



GAODENG ZHIYE JIAOYU NIANGJIU JISHU ZHUANYE XILIE JIAOCAI

• 高等职业教育酿酒技术专业系列教材 •

N
IANGJIU
WEISHENGWU

酿酒微生物

主编 张敬慧



中国轻工业出版社 | 全国百佳图书出版单位

第1版 (2017) 目录页码

高等职业教育酿酒技术专业系列教材

酿酒微生物

主编 张敬慧



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

酿酒微生物/张敬慧主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2015. 1

高等职业教育酿酒技术专业系列教材

ISBN 978 - 7 - 5019 - 9994 - 1

I. ①酿… II. ①张… III. ①酿酒微生物—高等职业教育—教材 IV. ①TS261. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 251768 号

责任编辑: 江 娟 策划编辑: 江 娟 责任终审: 唐是雯
整体设计: 锋尚设计 责任校对: 晋 洁 责任监印: 张 可

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: 北京君升印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2015 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 19.75

字 数: 390 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5019 - 9994 - 1 定价: 39.00 元

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

140332J2X101ZBW

内 容 简 介

本教材以培养微生物职业技术能力为目标,打破传统知识体系的原有课程体系格局,以酿酒生产中酿造工、培菌制曲工、检验员等主要生产岗位人员对于酿酒微生物知识的要求为线索,结合学生的认知规律,设计与岗位能力相吻合的若干个既学习又生产的任务内容,将从事酿酒生产及食品检测有关微生物必备的理论知识与技能融为一体,故将本教材分为三大模块 12 个课题,模块一为酿酒微生物基础知识;模块二为酿酒微生物生物学特性;模块三为酿酒微生物技术。同时书中穿插了大量的彩色插图,确保教学内容的针对性和职业性。也避免学习者学习时涉及太多微生物探索研究的高深理论知识和较系统的专业知识体系,体现实用、适用,从而有别于大学本科教材,真正体现了高职教材的特色。

本教材主要围绕培养从事酿酒生产的技术人员、食品检验人员的需要而编写,较适宜作为高职院校酿酒专业学习微生物的首选教材,也可作为我国培养从事酿酒生产技术指导和生产技术推广人才的首选教参资料和当今酿酒从业人员的科普读物。

高等职业教育酿酒技术专业（白酒类）系列教材

编委会

主 任 张 毅

副主任 李大和 赵 东 李国红 贺大松 朱 涛

委 员（按姓氏笔画排序）

王 赛 卢 琳 先元华 陈 琪

陈 惠 张敬慧 梁宗余 辜义洪

本书编委会

主 编

张敬慧 (宜宾职业技术学院)

副主编

孙传泽 (四川省宜宾市叙府酒业有限公司)

郭云霞 (宜宾职业技术学院)

刘琨毅 (宜宾职业技术学院)

编 委 (按姓氏拼音排序)

刘龙勇 (贵州省畜牧兽医学校)

刘 艳 (宜宾职业技术学院)

唐思均 (宜宾职业技术学院)

王 琪 (宜宾职业技术学院)

王 戎 (四川省宜宾五粮液集团有限公司)

吴 霞 (成都工商职业技术学院)

吴冬梅 (泸州职业技术学院)

袁松林 (四川省宜宾吉鑫酒业有限公司)

张书猛 (宜宾职业技术学院)

张志国 (齐鲁工业大学)

主 审

赵 东 (四川省宜宾五粮液集团有限公司)

前 言

白酒生产技术是我国劳动人民和科技工作者对世界酿酒工业的独特贡献。其独特的多种微生物固态发酵酿酒形成了白酒的各种风格。目前白酒生产一般采用多种微生物混合、相互交叉地进行发酵,对于微生物的利用世界上没有一个酒种可以比拟。但是白酒生产机理、微生物在酿造过程中的繁荣和萧条的相互作用尚未破解。酿酒微生物特别是功能性微生物的研究,让更多的人真正认识到酿酒的机理和更好地调控酿酒质量迫在眉睫。

本教材编写时力求体现“在做中学,在学中做”的学习特点,可避免学习者学习时涉及太多微生物探索研究的高深理论知识和较系统的专业知识体系,体现实用、适用,从而有别于大学本科教材,真正体现了高职教材的特色。同时本教材还注重紧扣学科发展前沿,关注行业发展动态,给学生留有一定的拓展知识及拓展技能训练项目。

本教材分别由多所高等院校具有丰富教学经验的专业教师以及企业生产一线具备多年生产经验的工程技术人员参与编写。宜宾职业技术学院张敬慧副教授主编,参编人员有四川省宜宾五粮液集团有限公司高级工程师王戎、四川省宜宾市叙府酒业有限公司生产部长孙传泽、四川省宜宾吉鑫酒业有限公司生产部长袁松林、齐鲁工业大学张志国教授、成都工商职业技术学院吴霞、泸州职业技术学院吴冬梅、贵州畜牧兽医学校刘龙勇副教授、宜宾职业技术学院刘琨毅、郭云霞、王琪、张书猛、刘艳、唐思均老师。其中,模块一由张敬慧和张书猛编写;模块二、课题一由孙传泽和张敬慧编写,课题二、课题四由王戎和刘艳编写,课题三由袁松林和刘龙勇编写;模块三课题一由刘琨毅和王琪编写,模块三课题二由张志国和唐思均编写,模块三课题三由吴霞和吴冬梅编

写，模块三课题四由吴冬梅编写，模块三课题五由郭云霞编写。全书由张敬慧统稿，由我国著名酿酒专家、全国评酒专家组成员、酿酒高级品酒师、国家职业技能鉴定高级考评员、中国白酒酿造大师赵东主审。同时特别感谢四川省宜宾五粮液集团有限公司、四川省宜宾市叙府酒业有限公司、四川省宜宾吉鑫酒业有限公司、宜宾市产品质量监督检验所、宜宾市商务局酒管所等单位的支持与帮助。

由于作者水平和时间所限，书中难免存在不妥之处，敬请专家和读者不吝赐教。

《酿酒微生物》编委会

2014年7月于四川宜宾

目 录

模块一 酿酒微生物基础知识	1
课题一 酿酒微生物概述	1
课题二 无菌操作技术	11
技能训练一 无菌操作技术	17
课题三 显微镜技术	21
技能训练二 显微镜操作	25
模块二 酿酒微生物的生物学特性	36
课题一 大曲微生物	36
技能训练三 酒曲中霉菌的形态观察和种类鉴别	52
技能训练四 大曲中酵母菌的形态观察及死活细胞鉴别	63
技能训练五 大曲中细菌的单染色法	70
技能训练六 窖泥中细菌的革兰染色法	72
课题二 窖泥微生物	76
技能训练七 丁酸菌的培养	87
技能训练八 硫酸盐还原菌的培养方法	88
技能训练九 硝酸盐还原菌的鉴定方法	90
课题三 小曲及麸曲微生物	95
技能训练十 酿酒功能性微生物的识别	100
课题四 酿酒微生态区系	103

模块三 酿酒微生物技术	114
课题一 酿酒微生物纯培养技术	115
技能训练十一 培养基的制备	153
技能训练十二 干热灭菌法	160
技能训练十三 高压蒸汽灭菌法	164
技能训练十四 紫外线灭菌实验	168
技能训练十五 化学药剂对微生物生长的影响	170
技能训练十六 恒温培养箱培养微生物	173
技能训练十七 厌氧微生物的培养	177
课题二 酿酒微生物生长测定技术	183
课题三 酿酒微生物分离纯化技术	203
技能训练十八 划线分离酒曲中微生物	207
技能训练十九 稀释平板分离窖泥中微生物	211
技能训练二十 选择培养基分离酿酒环境中微生物	214
课题四 酿酒微生物鉴定技术	217
技能训练二十一 大分子物质水解试验	231
技能训练二十二 糖发酵试验	234
技能训练二十三 甲基红 (MR) 试验	236
技能训练二十四 乙酰甲基甲醇 (VP) 试验	238
技能训练二十五 吲哚试验	239
技能训练二十六 利用 Biolog 系统进行微生物的分类鉴定	244
课题五 酿酒环境微生物检测技术	247
技能训练二十七 平板菌落法测定酿酒用水中细菌总数	263
技能训练二十八 多管发酵法测定酿酒用水中大肠菌群数量	265
技能训练二十九 平板菌落法测定酿酒环境中微生物总数	268
模块四 综合技能训练	278
课题一 大曲的制作	279
课题二 小曲的制作	285
课题三 人工窖泥的制作	288
课题四 己酸菌筛选实验	292

附录	295
附录一 培养基的制备	295
附录二 染色液的配制	297
附录三 试剂和溶液的配制	299
参考文献	302

模块一 酿酒微生物基础知识

模块描述

酒的酿造其实是微生物利用粮食进行分解发酵的过程，本模块让大家了解酿酒微生物的基本知识，以及学习酿酒微生物应具备的基础操作技能。

知识目标

通过本模块学习，掌握酿酒微生物的基本特性。由于酿酒微生物的微小和不定性，所以在研究时一定要在无菌条件下借助显微镜进行，保证酿酒微生物本身不受污染，同时也不污染环境和操作者。

能力素质目标

通过本模块的学习，知道酿酒微生物的基本概念，熟悉酿酒微生物的基本特征；理解无菌的基本含义，能进行无菌操作。认识显微镜基本结构及功能，会使用显微镜进行观察。

课题一 酿酒微生物概述

课题描述

酿酒操作看似很简单，但酿酒原理却是极其复杂。通过本课题的学习，让学生认识酿酒微生物，初步知道参与酿酒整个过程的生物基本特性，为进一步理解酿酒原理奠定基础。

相关知识

一、酿酒微生物研究对象

所谓微生物是对所有存在于自然界中一群肉眼看不见或看不清的形体微小、需要借助于显微镜才能观察到的单细胞或结构简单的多细胞、甚至无细胞结构的低等微小生物的统称。它是地球上最早的“居民”。有人做了个比方，从地球诞生到现在如果浓缩成 24h 的话，地球上的生物产生顺序如表 1-1 所示。

表 1-1 地球生物产生顺序表

时间	0 点	7 点	13 点	22 点	24 点
事件	诞生地球	厌氧性异养细菌出现	好氧性异养细菌出现	鱼和陆生植物出现	人类出现

微生物的大小比较见图 1-1。

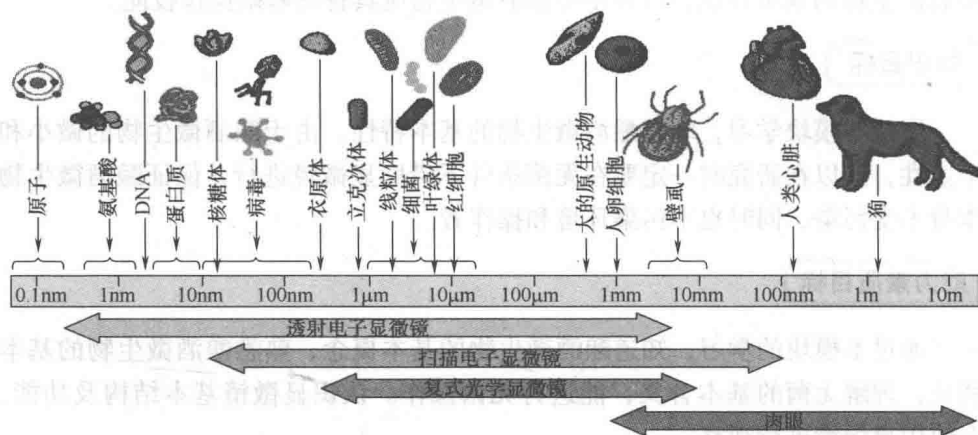
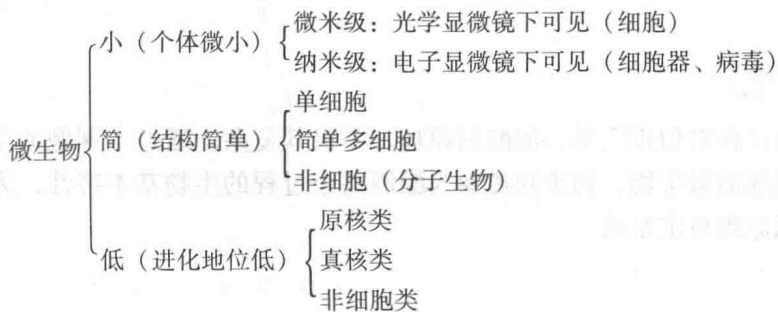


图 1-1 微生物的大小比较

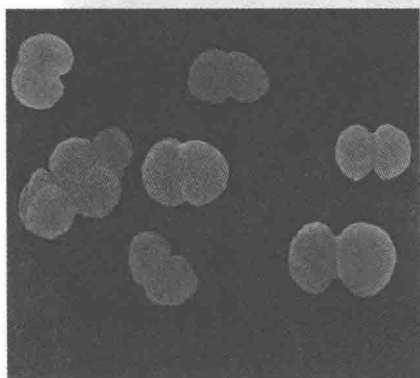
从微生物的概念可以看出,微生物的主要特点集中在以下三个方面:



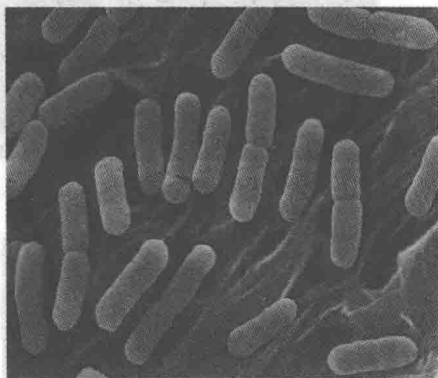
注: $1\text{ m} = 10^6\text{ }\mu\text{m} = 10^9\text{ nm}$

微生物是无所不在的物种，其类群相当庞杂，根据微生物有没有具有完整的细胞结构分为两大类：一类称为细胞型微生物；包括原核微生物及真核微生物；另一类为非细胞型微生物，主要包括病毒，亚病毒等。

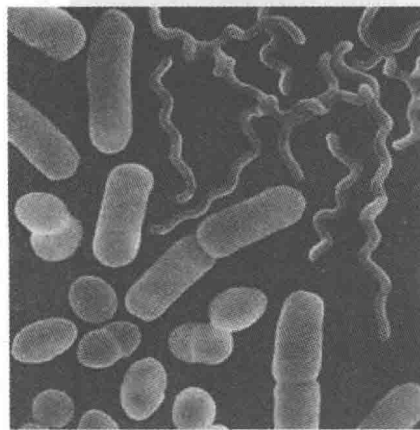
原核微生物是指细胞核分化程度低，无核膜与核仁，细胞器不完善的一群微生物。这类微生物种类繁多，有细菌（图1-2）、螺旋体和放线菌等。



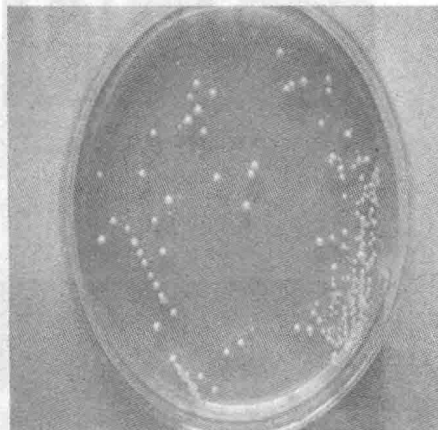
(1) 双球菌



(2) 杆菌



(3) 弧菌

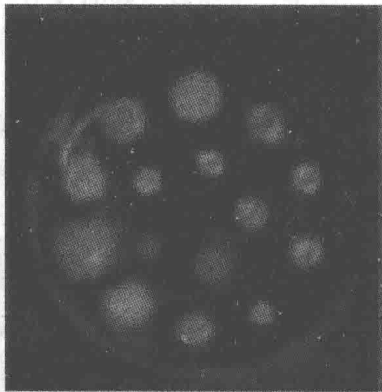


(4) 细菌菌落

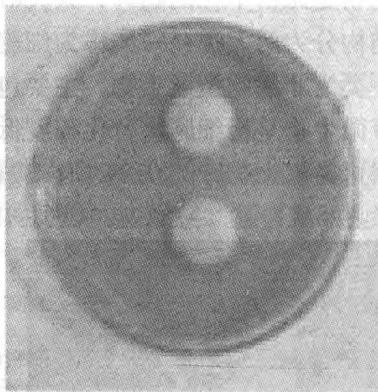
图1-2 细菌

真核微生物的细胞核分化程度较高，有核膜、核仁和染色体；胞质内有完整的细胞器（如内质网、核糖体及线粒体等），主要包括酵母菌（图1-3）、霉菌（图1-4）和蕈菌。

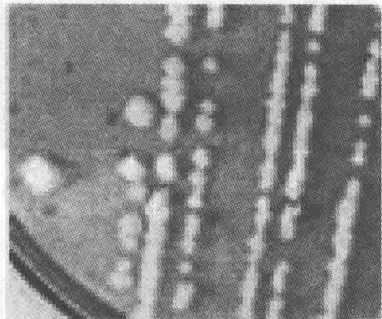
非细胞型微生物是指那些没有典型的细胞结构，无产生能量的酶系统，只能寄生于活细胞体内生长繁殖。病毒属于此类型微生物（图1-5）。



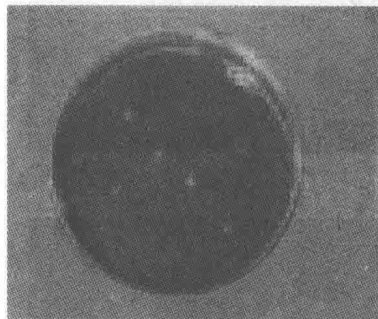
(1) 不同酵母菌落



(2) 酿酒酵母菌落

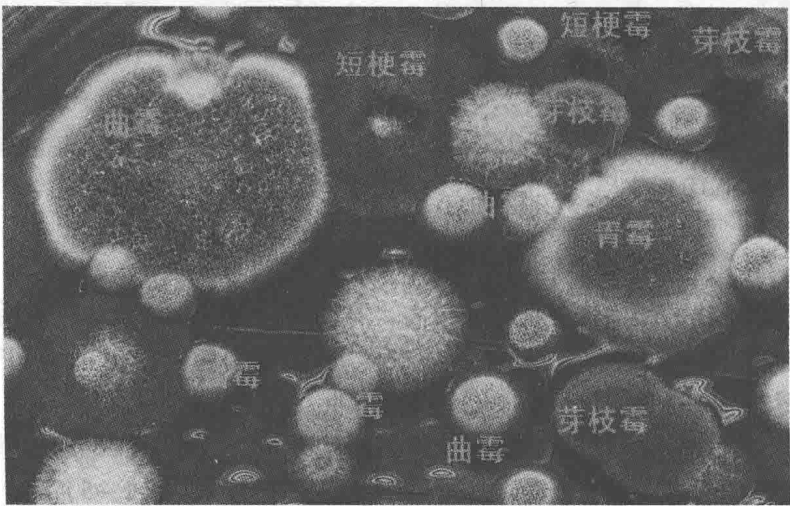


(3) 安琪酵母菌落

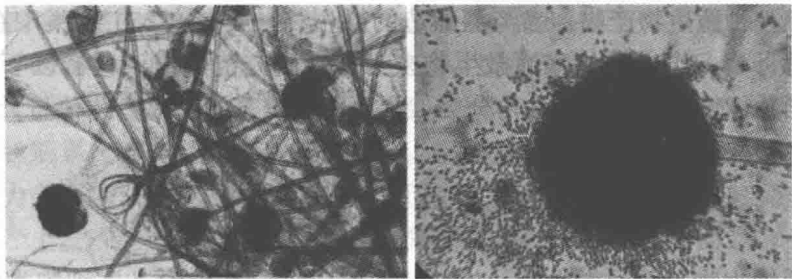


(4) 红酵母菌落

图 1-3 酵母菌



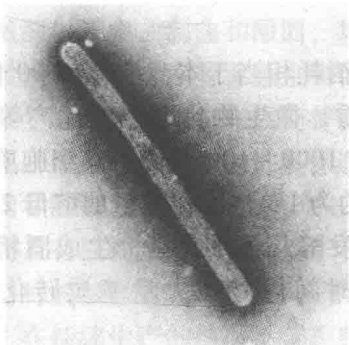
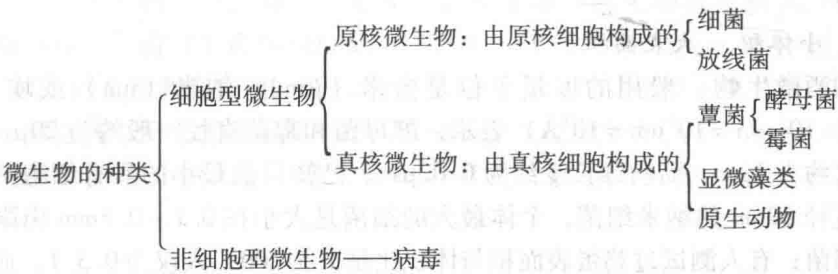
(1) 各种霉菌菌落



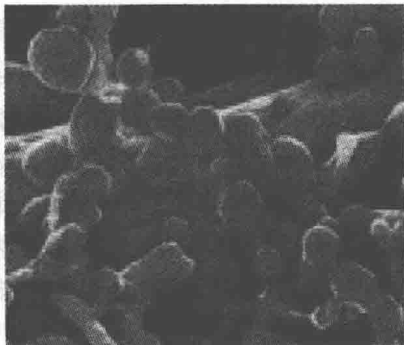
(2) 根霉菌丝

(3) 曲霉菌丝

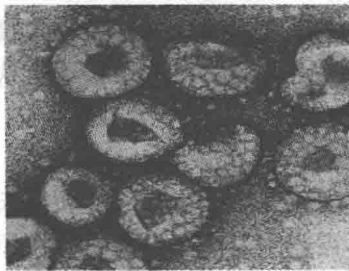
图 1-4 霉菌的菌落及镜检图



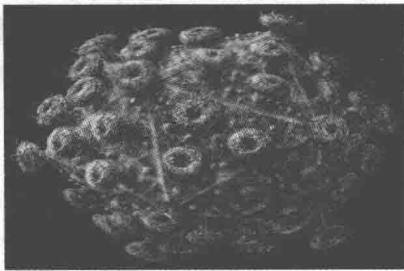
(1) 放大了15万倍的禽流感病毒



(2) 禽流感病毒



(3) SAS病毒



(4) 艾滋病病毒

图 1-5 病毒

酒是一种微生物产物,参与酒酿造的微生物种类复杂,主要集中在细菌、霉菌和酵母菌。作为现代酿酒微生物来说,其研究范围应该包括以下几个方面:酿酒功能性微生物的共性与分类、白酒传统工艺的菌况、纯种与天然菌的关系、各种酿酒微生物技术的应用。

二、酿酒功能性微生物的共性

酿酒微生物与普通微生物一样,基本组成单位是细胞(非细胞类除外);基本化学成分是蛋白质、核酸、多糖和脂类等,新陈代谢等生理活动也相似;酿酒微生物作为普通微生物中的一大群体,它们的共性体现在以下几个方面:

1. 小体积, 大表面积

酿酒微生物一般用的度量单位是微米(μm)、纳米(nm)或埃($\text{\AA}$)($1\text{mm} = 10^3\mu\text{m} = 10^6\text{nm} = 10^7\text{\AA}$)表示,酵母菌和霉菌直径一般约为 $20\mu\text{m}$,杆菌长度约为 $2\mu\text{m}$,而病毒长度约为 $0.02\mu\text{m}$ 。已知目前最小的具有细胞壁的细菌为直径 50nm 的纳米细菌,个体最大的细菌是大小在 $0.1\sim 0.3\text{mm}$ 肉眼可见的硫细菌;有人测试过鸡蛋表面积与体积比是 $1.5:200$,人仅为 $0.3:1$,而乳酸杆菌却是 $1:120000$ 。

2. 多吸收, 强代谢力

在合适条件下,大肠杆菌每小时可以消耗相当于本身质量2000倍的糖,而人体则需要40年之久。从单位质量上看,微生物代谢强度比高等动物代谢强度大几千倍甚至几万倍。乳酸菌1h产1000~10000倍于其细胞质量的乳酸,1个500kg的乳牛24h生产的蛋白质约为1kg,同样质量的酵母24h生产500000kg蛋白质,1kg酒精酵母一天内可发酵几千千克糖,生成酒精,从发酵工业的角度来看,代谢能力强,在短时间内能把大量基质转化为有用产品。

3. 生长旺, 繁殖快

在适宜的条件下,梭状芽孢杆菌繁殖一代只需 $20\sim 30\text{min}$,一昼夜可繁殖72代,一个菌体经一昼夜可达 4.7×10^{23} 个,比高等动植物生长速度快千百万倍。在酿酒工业中,培养酵母生产蛋白质,每8h可收获一次。

4. 易培养, 易变异

酿酒微生物一般在常温常压下利用简单的营养物质生长,并在生长过程中积累代谢产物。因此在培养酿酒微生物时不需要高温高压设备,利用原料比较粗放,不用特殊催化剂,而且产品一般均无毒,如发酵生产的白酒、葡萄酒、啤酒等。同时酿酒微生物对环境变化的抵抗性差,大多数个体容易死亡而被淘汰,个别个体发生变异而适应于新环境;部分酿酒微生物在进行无性繁殖,也