

啤酒菌种组合式使用的技术

董新篁

浙江省宁波市微生物学会, 浙江 宁波 317600)

摘要: 啤酒菌种源应用有单项性直接启用原种、启用原种和汉生罐菌种相结合和组合式启用菌种。组合式启用菌种技术有: ①原料的保藏, 包括培养斜面菌种和制备液体石蜡菌种; ②菌种的启用: 液体石蜡菌种的启用; 汉生罐菌种的使用、贮存与再启用; 扩大罐菌种的使用、培养与再启用; 生产淡季大罐酵母菌种的留取、贮存与再启用。组合式启用种源不需增添设备而达到生产要求, 所产啤酒产量高、质量好、风味一致。 (孙悟)

关键词: 啤酒; 啤酒菌种; 组合式启用

中图分类号: TS262.5; TS261.1; TS261.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286 (2004)01-0054-03

Application of Assorted Beer Microbial Species

DONG Xin-huang

Ningbo Microbiology Association, Ningbo, Zhejiang 317600, China)

Abstract: The application of beer microbial species source includes direct application of sole original species, combined application of original species and Hansheng pot species, and application of assorted microbial species. The techniques of application of assorted microbial species cover the following aspects: 1. storage of raw materials including culture of slant microbial species and prepare of liquid paraffin microbial species; 2. activation of microbial species: activation of liquid paraffin microbial species, application and storage and reactivation of Hansheng pot microbial species and expanding pot microbial species, application and storage and reactivation of big pot yeast species in production off-season. The application of assorted microbial species requires no other new facilities and the beer produced by it has high quality and harmonious taste. (Tra. by YUE Yang)

Key words: beer; beer microbial species; composition of beer microbial species

啤酒菌种是啤酒生产的灵魂, 怎样合理的运用, 将直接影响到啤酒生产的实际效益。笔者根据实践结果认为, 组合式因情况分期启用种源, 实是技术上一项明智之举。

1 我国现有啤酒菌种种源启用的几种模式及其利弊分析

我国现有啤酒菌种种源启用大致上有3种模式。

1.1 单项性的直接启用原种

其方法是当生产需要用种时, 将保存的原种菌苔挑取几环, 接于试管麦汁培养基, 当发酵培养至对数期后, 按照次序分别接于试管→中型锥形瓶(巴氏瓶)→大型锥形瓶(作氏瓶)→汉生罐→扩培罐中, 扩大培养, 再用于生产现场, 待酵母在生产现场表现衰老退化时, 又重新启用原种, 周而复始地将原种用于生产, 维持生产用种的需要。这样使用菌种, 是最原始的方法, 一些技术较差的小企业, 却往往固守这种方法, 原种用完了东去买一支, 西去要一支, 结果所生产的啤酒质量不稳定, 口味不一致, 所以, 这样的用种方法亟待改进。

1.2 启用原种和汉生罐菌种相结合

能够这样使用菌种的企业其技术水平又高了一筹, 其方法大致与上述方法相似, 但却有两方面显著不同, 一是将汉生罐菌种保藏一段时间, 当生产用种时, 即启用汉生罐菌种; 二是在菌种培育与保藏阶段, 卫生工作做得较认真, 因而菌种较纯洁, 种性活力亦较强。现今我国不少企业还是按此方法使用菌种。

1.3 组合式的启用菌种

这是比较合理、科学的使用菌种的方法, 其技术是先以液体石蜡保存斜面原种或以真空冷冻干燥法保藏原种, 在启用时先活化, 随后按上述第一种方法进行接种使用, 但在使用过程中可在汉生罐贮种, 亦可在扩培罐贮种, 生产淡季时还可用生产大罐贮种, 并在在使用过程中随时注意筛选复壮, 因而这种方法最利于种性保持, 实用价值颇高, 故很受人们青睐。

2 组合式启用菌种的具体操作技术

2.1 原种保藏

除即制即用的原种或即制短期内使用的原种, 可用斜面培养外, 欲较长时间保存原种, 可用液体石蜡保存斜面原种, 或真空冷冻干燥法保存原种。但以笔者经验, 液体石蜡保藏法具有设备简单、操作方便、存活率高、变异少、能较好地保持种性的优点, 故应是首选方法, 但其操作应注意掌握好以下几个技术关键。

2.1.1 培养好斜面菌种

所谓好的斜面菌种, 菌苔一定要丰满, 呈乳白色, 边缘整洁, 且是新鲜的。要达到这一目标, 首先对培养基的要求, 一定得营养丰富, 其 α -氨基氮的含量必须达180 mg/L以上, 为此, 培养基制备要选用优质麦芽, 且由实验室自行制备。制备时经高压灭菌, 待培养基表面冷凝水干燥, 方可接种。接种应选用经筛选复壮处理的原种, 为防菌种功能性衰退, 原种第一次转管宜多接几支, 至少6支以

收稿日期 2003-05-19; 修回日期 2003-07-28

作者简介: 董新篁 (1934-), 男, 浙江人, 大学, 工程师, 中国微生物学会会员, 浙江省微生物学会理事, 获省科技进步优秀奖、台州市科技进步二等奖、县科技进步一等奖, 发表论文40余篇, 获奖20篇, 5篇获省优秀论文三等奖。

上,以备不时之需,接种后待菌苔长到符合要求时,随即用液体石蜡制好液体石蜡菌种,以防杂菌污染。

2.1.2 制备好液体石蜡菌种

石蜡应选用CP级,使用之前必须经灭菌处理,灭菌方法有两种:一是蒸汽高压灭菌,方法是将液体石蜡置于锥形瓶,塞上未脱脂棉塞,外包牛皮纸,于0.1 MPa条件下灭菌30 min。但由于在灭菌过程会渗入少量水分,所以灭菌后的液体石蜡必须置45℃恒温箱中静置3 d,让水分蒸发,再经灭菌试验,确认无菌后方能使用。二是干热常压灭菌,方法是将液体石蜡置于锥形瓶中,塞上未脱脂的棉塞,外包牛皮纸,于145℃烘箱中烘2 h,冷却,即可使用。

制作全过程应在无菌条件下进行,制时用无菌吸管吸取石蜡,灌滴于斜面试管中,灌滴时菌种试管要直立,液体石蜡的滴位应高出斜面1 cm,灌滴后即可塞上灭菌的橡皮塞,然后用固体石蜡封口,直立保存于0~4℃冰箱中,贮藏备用。

2.2 菌种的启用

2.2.1 液体石蜡菌种的启用

石蜡菌种在启用时,一定要经活化复壮,使其种性得以恢复。笔者曾做过试验,经活化复壮的菌种优点十分明显,兹将试验结果列入表1中。

表1 启用液体石蜡菌种经前处理复壮的效果

菌种处理情况	酒精度 (%, v/v)	真正发酵度 (%)	双乙酰还原最后值
经复壮处理	4.15	71.76	0.027
未经复壮处理	4.03	66.93	0.059

复壮以用液体培养基复壮为佳,其具体操作是先用试管盛5 ml α -氨基酸含量高的麦汁培养基,经灭菌,冷却,随后在无菌的条件下自液体石蜡菌种中挑取2环菌苔,在试管壁触沥去除石蜡,随后接种于试管培养基上。置25℃条件下培养,待发酵至对数期,将其发酵液全部转接至已灭菌盛有100 ml麦汁培养基的锥形瓶,于25℃条件下培养,待发酵至对数期,然后将菌液置于0~4℃条件,经24 h,即可倒去上层澄清液,挑取酵母菌种,转接种斜面培养基,此时菌种的种性已得复原,用于生产,就能取得比较满意的结果。这一步骤对于组合式启用菌种的技术说来,实是一个十分重要的环节,绝不能忽略。

至于使用的具体技术,可按常规的方法,逐级扩培,但有3个关键技术,必须强调,而且要认真实施。

2.2.1.1 注意控制好温度。酵母生育对温度的要求原是25~28℃,而啤酒生产从其产生特定酒体的生化反应要求来说,温度宜在10℃左右,因此在培育酵母时温度就应掌握从高到低的准则,以驯化其适应性。笔者实践结果认为以下模式较为妥当:

斜面菌种(15℃)→液体小试管(15℃)→中锥形瓶或巴氏瓶(10℃)→大锥形瓶或卡氏罐(8℃)→汉生罐(4℃)→扩大罐(2℃)→酵母繁殖槽(0℃)

对于各个阶段温度控制的具体操作,起始温度应掌握宁高勿低,以促酵母早发,有利抑制杂菌的污染。

2.2.1.2 严格掌握扩培比例。扩培比例可掌握3~10倍,因酵母开始培养时,其培养温度较高,且盛装培养基的容器较密闭,有利隔绝杂菌,扩培比例可大些,而以后培养温度渐低,盛装培养基的容器又相对敞开,杂菌污染机会增多,扩培比例就应缩小,特别是汉生罐以后各阶段扩培,比例宜掌握在3~4倍。

2.2.1.3 选对数期转接。因这时酵母生命力强,繁殖速度快,世代

时间亦较短,故在此时转接最为理想。这一时期,酵母浓度可达 $4.5 \times 10^7 \sim 6.0 \times 10^7 / \text{ml}$ 。

2.2.2 汉生罐菌种的使用、贮存与再启用

石蜡菌种启用后,按常规进行培养,必须要经历汉生罐扩培这一操作程序,但有些人总把汉生罐的扩培仅仅是看成培菌的一道工序而已。笔者认为,这种看法有悖物尽其用。因为笔者从实践中得到证明,汉生罐扩培既是培菌的一道工序,又是在线贮种的一种有效方式,这种方式贮种的最大优点,在于它能以较快的速度提供啤酒生产用种的急切需要,故值得提倡,论其操作技术除注意卫生等环节外,还应掌握如下4个要点。

2.2.2.1 留好种源。可在汉生罐扩培过程中,用去全罐2/3的菌液,截留1/3菌液作为种源,随后加入 α -氨基氮含量高并经灭菌锅灭菌1 h且冷却至14℃的麦汁进行培菌。

2.2.2.2 培菌。培菌温度掌握在14℃,待菌种繁殖进入对数期,糖度下降20%~30%,罐内的酵母细胞密度可达 $4.5 \times 10^7 \sim 5.0 \times 10^7 / \text{ml}$,即应致冷保种。

2.2.2.3 保种。致冷保种有两个因素要严格掌握,一是培育温度应保持1℃左右的恒温;二是罐压必须要有,但宜低不宜高,有0.01~0.02 MPa罐压即可。这两点掌握好了,酵母会始终处于微弱的发酵状况,杂菌进不来,种性难衰退,所以这两个因素是汉生罐贮种的成败关键,不可掉以轻心。用上述方法保存菌种,在汉生罐中可保持6个月。

2.2.2.4 启用菌种。当生产需要启用汉生罐菌种时,应先对罐内的菌种复壮处理,方法是:先排除汉生罐底部杂质,再通入无菌空气搅混菌液,随后排去2/3菌液,再加入 α -氨基氮含量高并经灭菌的麦汁,以14℃的温度培育菌液,当菌液中酵母细胞密度达 $4.5 \times 10^7 \sim 6.0 \times 10^7 / \text{ml}$ 时,即可取其2/3数量,接至扩大罐,作为生产用种,汉生罐中留存的1/3种源,再加入经灭菌的麦汁,又可作为种源贮种。

2.2.3 扩大罐菌种的使用、培育和再启用

扩大罐除作为菌种扩培的一道工序外,亦可作为生产在线菌种贮存、再启用的一种方式,且亦能辅助啤酒生产的用种,其操作基本技术较为简单。

2.2.3.1 取种与留种。扩大罐接纳汉生罐培育的菌液须采用大生产用 α -氨基氮含量高的麦汁进行培育,但因麦汁未经灭菌处理,所以在截取麦汁时就应加倍注意卫生事宜,以免受杂菌污染。

2.2.3.2 培菌。以12℃培育,当发酵至对数期,即可将其中2/3菌液压至酵母繁殖槽,供大生产之用,其1/3留作种源,追加 α -氨基氮含量高的麦汁,再行扩培用种,如此周而复始。据我们试验,在12 d内连续扩培的,用到大生产中,表现均为良好。

2.2.4 生产淡季大罐酵母菌种的留取、贮存与再启用

生产淡季留贮菌种,在生产中具有非常重要的现实意义,其体现:一是当生产旺季开始时,就有具本企业生产特点的菌种可使用,保持一个企业产品风味的一致性;二是有了这批菌种的“奠基”,旺季开始,为新一轮菌种的培育赢得了宝贵的时间,令培菌者可以有条不紊地从事操作。这一点,对于越冬期间停产的中小型企业说来,更显重要。

其操作技术主要的应掌握6个环节。

2.2.4.1 选取好种源。种源应从生产现场一、二代酵母的大罐中选取,对酵母泥的要求是色要白,气味要香,活力要强,镜检酵母形状均匀,存活率在98%以上。

2.2.4.2 制备营养丰富的培养基。应选用一级优良麦芽,使制成的麦汁 α -氨基氮达180 mg/L。

2.2.4.3 增加接种量 酵母菌种的用量可增加到1%。

2.2.4.4 做好管理工作 有3个技术环节要特别注意 ①控制好温度。接种起发温度8℃,主发酵温度10.5℃,待发酵液中酵母细胞密度达 $4.5 \times 10^7 \sim 6.0 \times 10^7/\text{ml}$,此时糖度已降至7.5~8°P,发酵度亦已达30%,即应迅速致冷,并要求在24~30 h内将温度降至1℃左右,随后保持恒温,将酵母“饲养”于发酵罐中;②保持适当压力。罐压应控制在0.08~0.1 MPa,以防杂菌入侵;③及时排除杂质。麦汁满罐后24 h,大粒子杂质已沉淀,应排除一次,封罐开始致冷时,酵母尚未下沉,而发酵液中较细小的杂质大都已下沉,又应排除一次,待提取酵母前,还应排除一次。

2.2.4.5 掌握好贮种时限,因大罐贮种酵母细胞密集程度高,较易出现自溶现象,据测定,自贮种开始30 d死亡率为1%,35 d死亡率即达9%,40 d死亡率竟达15%,因此贮种时限不宜超越40 d。这一酵母菌种提取后,就可作为大生产忙季开始的菌种应急之用。

2.2.4.6 处理好酒体 笔者对于留贮40 d的酒体进行检测,理化指标全部合格,如某一12°P啤酒,其原麦汁浓度12.15%,酒精度4.275%,真正发酵度67.97%,双乙酰 6.0×10^{-8} ,外观和风味上没有多大变化,可作一般酒体处理。

3 发挥菌种组合式启用种源技术作用

由于菌种组合式启用种源技术能在多个生产环节贮存和启用种源,因而有了一支好菌种,其优良种性不退化,且能在生产中发挥很好的作用。为了更好发挥这一技术的作用,我们还可利用运筹学的原理,对于某一株菌种运用这个技术的具体时间与内容作统筹安排,譬如说:当分离到一株好菌种,制备石蜡菌种时,就应多制备一批菌种,起码在6支以上,这样就可有6次以上能用上好菌种的

机会,实际上企业对于液体石蜡的使用,一般情况每年用2支已够,对于每次好菌种的利用,自实验室培菌开始至汉生罐,可陆续培育3罐,陆续接种到扩大罐中去,再扩培,作大生产用种,而汉生罐培育3罐后,即可转入贮种,当生产需要时再启用其菌液,复壮后作种源。据笔者实践,汉生罐的贮种,只要技术到家,6个月之内随时可启用,且种性健壮依然。至于扩大罐培菌,如前所述,只有连续的培菌,没有贮种的必要。连续培菌一般不宜超过12次,如超过12次还需扩培菌种,则应启用汉生罐中的菌液作为种源,再行培育。生产闲季的贮种,应该根据生产计划,确定贮种开始日期,并根据用种需要确定贮种时间。这里还得注意,贮种前的种源准备工作一定得统筹安排好,以保证贮种时有一、二代的良好酵母泥种源,另外当生产忙季开始,一方面可用上闲季大罐贮存的用种,另一方面,就应科学地安排好时间,使新一轮菌种的培育能衔接上生产忙季对菌种的需要。譬如说,新的生产忙季要从某日开始,那么,某日之前7 d实验室就应开始自制麦汁培养基进行菌种活化,活化时间4 d,然后转入到大生产用种扩培,小试管扩培2 d,中锥形瓶1 d,这样共计7 d,接下去就是转接到大锥形瓶,那时需要的麦汁培养基用量较大,一般实验室无法自制,应从生产车间提取麦汁培养基,而那时生产车间已有麦汁可供应,所以新一轮菌种的培养就能很好地衔接。这样就能使菌种组合式启用种源技术发挥作用,使啤酒酵母用种技术良性循环。

4 结论

啤酒菌种组合式启用种源的技术应用不需增添设备,就能达到满足啤酒生产用种的要求,且其种性亦保持良好,因而生产的啤酒产量高,质量好,风味一致,所以这一技术值得大力提倡。●

(上接第53页)

加,而且啤酒的浊度也偏高。在发酵滤酒前添加硅胶可以有效地提高啤酒的澄清度,并使啤酒过滤容易。

7.5 啤酒抗冷能力问题

小麦麦芽与大麦麦芽相比,含有较高的蛋白质,小麦芽用量达到10%就会影响啤酒的保质期。

糖化过程中,添加一些辅料,可以降低麦汁的总氮含量及高分子氮含量,因为辅料对麦汁含氮物质的贡献较小。添加大米或玉米淀粉,可以稀释麦汁中含氮物质的水平,有利于降低麦汁的可凝固氮的含量,而不会影响啤酒的泡沫。

糖化过程中应加强蛋白质的分解,采用两段蛋白休止,使用中性质蛋白酶,促进蛋白质分解,既提供足够的低分子氮,满足酵母的生长需求,又降低麦汁中高分子氮的含量,特别是可凝固氮的含量。

麦汁煮沸过程中添加卡拉胶可以提高麦汁的清亮度,降低麦汁的可凝固性氮含量。麦汁煮沸过程中添加酿造单宁,可以有效地降低高分子氮含量,从而提高啤酒的抗冷能力。

啤酒冷贮的温度和时间对啤酒的冷稳定性影响较大。啤酒的冷贮温度为-1~-1.5℃,冷贮时间在3 d以上,并要求在贮酒过程中温度不得回升。

在贮酒过程中或滤酒过程中,添加一些抗冷剂,将有利于啤酒的保质期。一般添加单宁或硅胶,添加这两种稳定剂,必须注意的是要添加均匀和保持一定的接触时间,在清酒中添加木瓜蛋白酶

也是一种有效的方法。

8 培育啤酒小麦品种,生产小麦芽

随着我国啤酒工业的迅猛发展,对啤酒大麦需求越来越大。全国麦芽工业协会的统计数字表明,用于啤酒生产的大麦60%~70%依靠进口,这就决定了国内啤酒大麦的价格随国际市场波动,同时造成耗费外汇额巨大。

啤酒工业离不开啤酒大麦,没有优质的啤酒大麦就不可能酿出最好的啤酒。随着啤酒产量的增加,啤酒企业在异常激烈的市场竞争中越来越认识到产品质量对企业生存发展的极端重要性,品质优良的啤酒大麦受到广大啤酒厂家所欢迎,啤酒企业对麦芽质量的要求也越来越高。

在适宜种植啤酒大麦的地区,加大种植面积,提高科研投入,培育优良新品种,建立啤酒原料大麦生产基地,形成产业化经营,统一种植、统一管理、统一收购。实现机械化作业,尤其是收割、干燥和贮藏过程,保证大麦质量稳定和一致。中国啤酒工业要获得长期的、可持续性的发展,必须要有自己的啤酒原料基地。

小麦的蛋白质含量相对较高,对制麦和啤酒酿造有较大的影响。培育低蛋白质含量、适于酿造的小麦品种,对于啤酒工业具有重要的意义。我国是小麦生产大国,用小麦麦芽生产啤酒不但原料充足,成本低廉,而且有很大的市场空间。近年来,许多厂家均开发了小麦啤酒,受得了消费者的认可。小麦麦芽完全可以替代一部分大麦麦芽,以解决目前我国啤酒原料短缺的难题。●