指在 20 °C 条件下含有二氧化碳的压力在 0.05 ~ 0.25MPa(0.5 ~ 2.5bar)时的葡萄酒^[1]。葡萄酒中的香气成分是构成葡萄酒质量的主要因素之一, 决定着葡萄酒的风味和典型性^[2]。而葡萄酒中的香气成分同样也是构成它本身质量的重要因素。目前, 在葡萄酒中已经鉴定出了 1000 多种风味化合物, 而这些化合物除了来源于葡萄果实以外, 绝大部分来源于发酵过程中, 它们主要是醇类、酯类、酸类、酮类、烯醇类、醛类、烯烃、含硫化合物、含氮化合物、杂环化合物等。这些香气化合物的种类和含量决定了酒的特性, 葡萄酒香气成分的鉴定, 对于科学评价葡萄品种和葡萄酒质量, 具有非常重要的意义^[3]。国外现在开始利用葡萄酒的香气成分建立指纹图谱, 用此来区分不同原产地的葡萄酒。目前, 中国还没有利用芳香成分作为葡萄酒品质的评价系统, 随着科学技术的进一步发展, 香气成分的鉴定技术趋于更加成熟, 利用芳香成分作为葡萄酒品质的评价将成为评价系统的一个必然分支。

目前, 用于葡萄酒中芳香化合物提取的方法有很多种, 主要有液-液萃取法、蒸馏法、固相萃取法、固相微萃取法、超临界流体萃取法等, 用于葡萄酒中成分鉴定的仪器主要有: 气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、红外光谱法等。本研究利用液-液萃取法提取葡萄酒中的芳香化合物, 利用气相色谱-质谱联用法鉴定其中的化合物, 从而初步确定霞多丽葡萄酒中的香气特点。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与 设计

表 1 酿造前后的理化指标

	还原糖(g/L)	总酸(酒石酸计)	pH 值	总酚	酒精度	挥发酸(乙酸计)
发酵前	166.7	10.21	3.36	420.8		
发酵后	2.1	6.96	4.27	384.4	9.6	0.24

采用 2004 年西北农林科技大学葡萄酒学院张家岗葡萄园中葡萄品种霞多丽果实为试材 酿造前后的理

化指标见表 1。

酿造工艺如下：

葡萄分选
 ?理化指标的测定
 除梗破碎压榨
 添加 SO₂?皂土或低温、降酸
 澄清
 ?添加葡萄酒酵母
 发酵（18-20 ）
 温度比重监控?（5-7 天）
 分离
 ?
 密闭发酵
 ?理化指标的测定
 保压分离

1.2 试验方法

1.2.1 芳香化合物的提取

取 100mL 酒样，分别用 100、50 和 50mL 二氯甲烷萃取 3 次，合并有机相，无水硫酸钠脱水，减压浓缩至 1mL，供 GC/MS 分析。

1.2.2 GC/MS 分析条件

Thermo Finnigan TRACE DSQ 气质联用仪，RtxR-5MS 15m×0.25mm×0.25μm 色谱柱。

色谱条件：进样口温度为 260 ，柱温箱起始温度 40 ，保留时间 2.0 min，以 14 /min 升至 250 ，保留 20.0 min；载气 He，恒流 1mL·min⁻¹；分流比 10：1^[4,5]。

质谱条件：电离方式 EI，电离电压 70eV，离子源温度 220 ，连接杆温度 260 。

2 结果与分析

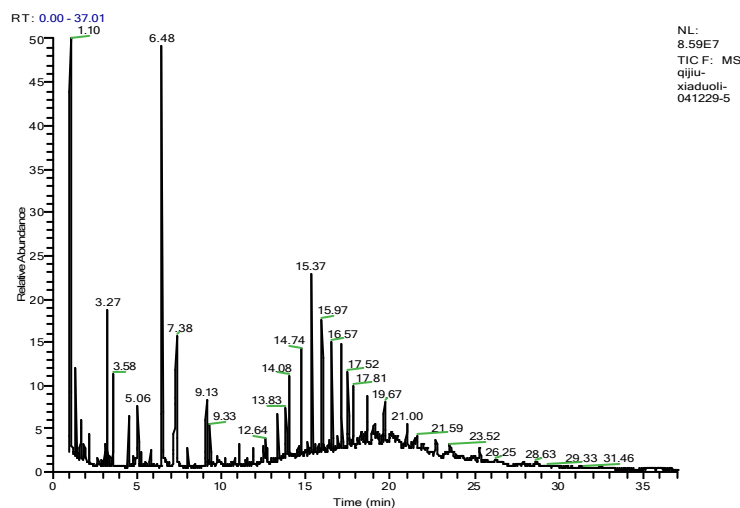


图 1 霞多丽汽酒芳香化合物气相色谱-质谱总离子图

图 1 为霞多丽葡萄汽酒的气相色谱-质谱 (GC/MS) 总离子图, 其中各个组分质谱经 NIST02 版本图谱检索及资料分析, 检出香气成分如表 2 所示。

表 2 霞多丽汽酒香气成分的 GC/MS 分析结果

保留时间	化合物名称	相对含量	分子式	分子量
1.10	正戊醇 1-Pentanol	38.36	C ₅ H ₁₂ O	88
1.40	甲苯 Toluene	1.53	C ₇ H ₈	92
1.75	1,3-丁二醇 1,3-Butanediol	2.32	C ₄ H ₁₀ O ₂	90
1.98	丁酸乙酯 Butanoic acid, ethyl ester	0.28	C ₆ H ₁₂ O ₂	116
2.22	二甲氧基-乙酸甲酯 Methane,dimethoxy-	0.67	C ₃ H ₈ O ₂	76
3.08	邻-二甲苯 o-Xylene	0.33	C ₈ H ₁₀	106
3.17	丙基-环丙烷 Cyclopropane,propyl-	0.4	C ₆ H ₁₂	84
3.27	乙酸异戊酯 Isopentyl alcohol,acetate	3.32	C ₇ H ₁₄ O ₂	130
3.45	苯乙烯 Styrene	0.33	C ₈ H ₈	104
3.58	丙烯酸丁酯 Acrylic acid butyl ester	1.42	C ₇ H ₁₂ O ₂	128
4.52	1,6-二脱氧半乳糖醇 1,6-Dideoxydulcitol	1.01	C ₆ H ₁₄ O ₄	150
4.82	3-甲硫基-丙醇 1-Propanol,3-(methylthio)-	0.25	C ₄ H ₁₀ OS	106
5.06	己酸乙酯 Ethyl caproate	1.93	C ₈ H ₁₆ O ₂	144
5.25	乙酸己酯 Acetic acid,hexyl ester	0.26	C ₈ H ₁₆ O ₂	144
6.48	苯乙醇 Benzeneethanol	10.7	C ₈ H ₁₀ O	122
7.33	辛酸 Octanoic acid	3.4	C ₈ H ₁₆ O ₂	144
7.38	辛酸乙酯 Octanoic acid,ethyl ester	1.4	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172
8.03	2-苯环丁基-苯(2-Phenylcyclobutyl)benzene	0.46	C ₁₆ H ₁₆	208
9.13	癸酸 Decanoic acid	2.61	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172
9.33	癸酸乙酯 Capric acid,ethyl ester	1.04	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200
9.80	4-(2-羟乙基)苯酚 4-(2-Hydroxyethyl)phenol	0.56	C ₈ H ₁₀ O ₂	138
10.24	十五烷 Pentadecane	0.16	C ₁₅ H ₃₂	212
11.09	十六烷 Hexadecane	0.44	C ₁₆ H ₃₄	226
11.48	2,6,10-三甲基-十五烷 Pentadecane,2,6,10-trimethyl-	0.1	C ₁₈ H ₃₈	254
11.54	磷酸三丁酯 Tributyl phosphate	0.13	C ₁₂ H ₂₇ O ₄	266
11.89	十七烷 Heptadecane	0.12	C ₁₇ H ₃₆	240
11.93	2,6,10,14-四甲基-十五烷 Pentadecane,2,6,10,14-trimethyl-	0.15	C ₁₉ H ₄₀	268
12.49	1H-吲哚-3-乙醇 1H-Indole-3-ethanol	0.6	C ₁₀ H ₁₁ NO	161
12.64	十八烷 Octadecane	0.28	C ₁₈ H ₃₈	254
12.73	2,6,10,14-四甲基-十六烷 Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	0.19	C ₂₀ H ₄₂	282
13.38	十九烷 Nonadecane	0.61	C ₁₉ H ₄₀	268
13.83	棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	0.62	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256

保留时间	化合物名称	相对含量	分子式	分子量
13.88	邻苯二甲酸丁环己酯 Phthalic acid, butyl cyclohexyl ester	0.18	C ₁₈ H ₂₄ O ₄	304
14.08	二十烷 Eicosane	1.39	C ₂₀ H ₄₂	282
14.74	二十一烷 Hencicosane	2.36	C ₂₁ H ₄₄	296
15.37	二十一烷 Hencicosane	2.89	C ₂₁ H ₄₄	296
15.97	二十一烷 Hencicosane	2.67	C ₂₁ H ₄₄	296
16.57	二十一烷 Hencicosane	2.33	C ₂₁ H ₄₄	296
17.14	二十五烷 Pentacosane	1.68	C ₂₅ H ₅₂	352
17.52	邻苯二甲酸二异辛酯 Diisooctyl phthalate	2.42	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390
17.81	二十六烷 Hexacosane	1.72	C ₂₆ H ₅₄	366
18.26	角鲨烷 Squalane	0.67	C ₃₀ H ₆₂	422
18.64	二十一烷 Hencicosane	1.39	C ₂₁ H ₄₄	296
19.07	邻苯二甲酸辛癸酯 Phthalic acid, decyl octyl ester	0.45	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	418
19.67	四十四烷 Tetratetracontane	1.59	C ₄₄ H ₉₀	618
21.00	7-环己基-二十烷 Eicosane, 7-cyclohexyl-	1.33	C ₂₆ H ₅₂	364
25.30	β-异-甲基紫罗兰酮 β-iso-Methylionone	0.93	C ₁₄ H ₂₂ O	206

从 NIST02 谱库检索结果可知, 从霞多丽汽酒中共分析出 43 种挥发性化合物, 主要包括醇类 (6 种, 占 53.26%)、烷烃 (16 种, 占 22.47%)、酯类 (12 种, 占 13.5%)、酸类 (3 种占 6.63%)、带苯环的芳香化合物 (3 种, 占 2.32%)、酮类 (1 种, 占 0.93%)、酚类 (1 种, 占 0.56%) 和烯烃 (1 种, 占 0.33%)。无论是从挥发性化合物的种类还是相对百分含量上来看醇类、烷烃和酯类都是该汽酒中的主要成分, 它们共有 34 种并且占有总挥发性成分的 89.23%。在这 8 类化合物中, 其中醇类占了挥发性总成分的一半以上; 其次是烷烃, 占了 22.47%, 这是首次在葡萄酒中检测到在种类和相对含量上如此多的烷烃, 并且大部分是直链烷烃; 对香气成分贡献比较大的酯类在该汽酒中的含量并不是很大, 只占了总挥发性化合物的 13.5%, 这在葡萄酒香气成分的检测中也是很少见的, 但是从这些酯中我们发现乙酸酯和某酸乙酯占了 6 种, 据文献报道, 这两种酯对葡萄酒的香气有积极作用^[6,7]。在剩下的含量相对比较小的几类物质中, 虽然种类和含量并不是很多, 但是对葡萄酒的贡献比较大, 例如酚类化合物, 它的医疗和保健作用已经得到科学证明。当然, 对葡萄酒香气的贡献还要看每一种化合物的含量以及它在葡萄酒中的阈值的大小。在这 43 种化合物中, 相对含量排在前十位的分别是正戊醇、二十一烷、苯乙醇、辛酸、乙酸异戊酯、癸酸、邻苯二甲酸二异辛酯、1, 3-丁二醇、己酸乙酯、二十六烷。在这 10 种化合物中, 正戊醇和苯乙醇在葡萄汽酒中的含量都比较高, 这也与其他类型的葡萄酒相一致, 它们对葡萄酒的作用在许多文献中已经报道。辛酸和癸酸虽然对葡萄汽酒的贡献并不是很大, 但是它们却具有非常大的潜力, 因为如果一旦它们和乙醇进行酯化反应, 分别形成辛酸乙酯和癸酸乙酯, 这两种酯类具有菠萝、橘子皮等香味, 对葡萄汽酒的香气贡献比较大, 有人还将它们作为增香剂使用; 并且在这 43 种香气化合物中也检测到了这两种酯。

3 讨论

综上所述, 霞多丽汽酒中香气化合物的种类比较多, 从它的组成上看, 烷烃在葡萄汽酒中所占的比例比一般的干型葡萄酒中要多, 它对葡萄酒的作用可能不是很有利, 其原因经分析认为是由于葡萄未达到完全成熟所致; 另外, 酯类的相对含量较低, 我们也推断是由于葡萄未达到完全成熟所致; 在前人的研究中,

葡萄酒中存在的酚类应该是比较多的，但是在该实验中只检测到一种，究其原因可能是因为测定香气之前的前处理过程不太妥当。但是，总体分析霞多丽汽酒香气成分比较合理，具有一定的典型性。

参 考 文 献

1. 李 华.现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社,2001
2. 李 华.葡萄酒品尝学. 北京: 中国青年出版社,1992
3. 李 华.葡萄与葡萄酒研究进展——葡萄酒学院年报(2000). 葡萄酒的生物化学. 西安: 陕西人民出版社, 2000. 1~ 11
4. A.C.Silva Ferreira, P.Guedes de Pinho. Analytical method for determination of some aroma compounds on white wines by solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Food Science*, 2003(68):2817 ~ 2820
5. Serkan Selli. 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*, 2003(81):341 ~ 347
6. S.Selli,T.Cabaroglu. Volatile composition of red wine from cv.Kalecik Karast grown in central Anatolia. *Food Chemistry*,2004(85):207 ~ 213
7. Rafael A. Peinado. Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 2004(84):585 ~ 590

Analysis of Aroma Components of Chardonnay Pearl Wine by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Wang Zhenqiang , Wang Hua , Ren Yuqiao , Shu Ying and Zhang Li

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract The aroma components in Chardonnay pearl wine were extracted by solvent extraction. With the analysis of gas chromatography/mass spectrometry, 46 peaks were separated and 43 components were identified. According to the relative content, the first ten components were 1-Pentanol; Hexacosane; Benzeneethanol; Octanoic acid; Isopentyl alcohol, acetate; Decanoic acid; Diisooctyl phthalate; 1,3-Butanediol; Ethyl caproate; Hexacosane.

Key words Chardonnay; Pearl wine; Aroma component; Gas chromatography/mass spectrometry

梅尔诺和 Granoir 干红葡萄酒花色苷成分的 HPLC 分析

王 华^{1,2} 韩富亮¹ 张予林¹

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100;

²西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本文采用 HPLC 方法对梅尔诺和 Granoir 干红葡萄酒中花色苷的组分进行了测定。结果表明:梅尔诺干红葡萄酒中都含有 Dp 3-O-Glu、Cy 3-O-Glu、Pt 3-O-Glu、Pn 3-O-Glu、Mv 3-O-Glu、Pn 3-O-(6-O-Acet)-Glu、Mv 3-O-(6-O-Acet)-Glu、Pn 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu 和 Mv 3-O-(6-O-p-Coum)-Glu 这 9 种花色苷,而 Dp 3-O-Glu 在 Granoir 干红葡萄酒中没有测出。其中 Mv 3-O-Glu(46.75%-60.31%)是两种葡萄酒中主要的花色苷。

关键词 干红葡萄酒;花色苷成分;HPLC 分析

花色苷是赋予红葡萄酒颜色的主要物质,对葡萄酒的感官品质有重要的影响。梅尔诺 (*V. vinifera*) 是酿造干红葡萄酒的优良品种,是葡萄酒市场中重要的酿酒葡萄品种;Granoir 是 1997 年由瑞士引进的品种。

葡萄与葡萄酒花色苷 HPLC 指纹图谱为葡萄分类、品种和遗传家系鉴定、葡萄酒原料品种、葡萄酒产地和假酒鉴定,甚至于葡萄酒酒龄的鉴定方面提供了一种新的研究方向、途径和可能的鉴定方法^[1-5]。

葡萄与葡萄酒花色苷的成分及其比例是进行深入研究的基础,国外对葡萄酒中的花色苷进行了比较广泛而深入的研究,而国内利用 HPLC 对葡萄与葡萄酒中花色苷的研究还未见报道。目前,HPLC 已经成为分析研究花色苷的主要工具。本文采用 HPLC 方法分析梅尔诺和 Granoir 葡萄酒中花色苷的组分及其相对百分含量,为科学、客观地鉴定葡萄酒原料品种、建立葡萄与葡萄酒花色苷 HPLC 指纹图谱及其他相关的研究提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试材料为 2003 年产于陕西杨凌以梅尔诺和 Granoir 为原料酿造的干红葡萄酒。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪为岛津 LC-10ATvp,检测器 SPD-10ATvp,积分仪型号 C-R8A。真空抽滤器:Autoscience AP-9901S 超声脱气机:Autoscience AS3120B。流动相乙腈(HPLC)、甲酸(AR)和双蒸水。

1.2.2 HPLC 分析

HPLC 分析所用的标样酒由德国 Wittkowski R. 教授提供。分析柱 Shim-Pack VP-ODS 250×4.6mm i.d. , 预柱 10×4.6mm i.d.。检测波长 518nm , 进样体积 20 μ L , 分析色谱条件参照 Marx R.、Holbach B. 和 Otteneder H. 的方法 , 重复两次。流动相和酒样在进行液相分析前进行 0.45 μ m 超微过滤。花色苷的含量表示为九种花色苷的相对百分含量 , 即各花色苷的峰面积与九种花色苷总峰面积的百分比^[6]。

2 结果与分析

2.1 花色苷的定性分析

梅尔诺葡萄酒中含量最多的花色苷是 Mv 3-*O*-Glu (花色苷英文缩写、全名和中文见图 1 , 下同) , 其次是 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu。花色苷在反相色谱中的洗脱顺序有一定的规律 :Dp 3-*O*-Glu、Cy 3-*O*-Glu、Pt 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-Glu、Mv 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu、Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 和 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu^[1,2,4,7]。根据德国 Wittkowski R. 教授提供的标样酒及其标准图谱和本实验中所作标样酒图谱 , 以及 Eugenio R. (2001)、Arozarena I. 等 (2000) 和 García-Beneytez E. 等 (2002) 的参考文献^[4-5,8] , 确定了九种花色苷 , 即 :Dp 3-*O*-Glu、Cy 3-*O*-Glu、Pt 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-Glu、Mv 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu、Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 和 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu。而 Granoir 葡萄酒花色苷根据标样酒的图谱确定 , 只鉴定了 8 种 , 其中 Dp 3-*O*-Glu 没有检测到 , 而 Cy 3-*O*-Glu 含量很少 , 没有在色谱图上标出 , 见图 1。

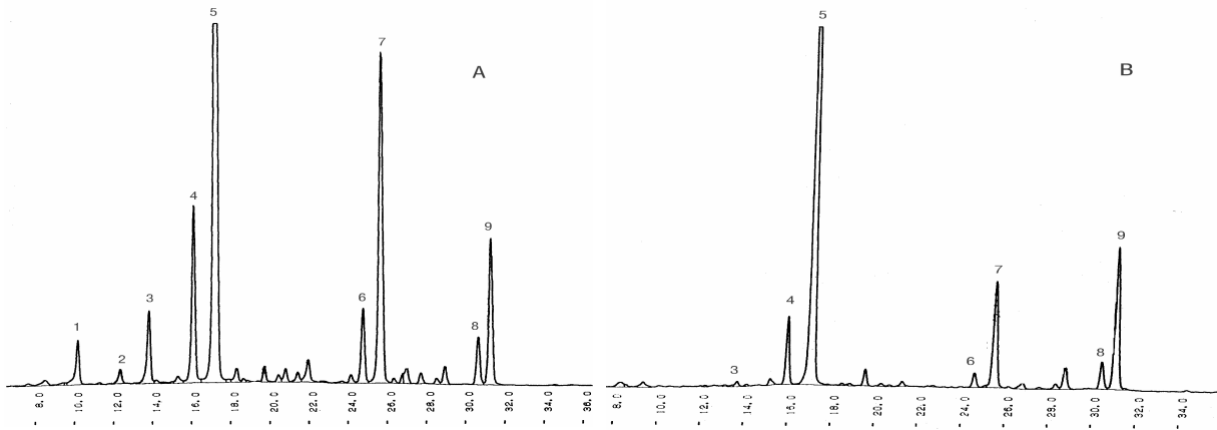


图 1 梅尔诺和 Granoir 葡萄酒干红葡萄酒花色苷 518nm 下的 HPLC 色谱图

样本编号 A:梅尔诺 B: Granoir 花色苷 1:花翠素 3-*O*-葡萄糖苷(Dp 3-*O*-Glu) 2:花青素 3-*O*-葡萄糖苷(Cy 3-*O*-Glu) 3: 3-甲花翠素 3-*O*-葡萄糖苷(Pt 3-*O*-Glu) 4:甲基花青素 3-*O*-葡萄糖苷(Pn 3-*O*-Glu) 5:二甲花翠素 3-*O*-葡萄糖苷(Mv 3-*O*-Glu) 6:甲基花青素 3-*O*-(6-*O*-乙酰)葡萄糖苷(Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu) 7:二甲花翠素 3-*O*-(6-*O*-乙酰)葡萄糖苷(Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu) 8:甲基花青素 3-*O*-(6-*O*-对香豆酰)葡萄糖苷(Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu) 9:二甲花翠素 3-*O*-(6-*O*-对香豆酰)葡萄糖苷(Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu)
Dp:Delphinidin Cy:Cyanidin Pt:Petunidin Pn:Peonidin Mv:Malvidin Glu: Glucoside Acet: Acetyl Coum: Coumaryl

2.2 梅尔诺和 Granoir 葡萄酒花色苷的组分及其相对百分含量

梅尔诺的主要花色苷是 Mv 3-*O*-Glu (48.79%) 和 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu (19.77%) ; Pn 3-*O*-Glu 和

Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 的含量也较高, 分别为 9.06% 和 8.32%; Dp 3-*O*-Glu、Pt 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu 和 Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 的含量则较少, 含量不超过 5%; Cy 3-*O*-Glu 的含量则很少, 含量为 0.74%, 没有超过 1%。García-Beneytez E. 等 (2002) 测定梅尔诺葡萄酒中花色苷的分布为: Mv 3-*O*-Glu 含量最多, 为 54.10%, Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu 含量其次, 为 16.8%, 与本次的试验结果相似, 并且 Cy 3-*O*-Glu 的含量也不超过 1%, 为 0.85%, 而其他的花色苷则有所差异^[8]。

Granoir 葡萄酒中的花色苷主要是 Mv 3-*O*-Glu (61.37%)、Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu (11.99%) 和 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu (15.68%), 但 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 的含量高于 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu。Pn 3-*O*-Glu、Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu 和 Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 的含量则较少, 少于 10%。Cy 3-*O*-Glu 和 Pt 3-*O*-Glu 的含量很少, 不超过 1%。Dp 3-*O*-Glu 的含量则没有检测出来。

表 1 梅尔诺和 Granoir 干红葡萄酒花色苷的九种组分和相对百分含量

样本	1	2	3	4	5	6	7	8	9
梅尔诺	2.54	0.74	4.10	9.06	48.79	4.05	19.77	2.65	8.32
Granoir	—	0.13	0.48	6.09	61.37	1.46	11.99	2.89	15.68

注: 1,2,3,4,5,6,7,8,9 所代表的花色苷见图 1 注解 “—”: 没有检测到

2.3 梅尔诺和 Granoir 葡萄酒花色苷组分的比例

梅尔诺和 Granoir 葡萄酒中乙酰化与对香豆酰化花色苷的比例都小于文献^[1]中所说的比例 3, 而乙酰化和对香豆酰化花色苷与非酰化花色苷的百分比也各不相同, 见表 2。

表 2 花色苷之间的比例

样本	A(%)	B(%)	C(%)	D	E(%)	F(%)
梅尔诺	65.22	23.82	10.97	2.17	36.52	16.82
Granoir	68.07	13.45	18.57	0.72	19.76	27.28

注: A=1+2+3+4+5(非酰化花色苷) B=6+7(乙酰化花色苷) C=8+9(对香豆酰化花色苷) D=B/C E=B/A×100 F=C/A×100

3 结果与讨论

梅尔诺和 Granoir 葡萄酒中主要的花色苷是 Mv 3-*O*-Glu, 含量在 48.79%-61.37%。两种葡萄酒中都含有较多的 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu 和 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu, 而梅尔诺葡萄酒还有较多的 Pn 3-*O*-Glu (9.06%), 见表 1 和图 1。

梅尔诺葡萄酒中次多的花色苷 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu, 含量在 18.10%-29.03%, 而 Granoir 葡萄酒则是 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu, 其含量为 15.68%。梅尔诺葡萄酒花色苷含量居于第三位的是 Pn 3-*O*-Glu, 稍高于 Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu 的含量; 而在 Granoir 中则是 Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu。两种葡萄酒中其他几种花色苷的含量也都不同。另外, 在 Granoir 葡萄酒中没有检测到 Dp 3-*O*-Glu。

两种葡萄酒的花色苷中乙酰化与对香豆酰化花色苷的比例都小于文献^[1]中所说的比例 3, 从而在一定程度上可以判断它们都不是赤霞珠葡萄酒。

根据 Eva García-Beneytez 等 (2002) 的研究结果并推论^[8], 不同葡萄品种在一定的工艺条件下各花色苷传递到葡萄酒中的含量及比例决定于品种的花色苷分布, 因此, 两种葡萄酒的花色苷组分及百分含量就是本品种葡萄酒在该工艺条件下的特征特性。

参 考 文 献

1. Jennifer B., William M., Nicholas L. et al. Variations in the Profile and Content of Anthocyanins in Wines Made from Cabernet Sauvignon and Hybrid Grapes. *J.Agric.Food Chem*,2002,50(14):4096~4102
2. Ryan J.M. and Eugenio R.. Anthocyanin Composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening. *J.Agric.Food Chem*,2003,51:3372~3378
3. Gao Y. and Cahoon G.A.. High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Anthocyanins in the Red Seedless Table Grape Reliance. *Am.J.Enol.Vitic*,1995,46(3):339~345
4. Eugenio R., García-Beneytez E., Cabello F. et al. Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography A*,2001,915:53~60
5. Arozarena I., Casp A. and Marín R.. Differentiation of some Spanish wines according to variety and region based on their anthocyanin composition. *Eur Food Res Technol*.2000,212:108~112
6. Bakker J. and Timberlake C.F.. The Distribution and Content of Anthocyanins in Yonug Port Wines as Determined by High Performance Liquid Chromatography. *J.Sci.Food Agric*, 1985,36:1325~1333
7. Heier A., Blaas W., Droß A. et al. Anthocyanin Analysis by HPLC/MS. *Am.J.Enol.Vitic*,2002,53(1):78~86
8. García-Beneytez E., Eugenio R. and Cabello F.. Anthocyanin Pattern of Several Red Grape Cultivars and Wines Made from Them. *Eur Food Res Technol*,2002,215:32~37

Analysis of Anthocyanin Compositions of Merlot and Granoir dry Red Wine by HPLC

Wang Hua^{1,2} Han Fuliang¹ and Zhang Yulin¹

(¹ College of Enology, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi, 712100 China;

² College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi, 712100 China)

Abstract The anthocyanins in dry red wine of Merlot and Granoir were determined by HPLC in this paper. Nine anthocyanins as followed were detected in Merlot dry red wines: Dp 3-*O*-Glu, Cy 3-*O*-Glu, Pt 3-*O*-Glu, Pn 3-*O*-Glu, Mv 3-*O*-Glu, Pn 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu, Mv 3-*O*-(6-*O*-Acet)-Glu, Pn 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu and Mv 3-*O*-(6-*O*-*p*-Coum)-Glu, While Dp 3-*O*-Glu was not detected in Granoir wine. In these two wines, Mv 3-*O*-Glu(46.75%-60.31%) is the main composition.

Key words Dry red wine, Anthocyanin compositions, HPLC analysis

葡萄酒色度测定方法的研究

张予林 石磊 魏冬梅

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本文探讨了用分光光度计测葡萄酒色度的方法及注意的问题, 分析了色度与葡萄酒颜色评价的关系。结果表明, 葡萄酒的色度受葡萄酒 pH 值、游离 SO₂、总酚含量、澄清状况等因素的影响。

关键词 葡萄酒; 色度; 分析方法

葡萄酒的色度是评价葡萄酒质量的一个重要指标, 根据葡萄酒的色度和色调能够判断一瓶葡萄酒的氧化程度和质量的好坏^[1]。葡萄酒的颜色是十分重要的感官特征, 直接影响葡萄酒的质量, 一瓶酒颜色的好坏将直接影响到对它的的质量的整体评价。有实验证明颜色对品尝员在品尝时有重要的影响, 颜色的吸引力也是消费者判断其质量的主要因素之一。红葡萄酒的颜色几乎包括所有红色, 主要有: 宝石红、鲜红、深红、暗红、紫红、瓦红、砖红、黄红、棕红、黑红等。白葡萄酒中的颜色主要有: 近似无色、禾秆黄、绿禾秆黄、暗黄色、金黄色、琥珀黄色、铅色、棕色^[2]。葡萄酒的色度与颜色有着密切的关系, 对葡萄酒色度的测定可以为葡萄酒的品尝做参考。

葡萄酒色度的测定主要是采用分光光度计法, 葡萄酒色度的高低主要由葡萄酒中的酚类物质、花色素、单宁含量等决定, 花色素、单宁含量高, 葡萄酒的颜色就深, 色度值也就越高; 反之, 色度就低^[1]。但是色素的各种性质又受葡萄酒的 pH 值、游离二氧化硫及澄清状况的影响, 从而使酒的色度发生变化。

通过分光光度计法测定色度来研究葡萄酒色度与葡萄酒的 pH 值和游离 SO₂ 的关系以及稀释倍数对色度的影响, 可为更准确的测定葡萄酒色度值提供参考, 也对决定葡萄酒色度的根本因素作出了验证。

1 材料与方方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 酒样:

干白酒样: 1~6 号; 干红酒样: 7~16 号

1.1.2 试剂:

磷酸氢二钠—柠檬酸缓冲溶液: A: 0.2M 磷酸氢二钠溶液 B: 0.1M 柠檬酸溶液、碘标准溶液、硫酸溶液、淀粉指示剂、氢氧化钠溶液、亚硫酸、柠檬酸、碳酸钙、福林—肖卡试剂

1.1.3 仪器: 725 型分光光度计、分析天平、pH 计等

1.2 实验方法

1.2.1 白葡萄酒色度的测定

将经过 0.45 μ m 超滤的酒样在分光光度计波长 420nm 下测定其吸光值之和即为白葡萄酒的色度^[1, 3]。

1.2.2 红色葡萄酒色度的测定

将经过 0.45 μ m 超滤的酒样在分光光度计 420nm、520nm、620nm 测定其吸光度，三者之和即为红葡萄酒的色度^[1]。

1.2.2 葡萄酒 pH 值的测定 pH 计法^[5]

1.2.3 葡萄酒游离 SO₂ 的测定 直接碘量法^[5]

1.2.4 葡萄酒总酚的测定 福林—肖卡法^[4, 5]

1.2.5 葡萄酒的色度与影响色度的理化指标和葡萄酒颜色评价之间的关系

对影响酒样色度的理化指标进行测定，并对这些酒样进行集体品尝，综合品尝员对酒颜色方面的评价找出色度和品尝学颜色评价之间的关系。

2 结果与分析

2.1 稀释法对葡萄酒色度测定的影响

2.1.1 白葡萄酒两种测定方法的比较

在葡萄酒色度范围低的情况下，即吸光度 <0.5 的情况下，用直接法和稀释法测定，其最后结果有一定的差异，分析认为在色度较小的情况，对葡萄酒进行稀释处理会造成色度值偏高^[1]，因此在白葡萄酒色度测定当中采用直接测定的方法。

2.1.2 红色葡萄酒两种测定方法的比较

选取了部分色度较高的红葡萄酒样对其色度进行了测定，结果见表 1。在葡萄酒色度较高的情况下，即吸光度很高的情况下，用直接法根本无法测出酒的色度，需将酒样以 5 倍和 10 倍浓度稀释。稀释后酒样吸光值越小，相应得到的葡萄酒的色度差异越小，因此在红葡萄酒色度较高时，即吸光度 >0.5 ，对酒样进行适当的稀释，得到的测定结果是较准确的。

表 1 红色葡萄酒直接测定与稀释测定的比较

酒样	直接测定	稀释 5 倍测定	稀释 10 倍测定	差值
16	无法测出	无法测出	44.57	/
15	无法测出	9.23	10.75	+ 1.52
14	无法测出	6.62	6.10	- 0.52
13	无法测出	6.06	5.89	- 0.17

2.2 葡萄酒在不同 pH 值下色度的测定

选取部分葡萄酒样，利用磷酸氢二钠—柠檬酸缓冲溶液调整原葡萄酒 pH 值在 3.0-3.8 之间，间隔 0.2，再用上述稀释 10 倍的方法测定红葡萄酒色度。白葡萄酒则用直接添加柠檬酸或碳酸钙调整 pH 值，用直接测定法测其色度。

由表 2 可知，色度与 pH 之间呈显著正相关（R 值在 0.8676 ~ 0.9872）。不同 pH 下，色度发生变化，随 pH 增大色度也增大。这主要是因为影响色度高低的的主要因素是花色素，花色素在自然界中常以糖苷的形式存在，称为“花色素苷”，它是葡萄酒中的主要呈色物质，花色素苷颜色随 pH 值而变化^[6]，在酸性条件下，花色素有两种呈色作用，一为有色形式，另一为无色形式，两者处于平衡状态，平衡的位置，依 pH 而变化，在两个 pH 值之间，其呈色强度的变化，与色素含量的多少呈正比例关系^[1]。

表 2 葡萄酒在不同 pH 值下色度测定的比较

PH	干红			干白	
	样 13	样 14	样 15	样 5	样 6
3.0	5.58	5.98	8.03	0.093	0.129
3.2	5.95	6.10	8.35	0.105	0.144
3.4	6.20	6.25	8.73	0.110	0.150
3.6	6.36	6.37	8.75	0.118	0.158
3.8	6.58	6.63	10.75	0.137	0.160
R	0.9841**	0.9872**	0.8676*	0.9749**	0.9615**

注：n-1=4 时 $r_{0.05}=0.811$ $r_{0.01}=0.917$ ；相关系数为 pH 值与色度；红葡萄酒样用稀释 10 倍法测定

2.3 葡萄酒在不同游离 SO₂ 下色度的测定

添加亚硫酸调整酒样中游离 SO₂ 的浓度，调整至 30—50mg/L 之间，间隔 10mg/L，再分别测其色度。

由表 3 分析可知，游离 SO₂ 浓度和色度呈负相关。同一酒样在不同游离 SO₂ 浓度下，色度发生变化，随游离 SO₂ 浓度的增加其色度降低。分析认为亚硫酸根离子能和花色苷缩合成无色化合物。葡萄酒中加入亚硫酸后，解离出来的亚硫酸根离子与花色苷发生缩合反应而使葡萄酒颜色变浅。但此反应是可逆的，当葡萄酒中的亚硫酸挥发消失，褪去的颜色又会逐步恢复^[6]。

表 3 葡萄酒在不同游离 SO₂ 浓度下色度测定的比较

游离 SO ₂ 浓度 (mg/L)	干红		干白	
	样 14	样 15	样 5	样 6
30	6.84	6.43	0.088	0.089
40	6.12	6.13	0.074	0.087
50	5.88	6.00	0.069	0.078
R	-0.866	-0.9749	-0.8687	-0.9387

注：红葡萄酒样用稀释 10 倍法测定

2.4 葡萄酒的总酚和色度之间的关系

葡萄酒中的酚可分为类黄酮和非类黄酮两大类，其中类黄酮包括主要影响葡萄酒色度值的花色素和单宁^[7]。由表 4 分析红白葡萄酒的色度均与总酚含量成一定的相关性，相关性系数为 0.8851，差异显著。总酚越高，色度值也就越大，从而也证明花色苷和单宁含量越高色度值也就越高。

表 4 葡萄酒的总酚和色度之间的关系

酒样	总酚 (mg/L)	色度
7	791.448	3.270
8	769.773	3.480
9	654.234	2.530
10	678.545	4.430
11	870.926	3.530
12	733.647	3.420
13	2467.690	49.700
14	1716.270	10.750
15	878.151	6.100
16	961.780	5.890

酒样	总酚 (mg/L)	色度
白葡萄酒	1	139.836
	2	133.334
	3	303.849
	4	301.680
	5	290.120
	6	207.750
R		0.8851**

注：n-1=15 时 $r_{0.05}=0.482$ $r_{0.01}=0.606$

2.5 葡萄酒色度与颜色评价之间的关系

葡萄酒色度与感官评价之间的关系如表 5 所示，在澄清度较好的情况下葡萄酒的色度越高，酒的颜色越深，色度越低酒的颜色也就越浅。

表 5 葡萄酒色度与感官评价

酒样	总酚 (mg/L)	游离 SO ₂ (mg/L)	pH 值	色度	关于颜色的感官评价
1	139.836	5.2	3.13	0.061	近似无色，清澈透明
2	133.334	5.2	3.26	0.069	浅禾杆黄，清澈透明
3	301.680	60.0	3.55	0.092	浅禾杆黄，清亮透明
4	303.849	64.0	3.56	0.093	浅禾杆黄，清澈透明
5	207.750	37.0	3.60	0.118	禾杆黄，清亮透明
6	290.120	57.0	3.20	0.144	禾杆黄，澄清透明，有光泽
7	654.234	7.1	3.10	2.530	浅宝石红，澄清，光亮透明
8	791.4486	9.5	3.30	3.270	宝石红，澄清，透明，有光泽
9	733.647	4.2	3.62	3.420	宝石红，澄清，有光泽
10	769.773	6.1	3.31	3.480	宝石红，澄清，透明，有光泽
11	870.926	10.7	3.58	3.530	宝石红，光亮，澄清
12	678.545	7.1	3.17	4.430	宝石红，清亮
13	961.780	9.0	3.10	5.890	深宝石红，澄清，有光泽
14	878.151	12.0	3.20	6.100	深宝石红，澄清，有光泽
15	1716.270	17.0	3.80	10.750	深红，澄清，有光泽
16	2467.690	18.0	3.00	49.700	黑红色，无沉淀，略失光

由表 5 分析红葡萄酒色度与颜色感官评价的关系大致为：色度小于 3，为浅宝石红或浅红；色度在 3~5 之间，为宝石红或鲜红；色度大于 5 时，为深宝石红或砖红、深红；当色度值更高时，则为黑红或紫红。白葡萄酒色度与颜色感官评价的关系大致为：色度在 0.06 左右时或小于 0.06 时，为近似无色，色度在 0.06~0.1 之间，为浅禾杆黄或浅黄；色度大于 0.1 时，为禾杆黄或绿禾杆黄。

3 结论与讨论

(1) 利用分光光度计测葡萄酒色度时，如吸光度在 0.5 以下，则不必用稀释法，可直接测定。因此对白葡萄酒一般可直接超滤后测定，红葡萄酒应适当稀释后测定。

(2) 葡萄酒色度受葡萄酒 pH 值的影响，pH 增大，色度也增大。

(3) 不同游离 SO_2 浓度下,葡萄酒的色度发生变化,随游离 SO_2 浓度的增加其色度降低。由于游离 SO_2 除了能与花色苷缩合成无色化合物外,还对单宁和花色苷的聚合反应起抑制作用。因此,葡萄酒中的游离 SO_2 是影响葡萄酒色度的重要因素。

(4) 葡萄酒中的酚类主要参与形成葡萄酒的味道、骨架、结构和颜色等,对红葡萄酒的质量尤其重要^[7]。试验证明葡萄酒的色度值与酒中的酚类物质有着显著的相关性。

(5) 葡萄酒的色度与浊度(即葡萄酒的澄清状况)有关,酒样不澄清会直接影响其色度值。一般情况下酒样在测定其色度前要经过 $0.45\mu\text{m}$ 孔径过滤^[1],保证酒样澄清透明。

参 考 文 献

1. 梁冬梅,李记明,林玉华.分光光度计测葡萄酒的色度.中外葡萄与葡萄酒.2002(3):9~13
2. 李华编著.葡萄酒品尝学.北京:中国青年出版社,1996
3. 朱宝镛主编.葡萄酒工业手册.北京:中国轻工业出版社,1999
4. 秦含章 编著.葡萄酒分析化学.北京:中国轻工业出版社,1991
5. 王华主编.葡萄与葡萄酒实验技术操作规范.西安:西安地图出版社,1999
6. 丁刚等.葡萄酒中的花色苷.葡萄与葡萄酒研究进展——葡萄酒学院年报(2002):88~94
7. 丁燕,赵新节.酚类物质的结构与性质及其与葡萄及葡萄酒的关系.中外葡萄与葡萄酒.2000(2):13~17
8. 袁志发,周静芋主编.实验设计与分析.北京:高等教育出版社,2000

Research of Detection Method of Density of Wine Color

Zhang Yulin, Shi Lei and Wei Dongmei

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shanxi, 712100 China)

Abstract Method of detecting the density of wine color and its problem were discussed in this paper. Results showed that density of wine color was affected by some factors such as wine pH, free Sulfur Dioxide, total polyphenols content and purity. The relation between density of wine color and evaluation of wine color was analyzed together.

Key words Wine, Density of wine color, Analysis method

烟台蛇龙珠干红葡萄酒酚类物质含量 与感官质量之间的关系研究

樊 玺 李记明 张卫强

(烟台张裕集团有限公司技术中心 山东烟台 264001)

提要 对2000年和2001年烟台地区六个主要产地蛇龙珠干红葡萄酒中酚类物质与感官质量之间的关系进行了初步研究,结果表明:总酚在 $900 \sim 1000 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,单宁在 $1600 \sim 1800 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,葡萄酒的口感较柔和圆润,感官质量较好;单酚总量低于 $44 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,葡萄酒的感官质量差; $44 \sim 50 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,葡萄酒感官质量较好,大于 $50 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,葡萄酒感官质量好;各单酚含量范围分别是儿茶素 $18.48 \sim 34.15 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,槲皮素 $0.25 \sim 0.93 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,没食子酸 $13.88 \sim 28.38 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,原儿茶酸 $0.35 \sim 1.35 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关键词 烟台地区;蛇龙珠;干红葡萄酒;酚类物质;感官质量

葡萄是自然产品,它的生长受到不同产地气候条件和土壤等因素的影响,从而在原料质量方面存在差异,并通过酿酒过程最终在葡萄酒质量中反映出来。酚类物质赋予葡萄酒颜色和独特的味觉特征,是构成葡萄酒质量的重要因素。因此,通过研究不同产地蛇龙珠干红葡萄酒中的酚类物质,可以进一步了解葡萄品种及葡萄酒与产地的关系,对实施原产地保护和优化酿酒工艺具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

2000年、2001年,烟台地区六个不同产地按照标准工艺酿造的蛇龙珠干红葡萄酒。

1.2 方法

1.2.1 产地选择

根据烟台蛇龙珠葡萄分布特征,选择具有代表性的六个主要葡萄产区:分别编号为1[#]、2[#]、3[#]、4[#]、5[#]、6[#]。

1.2.2 测定方法

酒度、总酸的测定方法为OIV标准方法;

总酚的测定为Folin-Ciocalteu法;

单宁的测定为Folin-Dennis法;

柔和指数计算方法为 $IS = [\text{酒度} - (\text{总酸}(\text{硫酸计}) + \text{单宁}(\text{g} \cdot \text{L}^{-1}))]$;

单酚的测定为高效液相色谱法(HLPC)^[1]。

2 结果与分析

2.1 总酚和单宁含量比较

从图1可以看出,同一产地的不同年份间存在一定的差异,各产地总酚和单宁含量都是2001年明显高于2000年。在同一年份的不同产地之间,总酚和单宁也有不同程度差异。在2000年,1#产地总酚最高,为 $1024.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其次为2#产地,为 $1020.9\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,3#产地最低,为 $847.8\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;单宁含量在不同产地之间的变化跟总酚相同,也是1#产地排第一,含量为 $1839.4\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,2#产地排第二,含量为 $1741.8\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,3#产地仍然最低,为 $1522.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在2001年,6#产地总酚和单宁含量都最高,分别为 $1109.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2031.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其次为2#产地,分别为 $1101.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2016.7\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,5#产地为最低,总酚和单宁分别是 $1011.8\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1715.9\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

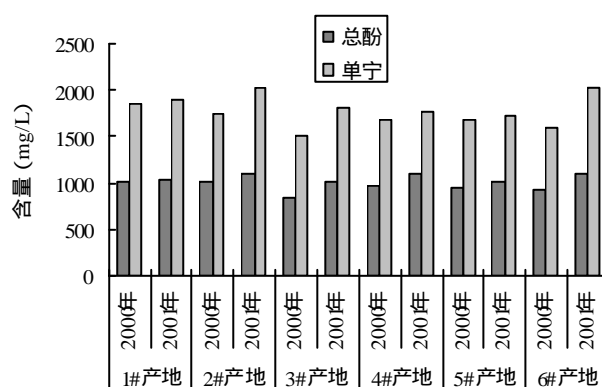


图1 不同产地不同年份干葡萄酒总酚、单宁含量

2.2 感官质量分析

柔和指数反映了葡萄酒口感的协调、平衡程度。由表1可以看出,柔和指数与感官品评得分是一致的,总酚、单宁含量与感官品评得分之间具有一定的相关性。总酚在 $900\sim 1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,单宁在 $1600\sim 1800\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,柔和指数大于6.5时,葡萄酒的口感较柔和圆润,感官质量较好。

表1 酒的基本指标及感官品评表

指标产地	总酸 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		酒度 ($\text{v}\cdot\text{v}^{-1}$)		单宁 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		总酚 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		柔和指数 (IS)		品评总分		柔和指数平均	品评总分平均
	2000	2001	2000	2001	2000	2001	2000	2001	2000	2001	2000	2001		
1#	5.06	4.73	11.7	11.5	1839.4	1898.2	1024.1	1038.5	6.56	6.51	91.5	81.5	6.54	86.50
2#	5.44	5.44	11.6	11.7	1741.8	2016.7	1020.9	1101.2	6.31	6.13	86.5	84.0	6.22	85.25
3#	5.56	5.38	11.7	12.0	1522.0	1806.7	847.8	1018.3	6.55	6.68	82.5	91.5	6.62	87.00
4#	4.69	4.88	11.4	11.4	1679.8	1782.8	962.4	1101.2	6.66	6.43	85.5	84.5	6.55	85.00
5#	6.94	4.69	11.1	11.5	1676.2	1715.9	942.6	1011.8	4.89	6.72	84.5	90.0	5.81	87.25
6#	5.81	6.75	11.4	12.4	1609.2	2031.0	930.8	1109.2	5.99	5.96	88.0	88.0	5.98	88.00

2.3 单酚含量的比较

葡萄酒中含量较高的单酚主要有儿茶素、没食子酸、原儿茶酸和槲皮素。儿茶素和槲皮素属于黄酮醇类(flavonol)物质,主要影响葡萄酒的颜色变化和抗氧化能力;没食子酸和原儿茶酸属于酚酸类物质,它们和其他成分一起影响着葡萄酒的口感,主要参与涩味的形成,是葡萄酒结构感和骨架的维持者。

图 2 和图 3 表明,在同一产地,2001 年蛇龙珠干红葡萄酒中儿茶素、没食子酸、原儿茶酸、槲皮素含量都高于 2000 年。

在相同年份,2000 年中产地 5[#]儿茶素含量最高,为 21.78mg · L⁻¹,其次为产地 2[#],含量为 21.40mg · L⁻¹,含量最低的产地是产地 6[#],为 19.27mg · L⁻¹;没食子酸含量最高的产地是产地 1[#],为 23.15mg · L⁻¹,其次为产地 6[#],为 20.95mg · L⁻¹,含量最低的是产地 3[#],为 13.88mg · L⁻¹;原儿茶酸含量最高的产地是产地 2[#](0.88mg · L⁻¹),

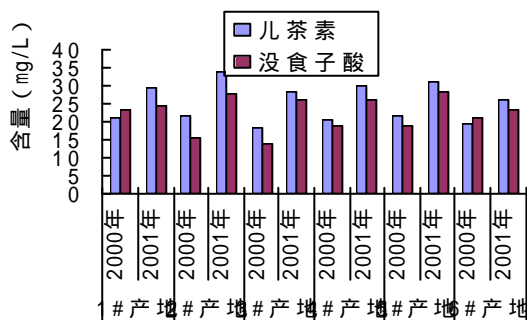


图 2 不同产地干红葡萄酒儿茶素和没食子酸含量图

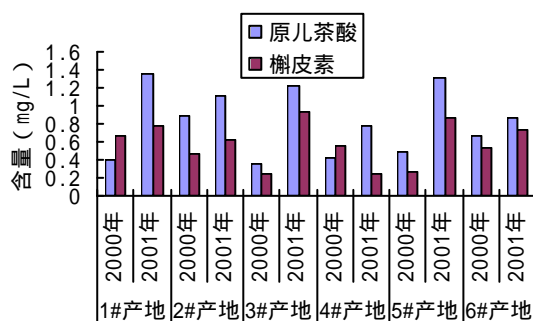


图 3 不同产地干红葡萄酒原儿茶酸和槲皮素含量图

最低的产地是产地 3[#] (0.35mg · L⁻¹);槲皮素含量最高的产地为产地 1[#] (0.66mg · L⁻¹),最低的产地是产地 3[#] (0.25mg · L⁻¹)。2001 年,产地 2[#]儿茶素含量最高,为 34.15mg · L⁻¹,产地 5[#]次之,产地 6[#]最低,含量为 25.95mg · L⁻¹;没食子酸含量产地 5[#]最高,为 28.38mg · L⁻¹,产地 2[#]次之,含量为 27.64mg · L⁻¹,产地 6[#]最低,为 23.42mg · L⁻¹;原儿茶酸含量最高的产地是产地 1[#] (1.35mg · L⁻¹),含量最低的产地为产地 4[#] (0.787mg · L⁻¹);槲皮素含量最高的产地为产地 3[#] (0.930mg · L⁻¹),最低的产地为产地 4[#] (0.239mg · L⁻¹)。

通过分析各产地和不同年份酒中的单酚含量不同,说明不同年份各产地葡萄酒在感官质量方面存在着差异。

表 2 不同产地不同年份单酚总量表

产地	不同产地的单酚总量 (mg · L ⁻¹)					
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]
2000	45.07	38.15	32.96	40.56	41.48	41.42
2001	55.99	63.52	56.08	57.49	61.63	50.97
平均值	50.53	50.84	44.52	49.03	51.56	46.20

通过以上分析,烟台地区六产地蛇龙珠干葡萄酒中各单酚含量范围分别为儿茶素 18.48 ~ 34.15mg · L⁻¹; 槲皮素 0.25 ~ 0.93mg · L⁻¹; 没食子酸 13.88 ~ 28.38mg · L⁻¹; 原儿茶酸 0.35 ~ 1.35mg · L⁻¹。结合感官品评结果,单酚总量大于 50mg · L⁻¹,葡萄酒的感官质量好;44 ~ 50mg · L⁻¹之间,感官质量较好;低于 44mg · L⁻¹,葡萄酒感官质量差,主要表现为口感单薄,结构感不明显。

3 结论

(1) 烟台地区蛇龙珠干葡萄酒总酚含量在 930 ~ 1020mg/L,单宁含量在 1600 ~ 1810mg/L之间,葡萄酒的口感较柔和圆润,感官质量较好。

(2) 烟台蛇龙珠干葡萄酒单酚总量低于 44mg/L时,葡萄酒的感官质量差;在 44 ~ 50mg/L之间,感官质量较好;大于 50mg/L时,葡萄酒感官质量好。

(3) 烟台地区蛇龙珠干葡萄酒中各种单酚的含量范围儿茶素为 18.48 ~ 34.15mg/L、槲皮素 0.25 ~ 0.93mg/L、没食子酸 13.88 ~ 28.38mg/L、原儿茶酸 0.35 ~ 1.35mg/L。

(4) 烟台六产地中产地 5[#]、2[#]和 1[#]酚类物质含量相对较高,产地 3[#]酚类物质含量较低。

参 考 文 献

1. 于贞.红葡萄酒中多酚物质的研究,2002年硕士论文,江苏无锡,2002
2. 樊玺,李记明.不同种酿酒葡萄酚类物质特性研究,中外葡萄与葡萄酒,2000(4)
3. 李华.葡萄酒品尝学.北京:中国青年出版社,1996

Study on Relationship of Organoleptic Quality and Phenolics of Dry Red Wine in Yantai District

Fan Xi, Li Jiming and Zhang Weiqiang

(Center of Science & Technology of Changyu Group, Yantai Shandong 264001 China)

Abstract The relationship of organoleptic quality and phenolics of Dry red wines which made from variety of Cabernet Gernischt in vintage 2000 and 2001 were studied in six sub-regions of Yantai(Qixia, Zhaoyuan, Laishan, Longkou, Laiyang and Fushan). The results showed that total phenol is between 900-1000mg/L and tannin is between 1600-1800mg/L, the wine is more round and more excellent. The mono-phenol in the wine is less than 44mg/L the wine taste is not good and between 44-50mg/L the wine taste is good and more than 50mg/L the wine is excellent. The ranges of different mono-phenols are different.

Key Words Districts of Yantai, Cabernet Gernischt, Dry red wine, Phenols, Organoleptic Quality

电子鼻分析技术在酒类香气识别中的应用研究进展*

李艳霞² 梁学军¹ 倪元颖² 李景明[◆]

(¹北京龙徽酿酒有限公司, 北京, 100039;

²中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京, 100083)

提 要 电子鼻分析技术是近年来发展起来的新型分析检测技术, 依赖于计量化学的理论、数学分析方法的改进和计算机技术的极大支持, 电子鼻分析技术的研究与应用得到了迅猛的发展, 其研究和应用备受关注。随着商业化电子鼻的出现, 其应用领域逐渐扩大。本文对电子鼻系统的组成及工作原理进行了介绍, 并综述了它在酒类香气识别中的应用。

关键词 电子鼻; 传感器阵列; 酒类

电子鼻 (Electronic Nose) 又称人工嗅觉分析系统 (Artificial Olfactory), 它是上个世纪 90 年代发展起来的一种新颖的分析、识别和检测仪器。人工嗅觉系统的概念是由英国学者 Persaud 和 Dodd 于 1982 年提出的, 他们的这个分析系统是基于气敏传感器阵列的, 对玫瑰油、桉树脑等 21 种有机挥发性化学物质进行了分析识别^[1-2]。步入 90 年代, 电子鼻的研究就更为活跃了, “电子鼻”这个术语开始出现^[3]。随着商业化电子鼻的出现, 其应用领域逐渐扩大, 目前已经在食品、日用化工、医疗卫生、制药工业、环境检测、公安和军事等行业得到了有效的应用, 尤其是在食品行业的研究更加深入。

1 电子鼻分析技术的工作原理

Gardner 和 Bartlett 定义电子鼻是由具有部分专一性的电化学传感器阵列和适当的模式识别系统组成的, 能识别单一和复杂气味的仪器。这似乎与人类的鼻子相去甚远, 事实上, 电子鼻与我们的嗅觉器官的唯一相同点是其功能, 它模仿了哺乳动物嗅觉系统的结构和机理。正如哺乳动物的嗅觉细胞将感受到的气体信号反馈给大脑从而对气味进行识别判断一样, 电子鼻是通过将传感器的响应信号传输至识别系统而对气体进行检测的, 它不仅可以根据各种不同的气味测到不同的信号, 而且可以将这些信号与经过“学习”和“训练”后建立的数据库中的信号加以比较, 进行识别判断, 因而具有类似鼻子的功能^[4]。

* 农业部“引入国际先进农业科学技术项目(948项目)”资助项目。

◆ 联系人: Lyma@cau.edu.cn

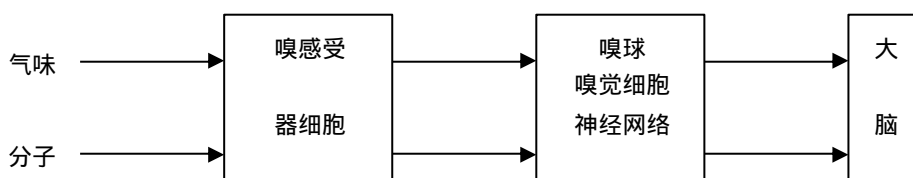


图1 人类嗅觉系统的结构框图

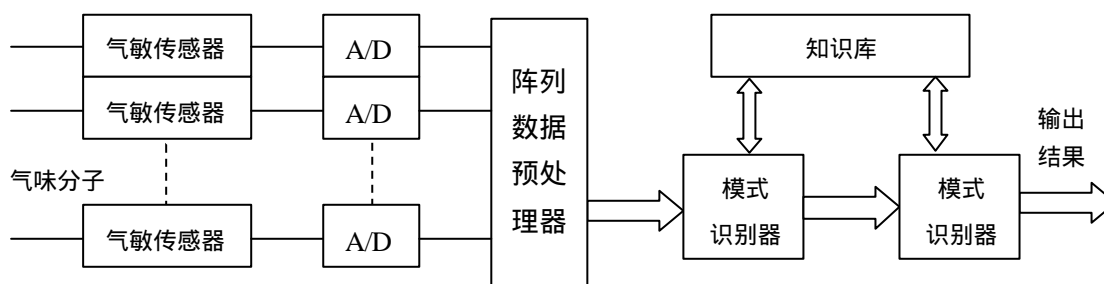


图2 电子鼻系统的结构框图

图1描述了人类嗅觉系统的基本组成并与电子鼻系统的构造(图2)进行对比。人类的嗅觉系统由三个主要部分组成:位于鼻腔顶部的大量的嗅感受器细胞、嗅球及嗅神经、大脑。电子鼻也大致有三个类似的组成部分:气敏传感器阵列、数据预处理单元、模式识别单元^[5,6]。也有研究人员将电子鼻的组成视为硬件和软件两部分^[3]:传感器、电子器件、泵、气体调节装置以及流速控制装置等构成电子鼻的硬件部分,软件部分包括数据预处理系统和数据分析系统(即模式识别系统)。但无论怎样对电子鼻的组成进行分类,作为一种分析仪器,它必须具有很高的长期重复性(是指短时间间隔内,相同的样品在同一个传感器阵列上识别,获得相同的识别结果的能力)和重现性(是指对于相同的样品在不同的传感器阵列或不同的仪器上分析,获得相同分析结果的能力)。下面按照传感器阵列、数据预处理单元和模式识别单元三个组成部分对电子鼻进行介绍^[3,4,6,7,8,9]。

1.1 信息采集—电子鼻的传感器阵列

气敏传感器及其阵列是电子鼻感知气味的关键部分,在功能上相当于嗅感受器细胞,将不同的气味分子在其表面的化学作用转化为可测的电信号^[7,8]。因此,一些科学家称“电子鼻”这种仪器为“气味/香气传感器(flavor/aroma sensor)”,“嗅味感知系统(odour-sensing system)”或者“多传感器阵列技术(multi-sensor array technology)”^[2,9]。组成电子鼻理想的传感器必须具备以下条件:高灵敏性,对于挥发性化学物质的感应要灵敏;低灵敏性,对于环境温度、湿度不敏感;广谱响应性,对样品顶空的不同物质均有响应,即通用性要强,要求对成千上万种不同的嗅味能在分子水平上作出鉴别;高稳定性、高重现性和可靠性;作用时间及还原时间短;稳健性好,持久耐用;易于校准;分析数据易于输出;体积小^[3,10]。

近年来,科学工作者对于传感器的研究正朝着这个方向努力,主要集中在选择合适的材料和生产工艺两方面。根据传感器材料的不同,传感器可分为金属氧化物半导体型(MOS)、导电有机聚合物膜型(CP)、表面声波型(SAW)、石英晶体微秤(QCM)、MOS场效应管型(MOSFET)等类型^[11]。但是,所有类型的传感器在挥发物流经其表面时都会与被测气体发生相互作用从而产生一系列物理和/或化学变化,挥发性物质不断地在传感器表面被吸附和解吸附,保持动态平衡,这一点是所有传感器的共同特点。

不同类型的传感器其工作原理、灵敏度、选择性以及阵列中传感器的数目也有所不同^[12]，各种类型传感器技术的现状如表 1 所示。其中金属氧化物半导体型传感器是最早商业化的，也是目前应用最广泛的。此外，导电聚合物型传感器的应用也较多。这两种类型的传感器工作原理都是基于挥发性物质和敏感材料发生作用，从而改变材料的电导或电阻。这种气敏传感器可分为表面电阻控制型(如活性材料为 SnO₂ 或 ZnO 的传感器)、体电阻控制型(如活性材料为 Fe₂O₃ 传感器)、非电阻型半导体气敏传感器(如 MOSFET 型传感器)等三种类型。MOS 型传感器的活性材料除 SnO₂、ZnO、Fe₂O₃ 外，还有 TiO₂、WO₃ 等金属氧化物。CP 型传感器所用的材料为噻吩、吡啶、咪唑等构成的导电聚合物^[3,4,7,11]。

表 1 各类型传感器的技术信息

传感器类型	工作原理	制造工艺	实用性	灵敏度	优点	缺点
MOS 型	电导变化	微电子	许多种商品	5 ~ 500ppm	便宜，微电子工艺	工作温度高
CP 型	电导变化	微电子，电镀，丝网印刷	定做商品	0.1 ~ 100ppm	室温工艺，微电子工艺	对湿气敏感
QCM 型	压电性	丝网印刷 线键合，MEMS	几种商品	1.0ng 质量变化	技术成熟	MEMS 工艺 接口电路
SAW 型	压电性	微电子 丝网印刷	几种商品	1.0pg 质量变化	差动器件 十分敏感	接口电路
MOSFET	电容性电荷藕合	微电子	专门定做商品	几个 ppm	单片集成电路	气味反应产物要透过栅
光纤型	荧光，化学发光	浸涂，MEMS	研究	几个 ppb	抗电噪声能力强	受光源限制
气体色谱	分子谱	MEMS	新商品	几个 ppb	潜在高精度	样品需浓缩
质谱	原子质谱	MEMS	新商品	几个 ppb	潜在高精度	样品需浓缩
光谱	发射光谱	MEMS	研究	几个 ppb	不消耗样品	要用可调量子阱器件

1.2 信息分析——电子鼻信号的转化和预处理单元

由传感器产生的电信号经电子线路放大及 A/D 转换成为数字信号输入计算机，被测嗅味的强度既可用每个传感器输出的绝对电压、电阻或电导来表示，也可用相对信号值如归一化的电阻值或电导值，即它们的变化率比较嗅味的性质^[13]。例如，在气味/气体的定性辨识中，采用归一化算法还可在一定程度上消除浓度对传感器输出响应的影响，这样的预处理操作既可以为获得更好的模式识别结果做好数据准备，又可以利用传感器信号中的瞬态信息检测、校正传感器阵列。

1.3 结果的判别——电子鼻的模式建立与识别单元

它相当于哺乳动物的大脑。传感器阵列的响应信号经数据预处理单元进行预加工，完成特征提取后传输给模式识别单元。模式识别单元运用适当的算法对输入信号再进行处理，以获得气体的定性/定量信息。

目前，电子鼻中常用的模式识别方法有统计模式识别的方法，如主成分分析法(PCA)、判别函数分析法(DFA)、聚类分析法(CA)等；智能识别(即人工神经网络)的方法，如误差反向传播神经网络(BP)、模糊神经网络(FNN)、自适应共振神经网络(ART)及自组织特征映射神经网络(SOFM)等。但是，统计模式分类方法只能说是模仿了人的逻辑思维，它对数据处理后所得的结果与人的感官感受之间无法对应起来，或者说二者之间存在很大距离，而且统计识别方法需已知先验的响应解析式和线性处理，这就限制了它的广泛应用。神经网络模式分类方法既能模仿人的逻辑思维，又能模仿人的形象思维，而且神经网络通过学习或训练，能自动地掌握和理解隐藏在事物内部的、不能用明确数学公式表示的关系，这与统计模式分类形

成复杂的判别函数或决策十分困难的缺点形成鲜明的对照。模式识别方法还可根据其学习方式分为有人管理方法(如主成分分析法、BP网络等)和无人管理方法(如欧几里德聚类分析法,模糊神经网络等)。大多数有人管理模式识别方法分二个阶段:先用一组已知类别的气味作为训练集,并由该训练集得到判别模型;再用一未知气味来测试所得的数学模型,并给出预言的类别。无人管理的方法也需要学习但不需要单独的训练阶段,它是通过自动地在响应矢量间识别而学习,故它更接近于人脑的工作方式^[4,7,14,15]。

2 电子鼻分析技术的优越性

与气相色谱法相比,电子鼻技术操作快速简便,测定一个样品通常只需几秒钟至几分钟。样品不需前处理,有效避免了对香气成分和含量的破坏,也不需任何有机溶剂进行萃取,因此是一项有利于环境保护,不影响操作人员健康的“绿色”分析技术^[8]。而且,电子鼻与普通化学分析仪器(如色谱仪、光谱仪、毛细管电泳仪等)不同,得到的不是被测样品中某种或某几种成分的定性与定量结果,而是样品中挥发成分的整体信息,也称“指纹”数据。

与人类的嗅觉相比,电子鼻具有诸多的优越性:

- (1) 灵敏度高。电子鼻的感受可以达到 ppb 甚至 ppt 级检测限;
- (2) 稳定性强、安全性高,长时间工作无疲劳,能够胜任多样品、连续化检测,可实现在线检测。嗅觉鉴别是一种吸入的过程,人的嗅觉长期工作容易疲劳、敏感性下降,从而影响鉴别结果;
- (3) 检测的结果客观、公正,可标准化。人工鉴别带有很大的主观因素,而电子鼻是依靠基于专家分析结果和反复训练而建立起来的数据库进行分析识别的,故结果很少受外界影响;
- (4) 成本低。培养一名专职的嗅味鉴别人员不仅要投入大的费用,而且周期很长,没有相当经验的积累,很难得到可靠的结果。

由于电子鼻在众多领域中显示出的独特优越性,使之备受关注。在食品工业中,用人工嗅觉系统来检测和分析食品香气质量的时机正在到来。

3 电子鼻在酒类识别中的应用现状

酒及酒文化是人类文明的标志之一,人类生产和饮酒的历史悠久。酒类食品的生产 and 消费在经济发展中占有重要的地位,因此其质量鉴别备受行业与社会关注。长期以来,酒类的鉴别主要依靠人的感观鉴别,这种鉴别方法最大的缺点就是缺乏客观性,而电子鼻是一个更加快速、无损、客观和低成本的检测方法,它在酒类食品中的应用尤其在品牌鉴定、异味检测、新产品研发、原料检验、品质鉴定、制酒过程监控管理方面的应用研究为酒类行业的发展带来了全新的景象。

3.1 在葡萄酒识别中的应用

与国外相比,我国的葡萄酒是新兴产业,因此电子鼻在葡萄酒识别中的应用研究在国外比较活跃。这些研究主要集中在葡萄酒的分类上,对不同产地葡萄酒的识别具有很大的现实意义,为实施葡萄酒原产地保护措施提供了技术支持。1996年,Natale.C. di等人^[16]利用电子鼻对同一品种不同产地的葡萄酒进行了识别,他们这个研究的主要目的之一是对电子鼻和葡萄酒专家所用的标准化学分析方法进行比较。实验所用的电子鼻由四个金属氧化物半导体传感器组成,为了改变传感器的选择性,提高传感器阵列的性能,他们在其中三个传感器上部涂了很薄的一层贵金属铂和钯做催化剂。模式识别技术采用基于反相传播的前传多层网络的方法,在 Neural Works ProfessionalTM软件上进行分析。实验结果表明从传感器阵列中提取的信息更多,其分类也更为准确,而化学分析方法未能区分出游离二氧化硫含量相同的两个葡萄酒样品。因此,

电子鼻技术在某种程度上优于葡萄酒研究中心的专家们一贯使用的标准化学方法。随后, Natale.C. di D'Amico.A^[17]又扩展了研究。1998年,他们用电子鼻对不同品种,同一品种不同生产年份以及同一品种、同一生产年份但原料产地不同的葡萄酒进行了较成功的识别。2000年, Gaugler, M.等人^[18]也进行过类似的研究,他们采用的是石英晶体微秤传感器(QCM),灵敏度更高,信号传输抗干扰性更强。他们对实验所用电子鼻的性能进行了分析,指出这种电子鼻的不足之处:每次测试所需的时间较长;葡萄酒中乙醇含量高时对其影响较大。

葡萄酒发酵过程中的香气变化也是一个研究热点,C.Pinheiro^[19]选择一种麝香葡萄 muscatel作为研究对象运用电子鼻对葡萄酒在微生物发酵期间产生的香气进行检测。他们还讨论了用电子鼻对葡萄酒发酵期间芳香产物进行实时在线监测的可行性。此外,科学家们还运用电子鼻对橡木桶的烘烤程度^[20]以及葡萄酒“软木塞污染”进行检测^[21]。

3.2 在白酒识别中的应用

我国是白酒生产和消费的大国,国内对电子鼻在酒类识别中的应用研究也以白酒居多,但都处于实验室阶段。史志存等^[22]参考气相色谱仪的结构,构造了一个简单的电子鼻系统,对三种浓香型白酒、一种清香型白酒和一种酱香白酒进行了实验。用主成分分析法对所测的数据进行了分析,训练样本完全线性可分,测试样本的识别率为100%。然后,他们又采用多层用BP网络对数据作了处理,对测试样本的输出结果的均方误差仅为 114785×10^{-9} ,具有很高的精确度。实验结果表明:使用该实验系统可以准确识别不同香型和同种香型不同品牌的白酒。同时,与用色谱法等分析化学的方法相比,该系统具有速度快、操作简单等优点。如果将它用单片机实现,就可以为市场提供一种简单的便携式白酒识别仪器。于鹏等人^[23]根据金属氧化物半导体型和导电聚合物型传感器的特性,针对白酒,选择了4种不同类型的金属氧化物气敏传感器组成阵列,采用这个优化的传感器阵列,进行白酒种类的鉴别实验。他们采用了一种新的实验方法——动态工作温度全程信号采集的方法,通过对气敏传感器工作电压的控制,使传感器工作温度发生周期性变化,从而形成一组传感器响应变化曲线,以更好地反映对象气体的特征。模式识别采用ANN方法,得到了98%的识别率。

电子鼻在啤酒上的应用也很广泛,比如在罐装啤酒、瓶装啤酒和桶装啤酒的质量保证方面,在研究品种差异、研究酒花以至麦芽的级别和新鲜程度方面都有其用武之地,酿造水的质量及预防污染也可以成为电子鼻的应用范围。

4 结束语

虽然电子鼻模仿了哺乳动物的嗅觉功能,但它毕竟只是一项传感器阵列技术而非真正的鼻子,它的灵敏度和选择性远比不上哺乳动物的嗅觉。因此,电子鼻研究和应用的目的并不是要完全取代人类的鼻子或者其他的化学分析方法,而是作为一种补充手段在某种程度上或一些特殊情况下替代人类的鼻子。受敏感膜材料、制造工艺、数据处理方法的限制,上述电子鼻的应用范围与人们的期望还有一定差距。尽管如此,电子鼻在酿造业中仍焕发出无限的应用潜力。相信随着材料科学、精密制造工艺、多传感器融合、计算机、应用数学以及各具体应用领域的科学与技术的发展,电子鼻的应用会越来越广。

参 考 文 献

1. K.Persaud, and G.H. Dodd. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose [J]. *Nature*, 1982, 299 (5881) :352-355

2. J.W. Gardner, and P. N. Bartlett. A brief history of electronic nose [J]. *Sensors and Actuators B* 1994, (18-19):211-220
3. E.Schaller, J.O.Bosset and F.Escher. 'Electronic Nose' and their application to food[J]. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1998, (31) :305-316
4. 杜 锋, 雷 鸣. 电子鼻及其在食品工业中的应用[J]. *食品科学*, 2003, 24(5) : 161-163
5. M.A.Craven, J.W.Gardner and P.N.Bartlett. Electronic noses —development and future prospects[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 1996,15(9):486-493
6. 高大启, 吴守一. 人工嗅觉研究进展及其在食品香气评定中的应用展望[J]. *农业机械学报*, 1998, 29 (4) : 167-172
7. 于 勇, 王 俊, 周 鸣. 电子鼻技术的研究进展及其在农产品加工中的应用[J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2003, 29 (5) : 579-584
8. 吴守一, 邹小波. 电子鼻在食品行业中的应用研究进展[J]. *江苏理工大学学报 (自然科学版)*, 2000, 21(6) : 13 - 17.
9. P.Mielle, 'Electronic noses': Towards the objective instrumental characterization of food aroma[J]. *Trends in Food Science & Technology, Special Issue on Flavour Perception*, 1996, (7), 432-438
10. D.Hodgins, A sixth sense[J]. *Dairy Industries International*, 1995, 60: 32-33
11. 徐毓龙, 徐玉成. 电子鼻的研究和开发现状[J]. *传感器世界*, 1998, (8)
12. P.N.Bartlett, J. M.Elliot and J.W. Gardner, Electronic noses and their application in the food industry[J]. *Food Technology*, 1997, 51: 44-48
13. 石志标, 左春桢, 张学军. 人工嗅觉系统及其在塑料气味检验中的应用[J]. *塑料工业*, 2003, 31 (9) : 48 - 51
14. 史志存, 李建平, 崔大付, 朱敏慧. 电子鼻在食品工业中的应用[J]. *食品科技*, 2000 (3) : 15 - 17
15. 唐宗岳, 秦树基, 吴忠洁. 电子鼻[J]. *传感器技术*, 1998, 17(4)
16. C. di Natale, F. David, A.D'Amico, P.Nelli, S.Groppelli, G.Sberveglieri, An electronic nose for the recognition of the vineyard of a red wine[J]. *Sensors and Actuators(B)*, 1996, 33:83-88
17. C.di Natale, A.D'Amico, The electronic nose: a new instrument for wine analysis[J]. *Italian Food & Beverage Technology*, 1998, 14 : 17-19
18. M.Gaugler, R.Jung, F.Zuern, Differentiation of wine aromas : Tests on electronic noses[J]. *Deutsche Weinmagazin*, 2000, 18 : 32-37
19. C.Pinheiro, C.M. Rodrigues, T. Schafer, J.G.Crespo, Monitoring the aroma production during wine-must fermentation with an electronic nose[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2002, 77 (6) : 632-640.
20. P.Chattonnet, D.Dubourdieu, Using electronic odor sensors to discriminate among oak barrel toasting levels[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1999, 47 (10) : 4319-4322.
21. J. S.Edward, Detecting 2,4,6 TCA in Corks and Wine Using the zNose[®]
22. 史志存, 李建平, 马 青等. 电子鼻及其在白酒识别中的应用[J]. *仪表技术与传感器*, 2000, (1):34-37.
23. 于 鹏, 潘 敏, 陈裕泉. 一种基于全程动态扫描的白酒鉴别智能人工嗅觉系统[J]. *传感器技术*, 2003, (3) : 313-317

Progress in the Application Research of Electronic Nose for Drinks Aroma Evaluation

Li Yanxia Liang xuejun Ni Yuanying Li Jingming

(1. Beijing Dragonseal Winery Co.Ltd, Beijing, 100039 China;

2. College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agriculture University, Beijing, 100083 China)

Abstract In recent years, there has been a growing concern over the new technology—electronic nose. A sensor array is a system, involving a suitable data analysis procedure, constituted by a number of sensors, which are generally based on different chemical and physical working principles. As commercial instruments have become available, a substantial increase in research into the application of electronic noses in the evaluation of volatile compounds in food, cosmetic and other items of everyday life is observed. The application of electronic nose in drinks is reviewed in this paper.

Keywords Electronic nose , Sensor array , Drink , Aroma Evaluation

葡萄酒香气 GC 分析研究进展*

陶永胜¹ 李 华¹ 江志国²

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100;

²宁夏林业学校, 宁夏银川 750004)

提 要 葡萄酒中的香气成分复杂多样, 大约有 800 多种香气物质。这些香气成分在结构上分属不同的化学门类: 醇、酯、有机酸、挥发性酚、萜烯醇、内酯、芳香酮等; 含量从每升几纳克(芳香酮)到几百毫克(一些醇类); 具有不同的化学特性。因此, 要准确的定性定量分析葡萄酒中的香气成分非常困难。文章综述了葡萄酒香气成分气相色谱分析方法的最新研究进展, 并展望了今后葡萄酒香气成分的研究重点。

关键词 葡萄酒; 香气成分; GC 分析

葡萄酒中的挥发性成分目前已知的约有 800 多种, 含量在 $< 1\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (紫罗兰酮) 到 $> 100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (异戊醇) 之间, 这些复杂的成分从葡萄——葡萄汁——葡萄酒——陈酿的整个过程中不断产生和变化^[1,2]。葡萄酒香气成分分析的常用方法是气相色谱分析法。20 世纪 90 年代, 很多葡萄酒香气成分研究着眼于鉴定某些葡萄酒中特征性香气的化合物, 检测出一种或一组化合物, 它们产生很特别的, 或典型的香气^[3-9]。如酵母菌合成的挥发性酚类; 萜烯类化合物产生 Muscat, 玫瑰香气; 去甲类异戊二烯化合物产生陈年雷司令葡萄酒中的火油气味。一些氨基酚酮产生美洲种葡萄的狐臭味, 一些内酯产生雪莉酒的香气特征, 而缩味浓品种酒燥辣味是甲氧基吡嗪引起的。目前, 葡萄酒香气的研究重点是定性定量分析对葡萄酒整体香气有贡献的化合物。除了分析一般的发酵香气外, 还鉴定出陈年葡萄酒中的一些微量的陈酿香气成分, 如一些呋喃酮衍生物、挥发性硫化物、芳香硫醇等^[10-14]。葡萄酒中的香气成分在结构上分属上百个门类, 在含量上从几 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 到几百 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 因此对它们准确的定性和定量非常困难, 尤其对于微量香气成分的分析, 需要开发新的分析方法。

1 香气物质的分析思路

GC 分析样品是含有香气成分的有机溶液(除了固相微萃取纤维可以直接插入气相色谱的进样腔外), 因此首先要用有机溶剂浸提葡萄酒中的香气成分或洗脱固体吸附剂上的香气成分得到其有机溶液。为了排除目标香气成分分析的干扰, 可以用加盐分层法、分馏或有机溶剂洗脱杂质的方法优化提取步骤。

1.1 香气物质的提取步骤

葡萄酒香气的化学分析一般有以下步骤^[15,16]:

* 资助项目: 西北农林科技大学科研专项(2004)。

1.1.1 葡萄酒香气物质的浸提

浸提葡萄酒香气成分,准备 GC 分析样品的方法有液 - 液萃取、静态顶空技术、动态顶空技术、分馏、固相萃取和固相微萃取技术^[15,17,18]。常用的有机溶剂有二氯甲烷、乙醇水溶液、Freon、乙醚 - 戊烷等。

—— 液 - 液萃取方法费用低,容易掌握,不需要特别的辅助仪器,并且重现性好,但较适合葡萄酒中主要香气化合物的提取;

—— 静态顶空技术重现性好,对高挥发性化合物分析很有用,但对低挥发性化合物的分析灵敏度较低;

—— 动态顶空技术容易使某些香气成分分解变化,引入外来物质;

—— 粗提液分馏方法可以将香气成分按分析特点预分类收集,然后分别进行 GC 分析,但时间长,易引入外来物质;

—— 固相萃取技术 (SPE) 和固相微萃取 (SPME) 技术比上述方法先进,尤其是固相微萃取技术直接提取香气,不需要 GC 分析样品的预处理,一步操作就可以进行香气 GC 分析,缺点是香气成分提取的选择性不强,分析的化合物范围窄^[19]。固相萃取技术 (SPE) 和固相微萃取 (SPME) 在微量香气化合物的分析中常用到^[15,20,21]。

1.1.2 香气成分浸提物的分馏

这一步骤可以根据需要进行。为了排除其他物质对目标香气成分的干扰,可以用分馏法收集分离特性相近的香气成分。Ferreira,V. (1998) 对歌海娜红葡萄酒中香气成分香气特性评价研究就用正相 HPLC 柱分离得到 29 个馏分,浓缩后,分别进行 GC-MS 分析^[22]。Ferreira,V. 等还研究了反相 - HPLC 半分馏技术对葡萄酒中只有几 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的香气成分的提取分离效果^[12,23]。Lopez,R. 也用 HPLC 分馏方法研究了梅尔诺、赤霞珠和歌海娜新酒中的重要气味物质^[13,24]。

1.1.3 香气物质的富集

为了进一步优化提取分离步骤,将粗提液或含目标香气成分的馏分加盐分层,再用有机溶剂萃取,萃取液浓缩至 GC 分析要求。 NaHCO_3 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 是常用的在有机相中富集香气成分的盐。对于含香气成分有机溶液的浓缩,浓缩较大时使用微型浓缩仪,浓缩较小时使用氮气流浓缩^[11,12,22,24,25]。

1.1.4 香气物质的 GC 分析

将含有香气成分的有机溶液样品注射入进样口,或直接将固相微萃取纤维插入进样腔内,选择合适的 GC-FID 或 GC-MS 分析参数,进行香气成分的定性和定量分析。

1.2 香气物质的化学分析特点

葡萄酒中的香气成分分属几百个门类,在化学结构上差异很大。因为化学结构不同,它们具有不同的极性、溶解度、挥发性和酸碱性等。一些重要的香气成分在葡萄酒中的含量非常低 ($<1\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),要对它们进行定量,就要浓缩提取物。又有很多香气成分不稳定,接触空气容易氧化,遇热或在强 pH 值下,就会分解形成外来物质^[15]。因此要根据香气成分的不同化学分析特点选择开发相应的分析方法^[15,17,26]。葡萄酒香气成分的化学分析特点大体可以分为三类:

—— 易于提取、分离及定量分析的化合物

含量一般 $>0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 只要一步液 - 液提取步骤,就可以进行 GC-FID 定量分析。乙醛、高级醇和它们的乙酸酯、脂肪酸和它们的乙醇酯是这组化合物的典型代表^[10,22,27-29]。

—— 提取分离分析难度不太大的化合物

含量在 $0.1\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间。需要较强的分离、浓缩步骤,才能进行 GC-MS 分析。这组气味物质含有挥发性酚类、一些内酯、香草醛衍生物、微量的酯类、去甲基异戊二烯化合物 (如 - 大马酮,

- 紫罗兰酮)。该组化合物较为理想的分析方法是先加盐分层, 然后对有机相进行微萃取, 遗憾的是此法较为费时, 一些重要的极性化合物, 如香草醛提取效果不好^[10,20,21,30,31]。

—— 很难提取分离分析的化合物

这组气味物质含量极低, 一般 $<0.1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 色谱分离效果不好, 化学稳定性差。典型化合物有挥发性硫化物、醛类、烷基甲氧基吡嗪、呋喃醇、sotolon(4,5-二甲基-3-羟基-2(5H)-呋喃酮)和一些芳香硫醇^[11,32]。这组气味物质的分析需要开发特别的分离方法、检测方法或者使用化学衍生物法^[9,12,33-36]。

2 香气物质的定性分析

葡萄酒香气成分气相色谱定性方法可分为两种, 保留值对比定性和与其他仪器联用定性。

2.1 保留值对比定性

保留值对比定性是色谱法最常用的方法, 它将试样中组分的保留值与标准品在相同操作条件下测得的保留值相比较, 如果数值在允许的误差范围之内, 就可推定此组分可能是该物质。

利用保留时间定性是香气分析最常用的方法, 操作比较方便, 但必须要有标准品, 另外易受实验条件的影响^[4,5,37,38]。对于复杂的多组分分析常用多柱分析法, 即用两种或多种不同极性固定相的色谱柱进行定性实验, 以保证定性的可靠性^[39-41]。葡萄酒中高级醇、高级醇乙酸酯、脂肪酸、脂肪酸乙酯等香气成分很容易找到标准品。而对于一些含硫化物、胺类物质、呋喃酮、橡木桶陈酿香气成分等, 标准品很难买到, 可以通过文献中查得的目标香气成分的保留值进行比较定性, 但实验条件必须与文献完全一致^[41-43]。

利用保留指数定性的优点是它只与固定相种类有关, 不受其他实验条件的影响, 很多化合物的保留指数可从文献查到。保留指数系统的最大缺点是作为标准物的正构烷烃为非极性物质, 在极性固定相上测定沸点较低的极性化合物的保留数值时, 要用沸点很高正构烷烃作为标准物^[15,37,38]。

2.2 与其他仪器联用定性

与其他仪器联用定性是最可靠的定性方法。早期应用填充柱分离组分, 冷阱收集测定红外光谱、质谱和核磁共振谱等, 即所谓“离线”(off-line)联用的方法对组分定性。这种方式分离度不好, 灵敏度不高, 操作麻烦。目前常用“在线”(on-line)联用方式, 用毛细管色谱柱与傅立叶红外仪联用(GC-FTIR)或质谱联用(GC-MS)。这些联用仪器及其使用技术已完全成熟, 成为现代仪器分析的重要工具。其中, 毛细管气相色谱与质谱联用已成为葡萄酒香气分析的重要手段, 用香气成分的GC-MS数据查找随机携带的Wiley和NIST谱库, 进行定性鉴定^[17,25,26,44,51]。为保证定性的准确性, 葡萄酒香气分析的很多研究常用联机定性、与标准品数据比较定性和与文献数据比较定性相结合的方法^[40,41,43,51,52]。

3 香气物质的定量分析

被测香气成分的气相色谱峰面积或峰高是色谱法定量的依据。现今的气相色谱数据处理系统在记录色谱图的同时, 可存储、打印出各种参数和数据处理的结果, 如色谱峰面积测定值、定量结果等。因为相同量的不同香气成分在同一检测器中的响应并不同, 样品中各组分峰面积或峰高的相对百分数并不等于样品中各组分的百分含量, 因此实际香气成分数据分析必须引入定量校正因子, 经校正后的峰面积或峰高才可定量地代表物质的量。测定结果的可靠性与参数设定和定量方法的选择有关。

气相色谱定量计算方法主要有三种: 归一化法(normalization method)、外标法(external standard method)和内标法(internal standard method)。

(1) 归一化法的优点是方法简便, 不用标准品即可定量。缺点是要求样品中的所有组分, 在一个分析

周期内都流出色谱柱，而且检测器都产生信号，给出各自的峰面积，并且必须知道各组分的校正因子，否则此法就不能使用。因而在实际应用中，归一化法受到很大限制。在葡萄酒香气的定量分析中，一般不使用归一化法，只在含有较少香气成分的分馏馏分的分析中可以用^[15,17,37,38]。

(2) 外标法是用待测组分的纯品作标准品（亦称为对照品），比较在相同条件下标准品与样品中待测组分的色谱峰面积或峰高进行定量的方法。外标法常用“标准曲线法”。用目标香气成分的标准品配制不同浓度的系列标准模拟酒溶液，同时配制一个模拟酒样品溶液。在完全相同条件下，以相同体积准确进样得到各自的色谱图^[16,40,43,53]。以标准溶液的浓度对其色谱峰面积（或峰高）绘制标准曲线，或按最小二乘法进行线性回归得回归方程，根据样品溶液的待测组分的信号，从标准曲线查得或从回归方程计算其浓度，从而求出该组分在试样中的含量。

外标法要求进样精密度好，仪器稳定。气相色谱的进样精密度受到多种因素的影响，如微量注射器吸样量的精密度、注射器的针头在气化室中保留时间的长短、毛细管气相色谱中的组分分流比的变化等都对色谱峰面积有影响。因而，外标法在气相色谱中的使用，特别是在毛细管气相色谱中，受到很大的限制^[54,55]。

(3) 内标法是在样品中再加入一种纯物质作内标物，根据内标物与待测组分的定量校正因子，内标物与样品的质量，求出样品中待测组分含量的一种方法。

对内标物的要求：纯度较高；不是试样中的组分；在色谱中与各组分完全分离（ $R_s \geq 1.5$ ），但其保留时间与被测组分的保留时间不要相差太大，应尽量靠近；从样品前处理考虑，内标物与被测组分的理化性质最好相似，以保证有相近的提取率^[37,38]。

内标法的优点：在一定进样量范围（线性范围）内，定量结果与进样量的精密度无关。与外标法一样，定量准确度与其他组分是否出峰无关。很适用于微量组分的分析，如微量葡萄酒香气活性成分（即含量高于其阈值的成分）的分析。由于微量组分与主要成分含量相差悬殊，无法用归一化法准确测定其含量。采用内标法很方便，增大进样量突出微量组分峰，测定该组分峰与内标峰面积之比，即可求出微量组分的含量^[14,28,40,43,56]。

内标法的缺点主要是不易找到合适的内标物。在气相色谱中，当无法得到较好内标物时，常用正构烷烃作内标物。在葡萄酒香气分析中，通常在一个分析周期内不是所有组分都能流出色谱峰（如难挥发的组分），或检测器不能对每一个组分都产生信号，或只需测定混合物中某几个组分含量，这时均可采用内标法。所以，内标法是葡萄酒香气气相色谱分析中最常用的定量方法。葡萄酒香气分析中主要香气成分定量常用的内标物有4-甲基-2-戊醇，2-辛醇，n-十二烷醇；微量香气成分定量常用1-庚醇、3-甲基-3-羟基-2-丁酮等作为内标；超微量香气成分的定量时常用有代表性的GC-MS离子碎片定量^[21,43,52,54]。

当不知定量校正因子时，可采用“内标对比法”，它是内标法的一种应用。在葡萄酒香气成分分析中，校正因子多是未知的，常用内标对比法进行定量^[17,24,31,57]。先用待测组分*i*的纯品配制已知浓度的对照品溶液，加入一定量的内标物*s*（相当于测定相对校正因子），在同体积样品溶液中也加入相同量的内标物，分别进样，由下式计算样品溶液中待测组分的含量。

$$(w_i)_{\text{样品}} = \frac{(A_i/A_{is})_{\text{样品}}}{(A_i/A_{is})_{\text{对照}}} \times (w_i)_{\text{对照}}$$

同外标法一样，上述“内标对比法”也是标准曲线法的特例。若配制系列标准模拟酒溶液，加入相同量的内标物，则可用标准溶液的浓度对组分峰面积与内标峰面积之比进行线性回归或绘制标准曲线，用标准曲线法进行含量测定。

4 展望

葡萄酒中的香气成分复杂多样,从新酒到陈年酒,香气成分又在不断变化。目前定性分析的挥发性成分的数量有 800 多种,但用挥发性成分模拟酒的嗅觉测量和感官分析证明并非所有的挥发性成分都参与葡萄酒的香气构成。葡萄酒香气的个性和风格仅由其特有的一些成分或某些高气味活性的成分决定,因此它们的香气成分中必然包含区分它们的指纹性信息。有理由认为今后葡萄酒香气分析的重点是:(1) 开发新的方法发现葡萄酒中目前未能测量的一些挥发性成分。(2) 定量出对葡萄酒香气贡献重要的一些挥发性成分。(3) 找出不同风格葡萄酒中能代表它们指纹信息的香气成分。

参 考 文 献

1. 李华. 现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社, 2000. 12 ~ 30, 186 ~ 206
2. 李华. 葡萄酒品尝学. 北京: 中国青年出版社, 1992. 29-53, 86 ~ 91
3. Chatonnet P., Dubourdiou D. and Boidron J., et al. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *J.Sci.Food Agric.* 1993,62,191 ~ 202
4. Chatonnet,P., Dubourdiou D. and Boidron J., et al. The origin of ethylphenols in wines. *J.Sci.Food Agric.* 1992,60: 165 ~ 178
5. Chatonnet,P., Dubourdiou D. and Boidron J. The influence of *Brettanomyces dekkera* sp. Yeast and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines. *Am.J.Enol.Vitic.* 1995,46: 463 ~ 468
6. Antonelli A., Castellari L. and Zambonelli C., et al. Yeast influence on volatile composition of wines. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47: 1139 ~ 1144
7. Revel G., Martin N. and Pripis-Nicolau L., et al. Contribution to the knowledge of MLF influence on wine aroma. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47: 4003 ~ 4008
8. Martin,B. Etevant,P.X. and Quere, J., et al. More clues about sensory impact of sotolon in some flor sherry wines. *J.Agric.Food Chem.* 1992,40: 475 ~ 478
9. Tominaga,T., Blanchard, L. and Darriet, P., et al. A powerful aromatic volatile thiol, 2-furanmethanethiol, exhibiting roast coffee aroma in wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *J.Agric.Food Chem.* 2000,48: 1799 ~ 1802
10. Ferreira,V., Peoa, C. and Escudero, A, et al. Investigation on the role played by fermentation esters in the aroma of young Spanish wines by multivariate analysis. *J.Sci.Food Agric.* 1995,67: 381 ~ 392
11. Ferreira,V., Lopez R. and Escudero A., et al. Quantitative-Determination of Trace and Ultratrace Flavor Active Compounds in Red Wines Through Gas-Chromatographic Ion-Trap Mass-Spectrometric Analysis of Microextracts. *Journal of Chromatography A.* 1998,806: 349 ~ 354
12. Ferreira,V., Pena C. and Lopez R., et al. Concentration of Small Volumes of Nonpolar Solutions Containing Trace Volatile Compounds. *Journal of Chromatography A.*1998,824: 195 ~ 203
13. Lopez,R., Ferreira,V. and Hernandez-Orte P., et al. Identification of impact odorants of young red wines made with Merlot, cabernet Sauvignon, and Grenache grape varieties: a comparative study. *J.Sci.Food Agric.*, 1999,79: 1461 ~ 1467
14. Arrhenius,S.P., Mccloskey, L.P. and sylvan, M. Chemical markers for aroma of *Vitis-vinifera* Var Chardonnay

- regional wines. *J.Agric.Food Chem.*, 1996,44: 1085 ~ 1090
15. Ortega-Heras M., Gonzalez-SanJose M.L. and Beltran S. Aroma composition of wines studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta.*, 2002,458: 85 ~ 93
 16. Guth,H. Quantiation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J.Agric.Food Chem.*, 1997,45: 3027 ~ 3032
 17. Sabon I., Revel G. and Kotseridis Y., et al. Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different Terroirs in the Rhone valley. *J. Agric. Food Chem.*, 2002,50: 6341 ~ 6345
 18. Mallouchos A., Komaitis M. and Koutinas A., et al. Evolution of volatile byproducts during wine fermentations using Immobilized cells on grape skins. *J. Agric. Food Chem.*, 2003,51: 2402 ~ 2408
 19. Lepez,R., Aznar,M. and Cacho,J., et al. Quantitative determination of minor and trace volatile compounds in wine by Solid-phase Extraction and GC-MS. *J.Chromatogr.A* , 2002,966: 166 ~ 177
 20. Vianna E. and Ebeler S. Monitoring ester formation in grape juice fermentation using solid phase microextraction coupled with GC-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2001,49: 589 ~ 595
 21. Silva Ferreira A.C. and Pinho P.G. Analytical methods for determination of some aroma compounds on white wines by solid phase microextraction and gas chromatography. *J. Food sci.*, 2003, 68(9):2817 ~ 2820
 22. Ferreira,V., Lopez R. and Escudero A., et al. The Aroma of Grenache Red Wine - Hierarchy and Nature of Its Main Odorants. *J Sci Food Agric.*, 1998,77: 259 ~ 267
 23. Ferreira,V., Hernandez-Orte P. and Escudero A., et al. Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A.*, 1999,864: 77 ~ 88
 24. Lopez,R. and Cacho,J.F. Quantitative determination of the odorants young red wines from different grape varieties. *J.Sci.Food Agric.*, 2000,80: 1659 ~ 1667
 25. Kotseridis, Y. and Baumes, R. Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48: 400- ~ 406
 26. Grosch W. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chem. Sens.*, 2001,26: 533 ~ 545
 27. Chatonnet,P., Viala, C. and Dubourdieu, D. Influence of polyphenolic components of red wines on the microbial synthesis of volatile phenols. *Am.J.Enol.Vitic.*, 1997,48: 443 ~ 447
 28. Bueno J.E., Peinado R. and MorenoJ., et al. Selection of volatile aroma compounds by statistical and Enological criteria for analytical differentiation of musts and wines of two grape varieties. *Journal of Food Science.*, 2003,68(1):158 ~ 163
 29. Ferreira, V., Ortin, N. and Escudero, A., et al. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines. Aroma Extract Dilution Analysis, quantitative determination and sensory reconstitution studies. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50: 4048 ~ 4054
 30. Ortega L., Lopez,R. and Cacho,J.F., et al. Use of Solid-Liquid Distribution Coefficients to Determine Retention Properties of Porapak-Q Resins - Determination of Optimal Conditions to Isolate. *Journal of Chromatography A.*, 2001,931: 31 ~ 39

31. Ortega,C., Lepez,R. and Cacho,J., et al. Fast analysis of important wine volatile compounds. Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionization detection analysis of dichloromethane microextracts. *J.Chromatogr.A*, 2001,923: 205 ~ 214
32. Ferreira,V., Petka J. and Aznar,M.Aroma. Extract Dilution Analysis. Precision and Optimal Experimental Design. *J.Agric.Food Chem.*, 2002,50: 1508 ~ 1514
33. Ferreira,V., Aznar,M. and Lepez,R., et al. Quantitative gas chromatography-Olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines. *J.Agric.Food Chem.*, 2001,49: 4818 ~ 4824
34. Ferreira,V. Jarauta I. and Lopez R., et al. Quantitative determination of sotolon (4,5-dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone), maltol (3-hydroxy -2-methyl-4H-pyran-2-one) and free furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone) in wine by Solid-Phase Extraction and subsequent Gas Chromatography Ion-Trap Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2003,1010: 95 ~ 103
35. Cullere L., Lopez R. and Cacho J.F. Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation. *Journal of Chromatography A*, 2004,1028: 339 ~ 345
36. Tominaga T., Murat M.L. and Dubourdieu D. Development of a method for analyzing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L.Cv Sauvignon Blanc. *J.Agric.Food Chem.*, 1998,46: 1044 ~ 1048
37. 孙毓庆主编. 分析化学. 北京: 科学出版社, 2003. 453 ~ 481
38. 何华, 倪坤仪主编. 现代色谱分析. 北京: 化学工业出版社, 2004. 167 ~ 195
39. Lopez R., Aznar,M. and Cacho J.F., et al. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 2002,966: 167 ~ 177
40. Lopez R., Ortin N. and Perez J.P., et al. Impact Odorants of Different Young White Wines from the Canary Islands. *J.Agric.Food Chem.*, 2003,51: 3419 ~ 3425
41. Aznar,M., Lopez R.and Cacho J.F., et al. Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least square regression models. *J.Agric.Food Chem.*, 2003,51: 2700 ~ 2707
42. Aznar,M., Lepez,R. and Cacho,J., et al. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS and odor evaluation of HPLC fractions. *J.Agric.Food Chem.*, 2001,48: 2924 ~ 2929
43. Cullere L., Escuderro A. and Cacho J.F., et al. GC-O and Chemical Quantitative Study of the Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *J.Agric.Food Chem.*, 2004,52: 1653 ~ 1660
44. 李华, 王华, 涂正顺. 中华猕猴桃果实香气成分的 GC-MS 分析. 分析测试学报, 2002, 21(2): 58 ~ 60
45. 李华, 胡博然, 杨新元等. 蛇龙珠干红葡萄酒香气成分的 GC-MS 分析. 分析测试学报, 2004, 23(1): 85 ~ 87
46. 李华, 胡博然, 张予林. 贺兰山东麓地区霞多丽干白葡萄酒香气成分的 GC-MS 分析. 中国食品学报,

- 2004 , 4 (3) : 72 ~ 75
47. 王华, 王贞强, 刘拉平等. 瑞引酿酒葡萄 Granoir 干红葡萄酒香气成分分析. 园艺学报, 2004, 31(5): 588
 48. 李华, 涂正顺, 王华等. 猕猴桃果酒香气成分的气相色谱 / 质谱分析. 分析化学, 2002, 30(6): 695 ~ 698
 49. Cutzach I., Chatonnet P. and Dubourdieu D. Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47: 2837 ~ 2846
 50. Aleixandre J.L., Lizama V. and Alvarez I., et al. Varietal differentiation of red wines in the Valencian region. *J. Agric. Food Chem.*, 2002,50: 751 ~ 755
 51. Lopez R., Ezpeleta E. and Sanchez I., et al. Analysis of the aroma intensities of volatile compounds released from mild hydrolysates of odourless precursors extracted from Tempranillo and Grenache grapes using GC-O. *Food Chemistry.*, 2004,88: 95 ~ 103
 52. Boido E., Lloret A. and Medina K., et al. Aroma composition of *Vitis vinifera* Cv. Tannat: the typical red wine from Uruguay. *J.Agric.Food Chem.*, 2003,51: 5408 ~ 5413
 53. Diaz C., Conde E. and Mendz J., et al. Volatile compounds of bottled wines with Denomination of origin from the Canary islands. *Food Chemistry.*, 2003,81: 447 ~ 452
 54. Lee S. and Noble A.C. Characterization of odor active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-O and GC-MS. *J.Agric.Food Chem.*, 2003,51: 8036 ~ 8044
 55. Selli S., Cabaroglu T. and Canbas A., et al. Volatiles composition of red wine from cv. Karast grown in central Anatolia. *Food Chemistry.*, 2004,85: 207 ~ 213
 56. Hernandez-Orte P., Cacho J.F. and Ferreira,V. Relationship between Varietal Amino Acid Profile of Grape and Wine Aromatic Composition. Experiments with Model Solutions and Chemometric Study. *J.Agric.Food Chem.*, 2002,50: 2891 ~ 2899
 57. Ferreira,V., Ortin,N. and Escudero,A., et al. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines. Aroma Extraction Dilution Analysis, quantitative determination and sensory reconstitution studies. *J.Agric.Food Chem.*, 2002,50: 4048 ~ 4054

Wine aroma analytical investigation progress on GC

Tao Yongsheng¹ Li Hua¹ Jiang Zhiguo²

(1 College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China

2Ningxia Forestry School, Yinchuan, Ningxia, 750004 China)

Abstracts There are more than 800 flavor molecules in wine. These odorants belong to quite different chemical classes: alcohols, esters, volatile phenols, terpenols, lactones, aromatic ketones; their concentrations range from less than 1 ug/L(aroma ketones) to more than 100mg/L(some alcohols); and they have quite different chemical and physicochemical properties. Thus, identification and quantification of wine flavor components must be rather difficult. The aim of the review is to present today's wine aroma analytical investigation progress on GC,

including extraction, isolation, chromatographic identification and quantification steps. At last, research emphases of the future wine aroma research are provided.

Keywords Wine, Aroma, GC

红葡萄酒抗大鼠脂质过氧化作用

郭金英 李华 王华 徐艳文 李静 杨颖

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 观察摄入红葡萄酒后大鼠肝脏抗氧化酶活性变化及对肝脏组织的影响。方法：将 36 只大鼠分为红葡萄酒组、食用酒精组、水组，每组又分为 5mL/kg、10 mL/kg、15 mL/kg 体重 3 个小组进行灌胃，灌胃 12w 后，测量肝脏 SOD、GSH-PX、CAT 酶活性及 MDA 含量的变化。结果：红葡萄酒对大鼠体重的增长与对照比没有影响。红葡萄酒 10 mL/kg 体重灌胃组大鼠 SOD 酶活性显著提高，CAT 活性各剂量组均提高。GSH-PX 活性三个剂量组均显著提高，而酒精组大鼠只 5mL/kg、10 mL/kg 两个剂量组有极显著提高。红葡萄酒组大鼠肝脏 MDA 含量明显减少，其中 10mL/kg 剂量组与对照相比，具有显著性差异。

关键词 红葡萄酒；SOD；GSH-PX；CAT；MDA

人体和动物实验表明，饮酒后酒精在生物体内被迅速吸收，其中绝大部分经肝脏分解代谢，长期过量摄入酒精会导致肝脏结构、功能紊乱^[1]。乙醇入肝后，首先被氧化为乙醛，乙醛进一步氧化为乙酸及乙酰辅酶 A。通过这些氧化作用，从而使肝细胞内 NADP 大量转化为 NADPH，进而通过对线粒体、内质网的作用影响肝细胞蛋白质、脂类代谢。

干红葡萄酒含有大量抗氧化物质，在适量饮用的条件下，能够防治各种疾病及增强人体健康^[2]。近年来，随着红葡萄酒营养的深入研究，发现葡萄酒中含有丰富的多酚类物质（儿茶素、类黄酮、花色苷与单宁），它可以降低因食用脂肪食物而导致心脏病的发病率，酚类化合物还有抗动脉粥样硬化，预防冠心病的作用，其主要机制是抑制脂质过氧化，清除自由基^[3,6,7,8]。这些研究多偏重于葡萄酒和疾病的关系，没有阐明葡萄酒的抗氧化机制。本研究通过建立红酒、酒精大鼠模型，研究红葡萄酒对 SD 大鼠肝脏抗氧化酶的影响，用于阐明红葡萄酒的保健功能。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

健康、雄性，二月龄二级 SD 大鼠 36 只，体重 160-180g。购于西安第四军医大学实验动物中心。

1.1.2 灌胃用酒

干红葡萄酒：选用新天国际葡萄酒业有限公司 2003 年生产的赤霞珠干红葡萄酒，酒度 12.5%(V/V)；12.5%(V/V)酒精：用 95~96%(V/V)食用酒精配制。

1.1.3 酶活性测定试剂盒

考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、CAT 测定试剂盒、SOD 测定试剂盒、GSH-PX 测定试剂盒、MDA 含量测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.1.4 仪器

主要仪器有 Glas-Col 匀浆机，恒温水浴锅，台式冷冻离心机（Eppendorf Centrifuge），紫外可见分光光度计（SP-2102UV 型，上海光谱仪器有限公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 分组及动物模型建立

大鼠适应喂养一周后，随机分为 3 组，甲组 12 只，乙组 12 只，丙组 12 只。甲组作为干红葡萄酒灌胃组，以 5、10、15 mL/kg 体重的剂量又分为 3 个小组，每组 4 只。乙组作为 12.5% (V/V) 酒精灌胃组，也分为 3 个小组（4 只/组）以等量酒精溶液灌胃。丙组灌水，作为对照组，每 4 只一组分为 3 个小组，灌胃量同前。各组均分笼饲养。大鼠灌胃前 4h 停食停水，其余时间大鼠自由饮水与进食，每天灌胃一次。各组大鼠实验期间均以饮用水及全价营养颗粒饲料喂养。

1.2.2 实验标本与取材

各组大鼠均于灌胃的第 1、2、4、6、8、10、12 周末称重，灌胃的 12w 共称重 7 次。于末次灌胃后的第 2 天，分别脱臼处死各组大鼠，解剖留取肝脏称重，计算肝脏指数。同时取 0.31g 肝脏组织块加 0.86% 冷生理盐水（1:9）在匀浆机中制备 10% 的组织匀浆，用于酶活性的测定。

1.2.3 统计学分析

实验数据用 $\bar{X} \pm S$ 表示，组间差异采用 t 检验进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对大鼠体重增长的影响

大鼠灌胃 12w 后，各组大鼠体重均有所增加，红葡萄酒 5 mL/kg 剂量组和对照组增长趋势基本一致。红葡萄酒 15 mL/kg 和酒精 15 mL/kg 剂量组的增长速率稍低，但各处理之间无统计学差异。由此表明在实验期间，红葡萄酒、酒精及水对大鼠体重无明显影响，并且对大鼠进食和食物利用率无影响（见表 1）。

表 1 红葡萄酒、酒精对大鼠体重增长的影响

组	剂量(mL/kg/day)	n	体重
葡萄酒	5	4	300.63 ± 27.96
	10	4	230.75 ± 83.26
	15	4	206.63 ± 52.28
酒精	5	4	234.75 ± 96.74
	10	4	223.63 ± 78.13
	15	4	206.13 ± 64.96
水	5	4	233.13 ± 55.09
	10	4	225.50 ± 13.15
	15	4	223.13 ± 13.36

2.2 不同处理对大鼠肝脏指数的影响

灌胃 12w 后的第 2 天早上处死大鼠，解剖观察到红酒组的大鼠肝脏颜色表现正常，其中 15mL/kg 组较为鲜红；酒精组的肝脏颜色暗淡无光泽，其中 15mL/kg 组最为明显。

各组肝脏称重后求肝脏指数，表 2 所示，红葡萄酒、酒精各剂量处理组与对照组相比，肝脏指数值有所增加，但与对照组无显著性差异；红葡萄酒剂量组和酒精剂量组处理间也没有表现出差异。

表 2 红葡萄酒、酒精对大鼠肝脏指数的影响

组	剂量(mL/kg/day)	n	肝脏指数
葡萄酒	5	4	33.47 ± 5.45
	10	4	32.21 ± 11.08
	15	4	30.42 ± 13.25
酒精	5	4	33.50 ± 8.67
	10	4	30.26 ± 10.27
	15	4	31.10 ± 8.48
水	5	4	26.74 ± 0.64
	10	4	27.61 ± 2.57
	15	4	26.85 ± 1.36

2.3 不同处理对大鼠肝脏 SOD、CAT 和 GSH-PX 活力的影响

表 3 可知，红葡萄酒中 10mL/kg 组大鼠肝脏 SOD 酶活力明显提高， $P < 0.05$ 。其他处理与对照相比，SOD 酶活力没有明显的变化。与对照相比，红葡萄酒各处理组 CAT 活力均明显提高，其中 5mL/kg、10mL/kg 剂量组大鼠肝脏 CAT 活力极显著提高。酒精组 5mL/kg、10mL/kg 剂量组肝脏 CAT 活力也极显著提高，但 15mL/kg 剂量组酶活力没有表现出提高。红葡萄酒灌胃组大鼠肝脏 GSH-PX 活力显著提高，灌胃酒精的各剂量组大鼠肝脏 GSH-PX 活力均明显提高，其中 5mL/kg、10mL/kg 组大鼠肝脏 GSH-PX 活力与对照相比，统计学上具有差异显著性。

表 3 红葡萄酒、酒精对大鼠肝脏 SOD、CAT、GSH-PX 活力的影响 (U/mgprot)

组	剂量(mL/kg/day)	n	SOD	CAT	GSH-PX
葡萄酒	5	4	146.32±27.32	221.22±47.49**	328.99±40.60**
	10	4	170.27±20.32*	207.97±20.87**	337.08±32.31**
	15	4	140.73±14.54	170.93±42.27*	398.71±39.04**
酒精	5	4	84.52±8.97	186.34±19.30**	271.83±25.47**
	10	4	103.82±22.27	123.39±15.97**	359.28±36.78**
	15	4	125.02±31.83	134.14±49.03	250.33±35.65*
水	5	4	120.13±25.51	180.71±38.39	357.84±55.99
	10	4	149.87±44.74	117.83±5.99	280.29±39.24
	15	4	114.15±42.85	181.77±34.20	360.90±45.38

*、**表示与对照组比较，* ($P < 0.05$)，** ($P < 0.01$)

2.4 不同处理对大鼠 MDA 含量的影响

灌胃 12w 后, 红葡萄酒组大鼠肝脏 MDA 含量明显减少, 其中 10mL/kg 剂量组与对照相比, 具有显著性差异。酒精组大鼠中, 5mL/kg、10mL/kg 剂量组 MDA 含量减少, 而 15mL/kg 组大鼠肝脏 MDA 含量与对照相比没有显著性差异。

表 4 红葡萄酒、酒精对大鼠肝脏 MDA 含量的影响

组	剂量(mL/kg/day)	n	MDA
葡萄酒	5	4	5.70 ± 3.23
	10	4	5.11 ± 1.76*
	15	4	6.49 ± 2.03
酒精	5	4	4.00 ± 1.46*
	10	4	6.25 ± 2.78
	15	4	7.42 ± 2.76
水	5	4	8.11 ± 2.59
	10	4	6.04 ± 2.90
	15	4	10.72 ± 4.28

*、**表示与对照组比较, *(P<0.05), **(P<0.01)

3 讨论

由于肝脏是酒精代谢的主要器官, 过量或长期饮酒易导致酒精性肝病, 乙醇可以破坏人体肝细胞线粒体及细胞器膜结构, 导致肝细胞损伤。乙醇还会对人体的免疫系统、中枢神经系统、胃肠系统、造血系统、骨骼系统造成不同程度的损伤^[4,5]。

红葡萄酒是新鲜葡萄或葡萄汁经酒精发酵获得的饮料产品, 除含酒精外, 还含有多种酚类物质。单纯酒精对肝生物转化酶活性及抗氧化功能的影响已有研究^[9], 红葡萄酒多酚物质特别是白藜芦醇的营养保健作用也有研究^[5,8]。但红葡萄酒毕竟是一个含有酒精的饮料产品, 在饮用过程中还存在量的问题, 在人们饮用过程中, 也存在一个红葡萄酒所含的各种物质特别是酒精和酚类物质协同作用的问题。

本研究发现就体重增长量和肝脏指数而言, 不论是干红葡萄酒和单纯酒精, 在同一酒度下, 在适宜的时间范围内, 对整个大鼠的影响相差不大。

就酶的活性而言, 不同处理、不同剂量酶的活性表现各异。超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用, 此酶能消除超氧阴离子自由基, 保护细胞免受损伤。因而 SOD 活力的高低与衰老、炎症、肿瘤、自身免疫病、血液病、心血管病、肾脏病、消化系统疾病等有着密切的联系。对于 SOD 酶活性, 在本研究中, 只有剂量为 10mL/kg 的红葡萄酒组大鼠 SOD 酶活力明显提高, 这就表明酶活力与酒的剂量、饮用量有相当的关系。

谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-PX)是机体广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶。它特异的催化还原型谷胱甘肽(GSH)对过氧化氢的还原反应, 可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。随着剂量的增加, 酒精组大鼠肝脏 GSH-PX 酶活力减少, 而红葡萄酒组大鼠则在这个剂量范围内都表现出酶活力的显著提高, 这也可能是酚类物质与酒精协调作用的结果, 在剂量稍大的情况下, 仍能保持酶活力的提高。

CAT 是一种重要的酶类。与正常对照相比,红葡萄酒各处理组随着灌胃剂量的增加,CAT 活力均明显提高,15mL/kg 剂量组肝脏 CAT 活力与对照相比,只有统计学上的显著性差异。而酒精组大鼠肝脏 CTA 酶活力则在剂量组为 15mL/kg 时没表现出活力的增加。与单纯酒精剂量过大时对酶的活力影响起到副作用有关,在同样剂量下,红葡萄酒大鼠肝脏的 CAT 酶活力也减弱,但仍表现出一定的有益作用,酶活力仍然具有明显性提高。

参 考 文 献

1. 孙敬方.动物实验方法学.北京:人民卫生出版社
2. 宋焕禄.葡萄酒与健康.食品与发酵工业,1997,23(4):67~71
3. Brouillard R, George F, Fougerousse A. Polyphenols produced during red wine ageing Biofactors 1997, 6(4) : 403~410
4. 王国祥,程云友,李军等.乙醇对胃乙醇脱氢酶活性变化的影响.临床消化病杂志,2001,13(4):158~160
5. 杨成峰,陈学敏,刘军等.酒精对大鼠脂质过氧化的影响.现代预防医学,1996,23,(3):141~160
6. Aviram M, Fuhrman B. Wine flavonoids protect against LDL oxidation atherosclerosis. Ann N Y Acad Sci, 2002, 957:146~161
7. Lvanov V, Carr AC, Frei B. Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal-dependent and -independent oxidation. J Agric Food Chem, 2001, 49(9):4442~4429
8. Zou J, Huang Y, Chen Q, et al. Effects of resveratrol on oxidative modification of human low density lipoprotein. Chin Med J(Engl), 2000, 113(2):99~102
9. 丁虹,彭仁秀.乙醇摄入对小鼠肝生物转化酶活性及抗氧化功能的影响.中国药理学与毒理学组织,1999,13(4):294~296

Antioxidative Activity of Red Wine in Rats

Guo Jinying, Li Hua, Wang Hua, Xu Yanwen, Li Jing and Yang Ying

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract The influence of red wine ingestion on liver and antioxidation of rat were observed. Thirty-six male Sprague-Dawley rats was allocated into the red wine group, alcohol group and control group, and every group was divided into 5mL/kg, 10 mL/kg, 15 mL/kg weight group. After intubated orally 12 w, the activity of rat liver SOD, GSH-PX, CAT enzyme and MDA contents were measured. The hepatic variety in rats was observed. Results showed that the weight of rat feeded with red wine was not increased compared with that of control; the activity of SOD enzyme increased significantly only in red wine 10 mL/kg group; the activity of CAT enzyme in whole rats increased, and so did GSH-PX. MDA content decreased significantly in red wine 10mL/kg group compared with that of control.

Key words Red wine, SOD, GSH-PX, CAT, MDA

Yeast nutrition in winemaking.

Eva Navascués

Technical Manager Biotechnology, Agrovin, Spain

Abstract In this paper, the author introduced the yeast needs various nutrients during winemaking, including: assimilable nitrogen, vitamins, minerals, long chain fatty and sterols. At last, there are some guidelines for nutrient during wine fermentations: under stressful conditions (high sugars, mould-infested grapes, highly clarified must or high/low fermentation temperatures), yeast should be added with adequate dosage and right time at the beginning of fermentation; under good conditions, without any nitrogen supplement or with only a small addition of an organic nutrient.

Key words Yeast, Nutrition, Winemaking

The main role of yeast in a wine fermentation is to convert grape sugar to alcohol. This is called fermentation. During this process, the yeast needs various nutrients for optimal performance and survival. Aside from glucose and fructose as sources of carbon and energy, yeast requires the following nutrients during a wine fermentation:

- assimilable nitrogen, as ammonium (NH₄⁺) or amino acids;
- vitamins
- minerals;
- long chain fatty acids and sterols: survival factors

In the paper that follows, we discuss the role and importance of the various nutrient requirements of yeast during wine fermentations and how optimal nutrient management can contribute towards producing quality wines.

Assimilable nitrogen: yeast nitrogen requirements

Assimilable nitrogen or FAN (free alpha amino nitrogen) comprises ammonia and amino acids and is by far the most important nutritional requirement in wine fermentations.

The minimum amount of yeast assimilable nitrogen necessary to complete a fermentation that results on a standard dry table wine is 140 to 160 mg/L with at least 20mg/L from ammonium ions. This amount of FAN should be reached to 240-260 mg/L to assure a good wine quality.

However, these numbers do not take into consideration other factors that increase necessities of nitrogen, i.e. high sugar concentration in must, low temperatures or low pH. Also, some yeasts have higher nitrogen requirements than others and wine makers are advised to obtain as much information as possible from their suppliers regarding this characteristic of the yeasts they are using.

Ammonium ion is the preferred source of nitrogen for yeast growth and is the most easily assimilated of all the nitrogen sources. Nitrogen originates from the vine and the concentration of nitrogen in grape berries drops as the

grape ripens. Very ripe or unirrigated grapes can be expected to have a relatively lower nitrogen concentration. The total nitrogen content of grapes is affected by variety, rootstock, climatic conditions, soil composition, vineyard management practices, fertilisation, irrigation etc.

During fermentation, yeast transports ammonia and amino acids from the grape must into the yeast cell, where they are initially stored and then used at a later stage for protein synthesis. The yeast needs nitrogen to synthesise proteins (and other molecules), such as enzymes for the glycolytic pathway (the bioconversion of glucose and fructose to ethanol), as well as the permeases that are situated in the cell membrane of the yeast and are responsible for transporting components like amino acids and sugars into the cell. The rest of the proteins are used for cellular constituents, which are important to create new yeast cells.

A well balance between ammonia and aminoacids is very important for a quality fermentation: Ammonia helps to increase yeast cell growth and improve yeast efficiency, aminoacids are precursors of complex aromas.

Nitrogen deficiencies and hydrogen sulphide production.

There is an inverse relationship between nitrogen deficiency and the production of hydrogen sulphide.: the less assimilable nitrogen in the must, the more hydrogen sulphide will be produced. In the worst case, a lack of assimilable nitrogen will result in a stuck fermentation. This is due to the fact that the half-life of the sugar transport proteins is approximately 6 hours and they are regularly broken down, meaning that new transport proteins have to be synthesised. If there is no assimilable nitrogen available for amino acid synthesis and subsequent protein synthesis, no transport proteins can be formed and sugar cannot be transported into the cell. The effect of most cases of nitrogen limitation will be the production of off-flavours, such as caused by hydrogen sulphide, mercaptans and sulphur-containing acetic esters. The production of these flavour compounds starts 30 minutes after ammonia starvation.

Efficient pump-overs and copper treatments effectively remove hydrogen sulphide and mercaptans from spoiled wines, but sulphur-containing acetic esters are not affected and remain in finished wines, where they are eventually hydrolysed to hydrogen sulphide and mercaptans.

Under normal conditions, the most important source of hydrogen sulphide production is from the reduction of sulphate via the sulphate reduction pathway. The yeast uses this hydrogen sulphide to synthesise the sulphur-containing amino acids, methionine and cysteine. (Figure 1.)

In the absence of an intracellular nitrogen pool, sulphate or sulphite reduction continues, forming an excess of H₂S that cannot be incorporated into amino acids and which is then secreted into the medium. This explains why, when H₂S can be smelled in the fermenting must, the addition of nitrogen results in the elimination of the smell.

Other source of H₂S formation is the breakdown of the sulphur-containing amino acids. When inorganic nitrogen becomes limiting, the yeast will break down the stored amino acids as a source of nitrogen for biosynthesis (Figure 1). When sulphur-containing amino acids are used, as a result H₂S is liberated.

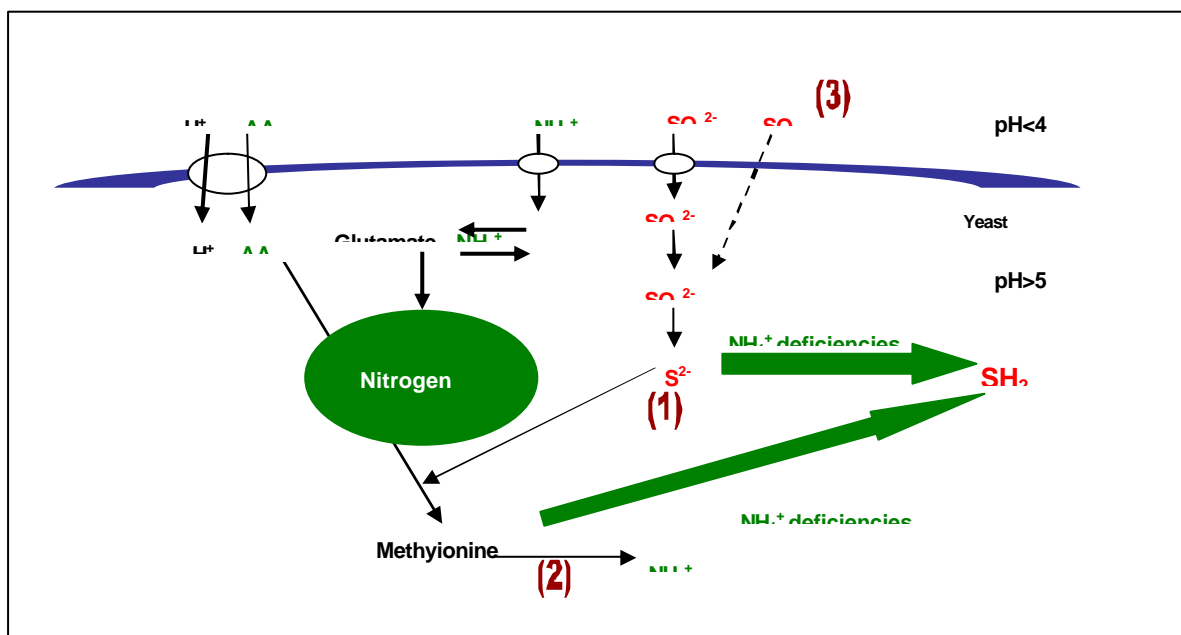


Figure 1. Intracellular hydrogen sulphide production.

- (1) reduction of inorganic sulphur to sulphide, and SH₂ accumulation due to sulphide can not be incorporate into sulphur-amino acid biosynthesis, (2) breakdown of the sulphur-containing amino acids to obtain the amino group, (3) abundance of elemental sulphur and sulphur dioxide. *Adapted of Jiraneck and Henschke (1991)*

Amino acid uptake and accumulation

Amino acid utilisation by yeast is a very important factor in fermentation. The most important role of amino acids is that they are the building blocks of proteins. Yeast cannot take up or break down proteins in the extracellular medium. Yeast takes up amino acids from the grape must and stores them inside the cell for later usage in protein synthesis. Yeast also synthesises its own amino acids.

The yeast cell takes up amino acids from the must, across the cell membrane and into the yeast cytoplasm, by a mechanism called active transport. What is important for us regarding this mechanism is that, with every amino acid the yeast takes up, it takes up a hydrogen ion as well (H⁺). The concentration of hydrogen ions in a given medium is the pH of the medium. Grape must usually has a pH of 3 - 3,5. The inside of a yeast cell is pH 6. For the yeast to function properly throughout fermentation it has to remain at pH 6.

As a result of increasing concentrations of ethanol, the yeast cell membrane becomes more and more permeable to H⁺ ions. In practical terms, it becomes very demanding from an energy point of view for the yeast cells to maintain the correct internal pH. The effect of this on amino acid uptake is as follows: When yeast is inoculated into grape juice, it immediately starts taking up whatever nitrogen is available. Yeast prefers ammonia, for it is taken up the fastest and utilised the easiest. Yeast also takes up amino acids at this early stage with the accompanying hydrogen ion(s). However, ethanol is produced during fermentation and the cell membrane becomes progressively more permeable to H⁺ ions, leading to the shutdown of amino acid uptake. Amino acids therefore are usually taken up by the yeast only during the early stages of fermentation, after which uptake ceases

due to proton (H⁺) influx.

Thus it is important for a winemaker to allow yeast to take up amino acids at the beginning of fermentation, since ethanol inhibits amino acid uptake later.

Timing of nitrogen additions

It is necessary to add nitrogen in the right concentrations at the right times during fermentation so as to allow optimum uptake of both amino acids and ammonia. Nitrogen management is thus an important consideration in the production of quality wine.

Ammonia is the preferred nitrogen source and yeast will rather take up ammonia, when present in excessive amounts, than amino acids. So, the addition of ammonium ions early during the fermentation will act to partly inhibit amino acid uptake. In addition, excess nitrogen at the start of the fermentation acts to stimulate yeast growth and thus increase the overall demand for nitrogen later during the fermentation. Most musts contain adequate amounts of nitrogen for a fermentation to start. We therefore advise to wait until fermentation has commenced before making ammonia (DAP) additions.

It is important to remember that an increase in temperature increases the nitrogen requirement, as yeast growth is stimulated at a higher temperature and fermentation is faster. The uptake of nitrogen is also coupled to the availability of oxygen. The more oxygen that is added to the must, e.g. with pump-overs, the faster the nitrogen is taken up and the more that is needed. The higher the initial grape sugar concentrations, the higher the nitrogen requirements will be.

However, the addition of too much ammonia is also not good. Excessive ammonia additions could lead to the presence of non-assimilated ammonia at the end of fermentation. This could have an effect on the microbial stability of the wine. Lactic acid (malolactic) bacteria cannot assimilate ammonia, but various spoilage organisms can do so. Care should be taken to avoid adding too much nitrogen towards the end of fermentation, as ethanol toxicity will also inhibit ammonium ion uptake.

From the above, it can be seen that nitrogen supplementation during fermentation ought to be carefully managed, and that making a standard addition of DAP (30g/hL), to all fermentations at the juice stage is unlikely to be a satisfactory solution for all fermentations.

As mentioned earlier, the yeast will assimilate amino acids early during the fermentation and store them for use at a later stage, when ethanol concentrations inhibit amino acid uptake. Amino acids are steadily used, depending on the yeast necessities along fermentation. (Figure 2). So under stressful conditions in which ammonia addition is not enough to equilibrate the nitrogenous must content, addition of organic nitrogen (amino acids) is a good solution. On the contrary than DAP, amino acids must be added at the beginning of the fermentation. Inactivated yeasts are a useful source of amino acids. Complete yeast commercial nutrients include inactive yeast in their composition.

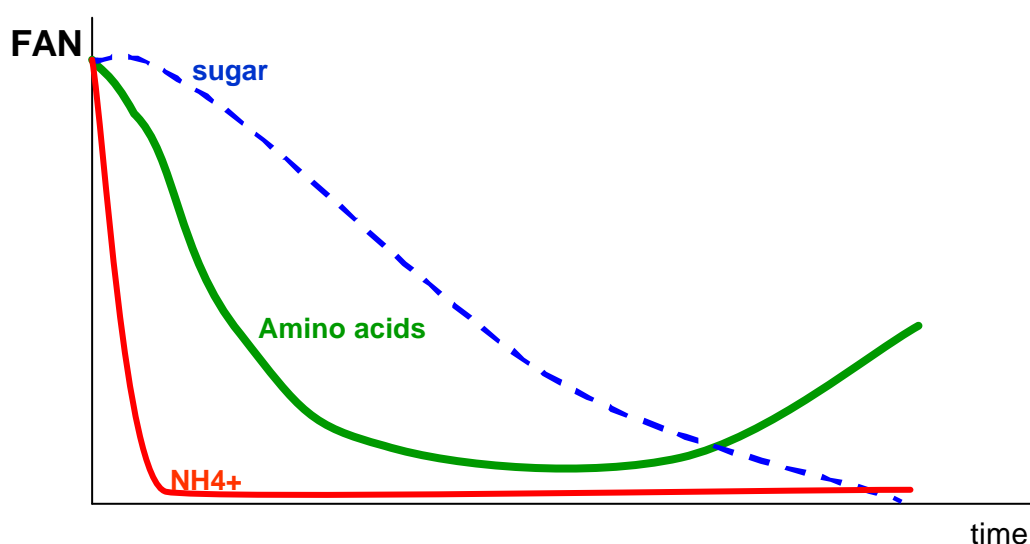


Figure 2. Nitrogen concentration during wine fermentation.

Vitamins, few quantities, big profits

Vitamins are growth factors involved in yeast metabolism. Some vitamins are synthesised by the yeast itself and some need to be obtained from the medium. Grape must commonly has an enough supply of vitamins for fermentation, but deficiencies may occur under certain conditions. The most important vitamins in alcoholic fermentation are thiamine, biotin and pantothenate. The supplementation of must with biotin and thiamine increases the viable yeast population and fermentation rate. Vitamins are used as co-factors in enzymatic conversions and are not incorporated into new chemical structures. They are thus used over and over again. Theoretically, a once-off addition to fermenting must should therefore be adequate.

Two situations may generate vitamin deficiency: any kind of mould infestation (Botrytis) on the grape berries and the use of mother tanks or yeast propagation in the cellar. Mould infestations deplete the grape berries of various nutrients before they are actually harvested and this is one of the reasons why fermentations from rotten grapes are almost always problematic. Such fermentations should always be supplemented with a complete yeast nutrient. The use of mother tanks or yeast propagation will deplete the vitamins (and other trace nutrients), thus leaving the yeast deficient in these nutrients and less able to function optimally.

In the case of a mould infestation leading to a vitamin deficiency, a shortage of thiamine leads to the accumulation of various products, one of them being pyruvic acid. Pyruvic acid is responsible for much of the non-acetaldehyde sulphite binding pool. Wines obtained from mould-infested grapes usually have elevated levels of bound sulphur dioxide, which is a direct result of a vitamin deficiency.

The vitamins pantothenate and pyridoxine are involved in the biosynthesis of the sulphur-containing amino acids, cysteine and methionine. A deficiency in these vitamins can lead to increased H_2S production, even though sufficient assimilable nitrogen is present. Pantothenate is also involved in the formation of acetyl Co-A, which is

the acetate donor in esterification (the formation of esters that give wines distinctive flavours). Ester formation thus has a requirement for adequate pantothenate. Acetic acid and glycerol concentrations are also higher in the case of musts deficient in pantothenate. The latter is not necessarily negative, but most definitely is when coupled with the former.

A must deficient in vitamins may still allow a fermentation to complete without the formation of off-flavours, but supplementation with vitamins when a deficiency is suspected could result in a better quality wine.

Minerals.

Minerals are used as co-factors in enzymatic reactions in the yeast cell. Grape musts contain a sufficient mineral supply to ensure satisfactory fermentation. Care should be taken in the case of mould-infested grapes. Magnesium ions are often added to yeast nutrients, as they are an absolute requirement for alcoholic fermentation.

Although phosphate is an important nutrient for yeast, musts in general contain sufficient phosphate. Caution should be exercised when adding nitrogen to fermenting must in the form of DAP, as the residual level of phosphates in wine is determined by legislation in some countries. For instance, the EU permits the addition of 30g/hL of DAP.

Survival factors.

Survival factors are also known as "oxygen substitutes" and comprise mainly sterols and long chain unsaturated fatty acids. The role of these components in wine fermentation is to ensure correct cell membrane integrity and permeability for cellular metabolism and thus for fermentation to complete. Yeast cell membrane integrity is affected greatly by ethanol toxicity. Increasing cell membrane permeability due to increasing levels of ethanol has a negative influence on sugar and amino acid uptake. Several environmental factors synergistically enhance these inhibitory effects of ethanol: high fermentation temperatures, nutrient limitation and metabolic byproducts, such as certain medium chain saturated fatty acids.

Survival factors are formed only in the presence of oxygen, which explains the success of the use of active dried yeast starter cultures in commercial wine making. Active dried yeast is propagated under highly aerobic conditions and is thus rich in "survival factors". In addition, the aerobic production of active dried yeast is designed to ensure that the intracellular stores of trehalose and glycogen (stress protecting factors) in the yeast are high, thus ensuring good fermentative power. The use of the mother tank system for yeast propagation takes place in the absence of air, resulting in the depletion of the yeast's supply of survival factors and weaker fermentations thus will result.

Grape musts usually contain enough dissolved oxygen after crushing, when used in combination with active dried yeast, to promote adequate synthesis of survival factors. However, when ascorbic acid (an oxygen scavenger) is used, no additional survival factors can be synthesised by the yeast. When ascorbic acid is used in the presence of high sugar concentrations, a yeast supplement rich in survival factors should be added. This is also the case towards the end of a red wine fermentation, especially if it commenced at high sugar levels. Although oxygen is added to the fermentation during pump-overs, this may not be adequate for the synthesis of survival factors.

Providing yeast with a source of sterols and long chain fatty acids can enhance the fermentation rate and ensure a complete fermentation. Excessive clarification of the must will also lead to a depletion of the fatty acids and sterols (and other nutrients) that occurs naturally. A nutritional supplement is also recommended under these conditions.

Use of inactive yeast as wine yeast nutrient

A very rich source of sterols, ergosterol and unsaturated fatty acids are inactivated yeast cells or yeast hulls. They are currently the most effective fermentation activators known for wine making. Inactivated yeasts are also a very rich source of vitamins, minerals and amino acids. Apart from supplying the fermentation media with nutrients, inactive yeast can also bind certain toxic fatty acids produced during fermentation and improve the fermentation kinetics. The addition of inactivated yeast is recommended in two times: a small addition in the beginning and a larger addition at the same time than an inorganic source of ammonium (best no more than 1/3 fermentation).

Guidelines for nutrient management during wine fermentations.

- 1. Use a direct inoculation of active dried yeast at the recommended dosage.** Under conditions likely to put the yeast under increased stress, such as high or low temperatures, high sugars, mould infested grapes or highly clarified must, increase the dosage of yeast accordingly. This will ensure a healthy start to the fermentation, with yeast rich in trehalose and glycogen, sterols and unsaturated fatty acids, vitamins and minerals.
- 2. Under good conditions, allow the fermentation to start either without any nitrogen supplement or with only a small addition of an organic nitrogen nutrient** (inactive yeast, without DAP). This will facilitate the uptake of the available amino acids without unnecessarily stimulating yeast growth.
- 3. Under stressful conditions** (high sugars, mould-infested grapes, highly clarified must or high/low fermentation temperatures), **add a complete yeast nutritional supplement (equilibrated in ammonium salts –DAP- and inactive yeast) at the start of the fermentation.** It will help to supplement any nutrient deficiencies.
- 4. Add nitrogen supplements starting a ¼ to 1/3 the way into the fermentation.** Continue to supplement nitrogen gradually, so as to reduce hydrogen sulphide formation and to maintain an even and steady rate of fermentation as determined by the monitored drop in density.
- 5. Avoid adding nitrogen late in the fermentation.** It is unlikely that the yeast will respond to nitrogen additions at this stage.

References:

1. Bisson, L.F., Butzque, C.E. (2000) Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *Am.J. Enol. Vitic*, 51,2, 168-177.
2. Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F., Kunkee, R.E. (1996). *Principles and Practices of Winemaking*.
3. Fleet, G.H. (1993). *Wine Microbiology and Biotechnology*
4. Gockowiak, H., Henschke, P.A. (1992). Nitrogen composition of grape juice and implications for fermentation: results of a survey made in N-E Victoria. *Australian Grapegrower and Winemaker* 340: 131, 133 - 138.
5. Jiranek, V., Henschke, P.A. (1991). Assimilable nitrogen: regulator of hydrogen sulphide production during fermentation. *Australian Grapegrower and Winemaker* 328: 27 - 30.
6. Jiranek, V., Langridge, P., Henschke, P.A. (1995). Amino acid and ammonium utilization by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts from a chemically defined medium. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 46, No. 1, 75 - 83.
7. Jiranek, V., Langridge, P., Henschke, P.A. (1995). Validation of bismuth-containing indicator media for predicting H₂S-producing potential of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast under enological conditions.

- Am J. Vitic. Enol., 46, 269-273.
8. Monteiro, F.F., Bisson, L.F. (1991) Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations. Am J. Vitic. Enol., 42, 1, 47-57.
 9. Park, S.K., Boulton, R.B., Noble, A.C. (2000) Formation of hydrogen sulphide and glutathione during fermentation of white grape must. Am.J. Vitic. Enol., 51,2, 91-97.
 10. Pretorius, I.S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast 16: 675 - 729.
 11. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2000). Handbook of Enology Volume 1.
 12. Vos, P.J.A., Gray, R.S. (1979). The origin and control of hydrogen sulphide during fermentation of grape must. Am. J. Enol. Vitic., Vol. 30: 187 - 197.
 13. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S. (1999). Wine Analysis and Production.

葡萄酒酿造中的酵母营养

Eva Navascués

Technical Manager Biotechnology, Agrovin, Spain

提 要 在本文中，作者介绍了葡萄酒酿造过程中酵母所需的营养成分，包括：同化氮，如 NH_4^+ 或氨基酸、维生素、矿物质、长链脂肪酸及甾醇。最后，作者提出建议：在胁迫条件下（含糖量较高、受霉菌感染的葡萄浆果、高度澄清的葡萄汁、高或低的发酵温度），在发酵起始阶段适当的增加酵母的剂量，并且分次添加；在正常条件下，不添加任何氮素增补剂或只添加少量有机氮源。

关键词 酵母；营养；葡萄酒酿造

葡萄酒调配技巧

彭德华

(云南香格里拉酒业股份有限公司, 云南 昆明 650217)

提 要 葡萄酒调配是对酒是色、香、味和化学成份的全面整合, 以消除和弥补葡萄酒质量的某些缺陷, 提升葡萄酒质量。本文介绍了作者在这方面的作法和心得体会。

关键词 葡萄酒; 色; 香; 味; 调配

葡萄酒的调配, 被认为是调酒师最神秘的技术精髓。似乎只要有一个好的配方, 就可以出来一个好的产品。这是一种误解, 首先葡萄酒不是配制酒, 好的葡萄酒是酿造出来的, 不是加些七七八八的东西配成的, 其次酿造的原酒质量不好, 酿酒师也回天乏术, 调配不出好的葡萄酒。过分夸大葡萄酒调配技术的作用是不切实际的。然而, 葡萄酒调配技术的确是一件技术性很强的工作, 他们消除和弥补葡萄酒质量的某些缺点, 在国家葡萄酒标准和法规规定的范围内, 使葡萄酒的质量得到最大的提升, 赋予葡萄酒新的活力。因此, 作者认为, 葡萄酒的调配是融技术和艺术于一身的具体体现, 把他称之为“葡萄酒的调配技巧”更能形象的说明这一点。

1 葡萄酒感官特性的改善

葡萄酒的感官特性是指酒的色、香、味, 各种级别的葡萄酒, 其主要化学成分指标相差无几, 关键在于其感官品质有明显的区别。因此, 酿酒师的职责在于纠正酒的某些缺点, 使其品质得到改善, 甚至提高他的级别。

1.1 色泽调整

葡萄酒的色泽应是天然的与酒龄相适应的色调。漂亮的宝石红色, 是年轻而具有活力的葡萄酒的色泽, 由紫红向红中带棕的转变是随着陈酿、瓶贮进程而发生的色泽变化。葡萄的色泽, 直观的给人以酒质优劣的信息, 构成红葡萄酒颜色的花青素和单宁组分, 能给人们口感带来微涩和厚实的感受。味醇厚、丰满的红酒, 不会是色泽浅淡的红酒。一支微黄带绿、晶莹剔透的白葡萄酒, 会给人以冰晶玉洁的美感, 而深黄带棕的白葡萄酒则往往与氧化褐变联系在一起。因此, 葡萄酒色泽的调整, 与感官品质的改善是同步的。红葡萄酒色泽的调整可以采取以下手段:

(1) 与色泽较深的同类原酒合理搭配, 提高配成酒色度。

(2) 添加中性的染色葡萄原酒。如烟 73、烟 74、紫北塞原酒。这些葡萄皮红汁红, 酿造的原酒色泽很深, 酒本身无明显的特殊香气, 不会对调配酒的酒质造成干扰。而其含有的呈味物质, 还可丰富酒的口感, 但可能使酒酸高。

(3) 葡萄皮色素。大都从国外进口的浓稠状液体, 也有粉状的葡萄皮色素, 而液态的使用效果较好,

但如用量较多，会增加调配酒的残糖和总酸。

(4) 花色苷。是从黑米中提取的。其分子结构式与葡萄花色素相同，国家认可使用的天然色素。可溶于酸度较高的介质中。能溶于葡萄酒中，但溶解很慢。有的厂家用液态花色苷调色，但因含有酒精，多少对酒质有影响。

葡萄酒色泽的调整，只能限于以上几种方法，不能添加化学合成的色素。色泽的调整应与香味调整和口味调整同步进行。

白葡萄酒色泽调整，大都与口感调配相结合，如果色泽过深，可适当添加 PVPP，去除酒中过多的酚类化合物和氧化的产物。经过 PVPP 处理后，白葡萄酒的色泽将变浅，氧化感也将明显减轻。

1.2 香气调整。

葡萄酒的香气，由原始香气（果香）、发酵香气、陈酿香气等三部分组成，提到香气调整，人们很可能会想到，是否添加香精、香料之类的东西，决非这个意思。除加香葡萄酒可以加些植物的花、根、茎、叶的浸出液和蒸馏液外，其他葡萄酒，禁止加入任何香精、香料。葡萄酒中添加某种微量的香精、香料，都可以明显的闻出来，并判定为假酒，半汁山葡萄酒中加葡萄香精所造成的恶劣影响和对葡萄酒的冲击，应永远铭刻在我们心中，葡萄酒香气调整只能从以下几个方面入手：

(1) 对于新鲜型葡萄酒和干白葡萄酒，如用陈酿过的酒生产，感到新鲜的果香不足，可以添加新酿的、果香浓郁的新酒，调整香气，半干和半甜葡萄酒，可往干酒中添加新鲜的本品种果汁，在调整糖度的同时，果香也明显改善。德国葡萄酒就利用这一技术，来提升白葡萄酒的果香，同时也使口感更加清爽、舒愉。

(2) 对于一般葡萄酒，可以通过选购同一品种葡萄在不同地区酿造的原酒，进行香气调整，如西部葡萄原酒适当的加入到东部酒中，可以优势互补，香气和口感都会有所改善。

(3) 对于中、高档葡萄酒，首先应选用充分成熟的葡萄酿造，只有这样才能使酒具有该品种葡萄特有的芳香。如因当年原料质量较差，致使酒香不足，除国内东西酒进行调节外，也可以进口部分国外优质酒，加大调配力度。

(4) 红葡萄酒在橡木桶贮存一段时间或加适当橡木素的浸出液，也可以丰富葡萄酒的香气。

以上这些做法，实际已在一些葡萄酒厂应用，并收到了良好的效果。

1.3 口味调整

色泽和香气的调整，也往往带来了口味的调整。以上提出的调整色泽和香气的措施，都在不同程度上改善了酒的口味，如果说某一措施对酒的口味有负面影响，是不应该采取的。

葡萄的口感给人的影响，要比色泽和香气的影响更加深刻。一些消费者并不像专业人士那样遵循评酒的规则，先看色泽和澄清度，再欣赏酒香。然后饮少量酒到口中，仔细品评酒的口感。他们往往拿起来就评，甚至大口大口的喝。因此，酒的口感，如酸味是否合适，糖、酒、酸是否平衡，红酒的涩感是否圆润、协调等等，就成为评价酒质好坏的重要依据。鉴于上述情况，我们将更加关注酒的口感在销售终端的反应。

对酒口感的共同要求是，协调和平衡。即酒的某一特征不过于明显，他与其他成分的关系应是协调的、亲密的、相容的。酸味过低，会使酒缺乏活力，酸味过高，会给人以酸涩的感觉。单宁等酚类化合物含量低，口味淡薄，酒体瘦弱。含量过高，会给人以明显的涩感，甚至使酒具有苦味。酒精是酒的灵魂和支柱，酒精含量低，酒味寡淡，过高，又会有灼热难受的感觉。糖份是口感的润滑剂和缓冲剂，可以冲减其他成份过多造成的负面影响，严格按照有关标准的规定，在许可范围内，往上调整含糖量，可以让消费者得到更加舒愉的口感。如何使酒的口感协调、平衡、圆润、丰满，这是酿酒师调酒的技巧。

在这里要特别提到，专业人士的口感和普通消费者的口感是有区别的。专业人士关注的是风格和酒质的发展前途，而消费者关注的是现在的表现。其重要分歧在于，专业人士要求红酒的口味重一点，醇厚些，要求有酒香与和谐的橡木香气，而普通消费者希望酸涩味低些，有点涩感，但不要过重，也不追求橡木气味，喝起来舒适就行。实际上，专业人士的评酒标准，也代表了部分白领阶层和海归族饮用葡萄酒的嗜好和要求，他们喜欢的是中、高档葡萄酒，这样的酒具有贮存潜力，不仅适合即时消费也可以贮存一段时间饮用，在存放期内，酒的品质会进一步提高。他代表了红葡萄酒未来的发展方向。我们应该有价格适中的产品来满足这部分人群的需求。然而，毕竟大多数消费者还是热衷于口味轻一点的红酒。我们的低价位产品和中档产品，应该具有这种特点，以满足他们的需求，并逐步引导他们向更高层次发展。

关于酸味的调整。首先是将酸度较高和酸度较低的同品种酒进行调配。如不能采用此种办法，需要增酸时，添加柠檬酸的量要控制在国家标准规定的范围内。不足部分加天然酒石酸，酸味过高，则加碳酸氢钾降酸。

关于口感轻、重的调整。主要通过选用不同葡萄品种或不同酿造工艺生产的原酒，以及进口部分原酒来调整。如赤霞珠原酒与与美乐，赤霞珠与佳美，赤霞珠与西拉的搭配，成为提升干红葡萄酒质量的经典之举。有时，同一品种葡萄，采用不同浸渍工艺，也可以酿造出风格不一的酒质，互相取长补短，也可以改善口感。进口国外的优质葡萄酒，按一定比例加入我国原酒中，已成为一些厂家为提高酒的饱满度和加重酒的口味采取的重要手段。如果上述方法都难以办到，也可以通过实验，往酒中添加酿酒单宁优酿丹，来增加酒的醇厚感，要使酒的口味稍轻一些，通常的做法是调进部分清淡的葡萄原酒。加大下胶的用量，也可以使酒的口味清淡一些，但对酒的色泽有不良影响。

有的人往葡萄干酒中添加甜味剂，如蛋白糖、甜菊苷、甜蜜素，用来冲减酒的酸涩感，当时国标中对此尚无明确规定，他们钻了空子，也适应了初喝葡萄酒对红酒酸涩尚不适应的消费者。还有的为增加酒的浓厚感，往酒中加羧甲基纤维素或其他增稠剂。这些不是调酒的技巧，而是投机取巧。真、善、美的东西，有其长期存在的价值，投机取巧只能蒙骗一时。新的国标中，已无他们生存的余地。但是他们能否采用其他手段来使其逃避规范呢？国人将拭目以待。

在优化酒的口感方面，近来有介绍添加适量的酵母多糖和甘露蛋白的，这些都是酵母自溶的产物，经过提炼精制而成的。甘露蛋白还有提高葡萄酒冷稳定性的作用。这些提法早在 60 年代前苏联的葡萄酒专著和杂志中作过介绍。并且对酵母自溶的条件也有阐述。特别讲到葡萄酒带酵母贮存一段时间有利于苹果酸-乳酸发酵的顺利进行。今日有关辅料生产厂家，已能提供这样的产品，不妨试一试，确证其功能和选择适合用量，为增加葡萄酒的饱满度和圆润感做新的探索。

1.4 综合平衡处理

葡萄酒经过色、香、味的调整处理后，各种成分的组合还处于不平衡的状态，他们之间还要发生聚合、分解、重组的过程。此时酒的色、香、味还是很不协调的、粗糙的。这个过程因酒的品种、酒质不同，需要的时间也有很大差异。烟台张裕葡萄酿酒公司早在 60 年代就有规定，对每种酒配成后的贮存期都有要求，是一项稳定、提高酒质的重要措施。在实际中，我们也深刻体会到这一举措的意义。因此，需要通过实验，掌握好每种酒配成后的贮存期，改善酒质。如果受条件所限，不容许提前很久调配时，短暂的 50-55 的密闭加热，也有促进各成分互相融合的作用。因为整个加热保温的过程是密闭进行的，不存在酒精和香气挥发损失的情况。

2 葡萄酒产品检测的规则

在新的国标中，对产品的检测，设定有 A 类不合格项和 B 类不合格项：

A 类不合格项：感官要求、酒精度、干浸出物、挥发酸、总二氧化硫、甲醇、铅、微生物指标、防腐剂、合成着色剂、甜味剂、香精、增稠剂、净含量、标签等。

B 类不合格项：总糖、铁、铜、二氧化碳。

A 类不合格项有一项或者 B 类不合格项有两项，即可判定为不合格产品。

A 类不合格项的内容，较原国标增加了许多。如果你的感官要求是按照 1.1 进行调整的，浸出物达标不成问题，标签和外包装按食品予包装的要求办理，样样齐全，一条不漏，人家不会找你麻烦。柠檬酸、二氧化硫严格控制在标准范围内。产品灌装前酒经过精滤、模块无菌过滤、薄膜微孔无菌过滤，管道和与酒接触的容器消毒好，微生物污染可以杜绝，而更主要的是，不加那些不应该往酒中添加的违禁物料，就可以安心生产了。

法律和法规是为了维护人民利益，保护公平竞争和正常的游戏规则而制定的，是约束那些投机取巧的不法经营者的。我们产品调配时，只要遵纪守法并且具备调配的基本知识，不难达到要求标准。

3 葡萄酒调配计算

对于干红的调配，各项化学指标达标比较容易达到，而调配甜葡萄酒时，情况比较复杂，下面介绍两种甜葡萄酒调配的计算方法：

第一种是，将一定数量的甜葡萄原酒，加白糖、葡萄酒精，调配成符合产品标准要求的甜葡萄酒。

已知条件为：原酒数量 (L) 及其糖、酒、酸理化指标；葡萄酒精的酒精含量；白糖为一级白砂糖，含蔗糖 95% 以上，折合葡萄糖近似于 1000g/Kg。1Kg 白砂糖溶解后的体积为 0.625L/20，柠檬酸 ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 含量 98%，1g 柠檬酸相当于 1.05g 酒石酸。例如：已有原酒 8000L，其成份：酒精 13%(V/V)，糖 100g/L，总酸(以酒石酸计)5g/L。葡萄酒精 85%(V/V)。求调整到酒精 14%(V/V)，糖 120g/L，总酸 6g/L，需加多少葡萄酒精 x(L)，白糖 y(Kg)，柠檬酸 z(Kg) 以及配成后甜酒总量 E(L)。

根据题意，可列出以下三个方程：

总体积方程：原酒体积+糖的体积+葡萄酒精体积=配成酒总体积。(此处未计柠檬酸体积，因加量不多，可以忽略不计) 即

$$8000+x+y \times 0.625=E \quad (1)$$

总酒度方程：原酒总酒度+葡萄酒精总酒度=配成酒总酒度，即：

$$13 \times 8000+85x=14 \times E \quad (2)$$

总糖方程：原酒总糖+白糖总糖=配成酒总糖，即：

$$100 \times 8000+y \times 1000=120 \times E \quad (3)$$

按三元一次方程求解，得：

$$\text{葡萄酒精需要量(L)} \quad X=136$$

$$\text{白糖需要量(Kg)} \quad y=190$$

$$\text{配成甜酒总量} \quad E=8000+136+190 \times 0.625=8208L \quad \text{按 8310 计。}$$

$$\text{柠檬酸量：} 8208 \times 6-8000 \times 5) / 1.05=8807g \quad \text{按 8.8Kg 添加，}$$

验证

调配成甜酒酒精%(V/V)为：

$$(13 \times 8000 + 85 \times 136) / 8310 = 14\% (V/V)$$

调配成甜酒含糖量：

$$(100 \times 8000 + 190 \times 1000) / 8210 = 120 \text{g/L}$$

第二种情况 采用三种含糖的原酒，通过调整三种酒的不同比例，以达到甜酒要求的酒度和糖度。这种调配计算较为复杂。前苏联的高维尔卡设计了应用于上述情况的甜酒调配可能性预测图。该图的绘制如下：

以纵坐标表示酒的含糖量，横坐标表示酒的酒精% (V/V) 值。A、B、C 三种含糖原酒在直角坐标上可以找到相应的坐标点 A、B、C，将 ABC 三点连起来，即得到三角形 ABC。如果调配成的甜酒要求达到的酒精% (V/V) 和含糖量 (g/L) 的直角坐标点在三角形 ABC 的框架内，则调配是可能的，否则是不可能的。

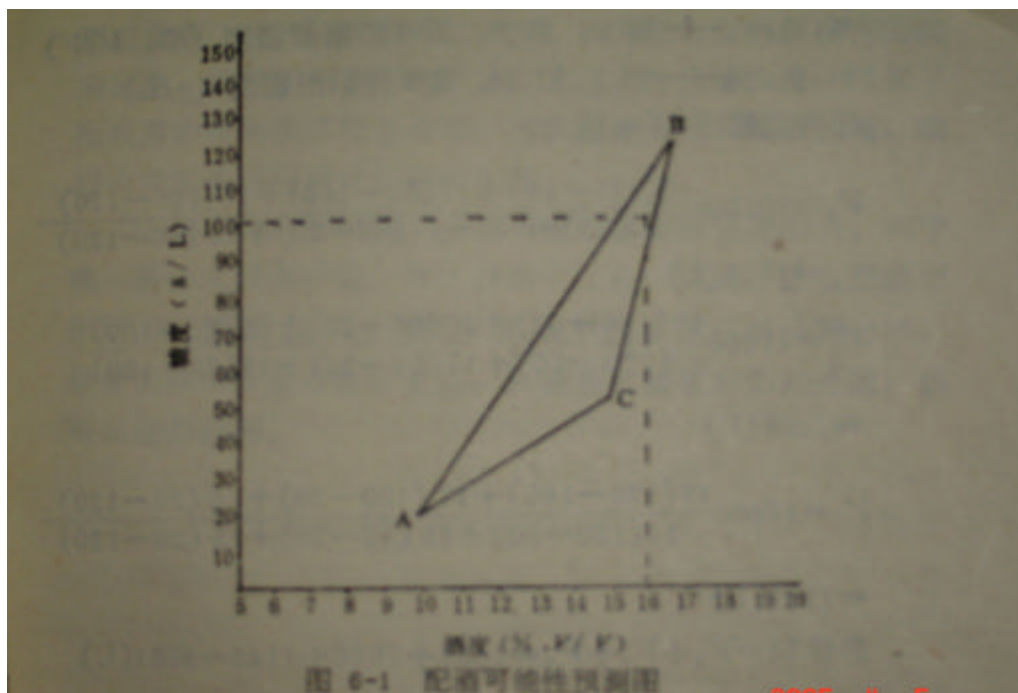
例如，已有三种含糖原酒，其成份如下：

A 酒：酒精 10% (V/V) 含糖 20g/L

B 酒：酒精 17% (V/V) 含糖 120g/L

C 酒：酒精 15% (V/V) 含糖 50g/L

要配成酒精 16% (V/V)，含糖 100g/L 的甜酒 10000L 求三种原酒的用量各多少 (L)？根据 A、B、C 三种原酒的酒精和含糖量可以绘出图 6-1 (配成酒可能性预测图)。



要求配成的甜酒的酒精和含糖量，其直角坐标在 ABC 三角形中，说明利用 A、B、C 三种原酒，调配成要求的酒精和含糖量的甜葡萄酒是可能的。

此后按下列公式，分别求出三种原酒的用量：

式中： X_1 、 X_2 、 X_3 代表 A、B、C 三种原酒的酒精% (V/V)

y_1 、 y_2 、 y_3 代表 A、B、C 三种原酒的含糖量 (g/L)

V_1 、 V_2 、 V_3 代表三种原酒的用量(L)

V。配成甜葡萄酒的体积 (L)

X。配成甜葡萄酒要求的酒精% (V/V)

Y。配成甜葡萄酒要求的含糖量 g/L

$$V_1 = V_0 \cdot (x_0 \cdot (y_2 - y_3) + x_2 \cdot (y_3 - y_0) + (y_0 - y_2) \cdot x_3) / (x_1(y_2 - y_3) + x_2(y_3 - y_1) + (y_1 - y_2)x_3)$$

$$V_2 = V_0 \cdot (x_1(y_0 - y_3) + x_0 \cdot (y_3 - y_1) + (y_1 - y_0) \cdot x_3) / (x_1(y_2 - y_3) + x_2(y_3 - y_1) + (y_1 - y_2)x_3)$$

$$V_3 = V_0 \cdot (x_1(y_2 - y_0) + x_2(y_0 - y_1) + x_0 \cdot (y_1 - y_2)) / (x_1(y_2 - y_3) + x_3(y_3 - y_1) + (y_1 - y_2)x_3)$$

将给定的数据代上述三式中,求得

A 种原酒 $V_1=1035L$

B 种原酒 $V_2=7586L$

C 种原酒 $V_3=1143L$

总体积= $V_1+V_2+V_3=1035+7586+1143=9764L$

为了验证计算结果是否正确,可以把三种原酒的总酒度加起来。除以调配酒体积,即为配成甜酒的平均酒度。同样把三种原酒的含糖总量相加,除以调配酒体积,求得配成甜葡萄酒的平均含糖量。

配成酒的平均酒精%(V/V)为:

$$(1035 \times 10 + 7586 \times 17 + 1143 \times 15) / 9746 = 156457 / 9764 = 16.02\% (V/V)$$

配成酒的平均含糖量(g/L)为:

$$(1035 \times 20 + 7586 \times 120 + 1143 \times 50) / 9746 = 101.2g/L$$

通过验算证明,三种原酒配成甜酒达到了要求的酒精含量和含糖量。配成的体积比要求的体积相差 $10000 - 9746 = 254L$ 。说明用三种特定成份的原酒只能配成 9746L。而要配成 10000L,要求的酒精、含糖量则达不到要求的标准。

上述甜酒调配的计算方法,只限于三种原酒是同一葡萄品种加工的甜葡萄酒,酒质无明显差别。这里不考虑调配酒的酒质。这些在现实生活中,可能遇到,特别是采用特定葡萄品种酿制甜葡萄酒时,由于工艺过程控制上的差别,和原料含糖量不一,难以保证酿制的甜葡萄原酒的酒精和含糖量是一致的,用上述办法即可以调配出符合产品标准的甜葡萄酒。

如用三种以上甜原酒进行调配时,应该将甜原酒合并,控制在三种甜原酒,则仍然可以按上述方法计算各种原酒的分别用量。

上述两种甜酒的调配方法。第一种,是将一种甜葡萄原酒调配成符合产品标准的甜葡萄酒,一般用于处理结余的甜原酒时采用。而第二种,是在正常情况下,将多种甜原酒调配成符合产品标准的甜葡萄酒,只要我们掌握了这两种调配方法,甜葡萄酒的调配就可完全掌握。葡萄酒调配计算应该不成问题了。

参 考 文 献

1. GB/T15037-94.葡萄酒
2. 郭氏葡萄酒技术中心汇编译.国际葡萄酿酒技术法规.天津:天津大学出版社,1998
3. 国家经济贸易委员会 2002 年第 81 号公告.《中国葡萄酿酒技术规范》,2002.11.14
4. 李华.葡萄酒品尝学.北京:中国青年出版社,1992
5. 上海杰兔工贸(集团)有限公司.拉曼技术手册,2004-3 版
6. 彭德华.葡萄酒酿造技术概论.北京:中国轻工业出版社,1995

The Technique of Wine Mixing

Peng Dehua

(Yunnan Shangli.la Winery Co., Ltd, Kunmin, Yunnan, 650217 China)

Abstract Mixing means to integrate wine wholely from color, aroma, taste to other chemical composition. The aim is to remove and make up for defected in wine to enhance its quality. The mixing method and experiences were informed in this paper.

Key words Wine, Color, Aroma, Taste, Mixing

超声波法提取葡萄籽多酚的研究

李 华 沈 洁

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 本文主要研究了超声波辅助提取葡萄籽中总多酚的最佳工艺条件。首先考察了超声波频率、作用时间、控制温度、提取时间、料液比以及提取次数五个单因素对总多酚提取率的影响,并在此基础上进行正交实验,确定多酚提取的最佳工艺条件:温度为 45℃,频率为 40KHz,料液比为 1:12,共提取 5 次,每次提取时间为 55min。这种提取方法能够避免多酚在高温下的分解,并极大地缩短了提取时间。

关键词 超声波;葡萄籽;多酚;提取

葡萄籽是葡萄酒的下脚料之一,因其含有较多的生物活性物质——多酚,而得到广泛地研究。葡萄籽多酚具有较高的保健价值和药用价值,具有降低血脂、抗氧化、清除自由基、抗癌等作用^[1,2]。葡萄籽多酚多采用有机溶剂浸提法,但是常规的方法不仅提取时间长,且得到的多酚多被氧化而失去其自身的价值。随着现代科学的发展,许多先进的方法,如超声波提取被用于植物有效成分的提取。

超声波提取方法利用机械破碎和空化作用,加速细胞内物质的释放、扩散及溶解,从而达到提高提取效率的作用。目前,它作为一种优良的提取方法已经广泛应用于天然植物的有效成分的提取,它是美国环保局(EPA)的基本分析方法之一^[3]。它具有操作简便快捷、提取温度低、提出率高、提取物的结构未被破坏等特点,尤其在热敏性成分的提取中更显示出明显的优势。目前,利用超声波进行多酚类物质提取的报道已有很多,如:大豆异黄酮的提取^[4]、茶多酚的提取^[5]、虎杖中白藜芦醇的提取^[6]。本实验旨在利用超声波技术找到合适的葡萄籽多酚提取工艺,以供实验所需。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及主要仪器设备

实验原料:葡萄籽,来源于宁夏广夏葡萄酒厂的下脚料。经过挑选,选取颗粒比较饱满,无霉烂变质的葡萄籽进行实验。

实验药品:甲醇(分析纯)、福林-肖卡试剂(自行配制)、20%Na₂CO₃(自行配制)

实验主要设备:KQ-300DE 型数字控超声波清洗器、SENCO-R 系列旋转蒸发器、SP-2102UV 紫外-可见分光光度计

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的绘制

准确称取干没食子酸 0.500g,用水溶解并定容于 100mL 的容量瓶中,摇匀得到 0.5%酚母液。分别取

母液 0、1.0、2.0、3.0、5.0、10.0mL 于 100mL 容量瓶中稀释，再各取 1ml 稀释液，用福林 - 肖卡试剂比色法测定吸光值。利用 SAS 软件处理，得出标准曲线为： $C=714.690A$ ， $R=0.995$ （ C 为浓度，单位为 $mg \cdot mL^{-1}$ ， A 为吸光度）

1.2.2 总多酚的提取及测定

葡萄籽粉碎过 20 目筛，准确称取葡萄籽粉 5.00g，放入 250mL 三角瓶中，按一定的料液比加入甲醇，在一定温度、一定频率下提取一定时间，并将几次的提取液合并，进行抽滤。滤液用旋转蒸发器减压浓缩，回收甲醇。浓缩液转入 100mL 容量瓶，用甲醇定容，稀释 5 倍，用福林 - 肖卡试剂比色法测定多酚含量。

1.2.3 正交实验设计

首先选取温度、频率、料液比、提取时间、提取次数五个因素进行单因素实验，然后在单因素的基础上，确定正交实验的因素和水平（见表 1），采用 $L_9^{3^4}$ 进行正交实验，实验结果用数理统计的方法进行分析。

表 1 正交实验因素水平表

因素	温度 () A	时间 (min) B	次数 C	料液比 D
水平	40	35	4	1 : 10
	45	45	5	1 : 12
	50	55	6	1 : 14

2 结果与分析

2.1 温度对超声波提取的影响

分别在 25、35、45、55、65、75 进行提取。由图 1 可看出：45 下的提取率最高，这可能是由于高温有利于提取，但过高的温度会引起多酚的变性。

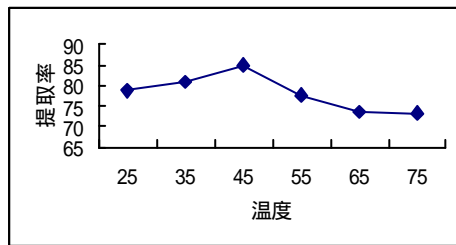


图 1 温度对超声波提取的影响

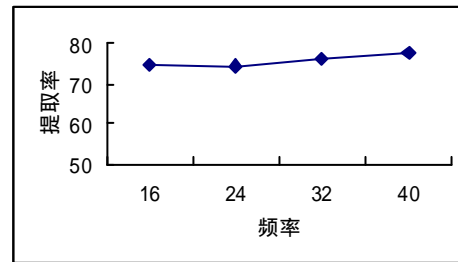


图 2 频率对超声波提取的影响

2.2 频率对超声波的影响

分别在 16 HKz、24 HKz、32HKz、40 HKz 条件下进行提取。图 2 反应出频率对提取有一定的影响，随着频率的增加，提取率随之增加，但是统计分析发现，本实验中的各水平之间是无显著差异的。

2.3 料液比对超声波提取的影响

分别按料液比 1 : 4、1 : 6、1 : 8、1 : 10、1 : 12、1 : 14 的量加入甲醇（即 20mL、30mL、40mL、50mL、60mL、70mL）进行提取。料液比增加，提取的溶液越多，达到饱和时能提取出的多酚也越多。因此，随着料液比的增加，提取率也是逐渐增加的（见图 3）。统计分析发现，1 : 12 和 1 : 14 之间是没有显著差异的。

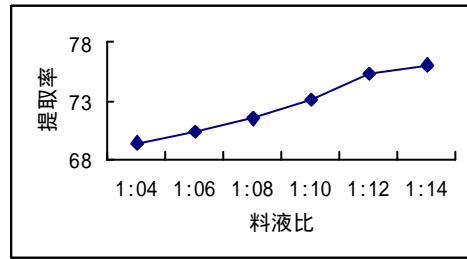


图3 料液比对超声波提取的影响

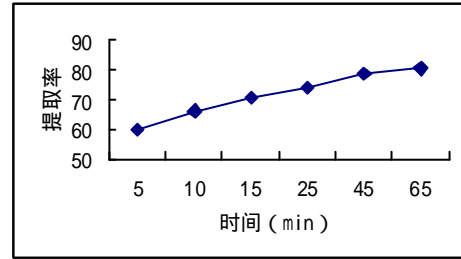


图4 提取时间对超声波提取的影响

2.4 提取时间对超声波提取的影响

每次提取时间分别为 5 min、10 min、15 min、25 min、45 min、65min。提取时间越长，提取率就越高，且变化较平缓（见图4）。统计分析发现，45 min 和 65min 处于最佳水平，但二者之间没有显著差异。这说明当提取时间达到一定程度，提取溶液达到饱和，此时继续增加提取时间是无明显效果的。

2.5 提取次数对超声波提取的影响

提取次数分别为 1、2、3、4、5、6。结果表明，在一定范围内，提取率随提取次数的增加而增大。但也不是无限增大的，当提取近乎完全时，再增加提取次数是不必要的。实验证明提取 5 次和 6 次为最佳处理，而二者之间并没有显著差异（见图5）。

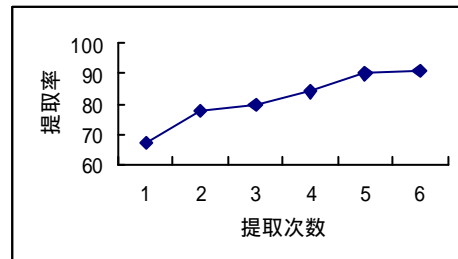


图5 提取次数对超声波提取的影响

2.6 正交实验确定超声波提取的最佳工艺

在单因素实验基础上，选择合理的因素水平进行正交实验，以确定最佳的提取条件。对于没有显著差异的频率因素，选择水平间最好的，即 40 HKZ。

通过正交实验（表2）可以看出，影响因素 $C > A > B > D$ 。因此，多酚的最佳的提取条件是 $A_2B_3C_2D_2$ 。即：提取温度 45℃，提取时间为 55min，料液比为 1:12，共提取 5 次。

3 讨论

本实验中，通过正交实验得出提取葡萄籽总多酚的最佳条件：温度 45℃，提取时间为 55min，料液比为 1:12，共提取 5 次，提取频率为 40 HKz。

多酚是热敏性物质，温度对多酚的提取影响较明显，但并非温度越高提取的效果越好。温度大于 45℃ 时，温度增加提取率反而下降。因此多酚的提取不适宜用连续回流的方式提取，如索式提取。而采用超声波辅助提取的方法，温度低，能避免多酚在高温下的分解，并能极大的缩短了提取时间，因此这是一种比较适宜的提取方法，应广泛用于实验室内葡萄籽多酚的提取及相关研究。

表 2 正交实验结果分析表

实验号	A	B	C	D	提取率 (%)
1	1	1	1	1	85.4
2	1	2	2	2	94.6
3	1	3	3	3	96.1
4	2	1	2	3	95.8
5	2	2	3	1	98.4
6	2	3	1	2	94.3
7	3	1	3	2	97.2
8	3	2	1	3	89.7
9	3	3	2	1	97.8
K1	276.1	278.4	269.7	281.6	
K2	288.5	282.7	288.2	286.1	
K3	284.7	288.2	281.7	281.6	
k1	92.033	92.800	89.900	93.867	
k2	96.167	94.233	96.067	95.367	
k3	94.900	96.067	93.900	93.867	
R	4.134	3.267	6.167	1.500	

参 考 文 献

1. Fran.Grape Extracts for Food Use. Prepared Foods , 2002 , 000(5).E16 ~ E16
2. Linda M O.Harvesting the Benefits of Grape Seed Extract. Prepared Foods , 2002 , 000(1): E14 ~ E14
3. US Environmental Protection Agency(EPA) , in Test Methods for the Analysis of Solid Wastes(SW-846 Method No.3550) , EPA Office Waste(OWS) , Washington. D C, 1986
4. 谢明杰, 宋明, 邹翠霞等.超声波提取大豆异黄酮.大豆科学, 2004, 23 (1): 76 ~ 77
5. 尹莲.超生法提取茶多酚的实验研究.食品工艺, 1999 ,(3): 10 ~ 11
6. 曾里, 连春霞, 夏之宁.超声提取虎杖白藜芦醇及其液质联用分析.重庆大学学报, 2000 , 25 (7): 53 ~ 56
7. 袁志发, 周静芋.实验设计与分析.北京: 高等教育出版社, 2000
8. 胡小平, 王长发.SAS基础及统计实例教程.西安: 西安地图出版社, 2001

Extraction of grape seed polyphenols by ultrasonic

Li Hua and Shen Jie

(College of Enology , Northwest A&F University , Yangling, Shaanxi 712100 China)

Abstract In this article, the optimum of the extraction of polyphenols from grape seed by ultrasonic was mainly researched. The effect on the extraction rates of five single factors, including frequency, temperature, time, solid-liquid leaching ratio and times were determined. Furthermore, the optimum was gained through orthogonal experiment. The optimum condition was as follows: temperature 45 , frequency 40KHz, solid-liquid leaching ratio 1:12, extract time 55min and 5 times together. This method can avoid polyphenols disintegration under high temperature, and greatly shorten time.

Key words ultrasonic , grape seed , polyphenols , extraction

利用大孔吸附树脂精制葡萄籽提取物的研究

王蔚新 李华 袁春龙 沈洁

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌, 712100)

提 要 通过考察 4 种型号的大孔吸附树脂对葡萄籽多酚的吸附分离性能, 从而确定大孔吸附树脂精制葡萄籽提取物的工艺条件。结果表明, LSA - 40 型树脂对葡萄籽多酚有良好的吸附分离性能, 其精制葡萄籽提取物的工艺条件如下: 室温下, 葡萄籽提取液 pH = 3, 上柱吸附流速为每小时 2 倍床体积 (2BV/h), 洗脱剂为 50% 乙醇, 用量为 3 倍床体积。经该工艺精制所得乙醇洗脱物, 浓缩后冷冻干燥, 测定干粉纯度约为 85.5%, 而未经树脂精制的粗品干粉纯度只有 30.7%。

关键词 葡萄籽提取物; 多酚; 大孔吸附树脂; 原花色色素; 精制

葡萄籽提取物 (GSE) 是从酿酒葡萄的种子中提取出来的一种多酚混合物, 其主要成分是单体 (儿茶素、表儿茶素等) 及由单体聚合而成的不同聚合度的原花色色素 (OPCs), 其中生物活性最强的是 OPCs^[1]。GSE 是清除自由基能力最强的抗氧化剂, 具有抗心血管疾病、抗癌、抗衰老、抗致突变及抗溃疡等作用。

粗提 GSE 主要采用溶剂提取法, 由于 GSE 粗品所含杂质较多, OPCs 含量较低, 因此需要进一步纯化。大孔吸附树脂是 20 世纪 70 年代以来发展起来的有机高聚物吸附剂, 有机化合物根据吸附力的不同及相对分子质量的大小, 在大孔吸附树脂上经一定的溶剂洗脱而分开^[2]。由于这种方法吸附选择性独特, 不受无机物存在的影响, 再生方便, 解吸条件温和, 而且操作简单, 回收率高, 安全可靠, 因此比较适合纯化葡萄籽提取物。

本文通过对 4 种大孔树脂的筛选实验, 寻找对葡萄籽多酚具有良好吸附分离性能的树脂, 进而确定精制葡萄籽提取物的生产工艺条件。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料与设备

1.1.1 实验材料

榨过油的葡萄籽饼

大孔树脂: AB - 8、NKA - (南开大学化工厂)、LSA - 40 (西安蓝深化工厂) 及 D101 型 (天津农药厂)

1.1.2 设备

SP - 2102UV 紫外可见分光光度计

QYC200 型恒温摇床

1.2 葡萄籽粗提液的制备

称取榨过油的葡萄籽饼，料水比 1:9，100℃ 提取 1.5h，共提取三次。提取液合并后四层纱布过滤。冷冻离心。

1.3 葡萄籽粗提物中多酚的测定

采用 Folin-Ciocalteu 法测定葡萄籽粗提物中的总多酚含量^[3]。

1.4 大孔树脂的预处理

新树脂以 95%乙醇浸泡 24h 后，装柱。用 2 - 4BV 的 95%乙醇以 2BV/h 的流速过柱，并浸泡 4 - 5h。95%乙醇以 2BV 的流速过柱，洗至流出液加水不呈白色为止。蒸馏水以 2BV 的流速淋洗 2 - 3h，洗至无醇味。用 2BV 的 5% HCl 以 4 - 6BV/h 的流速过柱，并浸泡 2 - 4h。蒸馏水以同样流速洗至出水 pH 中性。用 2BV 的 2% NaOH 以 4 - 6BV/h 的流速过柱，并浸泡 2 - 4h。蒸馏水以同样流速洗至出水 pH 中性。树脂层上保持 2 - 5mm 液体，备用。

1.5 静态吸附曲线

取 4 种湿树脂各 2mL 于 4 个 250mL 三角瓶中，分别加入 80mL 葡萄籽粗提液，封口。置于恒温摇床上，25℃，190r/min，振荡。每隔一定时间取上清液，Folin-Ciocalteu 法监测总多酚的变化情况。

1.6 大孔树脂静态吸附量及解吸率的测定

取 4 种湿树脂各 2mL 于 4 个 250mL 三角瓶中，分别加入 80mL 葡萄籽粗提液，封口。置于恒温摇床上，25℃，190r/min，振荡 24h。过滤，滤液以 Folin-Ciocalteu 法测定多酚含量，计算吸附量。吸附多酚后的大孔树脂，加入 160mL 95%乙醇进行解吸，封口。置于恒温摇床上，25℃，190r/min，振荡 24h。过滤，滤液以 Folin-Ciocalteu 法测定总多酚含量，计算解吸率。

$$\text{吸附量 } Q (\text{mg/ml 树脂}) = \frac{(C_0 - C)V}{W}$$

C_0 - 吸附前料液的浓度， $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

C - 吸附后料液的浓度， $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

V - 料液的体积，mL

W - 树脂体积，mL

$$\text{解吸率 } (\%) = \frac{V \times C'}{Q}$$

C' - 洗脱液浓度， $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

V - 洗脱液体积，mL

Q - 吸附量， $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 树脂

1.7 吸附等温线

取 1 mL LSA-40 树脂数份于三角瓶中，加入不同浓度的葡萄籽粗提液，置于恒温摇床上振荡 3h，使其达到平衡后取出，Folin-Ciocalteu 法测定上清液浓度。分别绘制 20、30、40 时的吸附等温线。

1.8 粗提液 pH 的影响

取 40mL 1mg/ml 葡萄籽粗提液 6 份，分别调 pH 值为 1.5、2、3、4、5、6，每份加入 1mL LSA-40 树脂，封口。25℃，190r/min，振荡 4h，测定上清液浓度。

1.9 洗脱剂浓度的确定

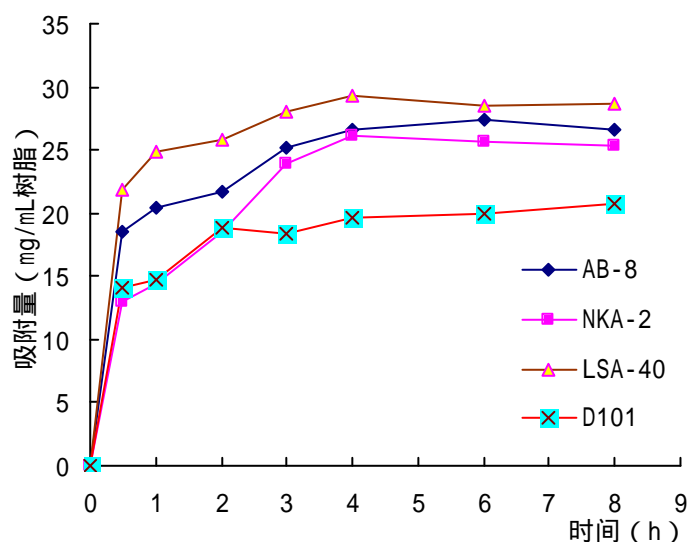
100mL 1mg $\cdot \text{mL}^{-1}$ 葡萄籽多酚粗提液以 2BV/h 流速上柱吸附，蒸馏水冲洗至无色后，依次用 30%、50%、70% 及 95% 的乙醇洗脱，分段收集洗脱液，测定浓度。

1.10 洗脱曲线

100mL 葡萄籽多酚粗提液以 2BV/h 流速上柱吸附，蒸馏水冲洗至无色后，用 50% 乙醇洗脱，分段收集洗脱液，测定浓度。

2 结果与讨论

2.1 4种大孔树脂静态吸附量及解吸率比较



从图1静态吸附曲线来看，树脂的吸附速率随时间的延长而急剧下降，然后慢慢趋于饱和，4h后均基本达到吸附平衡。说明葡萄籽多酚与大孔树脂之间的吸附主要以物理吸附为主，属于慢性吸附。

4种大孔树脂静态吸附量与解吸率测定结果见表1。AB-8与LSA-40对葡萄籽多酚均具有较强的吸附能力，但是LSA-40比AB-8更易解吸。因此选择LSA-40作后续实验。

表1 4种大孔树脂静态吸附与解吸性能比较

树脂型号	吸附量 (mg/ml)	解吸率 (%)
AB-8	30.04	86.0
NKA-	28.28	77.8
LSA-40	31.08	94.7
D101	23.04	78.8

2.2 树脂吸附等温线

选择LSA-40型大孔树脂进行吸附等温线的研究。图2为LSA-40型树脂对葡萄籽多酚的吸附等温线。大多数稀溶液的吸附行为可用Langmuir公式或Freundlich公式来描述。

Langmuir公式：

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{Q_{\max}} + \frac{1}{aQ_{\max}}$$

Q_e — 吸附平衡时的吸附量 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 树脂)

Q_{\max} — 最大吸附量 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 树脂)

C_e — 吸附平衡时的浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

a — 吸附平衡常数

以 $C_e/Q_e \sim C_e$ 作图得一直线，斜率为 $1/Q_{\max}$ ，截距为 $1/aQ_{\max}$ 。

Freundlich 公式：

$$q = kc^{\frac{1}{n}} \quad \text{即} \quad \lg q = \lg k + \frac{1}{n} \lg c$$

q - 吸附平衡时吸附量

c - 吸附平衡时浓度

k, n - 在一定温度下对一定体系而言的常数

以 $\lg q \sim \lg c$ 作图得一直线，斜率为 $1/n$ ，截距为 $\lg k$ 。

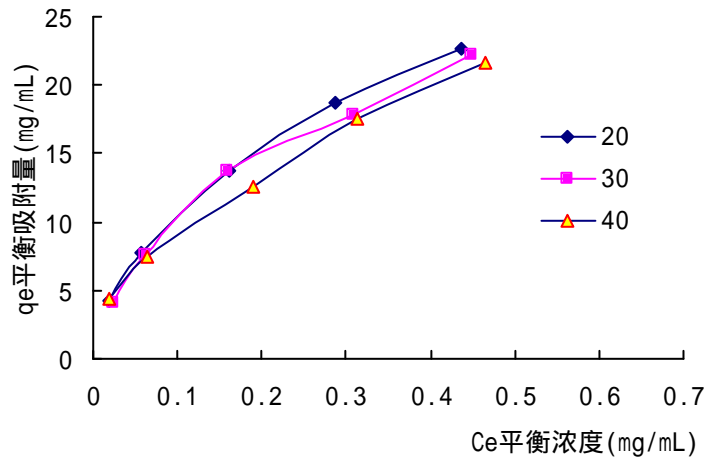


图2 不同温度下LSA-40大孔树脂等温吸附曲线

表2 Freundlich 公式与 Langmuir 公式对树脂等温线的拟合比较

温度 ()	Freundlich 公式			Langmuir 公式		
	n	k	R ²	Qmax	a	R ²
20	1.86	36.0	0.9997	29.2	6.84	0.9702
30	1.74	36.3	0.9933	28.2	6.02	0.9428
40	2.01	30.4	0.9939	27.2	6.45	0.9307

Langmuir 公式即 Langmuir 单分子层吸附理论在很多情况下可解释溶质吸附现象^[4]，而 Freundlich 方程为经验公式，在适用范围内可以概括地表达事实，但还不能说明吸附作用的机理^[5]。从表 2 可以看出，Freundlich 公式和 Langmuir 公式对树脂不同温度下的吸附等温线均有较好的拟合效果，并且 Freundlich 公式的拟合效果更好一些。因此，和大多数稀溶液一样，葡萄籽多酚溶液的吸附行为可同时用 Langmuir 公式或 Freundlich 公式来描述。

由图 2 可以看出，随温度升高吸附量呈下降趋势，这是因为吸附一般是放热过程，所以只需达到了吸附平衡，升高温度会使吸附量降低，但总体相差不大。所以选择 20 左右的室温进行后续实验。

2.3 粗提液 pH 对吸附的影响

葡萄籽多酚呈弱酸性，要达到较好的吸附效果必须在弱酸或酸性条件下吸附。实验结果见图 3，当 pH 为 3 时，LSA - 40 树脂的吸附量最大。

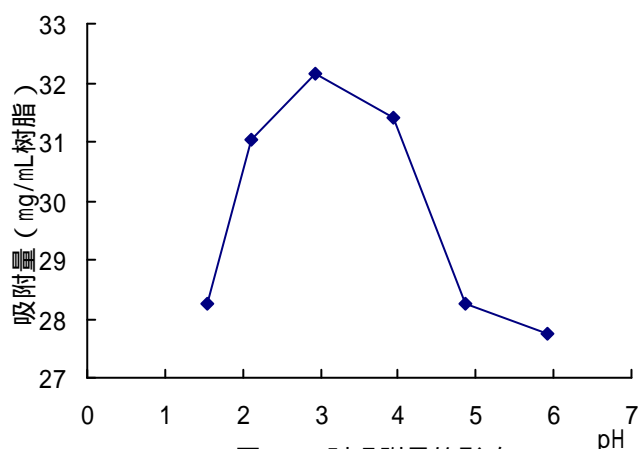


图3 pH对吸附量的影响

2.4 上柱吸附流速的影响

葡萄籽多酚是一类大分子酚类化合物，其扩散速度较慢。如上柱流速过快，则大量多酚来不及被树脂充分吸附便流出树脂柱。较低的流速有利于吸附，但是流速过低必然操作时间长^[6]，因此实际生产中综合考虑，选择以2BV/h的流速上柱为宜。

2.5 洗脱剂浓度的确定

常用的洗脱剂有甲醇、乙醇、丙酮。选择用于制备健康食品的洗脱剂时，除了要考虑其洗脱能力外，还要综合考虑它对人体无毒性、实际生产中易于回收和去除以及价廉等方面。本实验采用乙醇为洗脱剂，具有安全、无毒等优点，适用于健康食品的制备。由图4可见，3BV的30%的乙醇即可洗脱下约65%的多酚，再用2BV的50%乙醇洗脱，即可将余下的多酚全部洗脱下来。由于采用30%的乙醇所用洗脱剂用量较大，且耗时，所以采用50%乙醇洗脱。

2.6 洗脱曲线

由洗脱曲线可知，第3BV的洗脱液浓度已明显降低，可以认为树脂柱上吸附的多酚已洗脱完全，因此确定洗脱剂用量为3BV。

2.7 洗脱液处理

洗脱液经减压浓缩脱去乙醇后，残留的水溶液经冷冻干燥，真空包装，后测得多酚纯度为85.5%，大大高于未纯化前的30.7%。

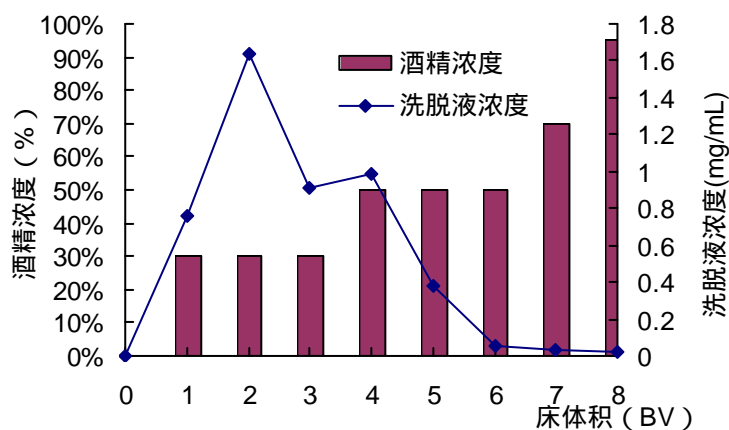


图4 分段收集曲线

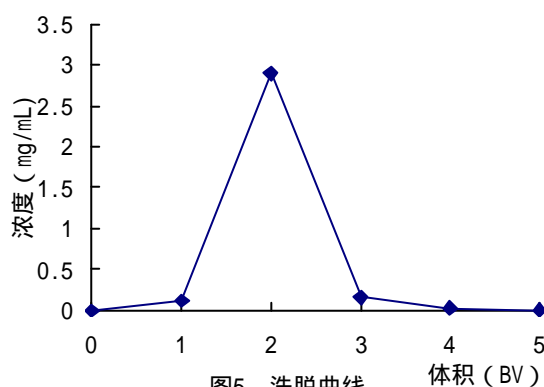


图5 洗脱曲线

3 结论

(1) 经比较 LSA - 40 型大孔树脂对葡萄籽多酚具有良好的吸附性能，因此作进一步研究。

(2) 粗提液 pH 值调到 3，以 2BV/h 的流速上柱吸附。蒸馏水洗至流出液近无色后，以 3BV 的 50% 乙醇溶液洗脱树脂柱上吸附的多酚。

(3) 以此方法精制的葡萄籽提取物纯度为 85.5%，远高于粗提物纯度。

参 考 文 献

1. 邵云东, 胡光祥, 於洪建等. 葡萄籽提取物的质量评价. 中草药, 2001, 32(11): 1044-1046
2. 高锦明. 植物化学. 北京: 科学出版社, 2003
3. 王华. 葡萄与葡萄酒实验室技术操作规范. 西安: 西安地图出版社, 1998
4. 孙彦. 生物分离工程. 北京: 化学工业出版社, 1998
5. 天津大学物理化学教研室编. 物理化学. 北京: 人民教育出版社, 1981
6. 刘硕谦. 水皂角活性多酚提取、纯化与检测技术的研究. 硕士论文集, 湖南农业大学

Refinement of Grape Seed Extract with Macroporous Adsorbent Resin

Wang Weixin, Li Hua, Yuan Chunlong and Shen Jie

(College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract In order to set up the optimum processing conditions, 4 types of macroporous adsorbent resin were investigated. The results showed that LSA-40 was the best for adsorbing and separating grape seed polyphenols. The optimum processing conditions were as follows: under room temperature, the sample of pH 3 was absorbed on the column at the rate of 2 bed volumes per hour, and eluted with 3 bed volumes of 50% ethanol. The eluant was stripped of alcohol under vacuum and freeze dried. Analysis showed that the purity of the dried eluant powder was 85.5%, while the purity of powder without purification was only 30.7%.

Key words Grape seed extract (GSE), Polyphenols, Macroporous adsorbent resin, Proanthocyanidin, Refinement

微波辅助提取葡萄皮籽原花青素的工艺研究*

袁春龙¹ 任亚梅² 张予林¹ 杨永平¹

(西北农林科技大学¹葡萄酒学院,²食品科学与工程学院,陕西杨凌 712100)

提 要 本文以水为提取溶剂,通过对微波辐射时间、微波辐射功率、提取料液比、葡萄皮、籽粉碎度等 4 因素的研究,并在 L₁₆(4⁵)正交试验中得出,微波辅助提取葡萄皮籽的最佳工艺条件 A₂B₄C₄D₄:即微波辐射功率 380W,微波辐射时间 5min,提取料液比 1:18,葡萄皮籽粉碎度 40 目,提取 4 次。在此条件下原花青素提取率达 64.17%。

关键词 微波;葡萄籽;原花青素;提取

原花青素是葡萄籽中主要的多酚物质,其主要是由黄烷-3-醇和黄烷-3,4-二醇的配位缩合或聚合而成的低聚或多聚物,平均聚合度范围从 2~15,平均分子量从 578~5000,属多酚类化合物的低聚原花青素(oligomeric proanthocyanidins,简称 OPC),人们将其归类为生物类黄酮^[1,2]。OPC 抗氧化作用强,易溶于水,人体吸收率高,可以清除体内的自由基和活性氧,在体内抗氧化能力是 V_E 的 50 倍, V_C 的 20 倍;能预防由于人体血液中低密度脂蛋白(LDL)的氧化为主要原因引起的动脉硬化、改善血管的生化性质、抗凝血、抗白内障、改善视觉功能、抗溃疡、防癌抗肿瘤等多种功效;OPC 亦可通过有效清除自由基促使皮肤结缔组织胶原蛋白的适度交联,阻断弹性蛋白酶的产生并抑制其活性,从而改善皮肤健康状况,保持皮肤柔顺、光滑、富有弹性。葡萄籽低聚原花青素在保健食品业、化妆品行业和医药方面已得到广泛的应用^[3-9]。

低聚原花青素主要存在于葡萄皮、籽中,它们是生产葡萄酒和葡萄汁的废弃物。目前对葡萄籽低聚原花青素提取方法的研究较多,如 Bourzeix M 和 Weinges K 用甲醇提取, Torres J L 用乙酸乙酯-水提取,赵文军等用 3% 磷酸的乙酸乙酯-水溶液作提取剂,吕丽爽用 61% 的乙醇 50 提取,他们用不同的方法研究了葡萄籽低聚原花色素的提取及其影响因素^[10-14]。

微波作为近年来发展起来的一门新技术,它具有选择性强、加热速度快、受热体系温度均匀、操作简便、耗能少、产率高等优点。已应用于提取葛根黄酮、银杏黄酮、丹参酮、茶多酚等天然产物的浸提,有效地提高了得率^[15-18]。但微波在葡萄皮籽有效成分提取方面的研究尚未见报道,本文正是基于这种目的对葡萄皮籽进行微波处理,探讨微波对葡萄皮籽中原花青素浸出特性的影响,并且通过正交试验得出其最佳提取工艺。

* 杨凌农业科技开发基金资助项目(编号:2004TA21)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

梅鹿辄葡萄皮籽, 海尔 MO-2270ML 型微波炉, RE-52A 型旋转蒸发器, 752 紫外可见分光光度计, 恒温水浴锅, 植物粉碎机, 筛子, 10mL 刻度试管, 移液管, 容量瓶等。

1.2 实验方法

1.2.1 原花青素的提取

粉碎(依次通过 10、20、30、40 目筛)? 脱脂(加入 4 倍体积石油醚混合均匀后, 静置 8h, 石油醚脱去油脂, 型旋转蒸发器 25 蒸干)? 浸泡(加入提取剂, 浸泡一定时间)? 微波辐射提取? 过滤? 定容到 200mL。

1.2.2 原花青素含量的测定

采用正丁醇盐酸法进行测定^[19, 20]。

1.2.3 提取率的计算

参照吕丽爽^[14]的实验方法进行。

1.2.4 浸泡时间对提取的影响

准确称取 6 份已过 20 目筛的脱脂葡萄皮籽 5.00g, 以料液比 1:15 加入水, 依次浸泡 0.5、1、2、3、4、5h 后于 380W 辐射提取 3min, 热浸 2min, 反复 2 次后过滤, 定容 200mL 测定 OD₅₄₆ 值。

1.2.5 辐射功率对提取的影响

准确称取 5 份已过 20 目筛的脱脂葡萄皮籽 5.00g, 以料液比 1:15 加入水, 浸泡 1h, 依次置于 140、235、380、520、700W 5 个档辐射 3min, 热浸 2min, 提取两次, 合并过滤, 定容到 200mL, 测定其提取液 OD₅₄₆ 值。

1.2.6 辐射时间对提取的影响

准确称取 5 份已过 20 目筛的脱脂葡萄皮籽 5.00g, 以料液比 1:15 加入水, 浸泡 1h 后置于 380W 依次辐射 1、2、3、4、5min, 热浸 4、3、2、1、0min, 提取两次, 合并过滤, 定容到 200ml, 测定其提取液 OD₅₄₆ 值。

1.2.7 料液比对提取的影响

准确称取 5 份已过 20 目筛的脱脂葡萄皮籽 5.00g, 依次以料液比 1:6、1:12、1:15、1:18 加入水, 浸泡 1h 置于 380W 辐射 3min, 热浸 2min。提取两次, 合并过滤, 定容到 200mL, 测定 OD₅₄₆ 值。

1.2.8 葡萄皮籽粉碎度对提取的影响

依次准确称取已过 10、20、30、40 目筛的脱脂葡萄皮籽 5.00g, 以料液比 1:15 加入水, 浸泡 1h, 置 380w 辐射 3min, 热浸 2min, 提取两次, 合并过滤, 定容至 200mL, 测定其提取液 OD₅₄₆ 值。

1.2.9 正交实验

在单因素试验的基础上进行了正交实验设计, 浸泡时间试验显示 1h 后 OD₅₄₆ 值不再增大, 说明 1h 浸泡已达到较好的效果, 正交实验中略去。选择微波辐射功率、辐射时间、溶剂量、葡萄皮籽破碎度 4 因素, 并固定 4 个水平, 不考虑交互进行正交实验(见表 1)。

表 1 微波辅助提取葡萄皮籽原花青素正交表

水平	辐射功率/W	辐射时间/min	料液比	破碎度(目)
1	520	2	1:6	10
2	380	3	1:10	20
3	235	4	1:14	30
4	140	5	1:18	40

1.3.10 提取级数的确定

在最佳工艺下进行反复提取 5 次，前两次合并定容到 200mL，3、4、5 次分别定容到 200mL，测定其 OD_{546} 值。所有实验处理均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 浸泡时间对提取的影响

从表 2 可以看出，在浸泡超过 1h 后提取液的吸光度(OD_{546})提高不大，可以说明提取物料其内部含水在经过 1h 浸泡后已经接近饱和；在 5h 后有所下降，原因可能是原花青素为还原性物质，与空气接触时间长而发生氧化，因此，1h 是较佳的浸泡时间。

表 2 浸泡时间对提取效果的影响

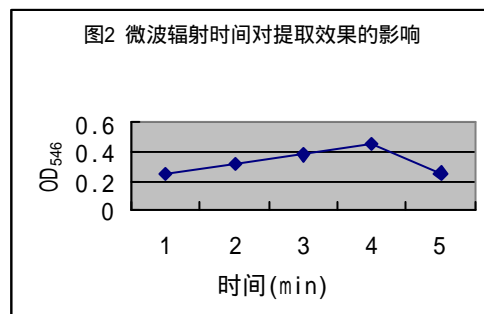
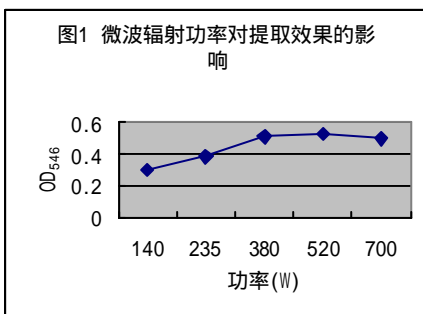
时间 (h)	0.5	1	2	3	4	5
OD_{546}	0.2583	0.5403	0.5343	0.5493	0.5427	0.5133

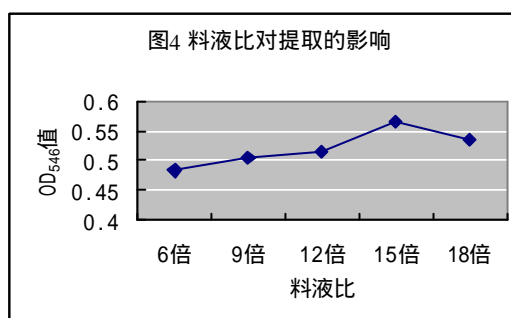
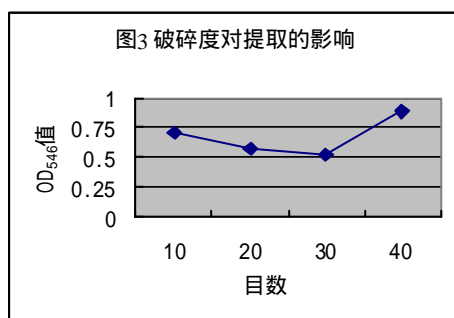
注：料液比 1:15，辐射功率 380W，辐射 3min，粉碎度 20 目

2.2 辐射功率对提取的影响

从图 1 可以看出，随着辐射功率的增强， OD_{546} 也增强，在 580W 时达到最大值，后则有所下降。当辐射时间一定时，辐射功率增强，提取溶剂吸收的微波能量越多，植物组织结构破坏增强^[20]，体系的温度升高越快，分子运动加快，渗透，扩散，溶解速度加快，但是温度太高会使原花青素结构被氧化破坏，导致提取物质含量下降。

2.3 辐射时间对提取的影响





从图 2 可以看出，随着辐射时间的延长 OD₅₄₆ 也增大，在 4min 时达到最大值。在辐射功率一定时，随着辐射时间的延长，体系吸收的微波能量越多，植物组织结构破坏增强，体系的温度越高，分子运动加快，渗透，扩散，溶解速度加快，但是温度太高会使原花青素结构被氧化破坏，导致提取物质含量下降。

2.4 葡萄皮籽粉碎度对提取的影响

从图 3 看出，40 目粉碎度提取效果最好。物料粉碎度越大，浸提表面积越大，扩散越容易，其提取效果越好^[14, 16]。但是 10 目的比 20 目、30 目提取效果还好，可能是发酵后的葡萄皮原花青素含量较葡萄籽低，葡萄皮与蛋白质分布不均造成的。

2.5 料液比对提取的影响

如图 4 显示，随着溶剂比例的增加，OD₅₄₆ 值增大，当液料比达 1:15 时它达到最大值，这是由于过大的溶剂用量导致单位溶剂吸收的微波能量减少，从而影响提取效果。

2.6 微波辅助提取的最佳工艺条件的确定

从表 3 和表 4 可以看出，最佳提取工艺条件为：A₂B₄C₄D₄，即微波辐射功率 380W，微波辐射时间 5min，提取料液比 1:18，葡萄皮渣粉碎度 40 目；四因素优先次序为：1 粉碎度，2 辐射功率，3 辐射时间，4 料液比，且辐射功率和葡萄皮籽粉碎度对提取有显著影响。

表 3 微波辅助提取葡萄皮籽原花青素正交实验结果

实验号	因素				吸光度		
1	1	4	1	1	0.6663	0.6657	1.3320
2	1	1	3	2	0.5357	0.5620	1.0977
3	1	2	4	3	0.4810	0.5217	1.0027
4	1	3	2	4	0.8233	0.8273	1.6506
5	2	1	1	3	0.4033	0.5253	0.9286
6	2	4	3	4	0.9669	0.9693	1.9383
7	2	3	4	1	0.7110	0.7253	1.4363
8	2	2	2	2	0.6233	0.6253	1.2486
9	3	2	1	4	0.7580	0.7737	1.5587
10	3	3	3	3	0.3870	0.3850	0.7720
11	3	4	4	2	0.5260	0.5233	1.0493
12	3	1	2	1	0.4747	0.4880	0.9627
13	4	3	1	2	0.3300	0.3272	0.6573
14	4	2	3	1	0.3290	0.3337	0.6627

实验号	因素				吸光度		
15	4	1	4	4	0.7423	0.7400	1.4823
16	4	4	2	3	0.4210	0.4170	0.8370
T1	5.0427	4.4768	4.4713	4.358			
T2	5.5518	4.6958	4.4739	4.0529			
T3	4.3429	4.4707	4.5162	3.5403			
T4	3.6393	4.9706	5.1566	6.6299			
R	0.5781	0.1696	0.1713	0.7724			
较优位级	A2	B4	C4	D4			
因素次序	2	4	3	1			

表4 结果方差分析表

方差来源	偏平方差和	自由度	均方	F 值
A	0.2138	3	0.0713	9.7671**
B	0.0175	3	0.0058	<1
C	0.0436	3	0.0145	1.9891
D	0.6576	3	0.2192	30.0274**

注： $F_{0.05}(18,3)=3.16$, $F_{0.01}(18,3)=5.09$

2.7 提取级数的确定

由表5可知,在最佳提取工艺条下,经过两次提取,其提取率为53.17%,经三次提取,提取率为60.84%,经四次提取,提取率为64.17%,第五次提取率仅为1.55%可以略去。

表5 提取级数结果表

提取级数	1-2 合并	3	4	5
OD ₅₄₆ 值	0.992	0.1431	0.0621	0.029
提取率(%)	53.17	7.67	3.33	1.55

注：酒精提取前三次合并液经稀释10倍后OD₅₄₆值为0.1577,四五次合并液OD₅₄₆值为0.2897,第六次液OD₅₄₆值为0。

3 讨论

本实验的三次提取率为60.84%，低于吕丽爽^[16]用61%的乙醇，以1:7的液料比，50℃提取30min的提取率94.04%；但是高于热水提取2h的提取率50%^[16]，这可能与溶剂的选择性有关。汪兴平等^[18]在微波提取茶叶中茶多酚的研究中，应用微波辐射处理，然后保温提取，即微波辐射提取2次后，在50℃保温提取1次，取得了好的效果，提取率90.73%，本试验也设计了在微波辐射提取2次后50℃保温提取10min，但是效果不很明显。尽管本实验提取率不高，但微波辐射加热时间短，能耗小，提取成本低等特点，与热水提取相比在短的时间中获得提取率更高，可见微波对葡萄皮籽中原花青素的浸提有促进作用，探讨使用其他溶剂进行微波辐射提取葡萄皮籽中原花青素的试验，需进一步研究。

参 考 文 献

1. 王宪楷.天然药物化学.北京：人民卫生出版社，1990

2. 高锦明.植物化学.北京：科学出版社，2003
3. Yamakosh J, Ktoka S, loag T, etal. Prounthocyanidin Rich Extract from Grape Seeds Attenuaters the development of Aortic Atherosclerosis in Cholesterol Fed Rabbits. *Atherosclerosis*,1999,142(1):139
4. Sinatra ST, Demarco J. Free Radicals Oxidative Stress, Oxidized Low Density Lipoprotein(LDL), and the Heart: Antioxidants and Other Strategies to Limit Cardiovascular Demage. *Coon Med*,1995,59(10):579
5. 崔介君, 孙培龙, 马新. 原花青素的研究进展, *食品科技*, 2003 (2) :92
6. 万本屹, 董海洲, 刘传富. 原花青素及其应用, *中国食物与营养*, 2001 (6) :15
7. 国植, 徐莉. 原花青素: 具有广阔发展前景的植物药, *国外医药. 植物药分册*, 1996, 11 (5) :196
8. 陈晓玲. 植物药中原花青素的抗氧化作用, *中国中药杂志*, 2003, 28(8) : 700 ~ 702
9. 赵超英, 姚小曼. 葡萄籽提取物原花青素的营养保健功能, *中国食品卫生杂志*, 2000, 12 (6) : 38 ~ 41
10. Bourzeix M, Weyland D, Heredia N. A study of catechins and procyanidins grape clusters the wine and other by-products of the wine. *Bull OIV*,1986,59:1171 ~ 1254
11. Weinges K, Pirett M. Solie rung procyanidins BI Aus Weintrauben . *Liebigs Annchem.*,1971,748:218 ~ 220
12. Torres J, Bobet R. New flavanol-derivatives from grape by products antioxidant aminoethylthio-flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as source of flavanols. *Agric. Food Chem.*,2001,49:1740 ~ 1746
13. 赵文军, 吴雪萍, 王旭. 葡萄籽中低聚原花青素提取条件研究, *食品科学*, 2004, 25(2):117~120
14. 吕丽爽. 葡萄籽中低聚原花青素提取工艺初探. *食品工业科技*, 2002 (1) : 17 ~ 19
15. 张代佳, 刘传斌, 修志龙等. 微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用, *中草药*, 2000, 31(9) :5 ~ 6
16. 覃勇军, 黄道战, 石灵高, 叶威梅. 微波萃取茶叶中茶多酚工艺改进, *广西民族学院学报(自然科学版)*, 2002,8(4):36 ~ 38
17. 王娟, 沈永嘉. 葛根中有效成分的微波辅助萃取的研究, *中国医药工业杂志*, 2002, 33 (8) 382~385
18. 郝金玉, 韩伟. 新鲜银杏叶经微波辅助提取后微观结构的变化, *中草药*.2002, 33 (8) : 739 ~ 741
19. 姚开. 葡萄籽提取物中原花青素含量不同测定比较方法. *化学研究与应用*, 2002, 14 (2) : 230 ~ 232
20. 傅武胜, 蔡一新, 林丽玉. 铁盐催化比色法测定葡萄籽提取物中原花青素, *食品发酵工业*, 2001, 27(10) : 59 ~ 61

Study on Extracting Proanthocyanidins in Grape Seed by Microwave

Yuan Chunlong¹, Ren Yamei², Zhang Yulin¹ and Yang Yongping¹

(1 College of Enology, 2 College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University,

Yangling, Shaanxi, 712100 China)

Abstract In this paper, it is studied that proanthocyanidins of grape seed is extracted with water by microwave. The result shows that the optimal extraction condition is microwave power 380W, microwave time 5 min, material-water ratio 1/18, crushing grape seed 40 meshes, and the proanthocyanidins extraction ration reached 64.17%.

Key words Oligomeric proanthocyanidins; Microwave; Grape seed; Extraction

Le Marche Mondial Du Vin

Colin Gérard

(*Shanxi Grace Vineyard Ltd., Taigu, Shanxi 030800 China*)

Résumé Ce marché doit être analysé selon deux axes : la production et la consommation. Il n'échappe pas au phénomène de mondialisation avec un certain retard par rapport aux autres secteurs de l'agroalimentaire, de l'industrie, de la finance. Cette évolution est due en particulier à l'émergence des nouveaux pays producteurs (NPP) et à la baisse de consommation des pays traditionnellement producteurs (APP).

Clef Production ; Consommation ; Mondialisation

1 Evolution de la production mondiale

La production mondiale devrait se situer en 2005 entre 223 et 240 millions d'hectolitres selon l'OIV

Il y a une surproduction mondiale comprise entre 45 et 85 millions d'hectolitres.

Globalement de 1970 à 1994 la superficie du vignoble mondial est en baisse (10 millions ha en 1970, 7,7 millions d'ha en 1994), cette tendance est générale, plus accentuée dans les anciens pays producteurs (APP) 30% mais aussi dans les nouveaux pays producteurs (NPP) USA -3%, Argentine -20%, Chili -2%.

Puis la superficie mondiale repart à la hausse et aurait progressé de 164 000 ha entre 1998 et 2000.

Cette progression est due aux NPP, car si on compare l'évolution des surfaces des APP à celle des NPP :

i. APP : Stabilisation autour de 3 600 000 ha

ii. NPP : 4 357 000 ha soit une augmentation de 184 000 ha

Evolution des surfaces totales des vignobles hors de l'Union Européenne : en milliers d'ha

ANNEE	1999	2002	%
Etats Unis	384	412	+ 7,29
Argentine	208	207	- 0,5
Chili	158	180	+ 13,9
Afrique du Sud	115	117	+ 1,74
Australie	123	159	+ 29,27
Nouvelle-Zélande	12	15,5	+ 29,17
Moldavie	149	170	+ 14
Hongrie	99	90	- 10
Roumanie	253	230	- 10
Bulgarie	114	108	- 5,55
Autres pays d'Afrique	212	220	+ 3,77
Autres pays d'Amérique	139	153	+ 10
Autres pays d'Europe	726	705	- 3

Asie	1481	1590	+ 7,36
Dont Chine	200	250	+ 25
Total Union Européenne à 15	4173	4357	+ 4,4

Estimation de la superficie mondiale : en milliers d'ha

1999	2000	2001	2002
7721	7889	7927	7943

Si on rapproche l'ensemble de ces chiffres il apparaît une certaine imprécision.

i. Mais il s'agit de d'estimations et la somme du tableau par pays serait supérieure de 9,8% à l'estimation de la production mondiale.

ii. Le rendement à l'ha n'ai pas non plus cohérent :

1. Au niveau mondial : 220 000 000 hl pour une surface arrondie à 8 000 000 ha soit 27,5 hl /ha

2. Pour la Chine par exemple la production estimée est de 4 000 000 hl pour une surface de l'ordre de 250 000 soit un rendement de 16 hl /ha ce qui est une aberration quand on connaît les rendements en Chine qui s'approchent plus de 100 hl /ha.

3. Ces Chiffres ne sont pas beaucoup plus cohérents pays par pays :

pays	surface ha	volume hl	rendement /ha
Espagne	1 228 000	42 500 000	35
A du sud	117 000	7 189 000	61
France	912 000	49 880 000	60
USA	412 000	20 450 000	50
Australie	159 000	11 550 000	73
Chili	180 000	5 752 000	32
Italie	898 000	42 500 000	47

En fait ils prennent en compte l'ensemble de la production de raisins, incluant, jus de raisins, concentrés, eaux de vie, vinaigre.

La production mondiale de raisins est estimée à 61 100 000 T dont 15 000 000 de raisins de table et 1150 000 de raisins secs.

Les millionnaires de la production du vin sont au nombre de 7 : France, Espagne, Etats-Unis, Argentines, Chine, Australie.c'est le top 5 des producteurs de vin dans le monde.

PAYS	Production (milliers d'hl)	Part de la production mondiale	Croissance PDM 2001/1990
1- France	5572	20%	- 0, 3%
2- Italie	5023	18%	- 5,2%
3- Espagne	3638	13%	+1,1%
4- Etats-Unis	2500	9%	+ 4,2%
5- Argentine	1351	5%	- 2,1%

2 Evolution de la consommation mondiale

En 2004 la consommation mondiale de vin a passé la barre des 30 Milliards de bouteilles. Elle devrait atteindre les 31,66 Milliards en 2008.

Cette consommation évolue inversement dans les APP et les NPP.

Elle baisse dans les APP et progresse lentement dans les NPP sauf en Argentine que l'on peut assimiler aux APP.

Pays	l/cap	Observations
<u>APP & Europe</u>		
France	54,16	Cette consommation était de 170 dans les années 1970 , elle a baissé de 19,1 % entre 1996 et 2003
Italie	47,5	Elle baisse aussi régulièrement de 2% depuis 1999.
Suisse	41,4	Hausse de 4,2% depuis 1999
Argentine	33,68	Elle était de 53,59 litres en 1990 et de 75,67 litres en 1980, soit en 13ans une baisse de plus de 55,5%
Espagne	33,8	Baisse de 10,3%
Benelux	31	Elle est stable
Angleterre*	17,5	Une des croissances la plus forte. Estimation 2011 soit +25%
Irlande*	17	
Allemagne*	24,4	D'ici 2011 croissance estimée de 28,6%
Pays bas *	22,6	
Danemark*	33	
Suède*	18,75	
Finlande*	8,72	
Norvège*	10,00	
		Avec l'Angleterre, ces pays représentent la plus forte croissance, soit près de 75% de l'augmentation de la croissance mondiale de la consommation d'ici 2008.
* Slovaquie	12,6	
<u>NPP</u>		
Etat Unis	8	Estimation : en 2008 elle devrait atteindre 9,4 l
Québec	16,5	
Chili	14,6	
Afrique du Sud	9,18	elle se stabilise.
Australie	22,2	
Autres NPP		Stagnation ou faible progression
Japon	2,8	
Chine	0,36	Une progression de l'ordre de 10% par an devrait amener La consommation à +/- 1 litre en 2011

L'évaluation de la consommation par pays est difficile à établir, car il y a des distorsions lorsque l'on rapproche les chiffres selon les sources d'information.

La tendance de l'évolution de la consommation est globalement faible.

Les Etats-Unis deviendrait en 2008 :

le premier pays consommateur en volume (27,66 millions d'hl).

Cette modeste augmentation mondiale ne devrait pas permettre de résorber la surproduction endémique qui selon L'OIV devrait atteindre en 2005 entre 45 et 85 millions d'hl.

	VIN	BIERE	Spiritueux	Jus de fruits	Softs D	Eau miné.
1960	126,9	35,4	2			
1970	109,13	41,25	2,3	2,49	18,5	34,6
1980	91	44,31	2,52	2,61	23,3	47,1
1990	73,1	41,5	2,5	8,5	37,6	76
1999	57,2	38,7	2,4	69	36	108

Concurrence des différentes boissons : il est intéressant de voir comment évolue la consommation des différentes boissons, la France est un bon exemple :

Il y a donc une corrélation entre les différentes boissons, diminution de la consommation de vin augmentation de la consommation de jus de fruits, softs drinks, eaux minérales. Cette constatation pourrait se faire pour chaque pays.

Ce qui est intéressant ce sera de voir comment cette consommation va évoluer en segmentation de marché.

3 Evolution de la commercialisation = phénomène de mondialisation

Il y a une globalisation du marché du vin et restructuration des entreprises multinationales.

Il y a une croissance exponentielle du marché international du vin (+140%)

i .du fait de l'évolution mondiale de la consommation

ii .de l'intensification des échanges internationaux

iii .de la politique agressive des NPP (Australie, Chili, Californie) depuis les années 1980.

Cette globalisation progressive du marché a conduit à de nombreuses restructurations.

Une vingtaine d'entreprises Leaders (MFWI) prend une part importante du marché, à côté de celle-ci subsiste un nombre important de petites entreprises. (MFWI : Multinationals Firms of the Wine Industry)

Pays	Grandes Firmes	CA « vins »M.\$	Poids
Etats-unis	<u>6 firmes</u> : Gallo, Constellation, Mondavi, Brown-Forman, Wine Group, K. Jackson	4441	32%
France	<u>5 firmes</u> : Castel, LVMH, Pernod Ricard, Grands Chais de France, Val d'Orbieu	3355	24%
Australie	<u>3 firmes</u> : Forster/Beringer Blass, Southcorp, BRL Hardy	2328	17%
Royaume-Uni	<u>2 firmes</u> : Allied Domecq, Diago	2034	14%
Allemagne	<u>3 firmes</u> : Oetker/Henkell, Gunter Reh/Schloss Wachenheim, Rotkäppchen	1403	10%
Espagne	<u>1 firmes</u> : Freixenet	455	3%
TOTAL		14 016	100%

Ces vingt firmes représentent 27% du marché mondial.

Il y a un processus de concentration de plus en plus évident. Le rachat par Constellation de Mondavi au Etats-Unis, le rapprochement difficile de Southcorp et Forster en Australie en sont l'illustration.

Le Marche Mondial Du Vin

Pays	Leaders	Part de la production	Nom des premières entreprises.
Nouvelles Zélande	4 entreprises	85%	Montana Wines Ltd, Nobilo Vintners Ltd
Afrique du Sud	2 entreprises	80%	Villa Maria Estate Ltd, Corbans
Australie	4 entreprises	60%	Distell Group Limited, KWV
Argentine	10 entreprises	50%	Southcorp , Forster Beringer Blass, BRL Hardy, Orlando Wyndham
Etats-Unis	4 entreprises	50%	Tittarelli, Bodegas y Vinedos Etchart, Bodega Chandon, Bodega Norton
Chili	5 entreprises	25%	EIJ Gallo, Constellation Brands (Robert Mondavi corp), The Wine group.
France	10 entreprises	25%	Concha y Toro, Vina San Pedro, Vina Santa Rita, Vina Santa Carolina
Portugal	10 entreprises	20%	LVMH, Marie Brizard & Roger International, Castel, Grands Chais de France, Baron Philippe de Rothschild, Pernod Ricard, Val d'Orbieu, Groupe Boisset
Espagne	10 entreprises	15%	Santa Marta, Sogrape, José Maria de Fonseca
Italie	8 entreprises	13%	Freixenet, Codorniu, Bodegas y Bebidas, Arco Bodegas Unidas
Allemagne	4 entreprises	12%	Zonin, Antinori, Ruffino, Caviro, Gruppo Italiano Vini, Coltiva, Riunite
Chine	3 entreprises	80%	Oetker, Schloss Wavhenheim, Rotkäppchen, Peters Mertes
			Changyu, Graet Wall, Dynasti

Type des opérations de restructuration :

Opération de contrôle (CT) : opérations d'acquisitions par le biais d'OPA ou de prises de participations majoritaires.

Opérations d'Alliance (AL) : prises de participation non majoritaire, création de groupes, fusion, mise en commun de moyens de production.

Opération de vente : (VT) vente totale ou partielle.

De 1996-2003 , pour les 20 FMIV il y a eu plus de 900 opérations.(49% AL).

Les FMIV des NPP réussissent mieux dans la création et le développement de « Vins de marque » . Aux Etats-Unis le total des ventes de «Vins de marque » peut-être estimé à 70% contre 15% pour les APP. Ces firmes se concentrent sur le segment des produits à prix moyen.

La segmentation du marché est suivante :

SEGMENT PRIX QUALITE MARCHE MONDIAL

	Total millions de Bouteilles		€			
	30000	0%	TOT	PU	CA m €	% CA
LUXE		1	300	33	9900	12,87
ULTRA PREMIUM		5	1500	14	21000	27,30
SUPER PREMIUM		10	3000	3,2	9600	12,48

PREMIUM	34	10200	2,1	21420	27,85
POPULAR PREMIUM & BASIC	50	15000	1	15000	19,50
	100	30000		76920	100

Ce sont des estimations (sources: Rabobank International(2003) et OIV)

84% du volume (PU<2,1€) gè nè re 47,35% du CA

15% du volume (3,2< PU<14 €) gè nè re 39,78 % du CA

1% du volume (PU>33 €) gè nè re 12,87% du CA

On retrouve en partie cette segmentation sur le marché Chinois, les vins dont le prix est supérieur à 100 RMB représentent 4% du marché.

4 Conclusion

Le commerce mondial du vin va connaître une concurrence de plus en plus féroce, les concentrations vont donner des moyens (financiers, techniques) aux groupes pour conquérir des parts de marché. L'excédent de production se résorbera, non du fait de la progression de la consommation mais du fait de disparition de vignoble de basse qualité ou de restructuration des vignobles des APP.

Ces concentrations vont se poursuivre, une vingtaine de groupes mondiaux contrôleront plus de 40% du marché.

Parallèlement existera un nombre important de petits intervenants spécialisés dans des segments de marché.

Mais il ne faut pas oublier que du fait de la mondialisation il y a de plus en plus de boissons en compétition.

Bibliographie

1. Alfredo MANUEL Coelho et Jean-Louis Raston UMR Moisa, Montpellier, Oenometrie XI Université de Bourgogne Dijon 21-22 mai 2004
2. La lettre de l'OIV N° 149 : note de conjoncture Mondiale
3. L'avenir de la viticulture française : Entre tradition et défi du nouveau Monde Rapport Sénat français.
4. La Libre Belgique : Le vin toujours en croissance, Anne Masset, mise en ligne : 03/02/2005

世界葡萄酒市场分析

Colin Gérard

(Shanxi Grace Vineyard Ltd., Taigu, Shanxi 030800 China)

提 要 本文从三个方面分析了国际葡萄酒市场：(1) 市场分析的两大指标是生产和消费。现在全球化的因素在不同程度上影响着农业、食品、工业、金融等不同行业的发展，主要表现为新兴生产国的涌现以及传统生产国消费量的增加。(2) 在葡萄酒国际市场竞争日益激烈的背景下，企业间的竞争会促使生产技术得以提高，资产得以重组，资本配置更加趋于合理，并最终提高企业产品的市场份额。(3) 要从根本上解决目前世界葡萄酒市场生产过剩的问题，不能单一使用刺激消费的手段，而是要生产具有鲜明特色的

葡萄酒，使每种葡萄酒都有自己的固定消费群体。

关键词 生产；消费；全球化

休闲、游览、探索

——葡萄酒文化、葡萄酒特色旅游与葡萄酒宣传

柯彼德

(美因兹大学, 德国)

提 要 1.葡萄美酒不但是人类最古老的文化饮料,也得到几千年以来世界上许多不同文明和宗教的重视和赞颂。因此可以说,葡萄酒文化不局限于个别文化的范围,而是跨文化的全人类的遗产。2.从古代以来葡萄酒文化和特色旅游有着密切的联系。早在罗马帝国就有人编写了描绘葡萄产地风景的游记。这是葡萄酒特色旅游的开端。在欧洲的传统葡萄种植区,葡萄酒文化和旅游业都早已相依生存。绝大部分的葡萄园位于风景如画、气候和煦的地区,同时还常常包括一些重要的历史文化景点。因此,葡萄产地一般也提供比较理想的度假环境。在各地成立所谓“葡萄酒之路”的设想就是在这个背景下形成的。另外,葡萄酒和旅游两种业务的发展同样取决于社会富裕生活水平以及由此产生的经济需求。快速发展中的中国正显示出这种趋势:一方面葡萄酒质量逐年明显提高,市场销路日益见好,另一方面中国公民国内外的个人旅游业发展飞快,特色旅游业也正在繁荣起来。3.本文进一步介绍一些推进葡萄酒特色旅游的方式,如(1)在葡萄地区创立“葡萄酒之路”和有关旅游设备;(2)定期地组织“葡萄酒节”、地区和全国“葡萄酒女王”的选举、各种葡萄酒竞赛和颁奖、葡萄酒企业的“对外开放日”、葡萄庄园和酒窖参观、葡萄酒与美食、葡萄酒与艺术、葡萄酒与音乐、葡萄酒与健康等活动;(3)安排葡萄酒品尝会、研究班和展销会;(4)联合开设地区性的通讯和销售中心;(5)同航空公司、铁路公司、高级饭店和餐厅建立合作关系,集中地扩大销路和宣传;(6)获得著名政府领导人、运动员、电影演员、烹调能手等人士的支持,在国内外宣传葡萄酒产品;(7)设计、出版、推广各种介绍葡萄酒和葡萄酒特色旅游的资料。4.上列所有措施能否成功实现的前提条件是,一个地区的葡萄酒企业和旅行社都必须协调和紧密地合作,并共同制定出长期的发展计划和市场营销策略。

关键词 葡萄酒文化;葡萄酒旅游;葡萄酒宣传

1 葡萄酒文化是跨文化的全人类的遗产

葡萄美酒是人类传统最悠久、最丰富的文化饮料,至少有一万年的历史。作为阔叶树最古老的种类之一,葡萄树(即 *vitis*)早在六到七千万年以前已经遍及到世界五大洲。各地的原始人大约很久以前自然而然地开始把葡萄当作高级食品,后来逐渐发展压榨果汁和酿造葡萄酒的工艺。不同地方的考古发现证明,葡萄酒不但不局限在世界某一个地区、不是某一个文化的专利发明,而且是与原始社会从采拾经济发展到生

产经济的过渡时期有密切关系的原始农业产品。因此，人类最早的文明几乎都达到了酿造葡萄酒工艺的比较高的水平。我认为，在世界所有的大文化中，水果酒比粮食酒的发明必须更早一些。野生水果曾是采集经济社会里的重要食品，长期存放在一个地方，就容易发酵变成果酒。而葡萄，由于糖分较高，酵母菌也自然存在，自然发酵酒的过程就比较快。粮食酒，也包括啤酒，是农业文明相当发达，粮食已成为主要食品的结果。我想，人类不同文化的考古成果都可以证明，果酒，其中最重要的是葡萄酒，是比粮食酒更早一阶段的文化饮料，因此是人类共同的遗产，而不是个别文化的成就。

1.1 欧洲与中东的葡萄酒文化

比如一万年以前诞生的两河流域的美索不达米亚文化，公元前七千年居住在土耳其地区、高加索山区和波斯北部的原始社会，都已经习惯饮葡萄酒。五千多年前，古代埃及已经开始大量地酿造和贮存葡萄酒，葡萄酒已成为商品。从那个时候起，葡萄酒业得到了快速发展。一方面，葡萄酒成为商品，装在专用的陶缸内运输到别的国家作贸易。另一方面，葡萄种植和酿酒工艺也传播到欧洲和中亚等遥远的地区。

到了公元前几个世纪，地中海周边的克里特、希腊、腓尼基、伊特拉斯坎、罗马、凯尔特等不同古代人民和民族不但把葡萄酒业发展成经济生活中最重要和市场上最有收益的农业产品之一，而且他们把葡萄酒看成神仙赐给人类的饮料，并创造了各种各样的关于葡萄美酒的神话和传说。因此，这些民族和文化把葡萄酒纳入他们的宗教思想，用葡萄酒祭祀上帝或祖先。比如，古希腊人崇拜酒神狄奥尼索斯(Dionysos)，罗马帝国人信仰酒神巴克斯(Bacchus)，犹太教和基督教是与葡萄酒文化分不开的，圣经中所提出的有关葡萄和葡萄酒的比喻到处都可以看到。而且，在举行各种宗教仪式和节日的时候至今还经常利用葡萄酒。最著名的例子是，基督教把红葡萄酒当作耶稣牺牲给人类的鲜血的化体。

在罗马帝国瓦解之后的欧洲，差不多一千年之久葡萄酒业是在基督教修道院的垄断下进入兴盛时代的，大约在10到15世纪之间许多地方的教团和修道士成为出名的葡萄酒生产基地，中世纪的修道士把葡萄栽培和葡萄酒酿造工艺推进到前所未有的高程度。一直到了今天，在欧洲、美洲和中东各地都可以发现这个传统的痕迹。法国和德国自古出名的葡萄庄园常常是那时由修道士教团所开垦的。有意思的是，中世纪的一些修道院曾订出了规定，向修道士每人每天分配一定数量的葡萄酒，有的以一或两公升为标准。在每年春天四十天的斋期，修道士和信徒们不允许吃饭，只允许喝饮料，修道士想方设法创造富于营养的饮料，这也就是葡萄酒和啤酒文化起源于修道院的主要因素。同样，营养丰富的葡萄酒和啤酒还进入了老百姓家庭，尤其是经常受到饥荒的农民的家庭将其作为营养补液。可以看出来，葡萄酒早已成了日常饮料。在中世纪高峰的时候，德国按人口平均的消费量达到了每年150公升(当前只有25公升)。

随后，葡萄酒业逐渐走出了修道院的院墙。在一千年以前的德国帝国，葡萄酒生产者、葡萄酒商人和葡萄酒桶匠开始在主要城市组织行会，经过激烈的竞争之后终于打破了修道院的垄断。从13世纪以来，这些葡萄酒行会为促进一般农民生产葡萄酒，为让葡萄酒进一步商业化和开发有关市场，为提高栽培和酿造技术的精制化，为了保证高质量和区分品种、产地和年份，并且为宣传和发扬葡萄酒文化起了主导作用。除了行会以外，1300年各个葡萄酒产区开始组织所谓的“葡萄酒兄弟会”。中世纪的时候，这些兄弟会的主要作用是把酒生产者以及各阶层饮酒爱好者联合起来，经常聚会举行酒宴、狂饮会或品酒典礼，同时进行了饮酒竞赛，一边喝酒一边唱歌、朗诵诗歌、发言赞扬葡萄美酒、交流至理名言或深思人世。

如今，虽然欧洲葡萄酒业的机制经过了一百多年的巨变，但是到处还可以发现宗教、修道士文化，葡萄酒行会和兄弟会这一传统的影响。在德国、法国、意大利、西班牙、奥地利、希腊等国家的葡萄种植区仍然有不少生产驰名酒品的旧修道院、回溯一千多年的葡萄园和古风的王侯宫殿。葡萄酒兄弟会至今也存在，在德国、法国、奥地利和瑞士既有地区性的分会，也有全国的总会。今天还有一个“国际葡萄酒兄弟会

联合会”(Fédération Internationale des Confréries Bachiques), 会址在法国巴黎。这些兄弟会当前的主要任务在于交流和普及关于葡萄酒的知识, 在宣传和推销方面也发挥作用。

有意思的是, 为了应对葡萄酒市场全球化的挑战, 最近几年欧洲的一些国家和地区为了推销自己的产品和弘扬本地的葡萄酒文化开始重温旧梦, 有目的地恢复各种文化传统。这些地区的农业和葡萄酒业的管理机构、公司、协会和合作社正在研究各种策略, 如何把有吸引力的传统因素与现代的有利条件融合在一起。这些新的措施和项目不局限于葡萄酒业范围, 反而把合作规模扩大到整个地区的服务业、消费市场、旅游业、旅馆饮食业、疗养业、交通和通讯设备等。实践表明, 这个新型的多方合作方式可以为发挥一个地区葡萄酒文化的优点产生比较理想的效果。

1.2 中国的葡萄酒文化

不久以前, 考古学家发现, 中国人大约在公元前 7000 年已经掌握了酿葡萄酒的工艺。并非天方夜谭, 而且又一次证明, 在古代时葡萄酒文化不可能只局限于一个大洲、几个国家或地区。专家早已知道, 土地辽阔的中国几百万年前也有许多土生土长的葡萄树品种。虽然汉武帝时张骞从西域, 即古代波斯, 引进葡萄的传说比较流行, 但是从《诗经》和《周礼》记载中都可以知道, 在 3000 多年以前中国不少地方长有野葡萄, 另还有人工培育的葡萄^[1]。把葡萄作为食品和农作物的古代中国领土上的民族一定早已有酿酒的知识, 这也是考古学家在陶片上发现酒石所证明的。从另一个角度来看, 考古学界越来越确认, 在夏和商代的时期已经存在着同西方的交流和贸易, 不能否定酒类和酿酒知识也必定是其中的一部分。

虽然仰韶文化以来中国的正宗酒为粮食酒, 但是葡萄酒在上古时期和以后的一些朝代也处于重要的地位。汉朝和魏晋南北朝时期是葡萄酒文化的兴起, 到了唐代才是葡萄酒文化的繁荣时期。虽然以后从明朝到清朝末葡萄酒文化几乎全部都消失而被遗忘了, 但是可以说, 这差不多一千年的盛行时期表明, 中国的葡萄酒文化历史与欧洲和中东一样悠久、一样丰富。

在延续三百年的中国的黄金时代——唐朝, 喝葡萄美酒的习惯不再是贵族和文人的特权, 而是老百姓之间非常流行的。几万首唐诗之中相当大的一部分是谈到饮酒。据统计, 李白、杜甫和白居易的诗文中差不多有三分之一提出饮酒。还有其他不计其数的诗人赞颂了葡萄美酒。“饮酒”的意思那时大多指的是喝葡萄酒的意思。他们的诗歌中对葡萄酒的美称是璀璨夺目的, 如“绿酒、清酒、金液、琥珀光, 清茗空”等, 都表扬出葡萄酒的特殊颜色、芳香和独一无二的美味。

如果进一步研究葡萄酒在唐朝如此流行的原因, 就会发现, 与欧洲和中东葡萄酒文化同样, 宗教思想也发起了一定的推动作用。魏晋南北朝兴起的道教思想, 对“道”和“真”的追求, “炼丹服药, 迄求长生不死的求仙术”等观念, 再加上那时进入中国的佛教的一些影响, 都是与唐朝的葡萄酒文化和文学成就不可分开的。

看来, 唐朝如果没有葡萄酒文化, 恐怕至少三分之一的诗文都不可能存在。最近一位中国的学者结论说: “没有酒的推波助澜, 唐代文化的魅力不知要逊色多少, 而有了酒的催助, 才产生了诗人笔下的皇皇巨作, 有了酒的激发, 才产生了唐代酒文化的代表人物, 也即唐代酒文化的象征性符号——李白。”^[2]我估计, 绝大多数的中国人尚未清楚这一点: 假如那时中国没有这么丰盛的葡萄酒文化, 唐朝不大可能成为中国历史上的文学黄金时代, 也许也不会有李白、杜甫、白居易、刘禹锡、王翰等有名的诗人。值得进一步研究的是唐朝的书法和绘画到什么程度也受到了葡萄酒文化的影响。

总之, 同其他大文化一样, 中国历史上也有值得多研究的葡萄酒文化繁荣时期, 而且, 不但是对西方也是对中国来说, 葡萄酒虽然在个别的文化和社会的历史当中得到了此起彼伏的发展, 但是可以说, 葡萄酒是人类最古老的文化饮料。粮食酒(啤酒)、蒸馏酒(白酒、烧酒)、茶、咖啡等饮料及其文化都是数千年或

数百年以后才出现的。葡萄酒得到了几千年以来世界许多不同文明和宗教的重视和赞颂。所以葡萄酒文化不局限于个别文化或民族的范围，而是跨文化的全人类的遗产。

2 21 世纪是葡萄酒成为整个人类文化饮料、葡萄酒文化迈向全球化新台阶的时代

中欧在 17 世纪初发生了三十年战争(1618-1648 年)，对葡萄酒业造成了巨大的损失和倒退。但是，从 15 和 16 世纪起，葡萄酒业开始遍及到南北美洲和非洲，并先后在智利、阿根廷、墨西哥、巴西、美国俄亥俄和加州、加拿大、南非、阿尔及利亚等国家打下了葡萄酒业的基础。19 世纪中，澳大利亚、新西兰和日本也开始开垦葡萄园和酿造葡萄酒。随着技术和生产业的发展，到了 19 世纪末，不但是西方的葡萄酒业，中国的葡萄酒业也得到恢复，并走上了科学技术生产、工业机械化和批发市场的轨道。20 世纪战争几十年的干扰之后，中西方的葡萄酒也发生了前所未有的飞速发展。但是，经过一段强调大量生产的时期，到了上个世纪的 70 和 80 年代才发生了质的飞跃。面对在世界范围内葡萄酒生产过剩的威胁，主要的葡萄酒生产国组织起来了，并逐步定下了限制数量、提高质量的各种规定，尤其在欧盟的范围内有关规定处理得十分严格。到了 20 世纪末，几乎所有的葡萄酒生产国都各自落实了有关国内的法规。在全世界的范围内，“国际葡萄与葡萄酒组织”(OIV) 越来越发挥了管理和协调作用。尽管传统的葡萄酒生产国，即主要是欧盟的国家，已经制定出比较齐全和严密的法律标准，但在中国、美洲、澳洲和南非这些生产区还缺少保证质量的基本规定，并需要进一步完善各种标准。实现有关国际的通用法规和标准是顺利地发展国际葡萄酒市场的先决条件。

在全世界范围内，目前葡萄酒供过于求引起了非常激烈的竞争，对生产者很不利，当然另一方面对消费者有价格到处降低的优点。但是从长期的观点来看，葡萄酒质量虽然在提高，价格却在下跌，今后一定会影响生产者追求高质量的积极性，最终违背各国提高质量的崇高目标。其中葡萄酒业与其他饮食品一样，有着将来走上“麦当劳老化”道路，也就是把产品用伪装的质量标准大量地抛入市场的危险。

世界的葡萄酒市场已经成为相互排挤的市场。生产国国内和出口市场上的竞争越来越激烈^[3]。举例来说，德国葡萄酒消费好几年以来比较稳定，国内生产量也控制到一定的水平，但是，不管德国自己所生产的葡萄酒的质量日益提高，站在全球的最前列，价格也比较合理，从海外，即美国加州、南美、澳大利亚、南非进口的葡萄酒却逐年在增加，造成了廉价倾销，对国内生产者十分不利的严重后果。最近几年，德国的葡萄酒大小企业、合作社、地区性的和全国的协会开始组织起来，同政府和地区有关当局、广告公司、旅行社、推销中心、商店、旅馆、饭馆、设计家、艺术家、音乐家、医务界等单位 and 人士开展各种形式的合作，以便寻找发扬葡萄酒文化、普及葡萄酒知识、培养对葡萄酒兴趣和爱好的新途径。他们的设想和行动当然都以吸引客户、反对进口倾销产品和保护国内市场为目标，但是，除此之外更重要的目的是，为了发扬和宣传葡萄酒的地方色彩、悠久传统和高级工艺、多样化和个性化，而且为了使客户亲身体会和信服保留和增加高质量的必要性做出一切努力。

中国的葡萄酒市场与世界其他国家不同，不是排挤市场，可以算是增长市场。到了目前为止，全国每年人均葡萄酒消费量约 0.25 公升，这相当于德国的 1%，法国的 0.5% 左右。因此，中国葡萄酒市场的发展潜力比其他国家大得多，甚至可以说，中国是世界上唯一的远远没充分挖出葡萄酒消费潜力的国家。因此我认为，中国葡萄酒业在 21 世纪初面临的重大任务是：

(1) 在国内宣传和普及葡萄酒的悠久传统和各种优点的知识。这一点包括，对中国古代的葡萄酒文化和历史多进行研究，并在媒体多发表有关资料 and 知识。

(2) 千方百计地开展全国措施 and 广告行动，在同时提高葡萄酒质量和标准化的前提下，逐步反对和

克服葡萄酒当作“西方又昂贵又奢侈的进口产品”或者把葡萄酒只看成“大款”阶层饮料的保守印象和成见，让葡萄酒变为老百姓日常生活以及、美味可口又健康的饮料。有的人说，中国的饮食传统不容易改变。但是看到中国 25 年以来的改革和开放，至少城市里各阶层消费者的习惯在许多方面发生了令人惊奇的变化，比如可口可乐在 80 年的期间还是很高贵的饮料，到了现在就变成了很普通的日常消费品。

(3) 充分发扬中国各地葡萄酒企业的独具风格，发扬自己产品、产地土壤和气候条件、葡萄和酒的品种、酒的年份、原产地命名酒、历史和文化背景、交通和旅游条件等特点。不管是大的或小的企业，争取尽早勾画每家企业的清晰轮廓，在市场发挥和标出各铭牌和商标的独特性。比方说，目前沙城、昌黎、蓬莱三个不同地方和不同风格的大公司都打着“长城葡萄酒”的牌子，而且都把长城作为酒瓶标签和广告资料上的标志，我认为对一般的，尤其是外国的客户来说，识别程度非常不清，在市场上容易造成混淆，对各家公司的名誉不利。

(4) 团结力量，力求合作，利用国内的一切渠道和资源，大力开展这些方面的宣传活动。我在下面想提出一些在德国最近实现得比较成功的例子来谈谈初步的想法。

3 发扬葡萄酒文化和葡萄酒特色旅游

葡萄酒爱好者到底是什么样的人？他很讲究自己的生活方式，偶尔喜欢度过休闲和舒畅的生活，除了获得了葡萄酒的基本知识还懂得辨别和鉴赏不同生产者、产地、品种和年份的葡萄酒，同时是美食爱好者，另外他对文化和旅游怀有深厚的兴趣。这样，他不但取乐于休闲和美酒佳肴，而更重要的是，他对自己品酒能力和对葡萄酒质量的要求特别高。因此，他的探索，甚至探险精神尤其突出。他追求各种机遇探索 and 了解葡萄酒的原产地、酿造条件、新的品种、美酒和美食的匹配关系、美酒和美丽环境的相称、历史和文化背景等。爱好葡萄酒的修养不只来源于一个社会、一个文化或者一个哲学派别，而反映了跨文化的个人性格。饮酒观月的习俗在欧洲也好，在中国也好，从古代以来都与葡萄酒密切相关。

中国社会的生活条件逐年改善，正在迈向小康水平，对生活条件的要求也越来越高。举例来说，近几年以来大城市里都开设了一系列美食餐厅或美食街，很受大众的欢迎。在旅游方面，除了一般的景点旅游以外，最近还出现了各种各样的特色旅游规划，如生态旅游、环保旅游、红色旅游、华侨回乡旅游、文化和艺术旅游、考古旅游、少数民族文化旅游等项目。为了满足客户趋于专门化的要求，有些旅行社刚开始把他们的业务重点放在各种特色旅游项目。

葡萄酒文化十分符合正在过渡时期的中国社会的各种新兴要求和这一新趋势。针对希望同时休闲遣兴、品味美酒佳肴、欣赏文化娱乐、探索新奇道路、漫旅优美自然的客户规划出中国国内的葡萄酒特色旅游项目，将来一定具有广阔的市场前景。

3.1 发展葡萄酒特色旅游

早在公元 4 世纪，罗马诗人奥索尼乌斯(Ausonius)漫游波尔多(今法国)和摩泽尔河、莱茵河(今德国)等葡萄种植区，并留下了用拉丁文写的赞颂该地区景色的记录和诗歌。他是欧洲历史上第一个描绘美丽如画的葡萄园的诗人，大约也是古代第一个葡萄酒文化旅游者。以后，一代一代的文学家和名人记载了漫游葡萄酒地区的所见所闻。这就是葡萄酒特色旅游的起源。

如今，为了促进葡萄酒业并吸引更多的外地客户和投资商，20 世纪末以来欧洲国家的大多数葡萄酒生产区的机关和企业联合规划了该地区的发展旅游业以及完善市场的战略。刚开始的时候，由于需要地区政府、经济、服务业和旅游业的多方组织与合作，曾出现不少有待解决的问题，如各不同类型的单位效率最高的合作方式、制定出葡萄酒旅游业发展和行动规划、选定极有诱惑力的旅游胜地和葡萄酒产地、设计最

佳旅行线路、筹备全年的葡萄酒文化活动、创造各种基本设施——尤其是建立住宿和酒店市场、交通和信息网、旅行服务中心、葡萄酒品尝和展销地点、文化娱乐场所等。最终的目的是采用最良好的方式实现旅游、观光、消闲、休养、饮酒、美食、文艺、娱乐、交际、探索等要求的理想结合。

3.2 实现“葡萄酒之路”的项目

绝大部分的葡萄园位于风景如画、气候和煦的地区，同时还常常包括一些重要的历史文化景点，如德国普法尔茨、摩泽尔河和莱茵河地区的数百个中世纪古堡、别致的古老教堂和罗马帝国的遗址。这样，葡萄产地一般提供比较理想的度假环境。另外，欧洲国家的旅游业出现了一些新趋势，比如城市近郊旅游、短期旅游、周末旅游、节日旅游、文化旅游、体育旅游、探险旅游等形式。这些常常不超过两、三天的旅行，由于安排比较紧密和集中，费用也可能稍微高一点，就叫做“高质旅游”。葡萄酒旅游业也就属于这一类，在欧洲已经成为相当重要的经济因素。

在主要的葡萄种植区成立所谓“葡萄酒之路”的设想就是在这个背景下形成的。“葡萄酒之路”的项目到处都大大促进了葡萄酒文化的宣传和地区性的旅游业。欧洲第一条葡萄酒之路是位于德国西南部普法尔茨地区并于1935年成立的“德国葡萄酒之路”(Deutsche Weinstrasse) 这条85公里长的公路经过辽阔的葡萄园、优美的风景以及驰名世界的秀丽葡萄酒乡村和庄园，沿路的葡萄酒家庭企业、酒窖、旅馆、餐厅、酒吧、旅游通讯设备、文化景点都上好几百个。另外为徒步旅行者还设立了引入幽静山坡的小路网络，其中在不同的地方专门设置了“葡萄酒教育小路”。

鉴于对发展地区性经济和旅游业的优点，1993年欧盟国家一起办起了“狄奥尼索斯”(“Dionysos”)葡萄酒之路项目。这个项目是欧盟也提供资助的。据“欧洲葡萄种植区联盟”(Assemblée de Régions Européennes Viticoles = AREV) 统计，2002年在欧洲的9个国家已经有215条葡萄酒之路，其中绝大多数在意大利，一共98条。为了进一步发展和完善各国葡萄酒之路的条件，欧盟议会还成立了一个名为“葡萄酒·传统·质量”委员会。欧洲国家的葡萄酒之路项目是在欧盟和本国法律规定的基础上而实现的，主要目的是，对沿路设计、旅行和食宿条件、名胜和文化景点、各家酒庄说明、路牌和标志、旅游图和旅游指南等进行严格的质量控制和标准化。每一条葡萄酒之路按规定必须分别成立由葡萄酒产业和地区政府代表所组成的管理委员会和行动计划委员会。

由于欧洲葡萄酒之路的项目非常成功，南北美、南非、澳大利亚、新西兰的新兴葡萄酒生产区最近也落实了类似的项目。这样，除欧洲之外，还有40条葡萄酒之路，全世界目前共有近250条。^[4]到了现在各国葡萄酒之路的旅游业已经成为“高质旅游”的热门业务，并开辟了面对激烈竞争的新型市场。

正在兴起的葡萄酒生产国——中国也应该考虑设计葡萄酒之路。比如，山东北部威海、烟台和蓬莱之间的沿海公路，是中国葡萄酒业最有传统、葡萄酒企业比较集中、风景秀丽、空气清新、休闲度假、名胜充足的理想地带。

3.3 组织葡萄酒企业和葡萄酒旅游业的团体

为了共同发展业务、管理质量规定和保护各家企业的利益，欧洲各国既有全国的，也有地区的葡萄酒生产者联合会。他们另从事各种旅游和宣传工作。

以意大利为例，全国各地建立了名为“Enoteca”的葡萄酒咨询、品尝和展销中心。由于这个项目非常成功，也引起国外注目，有些国家开始参照组织葡萄酒服务中心。意大利还有一个由415大小城市和村庄组

我已于2002年4月在西北农林科技大学葡萄酒学院召开的国际葡萄与葡萄酒学术研讨会上介绍过德国和普法尔茨地区的葡萄酒业概况，见柯彼德著：“德国的葡萄酒生产、发展与经营”，《佳酿资讯》，2003年第2期第22-30页；“德国葡萄酒行业在欧盟中的地位”，华夏酒报，2003年2月28日第3版。

AREV以大约60个欧洲葡萄种植区为代表，主要任务是，在全球化的情况下为欧洲的葡萄酒实行宣传和质量保证。

成的“葡萄酒城镇联合会”(Associazione delle Città del Vino)和一个由 730 葡萄酒企业组成的“葡萄酒旅游业促进会”(Movimento del Turismo del Vino)。这两个组织不但负责与葡萄酒业和旅游业有关的事务,而且对其他领域也具有影响,比如在城市规划方面行使建议权。^[4]他们也创造了“Enoturismo”(葡萄酒旅游业)和“Enogastronomia”(葡萄酒饮食业)这两个今天在意大利很时髦的新概念。

3.4 组织葡萄酒展销会、葡萄酒节等活动

欧洲有名的葡萄酒产地每年四季都举行五彩缤纷的宣传和推销活动。以“德国葡萄酒之路”为例,2005 年一共有 458 个项目,其中包括 19 个葡萄酒展销会、172 个各村庄的葡萄酒节(一般为期两到四天)、11 个较大的“娱乐节日”和 256 个单独庄园的联欢会。葡萄酒展销会也都包括许多品酒和同每个生产者直接联系的机会。大地区的展销会经常有近一百家企业参加,他们酒的品种是经过严格竞选才允许展出。有时,各家的庄园举行“开门之日”,同时常常组织艺术展览、音乐会或美食节,这是给本地人和外地人介绍自己产品、促进生产者和客户对话的良好机会。2004 年开始的项目是,一个村庄的九家葡萄酒庄园举行“酒窖开门之夜”,全村从日落到黎明非常热闹。这些活动的气氛尤其欢乐,并每次有许多伴随节目,如音乐、唱歌、话剧、杂技、烹调艺术等各种表演。

“德国葡萄酒之路”的最大活动是在每年八月份的一个周末举行“葡萄酒之路娱乐节日”,公路全天实行交通封锁,只允许行人和自行车漫游几十公里长的葡萄酒之路。这一天,沿路的村庄和葡萄酒庄园都安排品酒摊子、小吃店、音乐队和各种娱乐活动接待千千万万游人。

另外,每年组织若干次葡萄栽培与葡萄酒酿造技术专家研讨会以及为葡萄酒生产者安排的进修班等活动。有时,举办专题讲座,比如以葡萄酒品种学、葡萄酒与烹调艺术、葡萄酒与奶酪、葡萄酒与健康为主题的讲座。有意思的趋势之一是,把前几年在西方开展反对快餐的“慢餐运动”和高级烹调艺术同品尝葡萄酒联系起来创造新型的饮食文化。

普法尔茨旅游局和葡萄酒广告公司每年年初一起出版介绍这些活动的日历手册,并免费散发到各地。

除了这些公开的活动以外,旅游团或个人客户可以同葡萄酒企业约好参观庄园及酒窖和品酒购酒的安排。大的企业有自己的专职导游,有的可以用外语接待外宾。

3.5 发展葡萄酒竞赛和奖励制度

欧洲在国际、国家、种植区和乡镇各层次都定期地举行各种各样的葡萄酒比赛和奖励活动。比如,“德国农业协会”(DLG)每年颁发全国的金、银和铜三等奖牌。另外有大、小地区的各类奖章和称号,如某地区的“最佳葡萄酒庄园”、“最佳红葡萄酒”、“最佳起泡葡萄酒”、“绿色生产典范”等等。

国内和国际上比较有影响的不同“葡萄酒指南”每年都发表最高档葡萄酒的目录,如德国的 Wein-Guide 手册每年列出德国最佳的一百家葡萄酒企业。

3.6 选举“葡萄酒女王”和“葡萄酒公主”

从 1949 年起,德国每年选举的“德国葡萄酒女王”,最近第 56 个女王加冕即位了。协助她工作还有两个“德国葡萄酒公主”。另外,德国的 13 个葡萄种植区各自也选举“葡萄酒女王”。参加比赛的条件比较严格,候选人都是又年轻又漂亮的姑娘,她必须掌握关于葡萄酒的广泛和深厚的知识,并具有向外代表德国葡萄酒行业的最佳才能,尽可能会说英语、法语等外语。

为了向国内外推进自己的葡萄酒市场和葡萄酒高质量的生产,选举全国和地区的“葡萄酒女王”或“女皇”将来对中国也很有前途。

3.7 让社会名人为葡萄酒做广告

德国的葡萄酒企业、合作社和联合会经常同大公司或者社会上有名气、有影响的人士订契约，让他们为葡萄酒做广告。比如，德国航空公司、铁路公司、高级饭店和餐厅同某葡萄酒企业建立这样的合作关系，为了该企业集中地扩大销路和宣传非常有利。有一些葡萄酒企业争取获得著名政府领导人、运动员、电影演员、歌唱明星、烹调能手等人士的支持，为了自己的形象在国内外大作宣传。

4 结论

葡萄酒和旅游两种行业的发展同样取决于物质文明和精神文明水平以及由此产生的经济和精神需求。快速发展中的中国正显示出这种趋势：一方面葡萄酒质量逐年明显提高，市场销路日益见好，另一方面中国公民国内外的个人旅游业发展飞快，特色旅游业也正在繁荣起来。

我认为，大力推进葡萄酒特色旅游，把它成为旅游中的新亮点，对中国的葡萄酒事业非常有利。要采取下列的各种措施：

(1) 在葡萄地区创立“葡萄酒之路”和有关旅游设施；

(2) 定期地组织“葡萄酒节”、地区和全国“葡萄酒女王”的选举、各种葡萄酒竞赛和颁奖、葡萄酒企业的“对外开放日”、葡萄庄园和酒窖参观、葡萄酒与美食、葡萄酒与艺术、葡萄酒与音乐、葡萄酒与健康等活动；

(3) 安排葡萄酒品尝会、研究班和展销会；

(4) 联合开设地区性的通讯和展销中心网络。

关键就在于“团结就是力量”。德国和其他国家的经验表明，这类的措施和行动一般都必须靠私人的积极性和努力，在协调多方面合作的环境中，才能见效。因此，上列所有的项目能否成功实现的前提条件是，地区的葡萄酒企业和旅行社都必须协调和紧密地合作，并共同制定出长期的策略。宣传和广告策略也包括设计、出版、推广各种介绍葡萄酒和葡萄酒特色旅游的资料。

参 考 文 献

1. 应一民. 葡萄美酒夜光杯. 西安：陕西人民出版社，1999：35～39
2. 黄永健. 从李白的觞咏看唐代的酒文化. 中国文化研究，2002（夏），33
3. Franz Gosch. Leopoldsdorf: Österreichischer Agrarverlag. Weinmarketing. 2003：8～10
4. Heinz-Gert Woschek. Wein-Kultur und Tourismus. Vortrag auf der 7. Mittelrhein-Konferenz, 2002：4～6

Leisure, Sight-Seeing, Exploration – Wine Culture, Wine Tourism and Wine Promotion

Peter Kupfer

(Mainz University, 76711 Gernersheim Germany)

Abstract Considering that fruit and grape wine has been the first fermented drink used by our forefathers in most of the world cultures at least ten thousand years ago, this paper assumes that grape wine is not only the oldest cultural drink of mankind, but also an intercultural product which does not have its source in only one specific

culture or society. Therefore grape wine belongs to the cultural assets of most of the great civilizations and is inseparably coupled with the development of philosophy, religion and literature. This is not only true for the Occidental civilizations, but also for China as recent archaeological discoveries and historical literature sources reveal. The main difference between the civilizations is that wine culture has undergone ups and downs during different historical periods. In Chinese history for instance, wine and especially grape wine culture had its climax during Tang Dynasty (618 ~ 907), and has greatly influenced, if not decisively shaped the golden age of Chinese poetry. The fact that grape wine culture has been almost forgotten in China during the following dynasties until the end of the 19th century does not justify the grape wine to be labelled as "Western" or "imported" product designated only for the wealthy classes and upstarts in China's new society.

This article tries to demonstrate that grape wine and the revival of its culture has great potentialities in the economically prospering Chinese society at the beginning of the 21st century, especially in context of the fast progressing globalisation. As a result of the rapid development of the international wine market during the latter part of the 20th century, most of the wine producing countries have introduced production quota regulations and quality standards. Whereas the global tendency stills shows the threat of overproduction, growing competitive pressure, dropping prices and dumping, China, with a present per capita wine consumption of only one percent of Germany's or half a percent of France's consumption, seems to be the only country with a big potential growth-oriented market. Several examples in European wine producing countries reveal that different concerted actions and measures undertaken by wine producers in cooperation with local authorities, travel and service agencies, hotels and restaurants have been successful for promoting and cultivating the local quality wine production. In connection with internationalised and steadily rising quality standards in wine production, China should as soon as possible use the chances of reviving and stimulating her wine culture and market by well calculated strategies.

Regarding the recently growing demands and the considerable change in the field of tourism and gastronomy, China seems to have perfect conditions to develop wine tourism (enotourism) together with wine and food culture (enogastronomy). Wine tourism has had a long tradition in Europe and has been successfully revived there recently, with an expanding rival market for the travel agencies.

For this purpose and under the condition of a well coordinated cooperation between the wine producers and the other regional partners the following projects with a very good response in European countries could be introduced to China as well:

- the establishment of "wine roads" with their infrastructure which since many years has been the most successful project in Germany, Italy and other countries;
- the foundation of cooperatives, associations and action groups in connection with a network of centres for wine information, tasting and sale;
- exhibitions, trade fairs, wine testing sessions, regional and local wine festivals, open days of wineries, open nights of wine cellars, events with wine and culinary cuisine, music, art, theatre, training courses for winegrowers and interested consumers, and similar activities all around the year;
- the organization of competitions and awarding of prizes at international, national, provincial and regional level, and also for special purposes, for example for red wine, sparkling wine, for the best winegrower, and so

forth; a good way of advertisement is the publication of awards and the best wineries;

- yearly elections of a "wine empress" and "wine queens" at national and regional level;
- agreements about wine advertisement with well-known companies, like airlines and the national railway, and with prominent politicians, athletes, TV and movie stars, singers and cooks.

Key words Wine culture, Wine tourism, Wine promotion

日本葡萄酒主要厂家、酒种分析

涂正顺^{1,3} 滨野吉秀² 束怀瑞³

(¹青岛大学理工学院生物系, 山东青岛 266071;

²东京都八王子市初泽町 1231—36, 日本 193-0845;

³山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018)

提 要 本文介绍了日本国产葡萄酒的主要生产厂家与酒种、以及在日本市场上的价格, 从中可见日本酒厂在严酷的市场竞争中所做的艰苦努力。希望为中国葡萄酒产业发展及产品出口日本市场有所帮助。

关键词 日本; 葡萄酒; 厂家; 酒类; 市场价格

日本国产葡萄酒厂, 多为经营规模不大、年产量不高的中、小型葡萄酒厂, 其共同点是: 都在精心酿造颇具自己风格特点的葡萄酒种, 即采用当地栽培的葡萄品种, 融会地域特色, 保持特有酿造方式, 打造具有地方韵味、在特许商店出售、面向特定消费群体的葡萄酒品牌。面对日本葡萄酒消费市场上, 国内外众多品牌的激烈竞争^[1,2], 日本厂商是认识到只有如此, 才能够求生存谋发展呢? 还是真正领悟到——葡萄酒就应该是当地水土气候、风情文化的产物呢? 或许都是! 在此, 我们介绍日本国产葡萄酒——主要厂家及酒种^[3,4,5], 从中可见各厂商在严酷的市场竞争中所作的艰苦努力! 希望在我国葡萄酒产业发展中, 特别是国产葡萄酒产地化、市场化进程中, 能有所参考、借鉴^[6]。

1 岩の原葡萄园

新泻上越市(旧高田)的“岩の原葡萄园”, 是由日本葡萄酒之父川上善兵卫先生 1890 年创办, 3 年后, 就开始用自己栽培的葡萄酿造葡萄酒。最初, 善兵卫先生直接引种欧美葡萄品种, 对暴雨使用竹棚、对梅雨采用药物、树型等方法, 以求适应日本本土栽培, 未获成功。但先生坚持不懈, 研究杂交育种技术, 运用抗病虫害强的、适合日本特点的美洲葡萄品种做母本、品质优良的欧洲品种做父本, 引进 500 多个欧、美洲葡萄品种进行杂交试验, 终于培育出适合日本气候的マスカット・ベリ—A (Muscat bailey-A)、ブラック・クイーン (black-queen)、ローズ・シオター(rose-zioter)等 40 多个川上系列酿酒葡萄新品种, 此后, 日本的酿酒葡萄种植在各地才推广开来, マスカット・ベリ—A (Muscat bailey-A) 等已成为日本红葡萄酒品种的代表。生产的葡萄酒种有: “岩の原ワイン”、“岩の原ワイン・深雪花”、“岩の原ワイン・菊水印”等品牌。

2 北海道ワイン(Wine)

通称“おたるワイン”即小樽葡萄酒, 于 1974 年在北海道小樽市建立, 创办之初就派人去德国学习,

并招聘德国的酿酒师，采用引进的米勒吐尔高(Müller-Thurgau)、柯内尔(Kerner)等德国系列耐寒品种，已有147公顷的自家葡萄园，所酿葡萄酒具有很高水平，生产“おたる”系列葡萄酒，受到消费者所喜爱。

3 池田町ブドウ・ブドウ酒(葡萄与葡萄酒)研究所

通称“十胜ワイン”，即十胜葡萄酒。起因是日本北海道1952年的十胜冲大地震、及此后连续两年的冻害作恶，为振兴崩溃的北海道池田町地方经济，1957年上任的町长丸谷金保，大力提倡、奖励种植葡萄、酿造葡萄酒，而被称为“ワイン町长”(葡萄酒町长)，通过不断努力，在寒冷的北海道成功培育出了“山葡萄アムレンシス”，1964年成立了“池田町ブドウ・ブドウ酒研究所”，1974年建成了“葡萄酒城”，年产葡萄酒近2000吨，成为日本著名现代葡萄酒酿造所，用法国品种“セイベル13053”等在寒冷北海道地区精心选育出的“清见”、“清美”等，为十胜葡萄酒的代表品种。

生产的葡萄酒有：“十胜ワイン·清见”、“十胜ワイン・トカップ”“十胜ワイン·调寒”等品牌。“池田町ブドウ・ブドウ酒研究所”：十胜ワイン・トカップ，红、白、桃红，各¥971；十胜ワイン・シルベーク，红、白，1997，各¥1456；十胜ワイン・セオロサム，红、白，1998，各¥1942；十胜ワイン·清见，红，1997，¥2427；シャト—十胜，红，1996，¥2913。

4 “桔梗ヶ原”葡萄酒

长野县盐尻市的“桔梗ヶ原”，作为日本葡萄酒又一主要产地，早已被世人所公认。海拔700米的地桔梗ヶ原位于被称为日本的阿尔卑斯高原，早年开始栽培美国葡萄品种并酿酒，60年代末起栽培メルロ(Merlot、梅尔诺)等品种。该地区生产的葡萄酒种有：如“林农园”葡萄酒厂，在不使用化肥、很低农药用量的管理条件下，酿造出的“五—わいん·コル—ド”等品牌；由(イツツワイン)井筒葡萄酒厂酿造的“イツツワイン”、“イツツワイン·信州”等品牌。

5 “カツヌマワイン”胜沼酿造葡萄酒

山梨县胜沼町作为日本葡萄酒产地，具有特殊的历史意义，它最早生产出了极富当地甲州特色的高品质白葡萄酒，还最早成立了“胜沼町葡萄酒原产地认证委员会”的葡萄酒产品认证组织，首先在日本推行葡萄酒原产地认证制度，胜沼町有着许多日本知名的葡萄酒厂家。创建于1937年(昭和12年)的“胜沼酿造”葡萄酒酿造厂，作为日本葡萄酒行业的领头军——胜沼葡萄酒酿造协会的一员，曾在有贺雄二先生的领导下，做了“甲州樽熟成”、“甲州特酿樽发酵”等葡萄酒橡木桶发酵、成熟技术的多项试验研究与挑战。生产、创造出的葡萄酒种有：“番匠田葡萄园”系列、“甲州”系列、“甲州樽熟成”、“甲州特酿樽发酵”等红、白葡萄酒品牌。

6 “サントネ—ジュワイン”(Sainte. Neige Wine)葡萄酒

前身是1942年(昭和17年)创立的“日本葡萄酒”，1947年葡萄酒酿造兴旺，1959年并入日本生化工业的领军企业“协和发酵”属下，2003年(平成14年)，被“アサヒビール”朝日啤酒收购。1957年注册“サントネ—ジュ”商标，即法语“圣雪”——蕴涵用富士山和南阿尔卑斯融化雪水培育的葡萄，酿造出的葡萄酒之意。厂址在日本甲府盆地的山梨市上神内川。2000年(平成11年)，开发生产无添加剂的“有机葡萄酒”，获得欧洲有机食品认证组织认证，即采用100%有机栽培的葡萄原料，不添加抗氧化剂酿造的葡萄酒。也进口法国、意大利等葡萄原酒，在日本罐装销售。生产的葡萄酒种有：“サントネジュワイン特酿”系列、“无

添加有机ワイン”系列、“无添加ワイン物語”系列、“有机ワイン AOC”系列、“有机テ—ブルワイン”系列等国产、进口葡萄酒品牌。

7 “メルシャン” (Mercian, 梅露香) 株式会社

日本的葡萄酒酿造始于 1877 年 (明治 10 年), 山梨县胜沼町创立的日本山梨葡萄酒株式会社, 1888 年建立日本最早的メルシャン胜沼葡萄酒酿造所, 即现在的メルシャン (梅露香) 株式会社, 它是与日本葡萄酒历史同步发展起来的, 也是日本目前最大的葡萄酒生产企业。1996 年, 在日本葡萄酒产业界, 最早获得 ISO9002 质量认证。据悉, 该社把 2003 年 (平成 14 年) 作为新的开始, 打出全新的“シャト—メルシャン” (Château Mercian·梅露香酒庄) 品牌, 并确定用 100% 日本国产葡萄原料, 生产不同系列的葡萄酒产品:

“ジェイ・フィヌ”系列, 是运用自创的“シュール・リー”法 (即发酵后不取出沉淀物, 陈酿中把酵母等沉淀物独特的香醇提取出来, 使得原本个性不太突出的甲州葡萄等品种, 也变得风味醇厚, 较之新鲜、清新口味而言, 口感更加浓郁的酿造方法), 将日本与欧洲红、白葡萄品种混合酿造成白、桃红等葡萄酒, 突出日本式的细腻与洗练理念。如“シャト—メルシャン·ジェイ・フィヌ”酒种, 1999 年、2000 年白葡萄酒价位都在 1500 日元/瓶。

“ディストリクト”系列, 是标注原产地的葡萄酒种, 用适应产地的葡萄, 以日本优质葡萄酒为质量标准, 生产出的高品质葡萄酒。代表酒种有“シャト—メルシャン·长野メルロ” (梅尔诺)、“シャト—メルシャン·长野シャルドネ” (霞多丽), 1999 年 2000 年红、白葡萄酒价位分别在 3000、2500 日元/瓶。

“プライベート·リザーヴ”系列, 是该社最高品位的葡萄酒, 代表强烈的地域特色, 精选成熟的葡萄原料, 具有独特的风味个性。如“シャト—メルシャン·桔梗ヶ原メルロ” (梅尔诺)、“シャト—メルシャン·北信シャルドネ” (霞多丽) 两款葡萄酒, 1998 年红、2001 年白葡萄酒价位分别在 8000、6000 日元/瓶, 在国际上也获得很高的评价。

8 サッポロワイン (Wine, “札幌啤酒”)

札幌啤酒所属葡萄酒厂, 1976 年开始酿造葡萄酒, 品牌名“ポレール” (POLAIRE), 取自法语的“北极星”之意。生葡萄酒, 红、白、桃红, 各¥291; ポレール鱼河岸, 红、白, 各¥485; ポレール·クリアドライ, 红、白, 各¥350; ポレールうれしいワイン, 红、白, 各¥380; 海の酵母のワイン, 白、桃红, 各¥1000; ポレール·カベルネ·バレル, 红, (年号), ¥2427; ポレール贵腐ワイン, 白, 1994, ¥36000。

9 まるき葡萄酒

位于山梨县胜沼町, 起源是为开拓日本葡萄酒产业, 留学法国的土屋龙宪先生, 1891 年创立的“マルキブドウ酒”。他开创了使用逆浸透膜过滤、果汁冷浸等工艺技术, 将果汁中多余的水分去除, 用浓缩葡萄汁的酿酒方法, 不仅增加了甲州葡萄酒的风味, 还提供了一种克服日本国产葡萄原料糖度低、酿造 (全汁) 葡萄酒的可能性。另外, 在葡萄酒辅料方面也开发了独创性商品。其生产的葡萄酒种有: “セレクト”、“樽熟甲州”、“甲州オソズミ”等红、白葡萄酒品牌。

10 “ココ・ファーム・ワイナリー” (Winery) 葡萄酒酿造所

地处栃木县足利市的这所葡萄酒酿造所, 是为人们获取知识便利而经营的学校——“こころみ学園”发

展起来的。1958年，广阔的足利山坡土地上，被当时特殊学级的中学生种植了葡萄苗木，另外，在佐野市的赤见，也拥有种植葡萄的园地，栽培有日本代表品种甲州、マスカット・ベリーA、及欧洲品种雷司令、白诗南等。1980年，作为“こころみ学园”学生的劳动场所，现在也常有外国酿酒师来此活动，生产有：“オクパレル”、“赤ワイン”、“ドライホワイン”等红、白葡萄酒种类。特别有“オーパード”系列葡萄酒，其名意为“黎明之歌”，为祝贺21世纪开始而生产，价位都在5000日元/瓶。

11 “サントリー”（Suntory，三得利）株式会社

日本富士山的正南面，是辽阔的甲府盆地丘陵，这即是山梨北巨摩的登美之丘，有日本著名的“登美之丘ワイナリー”葡萄酒酿造所、拥有号称日本最大面积约150公顷（ha）自家葡萄种植园的“サントリー”（三得利）株式会社。该企业1899年（明治32年）最早作为濤屋而诞生，1909年（明治42年）被小山新助买下，开设了山梨葡萄园，作为濤屋山梨农场。曾在川上善兵卫先生的指导下，栽培了マスカット・ベリーA（Muscat bailey-A）、ブラック・クイーン（black-queen）等川上杂交品种，以后还种植了赤霞珠、索味浓、梅尔诺、品丽珠等欧洲品种。

2003年（平成14年）公司定位于“每日葡萄酒”消费理念，开始超越国产、进口葡萄酒界限范畴，生产各种类型的葡萄酒。如“ワインカフェ”葡萄酒，取“葡萄酒咖啡”之意，轻快地品位葡萄各品种特有风味；而“彩食健美”系列，则表示葡萄酒是健康美味食品，也是水果彩色食品，在红与白之间加入了6种水果自然色彩，而成为“彩食健美”的系列葡萄酒等，价位均仅定在500—600日元/500—600mL（瓶），表达出天天享用葡萄酒的新概念。

“登美之丘”系列，是“サントリーワイン”公司传统的代表之作，“サントリー登美之丘ワイナリー登美之丘”酒种，1999年份红、白葡萄酒价位都在3000日元/瓶。1972年公司最先酿造出日本的“Noble d'or”贵腐葡萄酒，由于1992年份的恩惠，所产贵腐葡萄生产、酿制的“サントリー登美之丘ワイナリー登美ノープムドール”贵腐葡萄酒，价位在50000日元/瓶。

“登美”品牌是1982年诞生的葡萄酒精品，它是用自家栽培的赤霞珠、梅尔诺、品丽珠等葡萄品种，经过严格挑选，进口法国橡木桶酿造而成，为“サントリー”公司最高品质红葡萄酒的典范，1997年份酒“サントリー登美之丘ワイナリー登美”，价位在10000日元/瓶。另外，还生产有：“见晴らし台园”、“萌黄台园”、“葛石坂园”等红、白葡萄酒品种。这是日本国产葡萄酒的骄傲，证明只要努力，日本也能酿造出很好的葡萄酒。

12 “マンズワイン”（MANNS、曼殖）葡萄酒

1964年由世界最大的酱油生产商（キッコーマン）独资，创立的“マンズワイン”葡萄酒和机械设备制造公司，在山梨县东山梨郡胜沼町和长野县小诸市都设有葡萄酒酿造所。公司成功开发出了有效的“雨衣”（raincoat、レインカット）式棚架栽培方法，栽培欧洲酿酒葡萄品种很难，在技术上很难克服了多雨潮湿的困难，即利用通风良好的棚架式结构，根据天气情况对葡萄树上部覆盖塑料薄膜的栽培方式，这已被日本大多葡萄园所采用。

在葡萄酒酿造工艺技术上，该公司也有许多独到之处。如“酸化防止剂无添加マンズ・白ワイン”白葡萄酒，传统的为防止葡萄酒氧化，都要加入少量的亚硫酸，而此酒在不添加亚硫酸，常温下也可保存两年；“にごり赤”红葡萄酒，即浑浊红酒，是发酵后将葡萄粗纤维和酵母等留余酒中，以形成新鲜感强烈、酒醇味浓厚的独特款式；“冰醇”甜葡萄酒，就是将采摘的葡萄原料，用人工冷冻压榨的方法制造低价位的所谓的“冰

酒”，1000 日元/500ml(瓶) 等。近年主打品牌是“ソラリス”葡萄酒系列，取自拉丁文“太阳”之意，有“ソラリス信州东山(赤霞珠)”、“ソラリス信州小诸(梅尔诺)”、“ソラリス信州小诸(霞多丽)”“ソラリス冰结果榨り(霞多丽)”等各品种优质葡萄酒产品，1997 年、1997 年、1994 年、2000 年，价位都在 5000 日元/瓶。

13 丸藤葡萄酒工业

统称“ルパイヤーワイン”葡萄酒酿造，1890 年由大村治作创立于山梨县胜沼町。经过四代人的努力，形成了自己独特的酿造技术，各地都拥有许多热心消费者。其名称“ルパイヤー”是该厂先辈崇拜的诗人日夏耿之介所启，在波斯语中表示“四行诗集”之意。该酿造公司，作为日本胜沼葡萄酒酿造协会的一员，对甲州葡萄酒积极采用橡木桶贮藏等技术，普及了甲州葡萄酒新技术，为日本国产“甲州”葡萄的发展做出了贡献。还采用“雨衣”棚架栽培方法，栽培赤霞珠、霞多丽、梅尔诺、索味浓等欧洲葡萄品种，创造出了“Rubaiyat Rouge”葡萄酒品牌，生产的“ルパイヤー・ルージュ”(Rubaiyat Rouge) “ルパイヤー・甲州シュル・リ”等红、白葡萄酒，2001 年、2000 年价位都在 1500 日元/瓶。

14 中央葡萄酒

通称“グレイスワイン”葡萄酒酿造厂，1923 年(大正 12 年)，创立于山梨县胜沼町。作为日本胜沼葡萄酒酿造协会的一员，敬重日本国有的“甲州”葡萄品种，采用果汁浓缩、橡木桶发酵、贮藏等新技术，推广甲州葡萄栽培；积极指导胜沼丘陵菱山地区的合作果农，运用“雨衣”棚架栽培技术，种植霞多丽等欧洲葡萄品种；用梅尔诺酿造的“キュヴェ・ミサワ”葡萄酒，获得 2000 年日本国际葡萄酒大赛金奖；选育出适应胜沼气候的红葡萄品种——“甲斐ノワール”，并酿造成“グレイス甲斐ノワール”葡萄酒，2001 年，价位在 2000 日元/瓶；利用法国橡木桶发酵、贮藏技术，用霞多丽酿出“キュベ・スペリウル”品牌葡萄酒，价位在 3500 日元/瓶。

15 大和葡萄酒

前身是 1902 年(明治 35 年) 在山梨县胜沼町创立的“达磨ブドウ酒”，以“胜沼地方酒”为经营理念，采用近邻农家种植的甲州、マスカット・ベリ—A、赤霞珠、梅尔诺等葡萄酿酒，生产的葡萄酒有：“夜光の杯”(甲州)，价位在 5000 日元/瓶；“コリーヌ(丘陵)”，1997 年(赤霞珠和梅尔诺) 1998 年(赤霞珠)，价位分别在 2000、1500 日元/瓶等。

16 大泉葡萄酒

是 1902 年(明治 35 年)，由山梨县胜沼町的前田良作等为主，创立的“达磨葡萄酒”发展起来的，它没有自己的葡萄园，全是收购近邻的葡萄栽培农家、种植的主要品种“甲州”葡萄，酿造生产葡萄酒。其生产的葡萄酒种有：“胜沼のざけ(辛口)”、“胜沼のざけ(甘口)”等白葡萄酒品牌。

17 “ルミエール”株式会社

公司历史悠久，前身是 1885 年(明治 18 年) 在山梨县一宫町创立的“降矢醸造场”，1943 年改为“甲州园”，1976 年塚本俊彦就任社长后，得到了很大的发展，1992 年改称现在的社名“ルミエール”，取自法语“光明”之意。塚本社长为了中日合作事业、为中国葡萄酒的酿造做了许多工作，他还担任国际葡萄酒大

赛评委。1996 年美国克林顿总统访日，日本首相国宴用酒，因使用该公司提供的“ヴィンテージのシャトー・ルミエール”（赤霞珠、品丽珠和梅尔诺）葡萄酒，而使其名声大振。生产的葡萄酒有：“シャトー・ルミエール”，1990 年、1996 年，价位分别为 10000、3000 日元/瓶；“シャトー・パラス”（索味浓、赛美蓉、雷司令），1992 年，价位为 5000 日元/瓶；“石蔵和饮マスカット・ベリー”，1999 年，价位为 2000 日元/瓶等。

18 丹波ワイン (Wine)

有一种葡萄酒，这是京都的丹波町以法国アルバート・セイベル氏选育的（9110、13053）葡萄、一种用寒冷地区的红葡萄与野生葡萄杂交，带有特殊的土地香味，酸味明显的葡萄为主要原料，酿造出极具地方特色、即京都口味的“京都のワイン”葡萄酒，在当地很受消费者欢迎。京都市内的饭店酒家，都认为丹波葡萄酒是与日本料理搭配最好的葡萄酒，并以此销往日本各地。“鸟居野”、“丹波ピノ・ノワール”。

19 高畑ワイン(Wine)

位于山形县高畑町米泽北边，1991 年，葡萄栽培盛行的高畑町，购进了最新的葡萄酒酿造设备，建立起“高畑ワイン”葡萄酒厂。具有美国加州似的现代酒厂、设备齐全的外观，作为现代观光酒厂被人们所称赞，还与当地葡萄种植农户联合，酿造、生产出了霞多丽等优质葡萄酒，为日本产地葡萄酒所做的努力赢得赞誉。

20 エーデルワイン (Wine)

1962 年在岩手县大迫町建成，自家葡萄园面积仅 4 公顷 (ha)，但却保持了使用当地县产葡萄为原料，酿造特产葡萄酒的风格，近年，用自产的雷司令リオン（甲州三尺×雷司令的杂交后代）品种，酿造出了颇具特色的“五月长根葡萄园”品牌的白葡萄酒等。

21 神戸ワイン (Wine)

兵库县的神户市，市园艺振兴基金协会以“城市与农业共存共荣”为目的，用神户市内的产地葡萄，研制酿造出，在市立农业公园的商店、食品店，及神户市内的酒类专卖店、饮食店等全面销售，并大规模扩大酿酒葡萄的种植面积，决心把“神戸葡萄酒”，做成与“神戸牛”一样的日本著名品牌等。“神戸ワイン・セレクト”。

参 考 文 献

1. 李华主编. 葡萄与葡萄酒研究进展. 西安：陕西人民出版社，2004
2. 涂正顺，滨野吉秀，束怀瑞. 中国葡萄酒进入日本市场的思考. 中外葡萄与葡萄酒，2004（5）：60~62
3. Carlo Queruli 主编. 英·汉·意·法—葡萄酿酒词典. 北京：中国轻工出版社，2001
4. 泽登晴雄. 国产&手づくりワイン教本. 日本创森社株式会社，2000
5. 张振文主编. 葡萄品种学. 西安：西安地图出版社，2000
6. 李记明主编. 2002 国际葡萄与葡萄酒发展论坛. 烟台，2002

Analysis of Main Winery and Types of Wine in Japan

Tu Zhengshun^{1,3} Yoshihide Hamano² Su Huairui³

(¹Biology Department, College of Science and Technology, Qingdao University, Qingdao 266071 China;

²123-36 HATHUZAWACHO,HACHIOJI-SHI,TOKYO 193-0845 JAPAN;

³College of Horticulture, Science and Engineering Shandong Agricultural University, Taian 271018 China)

Abstract The main winery, types of wine and the wine price in Japan were introduced in this paper, the arduous efforts made by Japan winery in the harsh market competition were observed. This paper aims to help China wine industry develop healthy and export its products to Japan market.

Key words Japan, wine, main winery, types of wine, market price types of wine

实施名牌战略，促进企业发展

——中国长城葡萄酒有限公司创名牌之路

奚德智

(中国长城葡萄酒有限公司，河北沙城 075400)

提 要 面对日益激烈的市场竞争，葡萄酒企业要想在竞争中获胜，必须实施名牌战略。围绕名牌战略的实施，进行系列改革，重视产品质量，加大科技投入，加强文化建设，在提高企业经济效益的同时，不断提高生态效益和社会效益。本文以中国长城葡萄酒有限公司的发展历程对此进行了很好的诠释。

关键词 名牌战略；质量管理；协调发展

1 名牌战略奠定基础

公司于1983年生产出中国第一瓶干型葡萄酒，随后又研制出中国的第一瓶香槟起泡葡萄酒。近年来，公司坚持实施名牌战略，全体员工凭着一流的质量、一流的服务、一流的品牌，终于在日益激烈的竞争中赢得了市场，实现了稳步发展。

在经济飞速发展的时代，品牌是进入市场的第一张名片。为了铸造世界一流的品牌，公司严格执行国际葡萄酒组织(OIV)质量标准与国际ISO9002质量认证，在日常质量监督管理上层层把关，责任到人，坚持走质量效益型道路。在硬件方面，引进了当今国际上最先进的全自动葡萄酒检测仪。在软件方面，定期举行培训学习班，培养专门人才。拥有一支高质量的质检队伍，每个质检人员都经过严格考核，持有有关部门颁发的上岗证。1996年10月，公司接受国家有关部门的全面考核，在全国同行业中首家通过了ISO9002企业质量体系认证和产品质量认证，并与19个国家体系认证机构互认，率先领到了打入国际市场的许可证。

1993年以来，连年荣获消费者心目中的理想品牌、实际购买品牌、购物首选品牌三项第一名。在2000年中国市场商品调查中，中国长城干红、中国长城干白被评为同行业第一品牌，并荣获“品牌知名度、服务满意度、质量美誉度”三项第一名。长城干白葡萄酒以其独具的品质和魅力，蝉联了七届国家金奖，还荣获英国伦敦、法国巴黎等14次国际评酒赛金银奖，长城牌系列葡萄酒荣获各种大奖85项次。

公司弘扬长城葡萄酒文化，主要表现在其民族性、品牌性和传播性上。中国长城葡萄酒的核心文化是长城企业的灵魂，即中华民族精神的体现。长城品牌的确立，将使中国的酒文化以及蕴涵其中的中国精神，更加弘扬于世界。

2 质量管理内涵发展

名牌产品的生产，来自于高质量的管理。建厂伊始，公司坚持“以质量求发展”的经营宗旨，实施“两大转变”，坚持把好“三关”。一是从过去计划经济的“符合性”质量观念，向市场经济的“适用性”质量观念转变，以满足市场和广大消费者的实用性需求；二是从侧重企业内部的全面质量管理，向以企业为主体、由供需方及第三方介入的全面质量体系转变，以适应市场经济的发展，提高产品的市场占有率。为了强化员工的质量意识，要求全体员工牢固树立“质量第一”的观念，摆正质量与产量和效益的关系，质量与市场 and 消费群体的关系。在公司有一句话是人人皆知的，“一瓶葡萄酒出现质量问题，对于公司来说是千分之一、万分之一，但对于消费者来说，那就是百分之百”。公司把住了“三关”，一是把好原料关、二是把好工艺关、三是把好管理关。

葡萄酒的好坏，主要在原料。中国长城葡萄酒，其幽雅芬香、丰满厚醇的自然美味，首先得益于得天独厚的原料资源和其采用先进的葡萄酒新工艺技术。公司采用葡萄种植基地化、葡萄品种优良化、葡萄良种区域化的原料建设方针，为酿出好酒创造了最基本的条件。沙城地处怀涿盆地，属沙质土壤，这里日照时间长，昼夜温差大，有着适合葡萄生长的气候和地理条件。在沙城种植葡萄已有悠久历史，盛产的龙眼葡萄果大、色艳、品质上乘，被国家确定为绿色食品。公司在这里建立起葡萄生产基地后，有计划地实施葡萄品种与气候、土壤的协调统一工程。同时引进和借鉴国外名品葡萄种植经验，既重视国内品种发展以满足高档葡萄酒原料的要求，又重视抗病丰产的酿酒葡萄品种发展，以满足生产优质葡萄酒的要求。

沙城基地出产的葡萄品质优良、颗粒饱满、色泽鲜艳、糖酸度适中。为了做到防腐保鲜，原料单纯，葡萄采取当日采摘、当日运输、当日投料榨汁，并做到低温发酵，冷冻无菌灌装，各道工序都进行不间断的自检、质检。公司不惜高价，从法国、德国和意大利等国引进现代化葡萄酒生产设备，机械化生产实施微电脑自动控制，从而保证了葡萄酒质量的稳定性和可靠性。所生产的干红、干白、香槟法起泡葡萄酒等 11 个品种都采用国际质量标准，产品出厂合格率保持在 100%。

3 服务社会协调发展

公司在创业发展过程中，始终坚持企业经济效益、社会效益和环境效益相统一的发展原则，坚持利国利民的方向，为祖国现代化建设做贡献。

3.1 社企联合，扶农富农

公司大力扶植地方经济发展，扶植农业，服务农业，富裕农民。为了带动农村致富，积极拓展市场，公司从 1994 年开始，以资金入股、技术指导培训，在怀来县和涿鹿县建成葡萄基地，形成了当地的支柱产业，葡萄每年的经济收入达 4000 多万元，占农民收入的 20% 以上，部分乡的农民葡萄种植收入达到其总收入的 80% 以上。除了葡萄之外，还带动了当地玻璃、包装等相关产业的发展。

3.2 奉献爱心，回报社会

公司在发展经济的同时，没有忘记养育自己成长的乡土乡情，也把群众的利益挂在心上。1998 年 1 月，张家口地区发生了强烈地震。公司闻讯，立即派出专人携带企业和职工捐款赶赴灾区，将捐款和木材、钢筋等赈灾物资送到灾区人民手中。近年来，公司 700 多名员工，已先后向灾区人民捐款 3 万元，为张家口和怀来县见义勇为基金捐款 20 余万元，并为患病职工及患病职工子女捐款 8 万多元。公司奉献社会的爱心行动，赢得了社会各界的高度评价。

3.3 崇尚自然，保护环境

随着社会经济的发展，环境保护问题越来越受到人们的重视。公司把支持环境保护看成是自己义不容辞的责任，在发展种植葡萄业的同时，实施与大自然协调发展。国家绿色食品认证中心经过土壤化验、空气检测、质量分析，正式将沙城周围 15 万亩葡萄基地生产的葡萄以及长城干白、干红、桃红等 6 种葡萄酒，评定为无污染、无公害、安全、卫生、营养、保健的绿色食品。葡萄基地增加了土壤的绿色植被，防止了水土流失，净化了一方空气。

4 科技创新再铸辉煌

当初，公司与原轻工业部发酵研究所联手，以最新科技工艺，共同研制出我国第一瓶干型葡萄酒，1990 年，公司独立承担的国家“七五星火计划”获得成功，诞生了我国第一瓶香槟法起泡葡萄酒，再次填补了国家的空白。之后，VSOP 高档白兰地酒、经橡木桶陈酿的赤霞珠干红葡萄酒以及专供女士饮用的名媛红葡萄酒相继问世，进一步加大了实施名牌战略的力度。

公司先后研制出干、半干、半甜、起泡、加香、蒸馏、配制等系列 50 多个葡萄酒产品。公司不断更新设备，扩大生产规模，经过几轮技术改造，尤其是 1999 年的二期“双加”工程，项目投资达 2 亿元，引进了世界上先进的设备，生产能力进一步扩大，从而成为我国葡萄酒行业中规模大、档次高、技术设备先进的生产和出口基地。公司已发展成为占地 13 万平方米，建筑面积 15 万平方米，种植有 1122 亩葡萄试验园，种植了 16 个国际酿酒名种葡萄，拥有固定资产 5.2 亿元，生产能力达到 10 万吨的国家大型企业。

为了提高产品科技含量，公司建立了葡萄与葡萄酒研究中心，负责国内外葡萄酒行业信息的收集、新技术、新工艺的研究、实验和新产品开发。1999 年 11 月，在北京葡萄酒功效成分国际研讨会上，长城牌干红葡萄酒荣获中国食品工业协会颁发的“含有功效成分白藜芦醇及葡萄糖苷”荣誉证书。其含量超过法国波尔多地区的干红葡萄酒 0.16 毫克/升，为我国名牌葡萄酒之最，又一次证明了公司产品的高素质及其营养保健价值。新开发的长城赤霞珠干红、女士专用的名媛红酒采取独特的酿造工艺，采用法国橡木桶陈酿，精致而考究的工艺，造就了非同凡响的卓越品质，成为国家领导人出访赠送给外国元首的礼品酒。2004 年法国总统希拉克、俄罗斯总统普京来我国访问时，国家领导人选用中国长城五星干红招待。公司不断研究改进工艺，提高产品质量，以适应国际上干酒“越来越年轻，越来越细腻”的发展趋势，保持了产品的一流水平。

目前，公司已在全国建有 13 个销售大区，在英国、日本、美国、荷兰、德国、新加坡等 20 多个国家和地区发展了代理商，形成了覆盖全国和全世界的销售网络。中国长城系列葡萄酒以其独特的风格畅销国内 32 个省、市、自治区，成为外交部驻外 236 个使馆和 150 多条民航航线的特供酒。并被中国社会事务调查所认定为“中国公认名牌产品”、被国家质量监督检验检疫总局授予“中国名牌”、“国家免检产品”、“中国驰名商标”等荣誉证书。公司被国家轻工总会命名为“全国轻工业优秀企业”。如今公司已进入“中国 500 家最佳经济效益企业行列”。经过长期的努力，公司已经走出一条功能效益型道路，必将为中国葡萄酒产业的发展做出更大的贡献。

Famous Brand Strategy and Business Development

--How to establish the famous brand of China Great Wall Winery Co., Ltd.

Xi Dezhi

(China Great Wall Winery Co., Ltd. Shacheng Hebei, 075400 China)

Abstract Facing the increasingly fierce market competition, wine enterprise must carry out Famous Brand Strategy. It's main matters are to establish famous brand's, to carry out company's innovation, to think highly of products quality control, to increase the devotion of science and technology, to enhance the cultural construction ad so on. In this article author discussed how to establish the famous brand strategy and analyzed its economic benefits, zoological benefits and social benefits through the practice of China Great Wall Wine Co., Ltd.

Key words Famous brand, Quality control, Coordinated growth

我国葡萄酒企业的竞争分析与战略联盟构建

沈忠勋 黄天柱 王庆伟

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100)

提 要 我国葡萄酒企业发展的现状和面临的挑战确定了各企业之间存在既竞争又合作的辩证关系。企业内的不平等竞争和竞争的无序状态只会削弱行业的整体实力。企业之间的合作不仅能避免破坏性竞争,做到资源共享、优势互补,而且能推动产业升级进步和可持续发展,这也是其他行业的成功经验。因此,加强行业内企业合作、构建我国葡萄酒企业战略联盟,将是顺应新时期产业发展的必由之路。

关键词 葡萄酒;企业;竞争;合作;战略联盟

中国葡萄酒企业之间的竞争都是因争取市场份额的占有率而展开的。公平、合理的竞争能激发动力、增强活力,促使企业不甘落后,从而推进科技进步,改善经营管理,降低成本,提高质量,增加效益。相反如果偏离正确的轨道,就会出现“同行是冤家”、内讧、甚至恶性竞争等无序状态,进而削弱行业的整体竞争力。明智的企业不但要积极与伙伴合作,也要勇于与竞争对手合作并从中获益。实践证明,过去那种仅仅把同行看成是“冤家”,认为有竞争就不能有合作的观点是片面的。把竞争与合作结合起来,既竞争又合作,就能突破孤军奋战的局限,把自身优势与其他企业的优势结合起来,把双方的长处最大限度地发挥出来,既提高自己也提高别人的竞争力,就能实现双赢或多赢。国外越来越多的大公司通过组建联盟参与全球竞争,竞争之中有合作、合作之中有竞争,这是对传统的竞争理念和模式的超越,是适应经济全球化的必然选择。我国葡萄酒企业应该积极探索和实践这一理念。

1 我国葡萄酒企业发展的现状与机遇

1.1 我国葡萄酒行业的现状

1.1.1 葡萄酒企业的现状

我国葡萄酒的主产区分布在山东、河北、天津、北京、吉林、新疆等省市。现有葡萄酒生产企业 450 家左右,其中年生产能力在万吨以上的大型葡萄酒厂有 10 家,全国葡萄酒总产量的 60%是由张裕、王朝、长城等大型葡萄酒企业所生产,中小型葡萄酒企业的年产量仅占全国葡萄酒总产量 40%左右^[1]。由于市场准入制度没有广泛推广,一些地方中小型企业只顾眼前利益,争先涉足葡萄酒业,造成重复建设,资源浪费严重。

1.1.2 标准不尽完善、产品质量良莠不齐

世界上主要的葡萄酒生产国,无论从葡萄酒种植区的划定、葡萄品种(结构)的确定、单位面积产量的限定,还是葡萄酒的酿造工艺、陈酿、理化及感官分析、质量等级等,都通过立法进行严格的规定和管

理。而我国现在只有最终产品——葡萄酒的标准，没有原料的标准和完整配套的技术法规，更没有法定种植区的限制，葡萄酒的标签标准还沿用食品通用标签标准。同时，由于标准不完善，制度不健全，造成葡萄酒质量良莠不齐，甚至出现假冒葡萄酒，如在过去我国曾流行“干红热”时，“假干红酒”、“三精一水”、“假进口葡萄酒”、“中国红酒”一度充斥葡萄酒市场。

1.1.3 国外葡萄酒对中国市场的冲击

2004年起，进口葡萄酒的关税从46.6%降至14%，进口关税的降低无疑对我国葡萄酒业产生巨大挑战，将直接导致国外葡萄酒销售利润的攀升。在国外葡萄酒品牌处于强势地位的情况下，国产葡萄酒利用降价及有效的营销手段等方法予以回击。但是，继2001年法国最大葡萄酒企业卡斯特与张裕结成战略合作伙伴进军中国后，阿根廷葡萄酒企业斯帕多内集团也发出了开拓中国市场的强烈信号，更多的国外葡萄酒进入中国市场将成为必然趋势，对我国的葡萄酒企业产生冲击将会更加巨大。

1.2 面临的机遇

1.2.1 国家政策的支持

我国政府对酒类产品的产业政策是：控制高酒精度饮品的发展，如酒精含量在50%以上的白酒；鼓励低酒精度和酿造酒的发展，如酒精含量在40%以下的白酒以及啤酒、黄酒等；支持以水果为原料和非粮食原料的饮料酒的发展，如葡萄酒和其他水果酒。

国家鼓励和支持外国葡萄酒企业和相关部门到中国独资、合资建立和发展葡萄和葡萄酒企业，鼓励葡萄、葡萄酒行业引进外国先进设备并对现有企业进行技术改造，鼓励企业引进葡萄酿酒专家和相关专业的人才，鼓励企业从引进先进技术、企业营销和市场营销等方面寻求广泛的国际合作^[1]。

1.2.2 我国葡萄酒市场潜力巨大，行业呈上升趋势

葡萄酒是世界通畅型饮料酒，目前，世界葡萄酒年产量在2700万吨左右，而中国葡萄酒总产量不足30万吨。世界年人均葡萄酒消费水平跃为7升，中国年人均消费只有0.3升。可见，中国葡萄酒市场的发展潜力非常巨大。到了2003年，我国葡萄酒产量的增速为13.5%，是啤酒的近两倍，是白酒的6倍多。可见，随着人民生活水平、文化素质等进一步的提高，葡萄酒的消费量将逐年增加。有关资料表明，中国将成为葡萄酒消费增长最快的地区。

1.2.3 国外先进成熟的技术经验可以借鉴

入世给中国葡萄酒企业提供了一个学习的机会，学习先进的酿酒技术、企业管理以及文化理念等，中国企业也可以通过各种形式的合作，与国外葡萄酒企业达到双赢的结果。如张裕集团同法国酿酒巨头卡斯特的合作，就是一个成功的例子^[2]。随着国际交流与合作的进一步加强，更多的国外葡萄酒企业进入中国市场，今后我国葡萄酒企业借鉴和学习国外的先进技术、经验将更加快捷。

2 中国葡萄酒企业之间的竞争分析

2.1 竞争概况

2.1.1 国内竞争

在中国葡萄酒市场，国内的竞争形成了以张裕、长城和王朝三个品牌之间的竞争为主，威龙、通化、华东、新天、丰收、西夏王、云南红等为第二集团，以及其他的市场追随者所构成的市场竞争格局。这些品牌凭借其对中国文化、消费者行为的充分了解，对营销商、批发商和终端直至最终消费者采取了步步为营的各种手段灵活的促销手法，颇有成效。

2.1.2 国际竞争

中外之间的竞争以与法国、西班牙、意大利、德国、美国、智利、阿根廷、英国、澳大利亚、新西兰、南非和匈牙利等国家的葡萄酒品牌为主，其中，占领国内市场以法国、意大利和德国成为第一集团，他们代表中国市场的高档葡萄酒，这些国家对中国市场的长期投入和良好形象是其他竞争对手不能望其项背；西班牙销售了大量的散装葡萄酒而且促销频繁；越来越多的葡萄酒来自美国、智利、阿根廷、英国、澳大利亚、新西兰、南非和匈牙利等国家。国外葡萄酒生产企业通过采取全力支持经销商，开发其自有的总经销、独家经销或与大的葡萄酒进口商或分销商合作，与当地葡萄酒生产企业建立合资企业甚至建立自己的销售网点等策略加入到中国市场，并通过在中国建立政府代表处（如法国食品协会 SOPEXA，德国葡萄酒协会下属的德国葡萄酒中国信息中心）、组织本国葡萄酒企业参加中国的相关展览会等形式极力拓展中国市场。

2.2 企业竞争特点分析

2.2.1 竞争的激烈性

（1）竞争主体多样化：张裕、王朝、长城目前处于行业垄断地位，利润总额约占葡萄酒行业的 57%，然而威龙、丰收、华夏、云南红、西夏王、新天等企业也迅速崛起，在几个领袖性品牌和一批强势地产品牌之外，还有一大批中小企业参与其中。（2）投资主体多元化：例如，新天收购了西域，并迁往中国经济与金融中心上海；古井贡收购了葡萄酒厂，茅台股份推出茅台干红系列产品，国内的两家摩托车巨头“隆鑫”和“嘉陵”也将陆续兼营葡萄酒产业，青岛啤酒集团推出“凯轩”系列葡萄酒悄悄地“进入”岛城葡萄酒市场，并在短短一个多月的时间销售出 1200 多箱。（3）广告竞争白热化：在 2002 年中央电视台广告招标会上，葡萄酒龙头企业张裕投入 2890 万元，新天集团投入 4290 万元，而印象酒业更是拿出 8250 万元的天价夺得头标。（4）国际竞争激烈化：随着中国葡萄酒关税壁垒的打破和税率的下降，国际竞争日趋激烈，外国葡萄酒有强势开拓中国葡萄酒市场的趋势，例如，法国葡萄酒商在北京举办的葡萄酒推介会长达一个月；在中国国际农业博览会上，意大利 5 大葡萄酒产区的企业全部到齐，宣称以北京为市场中心，然后再辐射中国市场。美国的嘉露酒在世界上年销售额 11 亿多美元，它已全面进入中国市场，并在上海占领一定份额。

2.2.2 竞争的无序性

表现为低档红酒与高档红酒之间的竞争；同档葡萄酒之间的竞争；地方品牌与全国性名牌之间的竞争；低档洋红酒与国产红酒之间的竞争。各生产厂家为了占领市场份额，采取了各种手段，投入了大量资金，造成了全行业价格走低。如在超市上大手笔地投入、灵活的促销手段、买断宾馆葡萄酒销售权等。一些厂家甚至采取造假等非法手段，获取不正当利润，形成了市场更加无序的竞争状态^[3]。

2.2.3 品牌和资本的竞争成为主要表现形式

随着资本的介入，产地资源和规模已经成为很容易补齐的一块木板，行业已经进入一个品牌竞争的时代。品牌广告有没有好的创意，能不能占领消费者头脑中的品牌体验，进而使消费者认同品牌，已经成为行业之间一个新的竞争焦点。同样，目前葡萄酒行业前十位的企业大多数都有着不同的资本背景。企业并不注重短期内的亏损，而是快速分割市场份额，以获得股市上的收益，因此出现了终端达几十万的高额买断费。高速增长并有良好前景的葡萄酒产业，吸引着各类资本相继融入。许多原有葡萄酒企业忙于上市融资、扩大规模，而茅台集团、青岛啤酒、华融控股等一些原本不生产葡萄酒的企业也通过收购兼并等途径介入，香港梁氏集团斥资 1.2 亿，收购甘肃苏武庄园葡萄酒业有限公司和组建销售网络，跨行业涉足经营葡萄酒业。

3 构建中国葡萄酒企业战略联盟的必然性分析

3.1 企业合作避免了破坏性竞争

从行业内部企业之间的分歧到价格大战，从市场之争到标准之争，从品牌之争到原产地命名之争，在葡萄酒行业里，不断地演绎着一场场破坏性的竞争。从企业个体来看，竞争方式与市场销售手段出现畸形，多数企业都踊跃地参与到了买店的营销方式中，使企业之间的竞争呈现出恶性竞争的走势。破坏性的竞争往往引起价格大战，企业利润迅速降低，虽然这样做可以在短期内达到一定的打击对手的效果，但同时也打击了员工的士气，破坏了企业的基础，使企业难以重振雄风。在这种残酷的竞争中没有赢家，要彻底扭转被动局面，必须逃脱愈演愈烈的降价漩涡，企业不应当仅仅看到本行业内与自己有直接竞争关系的产品，仅仅关心如何销售更多的产品，而应当站得更高，考虑如何在企业“生态系统”中长期保持高额利润。于是，企业就必须学会合作，与伙伴相互协作，共同学习，以降低成本，提高品质，维持利润。这种竞争观念的转变是非常重要的，参与合作的企业将比那些“独行侠”式的企业占有更大的优势。

3.2 企业合作或联合是企业发展的必由之路

随着现代企业管理制度的不断深入，葡萄酒行业内的合资、兼并、联合已屡见不鲜。谋求更好发展前景的企业需要合资，比如张裕持股卡斯特、通化结盟阿尔泰；其他行业要快速进入需要兼并，例如：江中集团控股西夏王、梁氏集团收购苏武庄园；同区域或产品竞争激烈的企业需要联合，例如：龙徽和丰收在桂花陈酒领域的竞争现已演化为通力合作。特别是对于有较强实力的大企业，通过资本运作方式来进一步做大做强，甚至强手同盟，实现规模化经营，营造产业化规模效应，从而大大增强抵抗进口葡萄酒入侵的“免疫力”，是我国葡萄酒企业在国际竞争中制胜的必由之路^[4]。

3.3 构建葡萄酒企业战略联盟

3.3.1 对战略联盟的解释

战略联盟(Strategic Alliances)自古有之，从六国的合纵抗秦、刘邦的反楚联盟到孔明的联吴抗曹，都是战略联盟的成功案例。战略联盟是指两个或两个以上的企业个体之间为了实现一定的战略目标，出于对整个市场的预期和企业总体经营目标及其经营风险的考虑，为达到共同拥有市场、共同使用资源、共同增强竞争优势等目的，通过企业个体之间的联合、协议合作、股权分享等制度安排，而结成的优势互补、风险共担、各尽所能、各取所需、要素双向或多向流动、组织松散结合的网络型联合体，营造一种你中有我、我中有你的共生共存局面的一种新型经营方式和全新的联合企业组织模式。战略联盟的思想及其初步的实践为中国不同行业企业参与国际竞争提供了有益的启示，中国的葡萄酒企业面临着激烈的国际、国内市场双重竞争。因此，各企业必须从世界经济竞争的角度来重建新的管理架构并制定新的竞争策略。

战略联盟可分成股权型战略联盟和非股权型战略联盟。以股权型战略联盟为例，它有三个显著的优势：其一是凸现了联盟各方的长期行为与长期义务，可视为一种战略程度最高的战略联盟；其二是股权纽带为长期结盟奠定了坚实基础，能使结盟各方从长计议，充分利用各自的核心优势，在诸多领域进行合作，共同做大做强；其三是股权型战略联盟向竞争型市场发出了明显而强烈的市场信号，为抢占市场份额、防止敌意收购构筑了制高点。但是，股权型战略联盟也存在一些潜在风险：一是有可能影响结盟企业的独立性；二是一次性的股权购买成本与预期回报的平衡性^[5]。

3.3.2 建立竞争与合作战略

该战略分为横向一体化战略和纵向一体化战略。横向一体化战略有两种表现形式：一是直接或有形的横向一体化战略，竞争对手之间的合并、相互参股，如张裕集团与世界第二大葡萄酒商卡斯特集团签订战

略性合作协议，建立战略合作关系。二是间接或无形的横向一体化战略，竞争对手通过战略联盟开拓新市场、降低成本或狙击竞争对手的市场进入，如长城集团对其沙城长城、华夏长城和烟台长城进行重组，打造长城品牌。纵向一体化战略是企业通过兼并重组或联合，在产业链全流程为消费者提供产品和服务，建立产业链竞争优势。如新天集团与世界最大的葡萄酒辅料与技术开发商意大利 AEB 集团结成合作伙伴关系，提高产业链的竞争优势。兼并重组在多层次、全方位的展开，不仅包括横向兼并、纵向一体化经营，也包括企业之间的合作整合。企业之间如果建立起这种亲密的合作关系，就会消除彼此猜忌和相互严守秘密，才能共同描画出斜率更大的利润曲线。

参 考 文 献

1. 耿兆林. 中国葡萄酒行业的现状与发展——在2002国际葡萄与葡萄酒发展论坛的发言.中外葡萄与葡萄酒, 2002, (5): 8-9
2. 东方星.正本清源 以质求胜——谈入世后中国葡萄酒企业经营战略.瞭望新闻周刊, 2002 (4): 64
3. 罗建法. 2003年中国葡萄酒行业十大忧患. 全球品牌网, 2004. 9. 9
4. 优势企业的竞争与合作是汽车产业发展的战略选择. 中国汽车报, 2002. 1. 22
5. 何 畔. 战略联盟：现代企业的竞争模式. 广东：广东经济出版社，2000

Competition Analysis and Stratagem Union foundation of Wine Enterprises in China

Shen Zhongxun, Huang Tianzhu and Wang Qingwei

(College of enology of northwest A&F university , Yangling , Shaanxi , 712100 China)

Abstract Actuality and challenges make the relationship which competition with cooperation certain in each wine enterprise in China. Unfair competition or confusion among enterprises should weaken the strength in whole industry. But cooperation in each enterprise can avoid devastating competition , share resources and supplement strongpoint each other , so that the industry should upgrade , progress , continuance development according successful experience to other industrys. Thus the only way of industry development is enhance cooperation in each enterprise and establish stratagem union in wine enterprise in the future.

Keywords wine , enterprises , competition , cooperation , stratagem union

葡萄酒企业开展俱乐部营销的现状与对策

李甲贵¹ 沈忠勋¹ 王 渊²

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100

²上海新天尼雅葡萄酒业有限公司, 上海 200000)

提 要 本文分析了我国葡萄酒企业开展俱乐部营销的市场背景, 在对其现状全面分析的基础上提出了具体的发展对策, 即: 强化服务意识; 重视公关的作用; 俱乐部活动要突出娱乐性, 知识性, 淡化功利性; 加强管理, 充分重视市场细分、消费者市场培育和基础性工作的落实; 组建葡萄酒俱乐部联盟, 提高葡萄酒俱乐部的市场化组织水平。

关键词 葡萄酒企业; 俱乐部营销; 组织创新

随着消费者对葡萄酒产品认识的日益丰富和全面, 人们的葡萄酒消费渐趋理性, 我国葡萄酒市场正在由卖方市场转向买方市场^[1]。为了获取更大的市场份额和创造更广阔的利润空间, 葡萄酒企业将更多的注意力集中在了消费者市场的培育和发展上。为了打破企业与消费者之间“敌对”的局面, 变市场供求矛盾为战略伙伴关系, 更多的葡萄酒企业探索着与消费者建立一种更为温和的、融洽的、稳定的市场关系。为实现这种营销战略, 部分葡萄酒企业发起和组织了以会员制为基本组织形式的葡萄酒俱乐部, 试图从营销组织创新的角度开创一片新的营销天空。

1 葡萄酒企业开展俱乐部营销的市场需求分析

根据马斯洛的需求层次论^[2]和西方经济学的弹性理论^[3], 首先受到价格冲击的是需求弹性较高的非必需消费品(包括选购品和奢侈品), 其次才是日常消费用品。在我国, 葡萄酒消费尚处于发展阶段, 葡萄酒属于选购品的范畴, 在价格变动中将受到较大的冲击。饮料和家电等行业的经验告诉我们: 按照市场的逻辑, 每次行业价格竞争后面紧接着的必然是服务的竞争。在过去的时间内, 国内分析专家们计算很细的多是一些量化指标, 如入世后某一类产品能承受多大幅度的关税降低。实际上, 能否建立起具有国际竞争力的销售服务体系和持久稳定的客户关系, 才是决定我国葡萄酒产业发展的关键。目前, 中国葡萄酒行业的井喷时代即将来临, 价格竞争已见硝烟, 而我国葡萄酒企业自身组建的俱乐部也正是在这种大环境下所产生的。

因此, 企业为避免重复交易、节约交易成本, 为了设法建立和维持与消费者的长期交易, 建立起了带有明显企业色彩的、以生产企业和消费者为主要成员、销售企业和社会公众为辅助成员的战略联盟。为了实现战略联盟的初衷, 战略联盟成员共同制订了以消费者频繁购买或缴纳入会费, 企业给予消费者价格优惠或折扣, 互惠互利、利益共享、风险共同的契约或规定。俱乐部就是这种联盟的主要形式^[4]。作为俱乐部的成员, 对供应商与生产企业、生产企业与分销商以及分销商与消费者而言, 他们的合作需要一种独立

化、有制度的组织作保障；对生产企业和经销商而言，同样需要以此来保证消费者长期消费。彼此之间存在着共同的利益基础。

企业与企业以及企业与消费者战略联盟出现的根本动机在于节约交易成本，即公司用于维护一个稳定客户的成本要小于发现并且培养一个新客户的成本。企业和消费者的关系原本是自由的市场交易、一次性买断的关系，随着竞争的加剧，企业及消费者所支出的搜寻成本、谈判成本都在不断提高。所以，日益激烈的市场竞争环境也促进了这种战略联盟的形成。

我国众多的葡萄酒企业大都已认识到俱乐部营销将会成为企业新的利润增长点，在企业未来整个营销体系中将会发挥越来越重要的作用。因此，葡萄酒企业组建俱乐部的目的大多也是通过俱乐部进行产品销售，即我们日常所说的俱乐部营销。在今天市场细分倾向日益明显的情况下，葡萄酒企业希望通过俱乐部营销的方式，多角度、全方位地满足葡萄酒消费者的需求，建立良好的顾客关系、稳定的厂商关系，培养消费者的品牌忠诚度，以提高企业的经营业绩。

2 葡萄酒企业开展俱乐部营销的现状

葡萄酒企业组建的各种形式的俱乐部大体可区分为娱乐性、健康性、文化知识性三类。运行的方式比较简单，管理模式大同小异，当顾客一旦参与购买或承诺按一定数量购买或者缴纳一定的费用，就自动成为俱乐部会员。无论是哪种类型，葡萄酒企业组建俱乐部顺应了当前休闲生活的潮流，体现了人们生活质量的变化，符合人们对生活高质量、高品位的追求目标。但是，我国葡萄酒企业开展俱乐部营销的现状却不容乐观，能够正常开展活动的为数不多，俱乐部成员关系松散，缺乏凝聚力，与俱乐部要建立稳定、互惠互利、双赢市场关系的美好初衷并不一致。目前，我国葡萄酒企业俱乐部营销主要面临着以下问题：

2.1 行业规模较小，环境亟待改善

对于葡萄酒企业俱乐部来说，它和整个葡萄酒行业的发展是息息相关的，只能随着整个葡萄酒产业的发展壮大而发展。只有在市场培养充分，葡萄酒消费份额进一步上升的前提下，葡萄酒俱乐部才能充分发挥其作用，也才有可能反过来促进整个葡萄酒产业的发展。但目前由企业所组建的葡萄酒俱乐部却陷入了一个“两难”的尴尬局面：一方面，知道培养市场的重要意义，深知只有花费一定的气力去普及文化，培养消费者，才能发挥俱乐部营销的重要作用；另一方面，却没有一家企业俱乐部愿意投入，去成为“先行者”，踏踏实实地去培养市场。因此，对我国现阶段的葡萄酒企业俱乐部而言，目前的主要任务应该是培养市场，只有这样，企业俱乐部才有可能实现与消费者互惠互利、共同发展的初衷。

2.2 俱乐部管理混乱，无法保证活动的正常化

在软环境尚未完全匹配的情况下，葡萄酒俱乐部作为一种较为超前的观念，导致更多的葡萄酒企业对俱乐部只是抱着一种“试试看”或“尝尝鲜”的想法，以一种盲目跟进的姿态走进了俱乐部营销。在这种盲目与浮躁思想的指导下，企业俱乐部管理混乱，一些基础性的工作如对目标市场和顾客进行细分、建立会员档案、安排和策划活动细节等均没有具体的落实。因此，活动带有很大的盲目性，从而导致一旦遇到一些暂时性的困难或俱乐部的现状未达到预期效应，绝大多数的企业就会“知难而退”，等着其他的企业俱乐部去“栽树”，而自己却在一旁等着来“摘果”现象的产生。

2.3 会员单位没有切实把握俱乐部营销的实质

社交和兴趣相投的娱乐活动、定期聚会与互相交流应该是俱乐部活动的灵魂，但现有的大部分企业俱乐部却根本不重视这方面的组织活动。他们做得更多的是单方面向消费者灌输或强加企业的观点和策略，过于计较活动的投入和回报比。尽管这对于企业经营来说是无可厚非的，但从俱乐部营销的角度来说，活

动是无法达到应有效果的。

2.4 俱乐部排他性明显，不利于整个葡萄酒市场的培养

企业俱乐部在本质上是企业与消费者之间联盟的一种表现形式，而企业组建俱乐部的根本目的也正是想利用俱乐部进行营销。而正由于企业俱乐部自身的所属性，注定它首先要以企业利益为重，服从企业的安排，从企业自身角度出发，根据企业的目的、要求及营销策略安排俱乐部的活动。而由此导致的各个企业俱乐部不可避免地要对同类产品表现出一定的排他性。这种利用俱乐部各自为战、相互挖墙脚甚至相互诋毁的局面恰恰不利于整个成熟市场的培养。

2.5 企业色彩浓厚，功利性太强，难以培养消费者的忠诚度

由于企业俱乐部自身的所属性，导致企业俱乐部的企业色彩过浓，功利性过强，除了交易关系和渗透关系外，企业俱乐部忽视了与会员之间原本应存在的相互渗透、相互支持的结构关系，未将同样重要的伙伴关系、心理关系、情感关系作为关系的坚实基础，而这些才是俱乐部营销所强调的精髓。只站在企业自身的角度，过于一厢情愿，不从消费者的需求出发，从情感和关怀角度感动消费者，是很难培养消费者的忠诚度。

2.6 俱乐部活动千篇一律，缺乏独特个性

目前国内绝大多数葡萄酒企业俱乐部的活动均为品酒、参观、交流等，企业俱乐部不去进行市场细分，来者都是客，上的都是同一壶茶，活动过于雷同化，缺乏自己独特的个性。这样的后果一方面是无法吸引消费者，导致消费者觉得除了地域因素，加入任何一家俱乐部都差不多。另一方面，无法使会员觉得有依恋感，辛辛苦苦发展的会员很容易流失，无法保证俱乐部会员的稳定性。

2.7 宣传、沟通不够，会员规模较小，网络不健全

许多俱乐部知名度较低，自身力量过于薄弱，根本不为人所知。会员稀少，自然会失去对顾客的吸引力，同样也无法发挥俱乐部营销的作用，从而进入了恶性循环的死角。而所承诺的回报不能兑现等也是企业俱乐部举步维艰的又一重要原因。

3 葡萄酒企业开展俱乐部营销的对策

对于葡萄酒企业组建的俱乐部而言，其运作发展需注意以下几点：

3.1 强化服务意识

葡萄酒俱乐部是服务行业，服务行业最重要的是管理，在于如何保证向会员提供承诺性的服务。从世界葡萄酒俱乐部的情况来看，它们都不是以赢利为目的的，或是干脆建成非赢利性的组织。

不以赢利为目的并不是指不可以赢利，而是要求所有利益必须返回俱乐部，不能向与俱乐部无关的行业投资。俱乐部的收入都是来自于会员的会费，所以每一项投入必须让会员得到实惠。只有做到这一点，才能保证会员的利益不受损失。反过来，要保证会员的利益，就必须不以赢利为目的，因此，各国的葡萄酒俱乐部在运作时都尽量避免利益冲突。

尽管进入赢利状况对于我国现阶段的葡萄酒企业俱乐部而言还是一个较为遥远的目标，但作为一种承诺性的服务产业，企业俱乐部在发展壮大后同样应重视这一理念的执行。

3.2 重视公关的作用

企业俱乐部要充分利用促销中的营业推广、公关、广告等策略，特别要注重公关活动的展开。企业要积极参加一些公益活动，增加企业的宣传力度，从而增加企业俱乐部的知名度，在消费者心中树立良好的企业形象和俱乐部形象。

3.3 俱乐部活动要突出娱乐性，淡化功利性，重视知识性

会员参加俱乐部是为了共同兴趣，所以俱乐部应加强沟通，定期或不定期举行一些娱乐性的活动以吸引顾客，如组织到葡萄产区旅游、参观企业生产流程，以软公关从侧面达到宣传企业及产品的目的。同时，俱乐部活动在突出娱乐性、淡化功利性的同时还要注重其知识性，如企业可设立葡萄酒知识论坛或沙龙，收集葡萄酒资料，向会员介绍葡萄酒的知识，定期或不定期邀请行业专家进行交流等。

3.4 加强管理，充分重视市场细、消费市场培育和基础性工作的落实

企业俱乐部应对消费者的消费心理、消费习惯和消费行为等进行详细的分析，建立详细的会员资料库，借助终端确定目标顾客，同时要重视团体会员的参与，最终达到企业产品在市场上打开销路，形成从点到线再到面的经营管理形式，降低风险，更好地经受市场竞争和考验，实现消费者与企业的双赢局面。

企业俱乐部应细分市场 and 消费者，针对不同的消费者群制定独特的活动方案。除了常规的打折消费等方式外，俱乐部可以结合生日、节日和重大喜庆日，为目标会员量身定做生日庆典酒、纪念珍藏酒；将新人结婚照制成酒标图案，制成婚庆专用酒；结合中秋、元宵、春节等，将企业产品与月饼、元宵等具有节日特色的礼品相结合，为会员供应节日礼品特供酒等个性化服务，从心理和情感上满足其归宿感，从而为牢固建立竞争对手无法轻易染指的结构关系打下坚实的基础。

3.5 组建葡萄酒企业俱乐部联盟，提高俱乐部的市场化组织水平

在营销实战中，人们越来越认识到沟通的重要性，而俱乐部这种形式，就是最好的和消费者沟通的桥梁。但应注意到，俱乐部营销的形式只是一种沟通手段，在现阶段它不能完全替代店铺的功能。因此，企业俱乐部应倡导两条腿走路，即一方面发展直接消费者，另一方面通过俱乐部的桥梁作用，发展吸收一些终端店，如商超，饭店等，使他们成为自己的团体会员，成为俱乐部的分销商。

企业还可以凭借自身优势，通过社会资源的整合，联合与葡萄酒行业相关联的各个行业的商业精英，如餐饮、商超、银行、航空、网络通讯媒体等签订结盟协议，成立跨行业的“俱乐部联盟”，最终实现“强强联合，统一服务，俱乐部、商家和顾客三者共赢”的目标。作为企业联盟的成员，这些企业俱乐部能够共享市场资源、目标顾客信息、平摊成本及营销费用。这种企业俱乐部的市场组织化不仅表现在组织了消费者网络与消费者的密切关系，而且表现在组织了企业网络。近年来，我国流行的“环球优惠卡”、“通惠卡”、“JSJ网络订房卡”等都是企业俱乐部市场组织化的具体表现，它的成功运作，为葡萄酒企业开展俱乐部营销提供了新的发展思路，有利于企业经营理念的进步和创新。联盟会员可以参加葡萄酒俱乐部联盟举办活动，并将收到俱乐部的会员期刊，内容包括联盟中所有企业俱乐部成员需传递的信息。另外，俱乐部会员还可以申请葡萄酒俱乐部信用卡，持卡会员可在俱乐部数千商盟单位获得刷卡消费及特别优惠折头，俱乐部会员凭借信用卡还可实现各项社会性缴费、信贷功能、金融理财等多项便利服务。同时，葡萄酒俱乐部还可以开展航空飞行换积分的活动，通过消费的葡萄酒数量折算赠送飞行里程（当然也可替换为换现金、换话费、换铁路里程等）；或通过飞行的里程折合赠送一定数量的酒品或其他联盟企业礼品。俱乐部还可为大客户或重点客户实现酒类产品的集团式招标和集团式购买，提供企业定牌专用酒，为个人会员提供团购等特色服务。

参 考 文 献

1. 李甲贵，沈忠勋，侯军岐等. 中国葡萄酒产业发展环境分析. 第三届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集. 西安：陕西人民出版社，2003
2. 甘碧群. 市场营销学（第3版）. 武汉：武汉大学出版社，2002

3. 梁小民. 西方经济学教程 (修订版). 北京: 中国统计出版社, 1998
4. 孟韬, 张东伟. 企业与消费者的联盟: 营销组织的新视角. 中国流通经济, 2001 (2): 54 ~ 56

Status quo and Countermeasures of Wine Enterprise to develop Club Marketing

Li Jiagui¹, Shen Zhongxun¹ and Wang Yuan²

(¹College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100 China ;

²Shanghai Vinisuntime Niya Co. Ltd., Shanghai 200000 China)

Abstract In this article we analyzed the market background of wine enterprises developing club marketing in China. Based on the analysis of its present conditions we concluded some countermeasures to develop wine club marketing. The countermeasures are to strengthen service consciousness, to attach importance to public relations, to give prominence to club's recreational and intellectual functions, to tighten up the management, to do some work indeed in target market subdivision and consumer market's cultivation, to found wine club leagues to enhance wine club's market organizing level.

Key words Wine enterprise, Club marketing, Organization innovation

我国葡萄酒行业品牌营销研究

张 军¹ 黄天柱² 高雷虹³

(西北农林科技大学¹经济管理学院,²葡萄酒学院,陕西杨凌 712100;

³山西财经大学财政金融学院,山西太原 030006)

提 要 本文通过分析世界葡萄酒行业形式及我国葡萄酒行业的品牌分布现状,揭示了我国葡萄酒市场的巨大潜力和“东强西弱”的品牌分割局面;进而利用 SWOT 分析方法,对我国葡萄酒行业所具有优、劣势及面临机遇与威胁进行了剖析,提出我国葡萄酒企业只有重视品牌营销和运用合理的科学品牌营销策略,才能保持健康持续发展。

关键词 葡萄酒;葡萄酒行业;品牌;营销

我国葡萄酒行业是改革开放后发展起来的新兴产业,随着社会主义市场经济体制的建立和逐步完善,人民生活水平不断提高,喝葡萄酒有益健康的观念日益为消费者认同,葡萄酒行业也随之成为有着广阔发展前景的朝阳产业。然而,市场对资源的配置作用,使得葡萄酒行业迅速成为激烈竞争的领域,尤其是近几年来,知名品牌各使招数,地方品牌异军突起,洋酒纷纷加入,使国内葡萄酒市场的竞争更趋激烈和复杂。

1 我国葡萄酒行业品牌的现状及发展趋势

在葡萄酒行业内,关于品质与品牌的较量由来已久。从葡萄酒发展史来看,有地域优势的酒庄酒在很长时间内不重视品牌,他们强调葡萄酒的精髓是上好的葡萄原料和高超的酿酒工艺。但 20 世纪 80 年代,“新世界”葡萄酒生产国家开始在技术、设备上投入大量资金,他们不强调产地,但殚精竭虑地打造属于自己的品牌,重视口味和饮用便捷。20 世纪 90 年代初,法国葡萄酒在全球市场所占份额为 49%,而 2000 年已下滑至 22%,2001 年又下滑至 18.6%^[1]。随着“新世界酒运动”铺天盖地席卷全球,“旧世界”在规模化生产和宣传的强大攻势下,也开始重新重视品牌,因为后来者正在无情地蚕食原本属于他们的市场。现在一些老牌酒庄开始重新注重品牌作用的同时,期望用品牌与传统相结合的方式保持领先地位。

1.1 行业发展诱人,潜力巨大

我国葡萄酒虽已有 2000 多年漫长历史^[2],但葡萄和葡萄酒生产始终为农村副业,产量不大,未受到足够重视。直到 1892 年华侨张弼士在烟台栽培葡萄,建立了张裕葡萄酒公司,我国才出现了第一个近代新型葡萄酒厂。

改革开放以来尤其是近几年,整个行业进入两位数的快速增长期,并显示出良好的诱人前景。2002 年全国葡萄酒总产量比去年同期增长 5.38%,实现税金 6.2 亿元,比上年同期增长 12.78%,净利润 5.2 亿元,比上年同期增长 3.8%^[3]。

按照我国年增长速率 10%（最近 4 年）预测，2010 年葡萄酒产量将达到 63 万吨。按照亚洲现人均消费水平 0.5kg 计算预测，2010 年我国人口将增加到 13.8 亿，需葡萄酒 69 万吨，年增加葡萄酒 4.25 万吨；2020 年人口达到 16 亿，人均消费以 0.7kg 计算需要葡萄酒 112 万吨，以亚洲现发达国家人均水平 2.2kg 的一半计算也需要葡萄酒 176 万吨，葡萄酒将在我国经济和人民日常生活中起着越来越重要的作用。

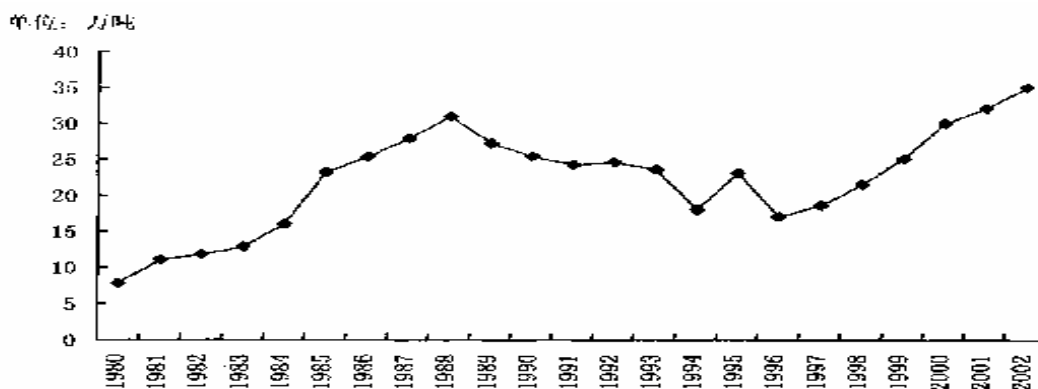


图 1 我国葡萄酒年产量（1980-2002）

1.2 品牌分布“东强西弱”，西部品牌头角初露

目前中国的酿酒葡萄大致分布在以下九个产区：东北产区、渤海湾产区、沙城产区、清徐产区、银川产区、吐鲁番产区、黄河故道产区、云南高原产区和武威产区。其中年产葡萄酒超过 1 万吨的 6 个省市主要分布在东部地区，分别为：山东、河北、天津、北京、安徽和河南，这 6 个省市的葡萄酒产量能够占到中国葡萄酒产量的 80%。

在葡萄酒行业中，生产能力与市场占有率的分布基本一致。我国的葡萄酒生产企业已由发展之初的 500 多家，整合兼并到现在的不到 100 家企业。在这近 100 家企业中，产量在 1 万吨以上的企业仅张裕、威龙、王朝、长城、通化、新天、云南红等 10 家，其中山东的张裕、天津的王朝、北京的长城市场占有率合计高达 52%，3 家合计拥有全行业资产的 38.1%，销售收入合计达到 56.7%。其中张裕葡萄酒已经连续五年位居市场占有率首位。

近年来，随着全国葡萄酒行业的兴旺，给西部地区的葡萄种植和葡萄酒产业带来了生机和活力。尽管西部地区葡萄酒的发展速度还不及东部沿海和华北地区，但在当前的葡萄酒热潮中，业已呈现出一种强劲势头。新疆、宁夏、甘肃、内蒙古等西部地区涌现出一批具有实力的葡萄酒企业和品牌，发展各种酿酒葡萄基地超过 10 万亩，葡萄酒设备扩容近 10 万吨，都以高起点、先进设备与现代工艺为特征。如“当然干红”、“云南红”、“西夏王”、“新天”、“莫高”等，由于品种繁多，品名新颖，富于创意，越来越受到消费者青睐。

2 我国葡萄酒行业品牌 SWOT 分析

SWOT 分析是市场研究分析常用的方法之一。所谓 SWOT（态势）分析：指把与研究对象密切相关的各种主要优势因素（Strengths）、弱势因素（Weaknesses）、机会因素（Opportunities）、和威胁因素（Threats），通过调查罗列出来，然后运用系统分析的思想，把各种因素相互匹配起来加以分析，从中得出一系列相应的结论或对策^[4]。

2.1 优、劣势分析

2.1.1 优势：自然资源造就品质优势

我国西部地区的自然生态环境造就了优质葡萄酒的最佳产区，这里生产期光照充足，昼夜温差大，有

利于葡萄生长和果实成熟；并且空气干燥，病虫害少，夏秋季温度不过高，葡萄成熟缓慢，增加了糖分，促进芳香物质和多酚物质的形成和转化；采收季节，雨量少，温度较低，对裂果及果实成分的转化极为有利。如银川产区是分布在银川沿贺兰山麓的冲击平原；甘肃武威产区已大面积推广梅鹿辄、霞多丽等国际名种；新疆吐鲁番产区包括鄯善、红柳河等地，成功试种赤霞珠、梅鹿辄、品丽珠、歌海娜、西拉等适于酿制具有西域特色的高档甜型葡萄酒的极佳品质葡萄；石河子产区位于新疆北部的玛纳斯、昌吉和伊犁等县市。1997 年这里创建新天葡萄酒公司是中国西北最大的葡萄酒企业，葡萄园面积 15 万亩。这里气候温和、降水适中、土壤富含矿物质、无污染，是中国酿制优质葡萄酒的绿色食品基地，它的发展必将对中国葡萄酒的市场起着重要作用；云南弥勒产区位于云南高原的弥勒、东川、蒙自，该地区葡萄酒生产已形成其独特的产地特色，“云南红”已成为这一产区葡萄酒的名牌。

2.1.2 劣势：市场区域化集中程度高、品牌分散

在国内，人们还没有形成普遍的葡萄酒消费习惯，葡萄酒远远没有白酒那样流行。目前我国葡萄酒消费的主要区域还集中在沿海地区和上海、北京、广州这些发达地区。

东部的老品牌由于发展时间较长，在市场中拥有比较完备的营销渠道，具有难以撼动的地位。在重要葡萄酒消费市场华南地区，“长城”、“张裕”和“王朝”三个品牌市场综合占有率之和超过 60%。长城葡萄酒在华北、华南、西南、西北 4 个地区市场综合占有率均名列第一，其中在西南地区，长城葡萄酒市场占有率达到 66.13%。张裕和通化葡萄酒则分别在华东、东北地区占榜首。西部地区葡萄酒企业距离东部市场远，出于营销成本的考虑，一般主要市场在西部，如“当然干红”、“云南红”、“西夏王”等，但西部目前有限的购买力限制了这些企业的生存和发展。

2 机遇与威胁分析

2.1 机遇：人们对健康的重视程度提高、有利的国家政策

利用现代检测手段，人们已测出葡萄酒含有 250 种以上的成分，其中的矿物质、维生素、氨基酸、尼古酸与白藜芦醇等都是对人体健康十分有益的物质。国外研究表明，葡萄酒具有活血、通脉、助消化、清洁软化血管、降低血脂、防止胆固醇对心脏造成的危害等功能。

在中国，随着人们生活水平的提高，人们对生活质量和健康生活的要求逐步提高，葡萄酒也开始逐步受宠。从 1994 年到 2000 年，相比于世界年产量 6.5% 的增长率，中国的葡萄酒消费增长了 61.8%，2002 年中国的葡萄酒消费量超过了 40 万吨。在 2002 年 9 月国际葡萄酒发展论坛上，OIV 主席说：“中国葡萄酒行业的发展令人吃惊，要不了三年，亚洲（特别是中国）将成为全球葡萄酒消费增长最快的地方^[5]。”

此外，2003 年 3 月，国家出台了一项关于葡萄酒产业的规定：到 2004 年 6 月 30 日“半汁葡萄酒行业标准”废止，而过去半汁葡萄酒在我国市场几乎占据 2/3 的市场份额。此举对于产量丰富、品质优异的西部葡萄酒新贵们无疑是一大利好消息。

2.2 威胁：营销方式滞后、洋品牌的入侵

中国目前的葡萄酒营销方式为三步骤：一生产产品，进行系列包装、前期广告炒作；二寻找区域代理商，利用代理商的资源铺货上市；三终端促销，或靠广告拉动市场。最终由于疏于品牌的管理和高品质的品牌构建造成市场条块分割，营销成本的大幅增高。

与此同时，国外葡萄酒厂商在国际市场生产过剩、消费市场不足的形式下，纷纷将目光转向中国这个巨大的市场。过去占领高级饭店、宾馆等有限的高档市场、无普遍影响力的进口葡萄酒随着我国加入 WTO，到 2004 年葡萄酒关税由 65% 分阶段下调至 14% 左右，加上其后的增值税和消费税后综合税率降为约 46%

(原综合税率高达 150%)，使洋品牌从中、高档轻松下沉至低端市场，增加了洋品牌的竞争力^[6]。

综合分析，我们不难发现我国葡萄酒行业正面临着严峻的挑战和难得的机遇。据有关调查，消费者选择葡萄酒的动机：品牌占 44%，口味、价格、原产地和包装分别占 28%、16%、8%和 4%。随着国内葡萄酒消费者的逐渐成熟，葡萄酒消费已逐渐从产品消费进入品牌消费时期，葡萄酒行业已经进入一个品牌竞争时代。而能不能占领消费者头脑中的品牌意识，进而使消费者认同品牌，将成为此行业间一个关键的竞争焦点。

3 我国葡萄酒行业品牌营销策略

品牌营销是企业根据自身的发展战略和规划，在市场营销过程中，以突出企业（产品）的品牌形象为重点，综合运用各种营销手段，如价格、广告、分销渠道、促销方式等，以获得消费者对其品牌的认可，最终促使销售目标的完成和企业发展的—种市场营销行为和长期过程。它脱胎于传统的营销方式，二者相比，它又具有自身鲜明的特点：最终效果不同、营销手段不同、生存期限不同。

3.1 树立正确的品牌营销观念

3.1.1 质量锻造品牌

质量是品牌的立足之本。没有过硬的质量作保证，品牌就如无根之木。铸造品牌需按其客观规律运作，理性、深刻的认识它，走出“标王”误区。成功品牌之所以被信赖，是因为其不仅受制于商业道德的约束和规范的限定，而且有其对品牌承诺的—刻恪守。国家质检总局于 2004 年 1 月底通过抽查全国 14 个省、市、区 84 家葡萄酒企业生产的 96 种产品，结果为：合格 65 种，产品抽样合格率仅为 67.7%。而由于产品质量问题引发的品牌信任危机，进而影响产品销售的事例在葡萄酒行业界是有着前车之鉴的。如轰动—时的牛血净化剂丑闻、法酒以次充好的造假丑闻使洋葡萄酒整体承受着中国消费者前所未有的信任危机，这种以牺牲质量换取短期市场利润的短视行为最终使洋葡萄酒黯然从中国市场退潮。

3.1.2 品牌的卧薪尝胆经营

建立一个品牌是—项复杂而浩大的工程，包括品牌的整体战略规划、视觉形象设计、核心理念确定、品牌符号运用、品牌场景设计等—系列工作。而且，品牌建设并不是—个短期工程，需要品牌管理者常年累月的小心经营。名牌或强势品牌的树立，更要经过漫长岁月的考验。可口可乐经历了 100 多年的风雨洗礼，柯达、雀巢等强势品牌的造就也非—夕之功，其鲜明的品牌个性、强大的品牌资产绝非短期行为所能成就。

3.2 品牌定位策略

品牌定位是针对目标市场确定、建立一个独特品牌形象并对品牌的整体形象进行设计、传播等，从而在目标顾客心中占据—个独特的、有价值的地位的过程或行动^[5]。

品牌定位的基础从某种意义上说是—个基于心理过程的概念。据美国宾夕法尼亚大学沃顿商学院的—项观察表明，消费者把商品从货架上拿到购物筐里平均要用 12 秒，消费者选择某品牌主要依据在于该品牌所能给消费者带来自我个性宣泄的满足和互动的深入影响。特别是在当今葡萄酒市场为买方市场的条件下，同类产品竞争激烈时，如何找到符合自身特点的品牌诉求点是影响企业成功重要因素。

品牌诉求点的前提条件就是根据目标市场进行市场细分。通过市场细分，使企业发现市场机会，设计塑造自己独特的产品或品牌个性。具体综合运用心理迎合、审视品牌环境、寻求差异，创造个性品牌、凝练品牌定位理念，塑建品牌形象、品牌定位传播，提升品牌形象等策略。目前，国内葡萄酒知名企业呈两派分布：—派以张裕、长城、王朝为代表的老牌精英；另—派则以威龙、新天、印象等为代表的“新贵”。

老牌精英走高贵路线，新贵则是利用我国高速成长的葡萄酒市场的机遇，立足平民，窥视高端路线，各自进行大规模的市场运作。其中，印象酒业率先针对普通老百姓扛起了“健康”和“便利”的大旗：6元的利乐包装，啤酒瓶装的葡萄酒，产品的诉求点直指很有中国特色的“保健功能”。

3.3 培育中国特色的品牌文化

传统经济学理论指出：消费者在进行消费时，一般会受朴素的等值观念（即价格与产品的价值相等）影响，产品的品质和价值决定了消费者对消费品的取舍^[5]。然而，在产品同质化程度越来越高的今天，除了对产品品质和价值认同外，品牌文化正在影响着消费者的选择，它一旦与消费者内心认同的文化和价值观产生共鸣，会给它所依附产品增加高能的附加值。

品牌是文化的载体，文化是凝结在品牌上的企业精华，也是对渗透在品牌经营全过程中的理念、意志、行为规范和团队风格的体现^[7]。品牌文化的内涵很广泛，具体包括品牌商标、企业的社会影响力、品牌的载体（产品的品质、前卫性以及消费者认可度）、品牌产品的营销策略和服务技术等。

在葡萄酒市场，品牌文化不仅为企业获得差异竞争优势提供了一种解决之道，而且，通过它还可加强品牌力。这一方面实现了企业促销的商业目的，更能有效承载企业的社会功能；另一方面，通过塑造优秀的品牌文化表明企业坚持积极的文化理念，也是促进社会利益的一种体现。

虽然国内葡萄酒市场呈欣欣向荣之势，但文化的缺失必然影响市场的发展，而要使葡萄酒市场真正得到培育，打破国人葡萄酒消费瓶颈，必须花大力气来培育和普及葡萄酒文化。只有使葡萄酒成为人人享用的健康饮品，中国的葡萄酒行业才能得到真正的发展。在我国葡萄酒市场上长城品牌借助事件营销、情感营销、文化营销来宣传葡萄酒品牌文化可说是运用较成功的例子^[8]。而且，葡萄酒市场上的新生力量来自西部的葡萄酒企业也已意识到此点，并已经在积极打造具有中国特色的葡萄酒品牌文化。来自新疆的新天国际与海尔共同宣布联手掀起“中国葡萄酒文化普及风暴”，双方在“优化国人生活品质”的共同理念下誓要将“健康、快乐、平民化”的葡萄酒文化普及到寻常百姓家。国际上葡萄酒的平民化形象早已深入人心，中国却迟迟做不到这一步，想要依靠新天或少数几个企业独自支撑“中国葡萄酒普及风暴”的旗帜，显然难度很大。但也应该看到这毕竟是中国葡萄酒企业迈出的可喜的一步。

3.4 合理运用品牌整合策略

品牌整合是近年来出现的一种新的品牌管理方法：指为了维持和提高长期竞争优势，企业把品牌管理的重点放在建立企业旗帜品牌上，进而明确企业旗帜品牌与其他品牌的关系，使品牌家族成员能够相互支持，充分利用企业现有品牌的价值和影响力，进行品牌扩张。具体包括四个方面内容：符合企业战略目标的品牌管理；旗帜品牌与产品品牌的合理关系及品牌拓展；统一品牌家族建设；品牌的信息传导^[6]。可操作的选择策略有：双品牌策略、混合品牌策略、模糊品牌策略、品牌并购与联合策略、区域化与特色化策略、打造国际化策略等，其实质核心都包含三部曲：一.确定品牌系统目标；二.创建旗帜品牌；三.在旗帜品牌与子品牌之间建立起适当联系。

“长城”是中国第一个严格按造国际标准生产“干白”和“干红”葡萄酒的品牌，随着多年的努力经营，市场扩张了，问题也随之出现。中粮酒业有限公司拥有的三大葡萄酒生产厂家（沙城长城、昌黎长城、烟台长城）在同一区域市场上上演了同室操戈，使得销售网络出现了品牌混淆和监管乏力问题，进而影响到“长城”品牌的长久健康发展。中粮酒业在痛定思痛后意识到：一.入世后，关税的降低，国外葡萄酒品牌的竞争力不断增加；二.西南、东北等区域后起国产葡萄酒厂商的崛起，增加了市场的竞争程度。因此，中粮只有通过整合三个长城葡萄酒企业的资源，更高层次提升长城品牌，才能维持或扩大“长城”的市场份额和其市场影响力。最终，中粮以外包的方式把品牌整合委托给专业咨询中介机构，其实施方案：首先，统一品

牌形象，统一宣传工作，同期推出“长城”产品统一标识、中粮酒业有限公司的CI，VI系统；其次，突出三个分厂的产品鲜明特色和市场细分；最后，对长城品牌按产地、年份和品种细分后的相应管理规范传导到零售终端。长城品牌整合后，2003年第一季度销量就接近2002年半年的销量^[6]。

因此，合理运用品牌整合策略，对提高企业尤其是已拥有一定品牌知名度的企业产品的品牌生命力、市场竞争力将产生不可忽视的重要作用。

参 考 文 献

1. 李华，侯军岐，李甲贵编著. 葡萄酒市场学. 西安：陕西人民出版社，2000
2. (美)道格拉斯·迈兹. 品牌与营销. 中外葡萄与葡萄酒，2002，(2)：11
3. 国家统计局. 中国统计年鉴(2003). 北京：中国统计出版社，2003
4. 魏国. 100个成功的品牌策划. 北京：机械工业出版社，2002
5. (美)安格尼斯嘉温克勒. 新经济时代的品牌策略(赵怡). 北京：机械工业出版社，2002
6. 刘长忠. 中国葡萄酒行业之兴唯有整合. 中国新闻网，2003-11-21
7. 李艳，牟德华，康明丽等. 营销文化与葡萄酒的文化营销. 酿酒，2002(5)：13~15
8. 高斌. 葡萄酒营销方式的探索与实践. 中外葡萄与葡萄酒，2001，(3)：21~23

Research on Brand Marketing of Wine Industry in China

Zhang Jun¹ Huang Tianzhu² and Gao Leihong³

⁽²⁾College of Enology, ⁽¹⁾College of Economics and Management, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi, 712100 China;

⁽³⁾College of Finance, Shanxi University of Finance and Economics, Taiyuan Shanxi, 030006 China)

Abstract To analyze the actualities of wine industry in China and in the world, the article indicates that there is a large potential market in our country and the wine brands of the east are stronger than those of the west. Through SWOT analytical method, the article indicates the opportunities and the different factors of the wine enterprises in China, and that the Chinese wine enterprises adopt the brand marketing strategy to share more market.

Key words Wine , Wine industry , Brand , Marketing