

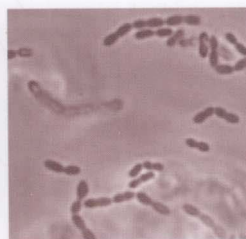
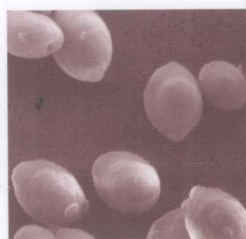
WINE MICROBIOLOGY

Practical Applications and Procedures

(SECOND EDITION)



 Springer



葡萄酒酿造 微生物学

——实验技术与规程

(第二版)

Kenneth C. Fugelsang 著
Charles G. Edwards

徐岩 康文怀 主译

.6
2



中国轻工业出版社

**葡萄酒酿造微生物学
——实验技术与规程
(第二版)**

**WINE
MICROBIOLOGY**

**Practical Applications
and Procedures
(SECOND EDITION)**

[美] Kenneth C. Fungelsang 著
Charles G. Edwards
徐 岩 康文怀 主译

 **中国轻工业出版社**

图书在版编目 (CIP) 数据

葡萄酒酿造微生物学: 实验技术与规程: 第2版/
(美) 福杰桑 (Kenneth, C. F.) 等著; 徐岩, 康文
怀译. —北京: 中国轻工业出版社, 2010. 6

ISBN 978-7-5019-7477-1

I. ①葡… II. ①福… ②徐… ③康… III. ①葡萄酒 -
微生物学 IV. ①TS262. 6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 006051 号

Translation from the English language edition: Wine Microbiology by Kenneth C. Fugelsang, Charles
G. Edwards, Copyright© 2007 Springer Science + Business Media, LLC. All Rights Reserved.

责任编辑: 江 娟

策划编辑: 江 娟 责任终审: 滕炎福 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男 责任校对: 吴大鹏 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2010 年 6 月第 2 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 20.25

字 数: 403 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-7477-1 定价: 42.00 元

著作权合同登记 图字: 01 - 2009 - 0401

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

81103K1X101ZYW

序

近年来,我国葡萄酒产业发展迅猛。优良酿酒葡萄区域化种植逐步实施,葡萄品种多样化,葡萄酒产量持续增加,产品结构不断优化,葡萄酒质量逐渐提高。

在经济全球化的今天,中国既要了解世界,也要让世界认识中国。为进一步提高中国葡萄酒的内在品质,突出中国葡萄酒的特征性与差异性,就必须结合生产实际,对葡萄酒酿造的每一环节进行细化、深化、创新。其中,微生物与葡萄酒酿造联系最为直接、紧密,无论是葡萄的采收、发酵、贮存,还是葡萄酒的稳定及风味等均与微生物密切相关。因此,深入认识葡萄酒与微生物之间的关系具有重要的实践意义。

这次由徐岩教授等翻译的 Kenneth C. Fugelsang 和 Charles G. Edwards 教授所著的《Wine Microbiology》一书,内容丰富。该书既有理论又有实践,涉及葡萄酒酿造与微生物、质量关键点控制、实践操作规范等,特别是针对葡萄酒实际生产的问题进行了剖析,提出了新的见解;介绍了新科学技术在葡萄酒行业中的应用等。该书可供葡萄酒生产企业、科学研究单位、院校相关专业师生、葡萄酒爱好者等学习、借鉴和参考,定会受到广大读者的欢迎。

赵光整

2010年1月 于江南大学

译者序

随着我国葡萄酒产业的不断发展，葡萄酒酿造科学的交流也日益频繁。2008年4月笔者应邀在美国加利福尼亚州大学戴维斯分校考察合作时，阅读了 Kenneth C. Fugelsang 和 Charles G. Edwards 教授所著的 *Wine Microbiology* 一书，发现该书具有科学性强、学术价值高、实用性强等特点，适合推荐给国内同行。

纵览全书，它涵盖了葡萄酒企业及其学术研究机构中常见的微生物问题，同时也吸收了最新的学术成果。该书涉及葡萄与葡萄酒微生物，葡萄酒酿造与生产过程涉及的微生物，微生物实验室操作规范等三部分。介绍了葡萄园和葡萄酒酿造过程涉及的酵母菌、细菌、霉菌等，着重阐述了影响葡萄酒品质和微生物学稳定性的相关微生物，如酵母菌、乳酸菌、醋酸菌、曲霉等；介绍了葡萄园、酿酒厂、发酵前期、发酵期间、存贮期间微生物群体构成、变化、相关控制措施等，以及酒厂卫生、腐败等；介绍了实验室常规设备、培养基制备等，群体或某类微生物检测、鉴定技术，实验室配置、安全等。

目前我国有较多关于普通微生物学的书籍，但涉及葡萄与葡萄酒酿造微生物学的专业书籍甚少。《葡萄酒酿造微生物学》的翻译出版，不仅能介绍国外葡萄酒酿造微生物学研究现状，引进先进科学技术，而且能充实、丰富我国相关企业、院校、科研单位对葡萄酒酿造微生物的认识与研究，更好地促进我国葡萄酒产业的发展。

徐岩、康文怀承担了本书的主要翻译工作，参与翻译的还有吴群博士、王海燕、王玉霞、王珊珊、陈双、高亦豹、尹建邦、王睿等，特此表示感谢。



于鑫湖校区

第二版序言

组织《葡萄酒酿造微生物学》所需要的大量材料是一项很艰巨的工作。第二版《葡萄酒酿造微生物学》的内容可分成三部分：葡萄和葡萄酒酿造微生物学（第1~4章），葡萄酒酿造与生产过程（第5~11章），实验室操作规范及流程（第12~19章）。由于各讨论的主题常常存在相互交叉，因此我们努力使各相关信息保持相对完整，以减少查找信息所遇到的困难。

第一部分，葡萄与葡萄酒酿造的微生物。阐述了葡萄醪、葡萄汁和葡萄酒中发现的微生物，即酵母、乳酸菌、醋酸菌以及霉菌等。这部分重点介绍了这些微生物的分类学、代谢、营养需求，以及对葡萄酒品质的影响。

第二部分，葡萄酒酿造与生产过程。着重强调了该类微生物对酿酒师的实践意义。它包括对微生物管理一般性问题的讨论，以及对微生物生态学的深入探讨。该部分阐述了葡萄酒卫生学方面的一般原则（第9章），质量控制规范的执行（第10章），特定葡萄酒腐败微生物（第11章）。

第三部分，实验室操作规范及流程。它首先介绍了显微镜的使用（第12章），葡萄酒微生物鉴定和计数技术（第13~16章）。由于葡萄酒中发现的有机和无机沉淀常与微生物问题相混淆，所以第17章介绍了一些典型沉淀的鉴定方法及显微照片。第18~19章介绍了如何布置葡萄酒酿造微生物实验室及相关安全问题。该部分附有微生物学常用的词汇表。

致 谢

作者感谢参与该书编撰的几位个人与单位。首先，我们要感谢给予该项目支持的加州州立大学（加州弗雷斯诺）和华盛顿州立大学（华盛顿州普尔曼）。感谢给予技术支持的 W. D. Edinger（Canandaigua 葡萄酒公司，加州，马德拉）、R. Morenzone（葡萄酒酿造技术服务中心，加州，莫德斯托）、B. Watson（Chemeketa 社区学院，俄勒冈州，塞勒姆），以及给予编辑帮助的 S. Safren 女士（施普林格科学商业媒体）。特别感谢提供 HACCP 材料和技术支持的 R. H. Dougherty 和 B. A. Rasco（华盛顿州立大学，华盛顿州普尔曼），也感谢 Eiji Akaboshi、Peter Gray、Cheryl Mitchell、Henry Moore Jr. 和 Roy Thornton 在提供和优化微生物显微照片方面给予的帮助。感谢以下单位或个人允许使用他们的图表版权，如《美国酿酒学与葡萄栽培学》杂志（*American Journal of Enology and Viticulture*），美国公共健康协会（American Public Health Association），《澳大利亚葡萄与葡萄酒研究》（*Australian Journal of Grape and Wine Research*），Blackwell 出版公司，Elsevier Ltd.，John Wiley & Sons Ltd. 和《细菌学》杂志（*Journal of Bacteriology*），Invitrogen 公司，R. Pawsey，施普林格科学商业媒体（Springer Science and Business Media），WineBugs LLC，《葡萄酒和葡萄》（*Wines and Vines*）。

作者同时要感谢世界各地的葡萄酒行业、商业以及大学同事等，没有他们不断提供的支持、建议和创意，本书的编撰是不可能完成的。

最后，特别感谢与我一起工作过的在校学生、毕业生、研究人员、技术人员及同事等。正是通过他们在技术研究和工艺开发上的不断努力，才加深了对葡萄酒酿造微生物学的理解，并得以顺利完成该书。

前 言

世界范围内的葡萄酒酿造协会一直存在着哲学意义上两种不同的观点：一方面，部分酿酒师和酒厂强调通过采纳新的研究成果及技术对葡萄酒酿造过程进行科学改进；另一方面，其他酿酒师和酒厂则愿意采用传统的“旧世界（Old World）”的酿造方法来突出葡萄酒酿造的艺术性。在撰写该书时，其目的并不是去争论二者之间的优缺点，而是提供一种参考工具，以供全球葡萄酒酿造者、研究者以及学生使用。

自 1997 年《葡萄酒酿造微生物学》第一版出版以来，又出现了许多新的信息及概念。也许，在过去十年中最引人注目的是现代分子技术的实时应用。基于基因水平上相类似的技术，一些技术已经不局限于以往深奥的实验室，而能利用快速鉴定微生物手段来解决一些生产实际问题。另外一种新技术应用是关于非酿酒酵母发酵剂的使用，它不仅能赋予葡萄酒一种新的风味，而且能改变其酒体特点。酿酒师也越来越关注腐败微生物的问题，这包括酒香酵母（*Brettanomyces*）、乳酸菌（*Lactobacillus*）、片球菌（*Pediococcus*）以及接合酵母（*Zygosaccharomyces*）等。其中一些微生物是来源于葡萄栽培方式的变化（如，延长挂果时间）。

尽管存在大量不断增加的有用信息，仍旧难以全面理解不同微生物对葡萄酒质量，以及微生物与葡萄酒加工技术之间复杂的相互作用关系。比较突出的例子是酒香酵母，它可能是葡萄酒行业中最神秘、最具有争议的一种微生物。尽管早期一些酿酒师把酒香酵母看作一种危害性微生物，但在新的世纪里则把它看作一种有益的微生物。我们期望，随着研究和试验的不断发展，将能够在葡萄酒酿造过程中为酿酒师提供更好的微生物控制方案，从而能不断提高葡萄酒质量。

我们真诚希望读者能从第二版《葡萄酒酿造微生物学》中发现有用信息，并能为葡萄酒厂、实验室、学生学习提供帮助。若你对作者有任何反馈意见（潜在的错误、对第三版的想法或其他），请随时写信或通过电子邮件联系我们。

再见！

Kenneth C. Fugelsang 和 Charles G. Edwards

2006 年 2 月 14 日

目 录

第一篇 葡萄与葡萄酒酿造的微生物	1
第1章 酵母	3
1.1 引言	3
1.2 繁殖	3
1.2.1 有性繁殖	3
1.2.2 无性繁殖	4
1.3 分类	6
1.3.1 假丝酵母属 (<i>Candida</i>)	7
1.3.2 德克酵母属 (<i>Dekkera</i>)	7
1.3.3 汉逊酵母属 (<i>Hanseniaspora</i>)	9
1.3.4 伊萨酵母属 (<i>Issatchenkia</i>)	9
1.3.5 梅奇酵母属 (<i>Metschnikowia</i>)	9
1.3.6 毕赤酵母属 (<i>Pichia</i>)	9
1.3.7 酿酒酵母属 (<i>Saccharomyces</i>)	10
1.3.8 类酵母属 (<i>Saccharomycodes</i>)	11
1.3.9 裂殖酵母属 (<i>Schizosaccharomyces</i>)	11
1.3.10 接合酵母属 (<i>Zygosaccharomyces</i>)	12
1.4 所需营养物质	12
1.4.1 氮	13
1.4.2 生长限制因子	13
1.5 新陈代谢	14
1.5.1 葡萄糖	14
1.5.2 硫	19
1.5.3 风味化合物	19
1.5.4 糖苷酶	21
1.5.5 甘露糖蛋白质	22
第2章 乳酸菌	24
2.1 引言	24
2.2 分类	24
2.2.1 乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	24
2.2.2 酒球菌属 (<i>Oenococcus</i>)	26

2.2.3 片球菌属 (<i>Pediococcus</i>)	27
2.3 营养需求	29
2.4 新陈代谢	29
2.4.1 葡萄糖	29
2.4.2 精氨酸	32
2.4.3 苹果酸	32
2.4.4 甘露醇和赤藻糖醇	33
2.4.5 双乙酰和其他风味化合物	34
第3章 醋酸菌	38
3.1 引言	38
3.2 分类	38
3.3 营养需求	39
3.4 代谢过程	39
3.4.1 碳水化合物	39
3.4.2 乙醇	41
第4章 霉菌和其他微生物	43
4.1 引言	43
4.2 生态环境	44
4.3 分类	44
4.3.1 曲霉属 (<i>Aspergillus</i> , 黑色霉菌)	44
4.3.2 葡萄孢属 (<i>Botrytis</i> , 灰霉)	44
4.3.3 青霉属 (<i>Penicillium</i> , 蓝绿色霉菌)	45
4.4 营养需求	46
4.5 代谢	46
4.5.1 葡萄糖	46
4.5.2 真菌毒素	46
4.5.3 风味成分	47
4.6 其他微生物	48
4.6.1 芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)	48
4.6.2 梭菌属 (<i>Clostridium</i>)	48
4.6.3 链霉菌属 (<i>Streptomyces</i>)	49
第二篇 葡萄酒酿造与生产过程	51
第5章 微生物生长及其控制	53
5.1 引言	53
5.2 防腐剂和杀菌剂	53

5.2.1	二氧化硫 (SO ₂)	53
5.2.2	碳酸二甲酯	56
5.2.3	溶菌酶	58
5.2.4	山梨酸	58
5.2.5	其他防腐剂和杀菌剂	59
5.3	过滤	61
5.3.1	直流过滤 (深层或相对过滤)	62
5.3.2	直流过滤 (“绝对过滤”或“除菌过滤”)	62
5.3.3	错流/切向过滤	63
第6章	葡萄酒酿造的微生物生态学	65
6.1	引言	65
6.2	非酿酒酵母与酿酒酵母	66
6.2.1	葡萄与葡萄醪	66
6.2.2	酒精发酵	67
6.2.3	发酵后期	68
6.3	德克酵母/酒香酵母	68
6.3.1	葡萄和葡萄醪	68
6.3.2	酒精发酵及发酵后期	69
6.4	乳酸菌	70
6.4.1	葡萄和葡萄汁	70
6.4.2	酒精及苹果酸-乳酸发酵	70
6.4.3	发酵后期	71
6.5	醋酸菌	72
6.5.1	葡萄和葡萄醪	72
6.5.2	酒精发酵与发酵后期	72
6.6	微生物之间的相互作用	73
6.6.1	酿酒酵母和酒球菌	73
6.6.2	酿酒酵母和乳杆菌	76
6.6.3	酒球菌、片球菌和乳杆菌	77
6.6.4	其他的相互作用	79
第7章	葡萄采收与发酵前处理	80
7.1	引言	80
7.2	采收与运输	80
7.3	葡萄质量评估	80
7.3.1	可溶性固形物	81

7.3.2	pH 和可滴定酸	81
7.3.3	微生物腐败	82
7.4	葡萄汁的处理	83
7.4.1	酶	83
7.4.2	固体悬浮物	83
7.4.3	发酵前浸渍（冷浸渍）	84
7.4.4	热浸渍酿造法	85
7.4.5	惰性气体处理	85
7.5	微生物腐败的水果处理	86
7.5.1	酶促褐变	86
7.5.2	发酵过程中的问题	87
7.5.3	澄清问题	87
7.5.4	管理方法	87
7.6	葡萄汁的贮存	88
第8章	发酵与发酵后处理	90
8.1	引言	90
8.2	葡萄醪的供应	90
8.3	酒精发酵	92
8.3.1	种子液的发展史	92
8.3.2	种子的制备	92
8.3.3	菌株的选择	94
8.3.4	温度	94
8.3.5	固定化酵母	95
8.4	“自然”发酵	95
8.5	发酵问题	96
8.5.1	发酵迟缓/停滞	96
8.5.2	硫化氢	99
8.6	苹果酸-乳酸发酵	100
8.6.1	起始种子液的准备	101
8.6.2	菌株的选择	102
8.6.3	接种的时机	102
8.6.4	裂殖酵母的应用	105
8.7	发酵后处理	105
8.7.1	陈酿和贮存	105
8.7.2	挥发性酸的调节	106

8.8 装瓶	107
第9章 葡萄酒厂清洗消毒	109
9.1 引言	109
9.2 安全问题	109
9.3 水质	110
9.4 初步清洗	110
9.5 去污剂、清洗剂和表面活性剂	111
9.5.1 碱	111
9.5.2 酸	111
9.5.3 表面活性剂	112
9.6 漂洗	112
9.7 抑菌剂	112
9.7.1 碘	113
9.7.2 季铵化合物	113
9.7.3 二氧化硫 (SO ₂)	114
9.7.4 过氧化物	114
9.7.5 氯及氯化物	115
9.7.6 热水和蒸汽	115
9.7.7 臭氧	116
9.8 卫生控制	116
9.9 进度表及相关规定	117
第10章 质量关键点体系	119
10.1 引言	119
10.2 QP 方法的发展	119
10.3 工艺设计和操作流程图	120
10.4 质量因素分析	121
10.4.1 质量因素案例	121
10.4.2 预防措施	121
10.4.3 关键质量点	122
10.5 临界点	123
10.6 监控过程	123
10.7 纠正措施	124
10.8 记录的保留及文件存档	124
10.9 验证	124
第11章 葡萄酒腐败	126
11.1 引言	126

11.2	腐败微生物	126
11.2.1	醋杆菌 (<i>Acetobacter</i>)	126
11.2.2	德克酵母/酒香酵母 (<i>Dekkera/Brettanomyces</i>)	127
11.2.3	膜酵母 (Film Yeasts)	129
11.2.4	类酵母 (<i>Saccharomyces</i>)	130
11.2.5	接合酵母 (<i>Zygosaccharomyces</i>)	130
11.3	葡萄酒缺陷	131
11.3.1	挥发酸	131
11.3.2	氨基甲酸乙酯 (EC)	132
11.3.3	鼠臭味	133
11.3.4	苹果酸-乳酸发酵后细菌的生长	134
11.3.5	天竺葵的气/味	135
11.3.6	生物胺	135
11.3.7	丙烯醛	137
11.3.8	甘露醇	138
11.3.9	黏性丝状物	138
11.3.10	酒石酸的利用	139
第三篇 实验室操作规范与流程		141
第12章 显微观察基本方法		143
12.1	引言	143
12.2	显微镜	143
12.2.1	放大率	143
12.2.2	分辨率	144
12.2.3	对比度	144
12.2.4	荧光显微镜	144
12.3	显微镜使用方法	145
12.3.1	显微镜结构	145
12.3.2	使用方法	146
12.3.3	目镜测微尺校准	147
12.4	制备涂片	147
12.4.1	液体培养物	147
12.4.2	固体培养物	148
12.5	制备湿片	148
12.6	制备霉菌的玻片培养物	148

第 13 章 培养基配制和培养技术	150
13.1 引言	150
13.2 培养的理化需求	150
13.2.1 碳源和氮源	151
13.2.2 氧	151
13.2.3 氢离子浓度 (pH)	151
13.2.4 水分和水活度	152
13.2.5 培养温度和条件	152
13.2.6 选择性抑制剂	153
13.3 培养基和实验用品的灭菌	153
13.3.1 沸水灭菌	153
13.3.2 高压蒸汽灭菌	153
13.3.3 干热灭菌	154
13.3.4 过滤除菌	155
13.3.5 化学灭菌	155
13.4 培养基的贮存	156
13.5 酵母和霉菌培养基	157
13.5.1 麦芽汁培养基	158
13.5.2 葡萄汁培养基	158
13.5.3 WL 培养基	158
13.5.4 酒香酵母培养基 A	159
13.5.5 酒香酵母培养基 B	159
13.5.6 酒香酵母培养基 C	159
13.5.7 酒香酵母培养基 D	160
13.5.8 赖氨酸培养基	160
13.5.9 接合酵母培养基	161
13.6 乳酸菌培养基	162
13.6.1 Rogosa 苹果汁培养基	162
13.6.2 番茄汁 - 葡萄糖 - 果糖 - 苹果酸盐培养基	163
13.6.3 精氨酸异型发酵肉汤培养基	163
13.7 醋酸菌培养基	164
13.7.1 葡萄糖 - 酵母抽提物 - 碳酸盐培养基	164
13.7.2 甘露醇 - 酵母抽提物 - 蛋白胨培养基	164
13.7.3 酵母抽提物 - 蛋白胨 - 乙醇培养基	164
13.8 无菌接种技术	165

13.8.1	固体培养基之间的接种	165
13.8.2	从固体培养基到液体培养基的接种	166
13.8.3	从液体培养基到固体培养基的接种	166
13.9	微生物的分离	167
13.10	微生物菌种的保存	168
13.10.1	斜面固体培养基或穿刺培养基制备	168
13.10.2	甘油悬浮管制备	169
13.10.3	酵母菌冷冻干燥	169
13.10.4	乳酸菌冷冻干燥	169
第14章	菌落密度测定	171
14.1	引言	171
14.2	取样	171
14.3	样品的稀释	172
14.4	直接细胞计数	174
14.4.1	运用血球计数板计数	174
14.4.2	亚甲基蓝	176
14.4.3	胭脂红-S	176
14.4.4	Wolford 法染色	176
14.5	直接平板计数	177
14.5.1	倾注平板法	178
14.5.2	平板涂布法	178
14.5.3	膜过滤	179
14.6	生物荧光	181
14.7	比浊法和光密度	181
第15章	葡萄酒酿造微生物鉴定	183
15.1	引言	183
15.2	微生物鉴定	183
15.3	酵母与霉菌	184
15.3.1	碳、氮源的吸收利用	186
15.3.2	子囊孢子的证明	189
15.3.3	菌丝体/假菌丝体的鉴定	191
15.3.4	糖类的发酵	192
15.4	细菌	192
15.4.1	精氨酸生成氨	193
15.4.2	过氧化氢酶	194

15.4.3	葡聚糖与蔗糖	195
15.4.4	糖类发酵	195
15.4.5	葡萄糖产气	197
15.4.6	革兰染色	199
15.4.7	生酮作用	200
15.4.8	葡萄糖生成乳酸	200
15.4.9	苹果酸的利用 (监测苹果酸-乳酸发酵)	202
15.4.10	果糖生成甘露醇	204
15.4.11	乙醇的氧化	204
15.4.12	乳酸的氧化	205
第16章 其他鉴定与计数方法		207
16.1	导言	207
16.2	表型鉴定	207
16.2.1	Biolog 系统	207
16.2.2	脂肪酸甲酯分析	208
16.2.3	蛋白质特性	208
16.2.4	同工酶 (酶谱) 的电泳特点	208
16.3	免疫化学法	209
16.3.1	酶联免疫分析	209
16.3.2	免疫荧光显微镜	210
16.4	系统分析	210
16.4.1	聚合酶链式反应	212
16.4.2	凝胶电泳	213
16.4.3	定量聚合酶链式反应	213
16.4.4	杂交探针	213
16.4.5	荧光原位杂交	214
16.4.6	核糖核酸分析	214
16.5	探针检测系统	214
16.5.1	Taq Man® 探针	214
16.5.2	分子信标	215
16.5.3	Scorpion 探针	216
16.5.4	肽核酸化学发光原位杂交探针	216
16.6	其他分子方法	216
16.6.1	限制性内切酶片段长度多态性	217
16.6.2	脉冲场凝胶电泳	217