

葡萄酒的科学技术

第二册

与葡萄酒有关的酵母菌、
乳酸菌和醋酸菌

秦含章

(轻工业部食品发酵工业科学研究所)

全国食品与发酵工业科技情报站

1989年

葡萄酒的科学技术

第二册

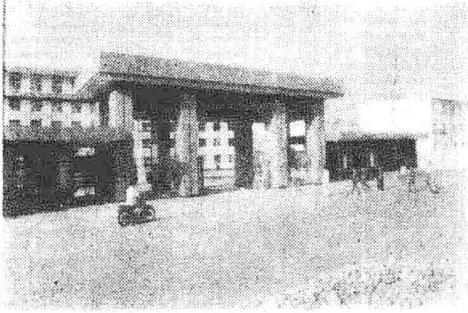
与葡萄酒有关的酵母菌、 乳酸菌和醋酸菌

秦 含 章

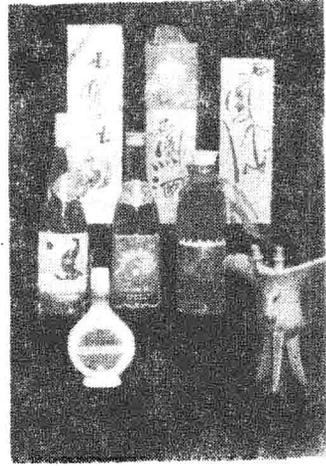
(轻工业部食品发酵工业科学研究所)

全国食品与发酵工业科技情报站

1989年



西凤酒厂厂门

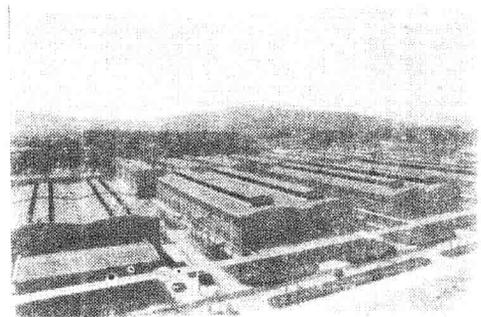


65°、55°、39°西凤酒
为荣获中国名酒金牌产品



西凤酒厂厂长兼党委书记马英

陕西西凤酒厂位于陕西
关中西部柳林镇，这里
是全国著名的酒乡。



西凤酒厂厂区一瞥

柳林美酒传凤型 梅花报春不先争
苦辣涩酸甜味好 东西南北皆闻名

西凤酒是中国老牌名酒之一，也是“凤型”白酒的典型代表，风格独特，清而不淡，浓而不艳，集清香、浓香型白酒的优点于一体，汇“酸、甜、苦、辣、涩”五味谐调而和协，各具风味，各不出头，即酸而不尖，甜而不腻，苦而不粘，辣不刺喉，涩不压舌，饮后回甜，似含橄榄之味，有久而弥笃之妙，所以，在全国名优白酒中别具一格，独树一帜。

西凤酒厂位于陕西省凤翔县柳林镇，以地名作为酒名。

传说凤翔县酿酒历史很早，始于周秦，盛于唐宋，迄今已有2400多年的历史。据《凤翔府志》记载，在秦穆公时代（公元前659~621年），建都于雍城（即今凤翔县的古名），凤翔已有“甘泉佳酿、清冽淳馥”，而列为当时的珍品。

现代评酒家对于西凤酒的共同认识是：酒液清亮透明，香气清芬幽雅，酒味醇厚甘润，入口挺爽，饮后尾净；其回味愉快，不上头，不干喉，被誉为“三绝”。

西凤酒曾四次蝉联中国名酒金奖，誉满中外，畅销全国。目前西凤酒已从传统的65度酒度发展到55度、45度、39度等不同酒度档次，具有不同酒度的四大系列、九种产品，随时供应各方需求。

陕西省西凤酒厂

地址：陕西省凤翔县柳林镇

电话：凤翔县总机转；直拨0917—5618

电报：6007 邮政编码721406

厂长：马英

葡萄酒的科学技术

第二册

与葡萄酒有关的酵母菌、 乳酸菌和醋酸菌

目 录

第三章 酵母菌与酒精发酵

一、葡萄酒酵母	(1)
(一) 意义和地位	(1)
(二) 来源和分布	(2)
(三) 种类和性能	(19)
(四) 选择和培养	(86)
(五) 天然混合酵母与人工优选酵母	(101)
(六) 良种酵母保藏法	(102)
二、葡萄汁的酒精发酵作用	(104)
(一) 目的	(104)
(二) 现象	(104)
(三) 条件	(105)
(四) 变化	(195)
(五) 产物	(208)

第四章 乳酸菌与苹果酸乳酸发酵

一、与葡萄酒业有关的乳酸菌类	(227)
(一) 葡萄酒乳酸菌的形态	(227)
(二) 葡萄酒乳酸菌的一般分类法	(227)
(三) 葡萄酒乳酸菌的生态	(233)
1 葡萄果粒上存在的乳酸菌	(233)

2、葡萄酒库内存在的乳酸菌	(235)
3、葡萄酒液内存在的乳酸菌	(235)
(四) 葡萄酒乳酸菌的分离法和培养法	(239)
(五) 葡萄酒乳酸菌的生理试验法	(241)
(六) 葡萄酒白联珠菌的分类法	(247)
(七) 葡萄酒所用白联珠菌	(249)
二、葡萄酒的苹果酸乳酸发酵作用	(252)
(一) 定义	(253)
(二) 现象	(253)
(三) 条件	(255)
(四) 产物	(271)
(五) 后果	(273)

第五章 醋酸菌与醋酸发酵

一、醋酸菌的形态的生态	(277)
(一) 形态	(277)
(二) 生态	(277)
(三) 分类	(278)
二、从葡萄果上和葡萄酒中分离所得醋酸菌类	(279)
三、葡萄酒的醋酸发酵作用及其防止方法	(280)
(一) 醋酸发酵的原理	(281)
(二) 醋酸发酵的条件	(281)
(三) 醋酸发酵的后果	(282)
(四) 醋酸发酵的防止方法	(283)

第三章 酵母菌与酒精发酵

引起酒精发酵的动力及其物质基础，不论任何产酒地区，任何葡萄品种，任何酵母来源，都是以葡萄汁为物质基础，由酵母来进行酒精发酵作用的。

在工厂中，习惯称酵母的培养液为人工酒母，称附着在葡萄皮上的酵母群落为天然酒母或天然混合酵母；利用这种酒母来完成酒精发酵，制成味美可口的葡萄酒，是发酵工程的主要内容之一，也是现代工程的重要应用课题。

一、葡萄酒酵母

(一) 意义和地位

现代的酵母学家总结了历史的发展和科研的成果，曾经将种种有孢子酵母归并为16个属，约有70个种，将各种无孢子酵母归并为9个属，约有90个种（根据 Lodder et Kreger Van Rij），而葡萄酒中时常可以找到的酵母菌种正是附合这一个科学的分类内容。

有孢子酵母在分类学上构成“糖液酵母科”（*Saccharomycetaceae*）；这个科包括5个亚科（单囊霉亚科 *Eremascoideae*，内孢霉亚科 *Endomycetoideae*，糖液酵母亚科 *Saccharomycetoideae*，针孢酵母亚科 *Nematosporoideae*，油脂酵母亚科 *Lipomycetodeae*）。

葡萄酒酵母凡是有孢子的，都只归属于1个亚科，就是糖液酵母亚科（*Saccharomycetoideae*）；这个亚科又分为3个族（*Tribus*：拟内孢霉族 *Endomycopseae*，糖液酵母族 *Saccharomyceteae*，纳逊酵母族，*Nadsonieae*）。

在上述3个族中，以后两个族提供了葡萄酒酵母的分类从族口径。

各族又分为若干属（*generes*法）及其有关数量的种（*especies*法）。（注1）

无孢子酵母在分类学上构成“隐球酵母科”（*Cryptococcaceae*）；这个科包括3个亚科（隐球酵母亚科 *Cryptococcoideae*，丝孢酵母亚科 *Trichosporoideae*，红串珠酵母亚科 *Rhodotoruloideae*）。

葡萄酒酵母凡是无孢子的，都经鉴定归属于上述2个亚科（隐球酵母亚科，红串珠酵母亚科）。

在这2个亚科中，前者有4个属，后者有1个属，分别包括着葡萄酒的已经知道的各个酵母种。（注2）

由此可知所谓“葡萄酒酵母”并不单是指某一个或某一种单一的酵母个体，而也可以是指目前已被鉴定和分离的一批酵母菌种，它们分属于不同的科、亚科、族、属、种。

所以，我们称呼“酵母”可以是指纯粹的某一酵母菌种，也可以是指混合的某几个酵母菌

种，这在工厂中是习惯应用的科学概念。

有时，我们称呼“酒母”就是指某一个酵母菌种或某一批酵母菌种的繁殖液（发酵液），可以作为发酵剂，投入葡萄汁或葡萄酒中，来引起或增强发酵作用。

这里所说的菌种（Races法，Rassen德）一词指在同一个种的范围内所有各个不同的菌株（souches法，Stamm德），换句话说，某一菌种即某一菌株，某一菌株，即某一菌种，彼此的意义相同，这完全是就酵母分类学的关系而说的。

但是，“菌种”的概念和“种”的概念是有严格的区别的，彼此不能混淆。

种以下还有变种（varietes法）。

变种以下可以排列若干菌种或菌株。

（注1）有孢子葡萄酒酵母的分类法
族：Saccharomyceteae糖液酵母族
属：Saccharomyces糖液酵母属
种：acidifaciens产酸酵母
elegans雅致酵母
chevalieri薛瓦氏酵母
fructuum果实酵母
heterogenicus异质酵母
oviformis卵形酵母
bayanus贝洋酵母
veronae佛罗纳酵母
italicus意大利酵母
ellipsoideus椭圆酵母
florentinus弗罗伦丁酵母
carlsbergensis卡尔斯伯格酵母
uvarum葡萄穗酵母
属：Torulaspora有孢圆酵母属
种：rosei罗斯有孢圆酵母
delbrueckii德儿布吕克有孢圆酵母
属：Pichia毕赤酵母属
种：fermentans发酵毕赤酵母
membranaefaciens膜醭毕赤酵母
属：Hansenula汉逊酵母属
种：anomala异常汉逊酵母
属：Debaryomyces德巴利酵母属

种：hansenii汉逊德巴利酵母
族：Nadsonia 钠逊酵母族
属：Saccharomyces类酵母属
种：ludwigii路特惟希类酵母
属：Hansiaspora有孢汉逊酵母属

（注2）无孢子葡萄酒酵母的分类法
亚科：Cryptocoideae隐球酵母亚科
属：Torulopsis球拟酵母属
种：bacillaris杆状球拟酵母
属：Brettanomyces酒香酵母属
种：vini葡萄酒酒香酵母
schanderlii 向德尔酒香酵母
属：Candida 假丝酵母属
种：mycoderma 糙醭假丝酵母
pulcherrima 铁红假丝酵母
属：Kloeckera 克勒克酵母属
种：apiculata 尖头克勒克酵母
africana 非洲克勒克酵母
janssenii 詹森克勒克酵母
magna 大克勒克酵母
亚科：Rhodotoruloideae 红串珠酵母亚科
属：Rhodotorula 红串珠酵母属
种：mucilaginoso 粘胶红串珠酵母

（二）来源和分布

在收获葡萄的季节，如果采取成熟的葡萄，经过压碎，任其放在木桶中，不必接种酵母，就会自行发酵；这些酵母是从那里来的？这是首先需要解答的一个问题。

在利用天然酵母进行葡萄酒酿造的生产方法中，每年只有一个短暂时间，而且是间歇性

的；在这样的情况下，究竟酵母是从那里来的？这也是需要解答的另一个问题。

法国科学家巴斯德 (L. Pasteur) 曾经细致地研究过这两个问题，他曾经证明各种含有糖分的水果，在连皮压碎制成糖浆以后，就会自行产生酒精发酵现象。他曾肯定地认为酵母是生存在空中的，等到外界的环境条件以及培养基的营养条件适宜于酵母生存的时候，它就开始繁殖起来，表现为发酵现象。

为了证明葡萄酒的酵母来自外界的概念，巴斯德氏采取了葡萄果实，先经洗净，然后用无菌器具抽出葡萄内部的果汁，马上接种于杀菌的培养液中；此外，又吸取葡萄的洗液，以同样的手续接种于杀菌的培养液中。结果证明发酵现象只在接种葡萄洗液的试样中发生，而接种葡萄汁的试样永远是停留在无菌状态，不起任何发酵作用。

这样，就证明了葡萄酒发酵的酵母只是外来的，不是葡萄本身内部所具备的，就很清楚了。

巴斯德氏又进一步研究在什么时期以及在那一个葡萄的部分可以找到最多的酵母。他利用一系列的无菌试管，内装无菌培养液；各管分别加入从不同生长时期及不同葡萄部位采到的试料，然后观察产生发酵现象的试管数目。通过这一试验的观察结果，证明在葡萄果粒及穗梗上的酵母菌体个数比较其他葡萄植枝部分的菌数为多；在时间上看，逐渐离开收获季节，葡萄果粒上的酵母菌数逐渐趋于减少。我们由此可以推断，酵母的繁殖情况好象和葡萄的成熟期是密切配合着的，因为成熟期的葡萄表面或穗梗上满载着营养物质，可以供给酵母取用，作为繁殖的基地；我们从营养关系上来推断酵母的增多是比较合理的。

巴斯德氏从试验中论证了生葡萄果粒上没有酵母，只到浆果要成熟的时候才有酵母存在，葡萄果皮上的酵母是由空气带来的。

到了1924至1925年，苏尔尚及鲁寿皮夫 (Sergent et Rougebief) 二氏曾在阿尔及利亚试验研究解决葡萄酒酵母的来源问题。他们布置了3个试验柜，柜身每边长1.6米。第1个柜完全用玻璃装配，隔绝昆虫和尘埃。第2个柜完全用绿纱装配，可以流通空气，隔绝昆虫，但不能阻挡尘埃。第3个柜也用绿纱装配，但纱孔较大，象鱼网，昆虫可以自由进出。七月初，将同样的葡萄植株3棵分别笼罩在每1个试验柜中。在放上试验柜的时候，葡萄尚是生的，葡萄汁是不能被发酵的，因为一方面是糖分不足，酸分过大，另一方面是葡萄果皮上还没有任何酵母存在。等到葡萄成熟，浆果就小心地分装于无菌试管中，并在无菌条件下进行破碎和压榨；然后依次观察其发酵作用。试验结果证明，在第1个试验柜中成熟的葡萄，因为完全和外界隔绝往来，所以决不会产生自然的发酵作用；在第2个试验柜中成熟的葡萄，虽然接触了外界的尘埃，但因也隔绝了昆虫的往来，所以也不会产生自然的发酵作用；只有第3个试验柜中成熟的葡萄，因为有昆虫进出，所以会产生自然的发酵作用。当然，在自由空气中成熟的对照葡萄植株，所采果实都能一一自然发酵。

通过这一试验，可以得出一个结论：在葡萄成熟时期，葡萄园中酵母的传布或葡萄皮上酵母的来源，是由于昆虫的媒介。

裴兰士 (Berlise) 氏特别证明积沉在葡萄果实上面的酵母，大部分来自昆虫的排泄物或由于昆虫的六足的搬运，尤以小果蝇为最显著。根据裴兰士的研究结论，认定传布酵母到葡萄果实表面的主要原因，非系风力造成的成果，而是由于双翅目昆虫的唯一功勋。

传布酵母的主要媒介是昆虫，这一点也早由彭德鲁 (Bontoux) 及闹迈友 (Neumayer) 诸氏的试验所证明。他们发觉昆虫能运搬大量的微生物，而且这些微生物的一部份可以经历双翅目昆虫的肠道而不妨碍；如果环境条件变为有利时，某种酵母并且可以在肠道内活跃地

繁殖起来：这样，昆虫的排泄物必然也带有原来的微生物。但是，根据百哈夫 (Phaff) 氏的研究，认为酵母经过昆虫的消化道时，将被陆续杀死，传布酵母个体，只依靠接触作用。

被昆虫传布的酵母又来源于何处？这是另一个等待解答的问题。

在葡萄成熟的季节，自然界经常存在若干“发酵灶”，会吸引起着昆虫前去吮吸发酵液；在吮吸过程中，必然会带来发酵液中的酵母个体或其他微生物。例如：受伤的成熟葡萄，上一年留剩下来的葡萄渣堆，以及正在腐败分解的有机物等等，都是当时的自然“发酵灶”，情况几乎每年相似。

这些自然“发酵灶”，就是昆虫传布酵母的来源。

凡是含有糖汁的水果表面，在接近成熟的时期，都会带着酵母；这些酵母的来源，除了昆虫的媒介以外，尘埃也是一个传递因素，带菌的尘埃会随时由风或气流传到葡萄果实的表面上去，并使酵母积存在葡萄果皮的表面上，这是因为在葡萄成熟时期，果皮表面会产生出一层腊质果霜，呈毛刷状，可以帮助维持酵母或尘埃大量地被附着在果皮的表面上；没有到成熟期的生果是不会长有这种果霜的。

根据汉生 (Hansen)、米罗·杜高 (Muller-Thurgau)、裴兰士 (Berlise) 及古尔迪爱 (Cordier) 诸氏的观察结果，证明葡萄园土正是葡萄园天然酵母群落在冬季的聚集场所；既然可以在土壤的表面找到葡萄树上的酵母菌种，也可以在土壤的内部深入若干距离，找到原有的酵母；所以葡萄园的园土，甚而其他果园的园土都能够促使葡萄汁起发酵作用。

这是因为到了冬天，酵母群落可以借土壤越冬，有时竟可在土壤中生活若干年，这就是天然的砂土保藏法 (根据汉生氏的研究)。例如：葡萄酒酵母的一种，叫做“尖头酵母”就是在葡萄树下的土壤中过冬的，并且不论在什么海拔线上，不论在什么气候条件之下，在到处的葡萄园土壤中，都可以看到这种酵母 (根据汉生氏)。

在下雨的时候，葡萄果实表面的酵母就多数被冲洗下来，流入土壤中去，且能达到相当的深度；在这样的土壤深处，酵母就利用它的耐久形态就是芽孢来维持生命，一直等到干旱季节的来临，也不会遭遇什么重大的生命危险；在这个干旱时期，只要风力吹得够大，酵母芽孢就会跟随着尘埃一同飞扬起来，而多量地分布在大气中，一待风力减弱，带菌的尘埃最后就会堕落在葡萄果实上；等到生活条件良好的时候，芽孢就会经过发芽、发育而重新长成酵母 (根据汉生氏)。

米罗·杜高氏曾重复进行汉生氏的实验，也得到相同的结果，因此，他认定葡萄酒酵母是不会例外于上述一般规律的。

但是，微生物在自然界的分布情况是很不一致的；同样，酵母在葡萄园中的分布情况也是多变化的，我们有时可以找到一些葡萄果粒或在一些果穗残片完全缺乏任何酵母；即使在葡萄植株各部找到的菌体群落中，其具体的菌种也是有变化的，或多或少，在量的方面不一致，或有或无，在质的方面也是不统一的。例如，在能够引起酒精发酵的酵母以外，葡萄果粒上还可以找到粘膜酵母，没有酒精发酵的能力；也可以找到酒花酵母、各种霉菌、乳酸细菌、醋酸细菌等等；此外，在葡萄果粒上也曾找到过能够引起“苹果酸乳酸发酵”的细菌菌体以及引起葡萄酒发生有关几种病害的细菌菌体。

酵母在大自然中的分布是很广泛的。但最容易找到酵母的场所和含有酵母最多的场所却是堆积葡萄榨渣和酒泥堆肥的地方，也就是靠近那些直接堆藏葡萄酒厂副产物的地方。

这些地方受到风吹，当然会将酵母传播开来。

凡是含有糖汁的水果表面，都会带着酵母菌体，其关系已如前述；到了葡萄收获末

期，葡萄果实已被利用完毕，在葡萄园内余剩下来的含有糖汁的东西就不多了，或者可以宣布没有了，此时，葡萄园内剩余下来的酵母（大部分跟着葡萄原料进厂），因为没有营养基地和水分来源（长期干旱天气），其中大部分将丧失生命，其中小部分则以芽孢状态生存于土壤中，另一部分则被越冬昆虫（蜜蜂、果蝇等）所带走，酵母跟着昆虫一道在昆虫的巢穴中过冬。到了下年的春天，就有准备好的酵母作为来源，以供传布；等到第一颗葡萄开始成熟能够作为培养基应用时，酵母就可通过昆虫或其他因素传布到这一颗葡萄的果皮表面，取得基点，积聚数量，以便重复开始下一年的传播周期。

在发酵池中，在发酵桶中，每一个池或桶就是繁殖大量酵母的最好场所。

在酒桶中，在贮酒池中，在每一个桶或池的内壁、裂缝以及其他接触葡萄酒的部位，都可积聚许多酵母。

在葡萄农业发达的地区，因为长期栽培着葡萄，酵母就以无限数量的规模年复一年地繁殖着、传播着，最后就以适应当地的气候及葡萄的性质而成为自然选育的优良酵母菌种。

相反的情况是有的，少数隔离着的葡萄植株或新开辟的葡萄园，往往带有各种野酵母，这些酵母的性能尚未一一研究清楚，由这些酵母所引起的发酵作用或发酵条件，大都是不易固定的，变化繁多，很难控制，这更谈不到什么自然选育取得优良酵母菌种了。

以下当就国外的几个具体事例作为说明葡萄酒酵母的来源和分布情况。

在1904年，法国的谈思谷弗尔（Desoffre）氏证明酵母在夏朗德（Charente）地区，自春、夏至秋、冬的全年过程中，会存在于葡萄植株的各个部分；他并分别地依次说明发酵过程中所参与的各个酵母菌种（*torulas*, *apiculees*, *elliptiquos*法），如欲提高白兰地酒的品质，增加这种酒的酒香，就应该采用除去细菌及粘膜酵母以外的全部酵母菌种，就是夏朗德地区天然分布着的各种有用酵母，他主张采取混合酵母发酵的技术路线。

在1914年，莫索（Musso）氏在阿尔及利亚分离选育了若干种酵母，研究了生理生化性能之后，并依照忌延蒙（Guilliermond）氏法进行分类，最后得出一个结论：阿尔及利亚的酵母，在经过驯化适应本地的环境条件之后，具有较强的抵抗力和活跃力（对比气温较差地区同样的酵母菌种）。

在1913~1934年，法国的葡萄酿酒学家望德尔（Ventre）氏详细地研究了酿酒过程中各种酵母的发育条件和它们的生化性能，并制订了厂内利用酒母的操作规程。

在1937年，裴路德（Beraud）氏曾在突尼斯分离了和比较了多种葡萄酒酵母就是椭圆形的酵母。

在1941年，何努（Renaud）氏研究法国罗亚尔河谷（Vallee de la Loire）的酵母，在说明了采样方法、分离方法及鉴定方法之后，他就根据酵母细胞的形态，简单地将酵母分别为3个类型（*cerevisiae*, *elliproideus*, *pastorianus*），并作为“葡萄酒生物学”的主要内容。

在1940年，美国的墨腊克（Mrak）氏及麦克·葛龙（Mc Clung）氏发表了从加利福尼亚采得的241株酵母的研究报告，他们从各个成熟阶段的葡萄果粒试样，从葡萄园的土壤试样，从葡萄的叶片试样，从葡萄的压榨汁试样，从已经发酵的葡萄皮渣试样，以及从正在发酵过程中的浑葡萄酒试样中分离了及研究了所含有的酵母菌种，曾经归结为20多个“种”，分属于不同的11个“属”。

在1949年，葡萄牙的古梅希（Marques Gomes）氏发表了各种因素对于联合酵母同时相互发育的影响，这些菌种的名称是：尖头克勒克酵母，铁红假丝酵母，异常汉逊酵母，椭圆糖液酵母。

它们是从杜罗 (Douro) 河岸所产葡萄汁中分离得到的。研究的结果, 证明通气、温度、葡萄汁成分、添加亚硫酸等因素或措施, 对于某几种酵母的发育和发展会起着有益的作用, 或者情况恰巧相反, 对于某几种酵母的发育和发展会起着有害的影响。这个重要的试验, 指出了酿酒工艺应该遵循的路线, 以便取得实效。

在1951年, 显浮 (Scheffer) 及墨腊克 (Mrak) 二氏曾从瓶装浑浊干白葡萄酒的沉淀物中分离得到14个酵母种, 经过鉴定, 得知其中有: 薛瓦氏酵母, 卡尔斯倍格酵母, 卵形酵母, 酿酒酵母 (*Sacch. cerevisiae*), 膜醭毕赤酵母, 皱落假丝酵母 (*Candida rugosa*)。

这些酵母菌种经过多次观察, 说明在葡萄酒工厂中普通都是能够找到的。

在1953年, 澳大利亚葡萄酒业联合会发表了傅乃康 (J. C. M. Fornachon) 氏关于赛兰士酒醭酵母的研究报告, 说明了这种特殊发酵剂的成员是属于另一些专门的酵母菌种。

在1954年, 日本发酵研究所的专家们从日本的葡萄酒产区采集了大量的试样, 曾经分离了葡萄酒及发酵葡萄汁所含有的一大堆酵母菌种, 证明它们的分布、出现, 特别是有关糖液酵母, 很象欧洲观察的情况。

在1948~1954年间, 意大利的葡萄酿酒科学家们曾经陆续发表有关葡萄酒酵母的许多研究总结报告, 例如卡思旦里 (Castelli) 氏个人研究了500种以上的葡萄汁试样, 即分离了5000个以上的酵母菌株。

根据卡思旦里氏的主要研究结果, 经过鉴定的主要酵母“种”在各地区葡萄汁内的分布情况, 可列表统计如下:

表 3.1 意大利各地区葡萄汁内所含各种酵母种的出现百分率 (根据 Castelli 氏)

葡萄汁试样数	% 葡萄汁酵母菌种名称 (拉丁)	生产葡萄酒地区名称 (法文)	<i>Sacch. ellipsoideus</i>	<i>Sacch. rosei</i>	<i>Sacch. bayanus</i>	<i>Sacch. oviformis</i>	<i>Sacch. mangini</i>	<i>Sacch. italicus</i>	<i>Sacch. uvarum</i>	<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>Kloeckera magna</i>	<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	<i>Candida pulcherrima</i>
92	翁笃里 Omfrie		80	13	1	0	0	0	0	82	17	0	6
103	笃世刚 Toscane		72	20	6	2	1	1	12	87	4	0	17
40	毕思能 Picenum		77	15	15	7	0	2	10	92	12	0	7
40	马尔献 Marches		73	13	13	7	0	0	0	100	20	0	13
22	拉齐奥 Latium		91	41	23	14	0	4	14	100	14	0	4
10	阿布鲁齐 Abruzzes		90	0	0	0	0	0	0	100	30	0	0
31	补 宥 Pouilles		100	26	26	10	6	16	6	64	19	32	22
12	西西里岛 Sicile		100	33	33	8	41	25	8	92	0	55	0
26	卡拉布里亚 Calabre		94	15	46	4	38	42	0	50	0	65	4
19	凡内蒂 Venetie		100	16	5	5	21	5	5	91	0	0	0

从上表, 可以提出6点论证:

1、从葡萄果粒上以及从正在发酵的葡萄汁中可以找到的酵母“种”是很多的。正是很早就弄明白的，最常见的酵母“种”和对发酵作用起主导关系的酵母“种”为尖头克勒克酵母及椭圆糖液酵母，这是第一类。但是，在正规的和天然的发酵过程中，也时常有其他多种酵母“种”参加在内，居次要关系而不应忽视的，例如：罗斯酵母 (*Sacch. rosei*)，贝洋酵母，葡萄穗酵母，曼勤酵母 (*Sacch. manginii*)，意大利酵母，铁红假丝酵母，大克勒克酵母，这是第二类。此外，也可找到其他的多种酵母“种”，这是偶然存在的酵母，在第三类。

2、就意大利北部、中部及南部3类不同地区比较研究的结果，得知各种酵母种的分布情况是很不一致的。如果将酵母种划分为“有孢子酵母”和“无孢子酵母”两大类，那么，在中部和北部，这两大类的酵母是以同样的“机率”出现的，而在南部，因为气候更较炎热，所以“有孢子酵母”的菌株就明显地占据着优势。例如北部的尖头酵母是属于克勒克酵母属，不产生孢子；在西西里岛及补宥南部所找到的酵母则属于有孢汉逊酵母属，能产生孢子。气候愈是炎热，有孢子酵母个体的分布就愈是增多；这是因为炎热地区的抗热、抗旱条件对于“有孢子酵母”来说，当然比较“无孢子酵母”要易于适应；或是因为酵母生存在比较寒冷的地区，常会丧失产生孢子的能力（根据Kreger-Van Rij）。

卡思旦里氏指出酵母在自然界中地区分布的差异，可以归结为一个简单的气候问题。例如补宥区的某些地点及卡拉布里亚区的某些地点，海拔高250~500米，气候比较温和，酵母植被就在很多方面象意大利中部所观察的。

3、发酵作用的开始，习惯上常由尖头酵母所促成。在意大利中部，曾发现了一种尖头酵母，细胞比较大，产酒力比较强，这就是大克勒克酵母，但这一种酵母尚未在意大利南部和北部任何地点找到。

4、比较了各个分离菌株的发酵力，就是产酒度，在相同的条件下，凡是气候比较炎热地区的酵母都是产酒度比较高的菌种，这对尖头酵母和椭圆酵母都有一样的情况。所以，在意大利，自北至南逐渐移动，平均气温就逐渐增加，收获葡萄汁的糖度也自然会逐渐提高，每一个酵母的产酒能力也会跟着增强。

酵母在这样的分布情况下，依照发酵葡萄汁的糖度和当地气候环境的温度，必然产生一种天然选择作用。

5、利用这种方法研究葡萄酒酵母时，卡思旦里氏当然会发现不少新“种”，例如最重要的有：意大利酵母 (*Sacch. italicus*)，椭圆酵母老大变种 (*Sacch. ellipsoideus* var. *major*)，卵形酵母双孢变种 (*Sacch. oviformis* var. *bisporus*)，佛罗伦丁酵母 (*Sacch. florentinus*)。

6、通过这一个研究，就深入地认清了葡萄酒酵母，并为工厂的实地应用指出了最好的条件。我们因此可以根据所制葡萄酒的典型、所用葡萄汁的成分、所在当地的微气候、现场所有的葡萄原料，适当地选择最优良的酵母菌株，做出最好的酿酒成绩。例如，从1942年以后，意大利某些葡萄酒厂在生产通常消费的葡萄酒时，就已经成功地使用罗斯酵母这一个菌株，酿成的葡萄酒平均含有酒度10.5~11.5度，酒的风味改善了，而挥发酸度则特别低。

其他意大利科学家在研究了葡萄酒酵母之后，也获得类似的分布情况的结论。例如佛罗伦惹诺 (Florenzano) 氏在1949年提出了笃世刚地区 (Toscane) 所产葡萄汁酵母种类分布情况的研究报告，证明占优势地位的“种”是椭圆酵母及尖头克勒克酵母，其次为卵形酵母，意大利酵母，贝洋酵母，葡萄穗酵母，巴斯德酵母 (*Sacch. pastorianus*)。

他又注意到铁红假丝酵母大量存在于葡萄汁中，他在下年3月份抽酒的时候，又在酒中

重新碰到了这个同样的菌种。

他又注意到本地区一部分的葡萄原料要经过“局部阳干法”来浓缩葡萄汁，然后再经破碎，添加于“成品葡萄酒”内，再引起其后发酵作用，这叫做葡萄酒的控制操作法，在这种后发酵酒内，微生物群落就有点异样了，因为局部阳干法曾经消除了克勒克酵母属的全部菌种，也消除了糖液酵母属的大多数菌种，却找到了某些高渗透压酵母（levures osmophiles法），例如佛罗伦丁酵母就是能够耐渗透压的酵母菌种，存在于这种后发酵酒内。

在1956年，法国工学博士杜美尔（S. Domercq）女士发表了著名的博士论文：“法国季隆特地区葡萄酒酵母的调查研究 and 科学分类”，她不但研究了葡萄和葡萄汁的微生物群落，就是有关酿酒用的酵母，并且还研究了老熟以后葡萄酒中保存着的酵母，这些酵母容易促使酒中残糖再起发酵作用，对于葡萄酒的保藏性来说，这些酵母无疑是真正的“酒病菌”。此外，她又研究了酒厂内车间的酵母、室内的酵母、器具上的酵母，这些都是污染性酵母，也曾被一一鉴定出来。

以下当分别简要地介绍杜美尔氏的研究成果：

I. 葡萄及葡萄汁酵母 (Levures des raisins et des mouts 法) 或称葡萄酿酒酵母 (Levures de vinification 法)

这个研究课题连续做了三年，即以1951年、1952年及1953年的收获葡萄为对象，共采取了试样96个（包括葡萄果粒、破碎葡萄浆、正在发酵的葡萄汁），都是属于波尔多地区葡萄酒厂的。其中58个试样来自红葡萄酒地区，38个试样来自白葡萄酒地区，一共分离了2023株具有发酵性能的酵母，各经分别鉴定，一一摸清个性。它们归属于23个不同的种，它们被划分为两大类或两大范畴，就是“无孢子酵母，”它们分属于5个属，共区分为8个种；“有孢子酵母”，它们分属于6个属，共区别为20个种。这些鉴定的酵母种名及其分配情况见下表：

表 3.2 从法国季隆特地区分离鉴定的葡萄酿酒酵母 (根据S. Domercq氏)

研究项目	地区分配		
	红葡萄酒区	白葡萄酒区	季隆特地区共计
研究的葡萄汁试样数	58	38	96
分离的酵母菌株数	1070	953	2023
鉴定的酵母菌种名称			
<i>Kloeckera apiculata</i>	409	154	563
<i>Kloeckera africana</i>	1	0	1
<i>Kloeckera jansenii</i>	1	0	1
<i>Torulopsis bacillaris</i>	12	127	139
<i>Torulopsis famata</i>	5	0	5
<i>Brettanomyces vini</i>	4	0	4
<i>Candida pulcherrima</i>	6	0	6
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4	0	4
无孢子酵母总数	442	281	723

续表

研 究 项 目	地 区 分 配		
	红葡萄酒区	白葡萄酒区	季隆特地区共计
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	501	517	1018
<i>Saccharomyces oviformis</i>	18	76	94
<i>Saccharomyces bayanus</i>	3	0	3
<i>Saccharomyces chevalieri</i>	42	19	61
<i>Saccharomyces fructuum</i>	6	4	10
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	3	8	11
<i>Saccharomyces uvarum</i>	6	1	7
<i>Saccharomyces florentinus</i>	5	1	6
<i>Saccharomyces steineri</i>	5	14	19
<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	0	5	5
<i>Saccharomyces acidifaciens</i>	0	5	5
<i>Saccharomyces elegans</i>	0	4	4
<i>Saccharomyces veronae</i>	0	1	1
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	0	1	1
<i>Torulaspora</i> (或 <i>Saccharomyces</i>) <i>rosei</i>	22	13	35
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	0	1	1
<i>Hansenula anomala</i>	7	0	7
<i>Pichia fermentans</i>	3	1	4
<i>Pichia membranaefaciens</i>	2	1	3
<i>Debaryomyces hansenii</i>	5	0	5
有孢子酵母总数	628	672	1300

由此可知葡萄果粒上的酵母是很不一致的，多种多样的。分布最广的酵母菌种，也就是联合存在于全部葡萄汁试样内的酵母菌种首推通常的椭圆形酵母或一般称做“葡萄酒酵母”(*Saccharomyces ellipsoideus*)及尖头小形酵母或特称尖头克勒克氏酵母，这两个“种”似要占试验用供试菌株数目的90%以上，因而也可以估计这两个“种”要发酵葡萄所含糖分总量的90%以上。

根据表中出现机率的大小次序，在红葡萄原料方面，其次是薛瓦酵母，这一酵母的发酵性能完全和椭圆酵母的相同；在白葡萄原料方面，其次是杆状球拟酵母及卵形酵母，前者是长形小酵母，是葡萄发生贵腐病以后的特定酵母，因为葡萄的贵腐病是由灰霉菌(*Botrytis cinerea*)引起的，它会分泌一种抗生素，专门抑制酵母，可以称为“抗酵母素”(antibiotique antilevure法)，乃使贵腐病葡萄果粒上的酵母群落不得不和健康葡萄果粒上的酵母群落发生

种类上的差异，杆状球拟酵母就是能够适应这种抗酵母素而存活着的酵母菌种。后者（卵形酵母）是另一种椭圆形酵母，或是一种成酒酵母（levure finisseuse法）就是完成发酵作用的酵母，它能够使葡萄酒达到比较高的酒度。

此外，应当指出罗斯酵母（*Sacch. rosei*）也是经常一致存在的一个酵母菌种。

其他的酵母种类就很少了，并且其出现是很不一致的，大约在一千个分离的样菌中，只可看到几个细胞；一般说来，这些菌种是没有什么重要性的，只是在某些特别情况下才参加发酵工作。

根据以上的分析，可知葡萄果粒上的微生物群落或植被在质的方面是变化很大的，但从酿酒的角度看，真有技术上的关系的酵母种只是集中在少数几个，因此，我们可以形象地将葡萄酿酒酵母划分为3大类：第一类是尖头克勒克酵母和椭圆形糖液酵母，这是最重要的一类酵母，担负着大量的发酵工作；第二类是“调整或平衡用酵母”（levures d'appoint法），几乎经常存在，其中某些菌种，例如卵形酵母的产酒能力是很强的；第三类是实际上在酿酒方面可以被忽视的酵母，其参加发酵工作所引起的效果一般象椭圆酵母所起的效果一样；但是，也有一些菌种秘密地附着在葡萄皮上，随机地进入葡萄汁中，通过发酵程序，最后竟仍停留在成品酒内，等到环境条件许可，往往自行发育繁殖，变成引起葡萄酒再发酵的因素。

（甲）在处理原料葡萄的不同时期所含酵母个数 大家承认葡萄在成熟时期会带有各种酵母，也同意其小量酵母个体是属于糖液酵母一属。由葡萄直接传给葡萄汁的酵母数量原是不多的，事实上的调查结果也已证明这一说法。（例如从13个葡萄园及酒厂的不同企业分别采取试样：先从葡萄园的植株上以无菌手续采取葡萄，制成葡萄汁，然后测定酵母个数；再从刚到厂房门口的原料桶中采取由工人们采摘下来和运送到厂的葡萄，制成葡萄汁，然后测定酵母个数；又再从除梗破碎联合机出口直接采取葡萄汁，然后也依法测定酵母个数。同一批原料在3个不同时期所得到的酵母数量列成统计表，以资对照）。

表 3.3 处理原料葡萄不同时期所含酵母数量 表示单位：每立方毫米(mm^3)
葡萄汁所含酵母个数（根据Ribereau-Gayon诸氏）

葡萄园数	从植株上采取葡萄	从厂门口采取葡萄	从破碎机取样
1	<1	5	800
2	30		1360
3	26		
4	<1	25	
5	120		
6	160	23	
7	2	40	660
8	50	10	6400
9	4	280	460
10	65		
11	<1	2	
12	1	4	1800
13	1	15	1500

注：空格表示未经测定或没有原始数据。

从上表，可以明显地看出，在植株上采收的葡萄，测得的酵母菌落数是不多数的，而且是很不一致的，多的为160个/毫升，少的为平均不足1个/毫升。事实上，当剪下若干非常健康的果穗数串，于无菌操作下制成葡萄汁，往往经过适当时间，保持适当温度，仍不表现发酵作用，这是因为汁中没有酵母存在的缘故。有的试样，经相同的试验，会产生发酵作用，快慢不一，强弱亦异，这是因为葡萄汁中含有酵母数量很不一致的缘故，这也就是葡萄果粒上分布的酵母数量很不一致的缘故。

在原料桶中采取由工人们运送到厂的葡萄，平均说来，可以分离的酵母个数，要略为多些；但是，通过工人们手工操作可以接种增加的酵母，以及通过分散、集中、装桶、运输处理手续可能接种增加的酵母仍旧是不多的。

只是在原料经过破碎机以后，完成了一系列加工处理，才使原料葡萄增加了许多酵母数量。这是因为葡萄原料或经人工除梗然后破碎，或则利用除梗破碎联合机进行机械处理，或则利用“破碎运送联合泵”（foulopompe法）简称“葡萄破碎泵”从事加工，这些加工方法或加工所用机件在破碎葡萄的过程中，实际上充当了酵母接种器的功用。制造白葡萄酒所用原料压榨机以及淋流器等也同样可以充当接种酵母的工具。这些机件经常涂盖着葡萄汁，大量接触着空气，遂使葡萄原料带来的酵母有可能很迅速地自行发育和繁殖起来，于是在试样中找到了大量的酵母个体，这是可以理解的。研究和弄清楚从破碎机出来的葡萄汁或从压榨机（制白葡萄酒时）出来的葡萄汁所含天然的微生物植被或群落是极有实际意义的。经过分布情况的研究，知道与酿酒有关的酵母个体已经活跃起来，已经到了足够的数量，使我们对于主发酵工序，就可放心；如果情况相反，酵母数量不足，或者原有的酵母菌种不是符合于预期的属或种，那么，生产指挥者就不得不考虑添加人工酵母，以便补救。

（乙）在发酵过程中酵母种与种之间的接替关系 法国杜美尔氏特别研究了在发酵过程中酵母会自行接替着参加发酵工作。酵母在这方面的分配情况如下表：

表 3.4 白葡萄酒汁在发酵过程中酵母与酵母的接替情况（根据S·Domercq氏）

表中数字表明每个试样出现酵母的百分率

酵母种别	发酵前期 (213株)	发酵中期 (208株)	发酵末期 (165株)
<i>Kloeckera apiculata</i>	36.1	0	0
<i>Torulopsis bacillaris</i>	23.4	1	0
无孢子酵母总数	59.5	1	0
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	31.4	87.6	50.3
<i>Saccharomyces oviformis</i>	0.5	2.4	28.1
<i>Saccharomyces chevalieri</i>	0.5	3.8	3.6
<i>Saccharomyces fructuum</i>	0.9	0	0.6
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	2.3	1	0
<i>Saccharomyces uvarum</i>	0.5	0	0
<i>Saccharomyces steineri</i>	2.3	1.9	1.2
<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	0	0.5	1.8