



西北农林科技大学 丛书
葡萄酒学院专著

葡萄酒微生物学

ENOLOGICAL MICROBIOLOGY

张春晖 著
李 华

陕西人民出版社

内 容 提 要

葡萄酒微生物学是葡萄酒学的基础和重要组成部分，它与酿酒葡萄原料学、葡萄酒工程学和葡萄酒工艺学共同构筑了现代葡萄酒学。本书论述严谨，内容新颖，理论性与实用性兼顾。专著第1章介绍了葡萄酒微生物学发展简史及其在葡萄酒学中的地位与作用，第2章系统介绍了发酵动力——酵母菌的一般特性，第3章详述了发酵化学包括酒精发酵的生物化学、酵母的硫代谢、氮代谢和酒精发酵的副产物等方面的内容，第4~9章深入讨论了非酵母属酵母、嗜杀酵母、乳酸菌、霉菌、醋酸菌等微生物与葡萄酒酿造的关系，第10和第11章分别简要介绍了葡萄酒微生物的菌种选育和发酵剂生产，第12和第13章分别阐述了葡萄酒生产控制和分析检测等方面的内容。

本书是我国第一部有关葡萄酒微生物方面的专著，作者从实验研究到国内外相关资料的收集整理，历时6年。著作力求系统全面地介绍葡萄酒酿造的微生物学基础、发酵原理，并紧密结合生产实际。该专著可作为葡萄酒酿造学的专业教材，也可供葡萄酒企业的科研和生产人员参考使用。

序

西北农林科技大学葡萄酒学院及其前身西北农业大学园艺系葡萄栽培与酿酒专业，一直把提高教学质量和办学水平放在首位，按照“面向现代化、面向世界、面向未来”的时代要求，大力进行教学体制、教学内容和教学方法的改革，结合我国的实际情况，力求与国际同类教育接轨，优化知识结构，增强学生的实际工作能力，培养学生的综合素质，特别是自1994年4月葡萄酒学院成立以来，坚持以国际葡萄与葡萄酒组织（O.I.V.）的《葡萄酒工艺师培训标准（OENO 2/91）》为基础，结合对我国葡萄与葡萄酒行业的广泛调查研究和分析结果，制定了葡萄与葡萄酒专业详尽的培训计划，建立了葡萄学、葡萄酒学、葡萄酒工程学和葡萄酒市场营销学四大课程体系，并先后建成了相应的教材体系。这些教材在过去的三百多名高级专业人才的培养当中发挥了重要的作用，也受到了国内葡萄与葡萄酒行业的广泛欢迎与高度评价。一些教材已成为众多葡萄酒生产和推广企业不可或缺的工具书。

近年来，随着科学技术的突飞猛进，葡萄学、葡萄酒学、葡萄酒工程学、葡萄酒市场营销学的主要内容和技術都发生了深刻的变化，有关国际标准也随之改变了相应的规定，从而形成和不断完善了质量控制手段。因此，在社会各界的关心下，特别是在葡萄与葡萄酒行业及其相关行业的支持下，我院力求在各类教材的编著过程当中，不断吸收国内外最新的科研成果和行业的先进经验，陆续出版上述四个学科群的有关教材。并且根据需要进行修订重版。希望这一系列教材能不断地为我国葡萄和葡萄酒行业的高级人才（包括大学生、硕士生、博士生等学历教育和继续教育）的培养和行业的技术进步做出新的贡献。

我相信，我国葡萄与葡萄酒行业及其相关行业的同仁们将会一如既往地支持葡萄酒学院的发展，并对我院的系列教材提出新的宝贵的意见，以便我们在修订重版时更新教材内容，为提高中国葡萄酒在国际上的群体声誉而不懈努力。

西北农林科技大学葡萄酒学院院长

李 华

2003年5月

前言

葡萄酒作为微生物发酵饮品,其酿造历史可以追溯到 10,000 年前。葡萄酒在我国也有着悠久的历史,司马迁著名的《史记》中首次记载了葡萄酒。公元前 138 年,外交家张骞奉汉武帝之命出使西域,看到“宛左右以蒲陶(即葡萄)为酒,富人藏酒至万余石,久者数十岁不败……”《史记·大宛列传》。作为最古老的酒中之一,它一经产生就与微生物密不可分。葡萄酒微生物学作为一门相对独立的学科,诞生在两个世纪以前,当时的葡萄酒病害促使微生物学家们开展有关有害微生物控制方面的研究。随着葡萄酒学和微生物学的发展,葡萄酒微生物的研究领域更加广泛和深入,研究目的性也不仅仅限于对病害的控制,而更是强调对有益微生物的利用。例如,根据酒种的不同选择相应的酵母菌种,能够使葡萄酒的典型风格得以体现;通过筛选各类“特种酵母”接种进行酒精发酵,利用酵母菌的生物转换器效应使葡萄原料的品种特性在葡萄酒中得到充分发挥,同时还能保持原产地的风土气候特征。当前葡萄酒发达国家的酿酒学家们研究领域有很大一部分集中在葡萄酒微生物学方面,因为微生物已经成为决定葡萄酒质量和感官风格的最重要的因素。

近几十年来,我国的葡萄酒产业得到飞速发展,而且一直保持着上升趋势。在葡萄酒学研究方面,我国在该领域取得长足进步起始于上个世纪 80 年代。目前,我国的葡萄酒生产已经完成了从非接种发酵向接种发酵的转变,实现了自然发酵向工业化控制发酵的转变。但由于我国的葡萄酒产业的发展起步较晚,整体水平还相对落后。例如在葡萄酒降酸工艺方面,目前国外葡萄酒发达国家有 75% 的红葡萄酒和 40% 的白葡萄酒采用接种法进行苹果酸-乳酸发酵降酸,而我国不少厂家至今仍采用物理、化学降酸法,或者使用诱导自然苹果酸-乳酸发酵的方法对葡萄酒进行降酸。值得欣喜的是,目前大部分生产厂家已经认识到优良酿酒菌株和控制发酵技术在葡萄酒生产中的重要性,并逐渐接受和采用先进的发酵工艺。

本书立题的初衷是作者在科研与生产工作中,体会到我国葡萄酒科研与生产人员大多重视工艺学方面的研究,在葡萄酒发酵微生物重要性的认知程度和发酵工艺控制方面还需提高,加强对葡萄酒微生物和发酵控制基本原理的理解是避免葡萄酒工艺学“神秘化”的根本手段。《葡萄酒酿造原理与实践》一书的主编、美国加州大学 Davis 分校葡萄酒学教授 Boulton 曾说过,葡萄酒酿造 90% 是由微生物进行的,我们所做的工作不足 10%。可见,葡萄酒微生物学在葡萄酒生产中的重要意义。

本书在撰写过程中,参考了国内外大量的研究成果,这固然能为本书的内容增加新鲜知识,但有些观点和结论仍需要实践验证,有些问题还需要继续研究和探讨。书中不妥和错误之处,敬请批评指正(作者电子信箱为 E-mail: dr_zch@yahoo.com.cn)。

著者

2003 年 4 月

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 葡萄酒的起源与发展	1
1.2 葡萄酒微生物研究简史	3
1.3 葡萄酒微生物学研究现状与发展趋势	6
1.4 葡萄酒微生物学的地位与作用	7
主要参考文献	7
第 2 章 酵母菌	8
2.1 酵母菌形态结构	8
2.1.1 酵母菌的形态	8
2.1.2 酵母菌的细胞结构	9
2.2 酵母菌的繁殖方式	11
2.2.1 无性繁殖	11
2.2.2 有性繁殖	14
2.3 酵母菌的生活史	15
2.4 酵母菌的菌落特征	16
2.5 酵母菌的分类	16
2.5.1 酵母菌的分类依据	17
2.5.2 形态学特征	17
2.5.3 生理学特征	17
2.5.4 化学分类指标	18
2.6 酵母属分类学	19
2.6.1 酵母属分类系统的演变	19
2.6.2 分子生物学技术在酵母属分类中的应用	21
2.6.3 工业酿酒酵母及其鉴别	23
2.7 酵母菌的鉴定	24
2.7.1 与葡萄酒和葡萄汁相关酵母的鉴定指标	24
2.7.2 鉴定方法	27
2.8 酵母菌生态学	30
2.8.1 葡萄园酵母生态学	30
2.8.2 葡萄酒厂酵母分布	31

2.8.3 酒精发酵过程中酵母菌种类的变化	31
2.9 酵母属酵母	34
主要参考文献	37
第3章 发酵化学	39
3.1 酒精发酵简史	39
3.2 酵母菌的发酵底物——糖	39
3.2.1 酵母对糖的吸收	40
3.2.2 酵母对二糖和其他寡聚糖的吸收	41
3.3 酵母菌对糖的分解代谢	42
3.4 酵母菌的酒精发酵	42
3.4.1 酒精发酵的准备——酵解途径 (EMP 途径)	42
3.4.2 酒精生成——乙醛途径	45
3.4.3 酒精产率	47
3.5 丙酮酸的有氧分解——三羧酸循环	47
3.5.1 三羧酸循环途径	47
3.5.2 三羧酸循环的生理功能	48
3.6 非碳素营养	49
3.7 EMP 途径——TCA 循环的 ATP 产量	50
3.7.1 电子传递链	50
3.7.2 氧化磷酸化作用	50
3.7.3 P/O 比与 ATP 的形成	52
3.7.4 三羧酸循环的回补反应	52
3.8 磷酸戊糖途径	53
3.8.1 HMP 途径反应过程	53
3.8.2 HMP 途径在酵母糖代谢中的比例	55
3.8.3 HMP 途径的生理意义	55
3.9 酵母糖代谢途径的相互关系	56
3.9.1 糖代谢的中心物质——丙酮酸	56
3.9.2 酵母糖代谢途径的相互关系	56
3.10 糖代谢的调节	57
3.10.1 糖酵解的调节	57
3.10.2 巴斯德效应	58
3.10.3 Crabtree 效应	59
3.10.4 葡萄糖效应	60
3.11 酵母对氮源的利用	60
3.11.1 酵母的氮源	60
3.11.2 葡萄汁中氮素种类与含量	62

3.11.3 吸收与运输	62
3.11.4 氮源利用	65
3.11.5 氮代谢对糖酵解的影响	68
3.12 酵母的硫代谢	69
3.12.1 硫源及其吸收	69
3.12.2 酵母菌对硫源的利用	69
3.12.3 硫酸盐的同化	69
3.12.4 其他硫化物的还原途径	71
3.12.5 酵母对硫酸盐同化的生理意义	71
3.13 酒精发酵副产物	72
3.13.1 甘油	73
3.13.2 乙酸	74
3.13.3 非挥发性有机酸	75
3.13.4 高级醇(杂醇油)	77
3.13.5 挥发性酯类物质	77
3.13.6 双乙酰与乙偶姻	79
主要参考文献	79
第 4 章 非酵母属酵母	83
4.1 毕赤氏酵母属	83
4.1.1 细胞形态	84
4.1.2 代谢特征	84
4.2 汉逊氏酵母属	85
4.2.1 细胞形态	85
4.2.2 代谢特征	85
4.2.3 代表种	86
4.3 假丝酵母属	86
4.3.1 细胞形态	87
4.3.2 代谢特征	87
4.3.3 与葡萄酒相关的假丝酵母举例	87
4.4 红酵母属	89
4.5 德巴利酵母属	89
4.6 隐球酵母属	89
4.7 克勒克酵母属与有孢汉逊酵母	90
4.8 酒香酵母属	91
4.8.1 形态与分类	91
4.8.2 酿造学特征	92
4.8.3 分布与生态学	93

4.8.4 代谢特性·····	94
4.8.5 风味特征·····	95
4.8.6 监测·····	96
4.9 类酵母属的柠檬形酵母·····	97
4.9.1 类酵母的形态与分类·····	97
4.9.2 代谢特性·····	97
4.9.3 酿造学特性·····	98
4.10 其他酵母属·····	98
4.10.1 接合酵母属·····	98
4.10.2 裂殖酵母属·····	100
4.11 非酵母属酵母在葡萄酒酿造中的作用·····	103
主要参考文献·····	105
第 5 章 嗜杀酵母与葡萄酒酿造·····	107
5.1 嗜杀现象·····	107
5.2 嗜杀酵母的分类·····	107
5.3 嗜杀酵母生态学·····	108
5.4 酒精发酵过程中嗜杀酵母的群体变化·····	109
5.5 嗜杀株对敏感株的抑制作用·····	110
5.6 嗜杀毒素的分子生物学·····	111
5.6.1 酵母的病毒状粒子 (VLPs) ·····	111
5.6.2 酿酒酵母嗜杀株的双链 RNA ·····	111
5.6.3 嗜杀毒素作用机制·····	113
5.7 嗜杀酵母与葡萄酒酿造·····	115
5.7.1 延滞酒精发酵·····	115
5.7.2 净化发酵体系·····	116
主要参考文献·····	117
第 6 章 葡萄酒乳酸菌·····	119
6.1 葡萄酒乳酸菌的代谢特征·····	119
6.1.1 糖的代谢·····	119
6.1.2 氮代谢·····	121
6.1.3 有机酸代谢·····	122
6.2 葡萄酒乳酸菌的种类·····	125
6.3 苹果酸-乳酸菌生态学·····	126
6.4 葡萄酒乳酸菌分类学·····	128
6.4.1 个体形态特征·····	128
6.4.2 培养特征·····	129

6.4.3 生理系列化反应	129
6.4.4 生态因子	129
6.4.5 细胞组分	129
6.5 葡萄酒乳酸菌主要种、属特征与分类鉴定	130
6.5.1 乳杆菌属	130
6.5.2 片球菌属	132
6.5.3 明串珠菌属	134
6.6 酒明串珠菌分类学研究进展	135
6.6.1 酒明串珠菌种的建立	135
6.6.2 酒球菌属的建立	136
6.6.3 酒球菌属的特征	136
6.6.4 酒类酒球菌 (<i>Oenococcus oeni</i>) 的特性	137
6.7 葡萄酒乳酸菌的鉴定	138
主要参考文献	140
第7章 苹果酸-乳酸发酵	143
7.1 苹果酸-乳酸发酵生化途径	144
7.1.1 苹果酸-乳酸转变	144
7.1.2 苹果酸的吸收	145
7.1.3 苹果酸-乳酸发酵生理学作用	145
7.1.4 苹果酸-乳酸发酵的调节	145
7.2 己糖代谢	146
7.2.1 葡萄糖与果糖的共代谢	146
7.2.2 ATP 的利用与细菌生长	146
7.2.3 环境条件对细菌糖代谢的影响	147
7.3 柠檬酸代谢	148
7.3.1 柠檬酸-葡萄糖共代谢	148
7.3.2 柠檬酸的运输	150
7.4 苹果酸-乳酸发酵对酒质的影响	151
7.4.1 降酸作用	151
7.4.2 增加细菌学稳定性	151
7.4.3 风味修饰	151
7.4.4 降低色度	151
7.4.5 细菌可能引起的葡萄酒病害	152
7.5 苹果酸-乳酸发酵过程中葡萄酒成分的变化	152
7.5.1 有机酸	152
7.5.2 乳酸菌对己糖的代谢	152
7.5.3 含氮化合物的代谢	153

7.5.4 白藜芦醇含量的变化·····	156
7.6 影响乳酸菌在葡萄酒中生存与生长的因素·····	157
7.6.1 葡萄酒的理化特性与组成·····	157
7.6.2 酿造工艺的影响·····	159
7.6.3 微生物间的相互关系·····	159
7.6.4 乳酸菌的抑制与苹果酸-乳酸发酵的终止·····	160
7.7 现代发酵工程技术在苹果酸-乳酸发酵中的应用·····	161
7.7.1 细胞生物反应器的应用·····	161
7.7.2 固定化酶技术·····	164
7.7.3 膜生物反应器的应用·····	164
7.7.4 苹果酸-乳酸酵母的应用·····	165
主要参考文献·····	166
 第 8 章 醋酸菌与葡萄酒酿造·····	 170
8.1 醋酸菌发现简史·····	170
8.2 醋酸菌的分类学·····	171
8.2.1 醋酸杆菌科的建立·····	171
8.2.2 醋酸杆菌科的特征·····	172
8.2.3 醋酸菌的鉴定·····	173
8.3 醋酸菌生态学·····	176
8.4 影响醋酸菌生存与生长的葡萄酒环境因子·····	178
8.4.1 pH·····	178
8.4.2 温度·····	179
8.4.3 SO ₂ ·····	179
8.4.4 酒精·····	179
8.4.5 O ₂ ·····	179
8.5 醋酸菌的代谢与生长·····	179
8.5.1 碳水化合物·····	180
8.5.2 甘油·····	182
8.5.3 酒精·····	182
8.5.4 其他醇类·····	183
8.5.5 有机酸·····	184
8.5.6 含氮化合物·····	184
8.5.7 生长因子·····	184
8.6 醋酸菌与其他微生物的相互作用·····	184
主要参考文献·····	185

第 9 章 霉菌与葡萄酒酿造	187
9.1 霉菌的形态结构	187
9.2 霉菌的菌落	188
9.3 霉菌的繁殖	188
9.3.1 无性孢子繁殖	189
9.3.2 有性孢子繁殖	189
9.3.3 霉菌生活史	191
9.4 葡萄酒中常见的霉菌	191
9.4.1 葡萄孢属	191
9.4.2 青霉属	193
9.4.3 拟青霉属	194
9.4.4 曲霉属	195
9.4.5 毛霉属	195
9.4.6 根霉	196
9.4.7 芽枝霉属	197
9.4.8 衣霉属	197
9.5 霉菌在葡萄酒酿造中的重要性	197
主要参考文献	198
第 10 章 葡萄酒菌种选育	199
10.1 菌种选育的一般原理	200
10.1.1 优良变异系的分离筛选	200
10.1.2 性能鉴定	201
10.2 葡萄酒酵母选种的一般方法	201
10.2.1 选种目标的确定	202
10.2.2 酵母的分离和筛选	203
10.2.3 发酵试验	204
10.2.4 葡萄酒酵母筛选举例	204
10.3 酵母菌的有性杂交	205
10.4 原生质体融合	206
10.4.1 亲本选择	206
10.4.2 原生质体制备	207
10.4.3 原生质体融合	207
10.4.4 原生质体再生	207
10.4.5 融合子筛选	208
10.5 基因工程育种	208
10.5.1 酵母育种使用的载体类型	209
10.5.2 目的基因与载体 DNA 的体外重组	211

10.5.3 重组载体转化·····	211
10.6 转基因酿酒酵母育种·····	211
10.6.1 酿酒酵母育种举例——苹果酸乳酸酵母和苹果酸酒精酵母的构建·····	211
10.6.2 其他葡萄酒酵母基因工程菌·····	215
10.7 苹果酸-乳酸菌的筛选·····	215
10.7.1 优良酒类酒球菌的筛选标准·····	216
10.7.2 厌氧分离·····	216
10.8 葡萄酒乳酸菌的分离·····	217
主要参考文献·····	218
第 11 章 发酵剂的生产·····	220
11.1 活性干酵母 (ADY) 的生产·····	220
11.1.1 酵母的成分·····	220
11.1.2 活性干酵母生产的基本工艺·····	221
11.1.3 活性干酵母质量检验·····	223
11.2 苹果酸-乳酸菌的生产——真空冷冻干燥法·····	225
11.2.1 细胞的冻干伤害·····	225
11.2.2 冷冻干燥的原理·····	226
11.2.3 冻干机的组成和冻干程序·····	227
11.2.4 乳酸菌的冻干保护·····	229
11.2.5 影响干燥过程的因素·····	233
11.2.6 冻干曲线和时序的制定·····	234
11.2.7 包装与存放·····	235
主要参考文献·····	235
第 12 章 微生物的生产控制·····	237
12.1 清洗与消毒·····	237
12.1.1 清洗用水·····	238
12.1.2 预清洗·····	238
12.1.3 清洗 (去污) 剂·····	238
12.1.4 杀菌 (消毒) 剂·····	239
12.1.5 物理杀菌剂·····	240
12.1.6 卫生检验·····	241
12.2 装瓶前的除菌与抑菌·····	242
12.2.1 过滤·····	242
12.2.2 防腐剂与杀菌剂·····	242
12.3 装瓶过程中微生物的检验·····	246
12.3.1 灌装线取样·····	246

12.3.2 低菌密度群体取样·····	246
12.3.3 微生物检验操作流程·····	247
主要参考文献·····	248
第 13 章 葡萄酒微生物检验技术·····	250
13.1 微生物分析用具·····	250
13.2 微生物检测、鉴定和酵母菌直接计数·····	250
13.2.1 液体或沉淀物的镜检·····	250
13.2.2 甲基蓝活体染色·····	251
13.2.3 革兰氏染色法·····	251
13.2.4 链状细菌快速制片技术·····	252
13.2.5 酶分析·····	253
13.2.6 酵母菌的直接计数·····	253
13.2.7 微生物的培养计数·····	254
13.2.8 滤膜法计数·····	257
13.2.9 液体培养(最大可能数)(NPP)·····	259
13.2.10 霉菌培养·····	261
13.3 稳定性试验·····	261
13.3.1 氧化试验·····	262
13.3.2 培养箱试验·····	262
13.4 葡萄酒微生物检验新技术·····	262
13.4.1 生物发光·····	262
13.4.2 免疫化学技术·····	262
13.4.3 分子生物学技术·····	263
主要参考文献·····	266
附录·····	268
附录 1 酵母菌各属检索表(Lodder, 1970)·····	268
附录 2 酵母属各种分类检索表(Lodder, 1970)·····	271
附录 3 与葡萄/葡萄酒相关的酵母分类检索表(Lodder, 1970; Barnett, 1990)·····	274
附录 4 与葡萄酒酿造相关的乳酸杆菌的生理生化特征·····	276
附录 5 与葡萄酒酿造相关的明串珠属(<i>Leuconostoc</i>)细菌种的鉴别特征·····	278
附录 6 葡萄酒微生物常用培养基·····	279

第1章 绪论

1.1 葡萄酒的起源与发展

人类对酒精饮料的认识历史像人类一样久远。文化还未开化的原始土著人，早就学会酿制发酵饮料，最著名的例子是黑人用小米和棕榈汁发酵酿酒。葡萄酒也是最古老的酒种之一，一些古老民族曾相信葡萄栽培和葡萄酒是由神赏赐的：希腊人把巴古斯（Bacchus）当作葡萄神来供奉，古以色列则把诺阿（Noah）看成是给人类栽培葡萄和酿制葡萄酒的天神。所有这些使我们了解到，为什么直到今天有些宗教仍把葡萄酒当作祭品来供奉。

我们至今仍不清楚在哪个地方首先偶然出现了葡萄酒，也不清楚是谁发明了酿造葡萄酒的方法，不过有一点是肯定的，那就是以后的人们试图来重复这种偶然的发现。最早人们食用葡萄有三种方式——鲜果、葡萄干和葡萄汁，其中鲜果的食用期较短，而葡萄汁的保存时间相对较长。我们可以想象那些剩下的葡萄浆果会被放置在一些容器中——动物皮或猎物膀胱制成的袋子、土瓦罐或者紧密缝制并经过处理的篮子。在野生酵母的作用下，葡萄浆果开始发酵。最原始的葡萄酒刚开始时可能令人反感，但逐渐被接受。而且古代的人们发现，葡萄汁经过发酵后，保存的时间更长。因此，酿造葡萄酒最初和最重要的目的是葡萄汁发酵后有利于保存。

虽然我们不能够确切地知道是谁或者是哪一个民族发明了这种饮料，但葡萄酒漫长而丰富的历史可以追溯到差不多 10,000 以前。有些考古学家认为最早的葡萄酒是腓尼基人（Phoenicians）酿造的。

也有考古资料证明，古埃及以及美索不达米亚人（Mesopotamians）最早种植葡萄和酿造葡萄酒。从五千年前的一幅墓壁画中可看到当时的古埃及人在葡萄的栽培、酿造及葡萄酒的贸易方面的生动情景。图 1-1 是埃及壁画上的酒罐。

在葡萄酒发展的早期，葡萄酒常常添加香草或其他植物来改善葡萄酒的香气，克服由于葡萄酒败坏而引起的不悦的香气和口感。大约在公元前 4,000 年前，人们并不知道如何防止葡萄酒的败坏。

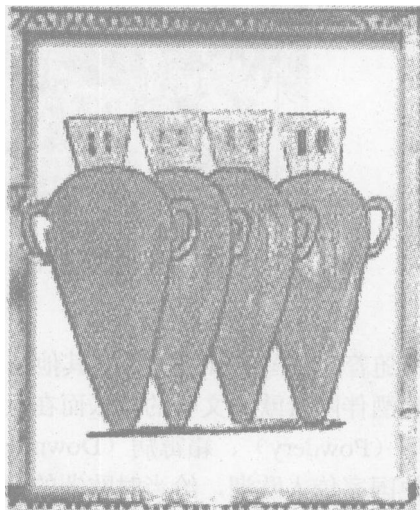


图 1-1 埃及壁画上的酒罐

<http://www.eresonant.com> (2000)

1.1.1 欧洲葡萄酒发展

在罗马帝国时代，葡萄栽培与酿酒得到了比此前任何时期都要快的发展。葡萄酒在当时已经成为罗马人餐饮中不可或缺的饮品，因而当时的葡萄酒贸易也很发达。

随着罗马帝国的扩张，葡萄酒的生产区域也随着扩大。实际上，现在所有西欧主要葡萄酒产区都是由当时的罗马人建立起来的。

在罗马帝国时代，葡萄酒酿造工艺得到了相当大的提高，已经出现了许多葡萄品种和栽培方式。橡木桶已用于葡萄酒的贮藏和流通，酒瓶首次被使用。早期的葡萄酒命名系统（appellation system）也初见端倪，在当时规定只有特定区域生产的优质葡萄酒才能使用某些名称。

公元 500 年，随着罗马帝国的衰落，欧洲进入了黑色时期（dark ages），那是一个充满侵略和社会动荡的年代。在当时罗马天主教教会的庇护下，葡萄栽培与酿酒技术在才得以保留。

到 18 世纪晚期，欧洲主要的葡萄酒产区都已经建立起来。随着 19 世纪工业化革命的出现，许多重要的工艺技术对葡萄酒工业产生了重要影响，葡萄生产和葡萄酒酿造广泛采用了机械设备，从而降低了生产费用和劳动强度（图 1-2）。

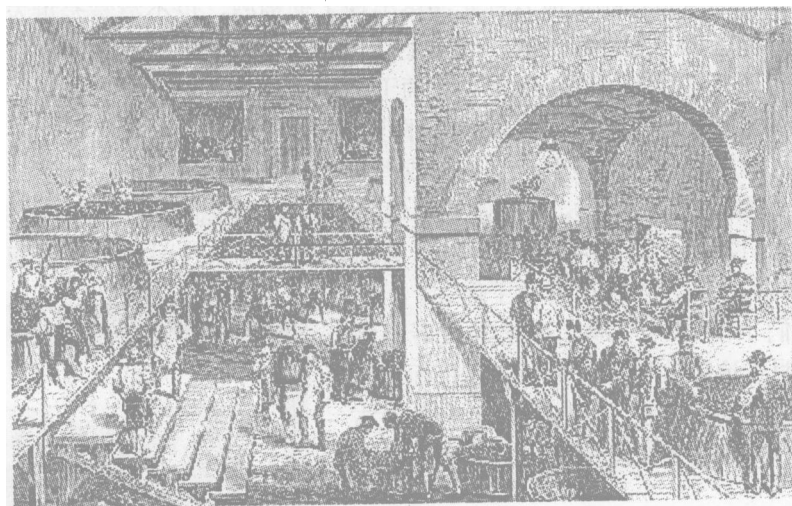


图 1-2 在工业化革命以前葡萄酒工业为劳动密集型产业

<http://www.eresonant.com> (2000)

随着欧洲国家开始对世界其他国家的殖民化，对世界文明产生了重大而深刻的影响，葡萄酒伴随着欧洲文明的扩张而在世界范围内传播。然而这也带来了一些问题，例如白粉病（Powdery）、霜霉病（Downy mildew）和根瘤蚜（*Phylloxera*）等病害和虫害也从其他国家传入欧洲，给当时欧洲的葡萄与葡萄酒生产带来了很大损失。不过，这种危害迫使人们寻求对策，例如在当时为了控制病虫害，人们发明了波尔多液，为了便于质量管理，法国建立起了葡萄酒控制命名体系（France controlled appellation system）。

1.1.2 美洲的葡萄酒

由于北美洲大陆东海岸冬季严寒和病虫害的原因,英国和法国殖民者未能成功地将欧洲酿酒葡萄引种到该地区。后来,他们将欧洲葡萄(*Vitis vinifera*)与当地的美洲葡萄杂交,得到了适应性较强的欧美杂种。

西班牙人早在16世纪就成功地将欧洲葡萄引种到墨西哥。

在美国加州淘金时期,随着欧洲移民的涌入,葡萄与葡萄酒在美洲的传播相当快,但同时也带来了葡萄根瘤蚜(*Phylloxera*)。

在19世纪晚期,由于经济原因和葡萄根瘤蚜的危害,美国葡萄酒工业受到了很大的打击。也正是在此时,为了避免葡萄病虫害对葡萄酒工业造成更大的危害,美国加州立法机构要求加州大学开展葡萄栽培与酿酒方面的研究。目前该校已经成为世界上最著名的葡萄—葡萄酒研究和人才培养的大学之一。

1919—1933年,在美国颁布禁酒令期间,美国的葡萄酒产业几乎处于崩溃的边缘,禁酒令被解除以后,在美国加州又出现了一些新的酒厂,但没有一个厂家能够生产出非常优秀的葡萄酒,这种情况一直持续到20世纪60年代。在以后的时间里,加州对不同生态区的酿酒葡萄品种进行优化,同时加强了工艺学方面的研究,如发酵温度控制,葡萄酒败坏性微生物的控制等。目前,美国加州已经成为世界上最重要的葡萄酒生产区之一。

1.1.3 我国葡萄酒的起源与发展

我国的葡萄酒究竟起源于何时?一直未有很有说服力的证据。近年来,有研究者认为在三千多年前的商代我国已有了葡萄酒。据有关资料,1980年在河南省发掘的一个商代后期的古墓中,发现了一个密闭的铜卣。经分析发现,铜卣中贮藏的为葡萄酒。至于当时酿酒所采用的葡萄是人工栽培的还是野生的尚不清楚。另有考古资料表明,在商周时期,除了谷物原料酿造的酒之外,其他水果酿造的酒也占有一席之地。

在古代中国,葡萄酒并不是主要的酒类品种,但在一些地区,如现在的新疆所在地,葡萄酒则是主要的酒类品种。在一些历史时期(如元朝),葡萄酒也曾大力普及过。历代文献中对葡萄酒的记载仍是较为丰富的。

中国古代的葡萄酒的酿造技术主要有自然发酵法和加曲发酵法(类似于黄酒酿造法)。后一种酿造法有画蛇添足之嫌,说明了中国酒曲法酿酒的影响根深蒂固。

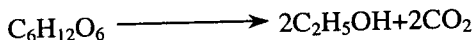
目前,我国的葡萄酒产业发展迅速,在新疆—甘肃—宁夏的干旱地区、黄土高原干旱地区、渤海沿岸平原、黄河故道以及淮河流域、东北长白山地区以及四川—云南高原地区建立了葡萄与葡萄酒生产基地,并涌现出一批葡萄酒知名品牌。葡萄酒发酵工艺也有了根本地提高。目前我国在干型葡萄酒生产工艺研究与应用方面已基本成熟,但在葡萄酒的整体研发与生产方面,尤其是葡萄酒微生物研究与发酵控制方面,与葡萄酒发达国家相比还存在着很大的差距。

1.2 葡萄酒微生物研究简史

尽管从原始时代起,差不多所有民族对发酵饮料都有一定的认识,但对发酵过程和葡萄酒酿造的科学研究,却是近几百年的事。1697年,斯塔尔(Stahl)发现“正在腐烂

的物体很容易引起另一尚未腐烂的物体腐烂。同样，一个处于内部运动状态的物体，很容易使另一个静止的物体处于同样的内部运动状态”，随后他对发酵过程进行了最初解释并提出了发酵假说。但该假说并不能对引起发酵的物质以及发酵物质的传播本质解释清楚。1680年，Anton van Leeuwenhoek——荷兰的博物学家、显微镜的发明者对发酵微生物的认知起到决定性的作用。在显微镜下，他发现在发酵液中有一些微小的生命体存在。但由于当时他的显微镜的放大能力和分辨能力有限，他没有能够将这些微小的生命体与发酵联系起来。

1785年，法国化学家 Antoine Laurent Lavoisier 提出了酒精发酵是一个化学变化过程的假说。当时已经知道糖是酒精发酵的原料，Lavoisier 注意到在发酵过程中有酒精和 CO_2 产生，所有可发酵糖进行的发酵都是如此。根据这些现象，他对发酵现象做出结论，即发酵是由糖分子的化学裂解所造成的。在当时，这对于认识酒精发酵的本质还是有重要意义的。他的助手 Gay-Lussac 用当时的化学知识对发酵进行解释，认为发酵是一个氧化过程，他于 1810 年提出了酒精发酵的化学反应式：



直到 1835 年，法国人 Charles Cagnaird de la Tour 和德国人 Schwann 独立地采用经过改良的显微镜对啤酒罐底部的沉淀物进行镜检，他们发现了一些通过出芽繁殖的单细胞生物，即酵母。Charles Cagnaird de la Tour 随后提出酒精发酵是酵母生长的结果，而不是以前所认为的简单的化学过程，这对发酵本质的认识又近了一步。差不多在同一时期，Meyen 对酵母菌进行了分类，并将啤酒酵母其命名为 *Saccharomyces cerevisiae*。

1846 年，瑞典化学家 Jons Berzelius 提出了催化剂 (catalyst) 的概念，用来描述化学反应中，在不改变反应过程的情况下能够加速反应物向产物转变的物质。Berzelius 推断在酒精发酵过程中，酵母菌实际上就是促使糖溶液进行发酵反应的催化剂。换句话说，

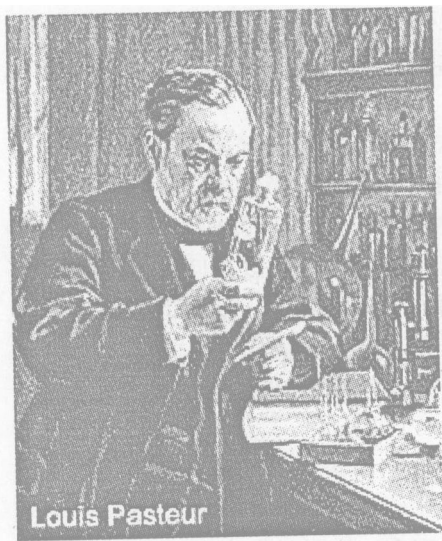


图 1-3 伟大的微生物学家 Pasteur

发酵与酵母菌的生物活性无关。当时德国化学家 Justus von Leibig 支持 Berzelius 的理论，他坚持认为是酵母菌死亡细胞在腐烂过程中起到催化剂的作用，使糖转变成酒精和二氧化碳。为了反击发酵生物学派的支持者们，Justus von Leibig 指出牛奶变酸并没有酵母菌的参与，因而认为发酵现象是一个化学过程。1857 年，34 岁的青年科学家 Louis Pasteur 也卷入了这场争论。他通过对牛奶变酸现象进行仔细研究后发现，该过程的确有一种微小生物参与，他当时认为这种微小生物是一种“乳酸酵母” (lactic acid yeasts)，但事实上，“乳酸酵母”是一种细菌。重要的是 Pasteur 发现必须在活的微生物作用下，牛奶才能变酸。1857 年，Pasteur 发表了他的研究成果《酒精发酵札记》(Note on