

野生酵母与啤酒酿造

王海明

(河南金星啤酒集团有限公司,河南 郑州 450009)

摘要: 野生酵母污染会造成啤酒质量问题。要选择适当的方法进行野生酵母的检查,了解污染的来源和程度,对症下药,对设备、管道和阀门等要进行彻底的清洁、灭菌工作,不能有死角。对与啤酒接触的气源、水、助滤剂、添加剂等要保证达到一定的无菌度,从而控制野生酵母的浓度不至于损害啤酒的质量。

关键词: 啤酒; 野生酵母; 危害; 防治

中图分类号: TS262.5;TS261.1

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2003)02-0059-03

Wild Barm and Beer Brewing

WANG Hai-ming

(Jinxing Beer Group. Co. Ltd., Zhengzhou, He'nan 450009, China)

Abstract: The contamination of wild barm would result in inferior beer quality. Accordingly, adequate methods should be adopted for the examination of wild barm to achieve thorough understanding of contamination source and contamination degree. Besides, thorough cleaning and sterilization of facilities and pipes and valves was also necessary. In addition, we should ensure the asepsis of the air source, water, filter aid and additive etc. contiguous to beer. By the above measures, the concentration of wild barm would not influence the beer quality. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer; wild barm; hazard; prevention

1 野生酵母的定义和种类

除接种的酵母外的任何其他进入生产系统的酵母均被认为是野生酵母^[1]。

酵母属分为酵母属和非酵母属。酵母属野生酵母是酵母属中的非培养酵母,包括变异酵母。非酵母属野生酵母通常有克氏酵母属、汉逊氏酵母属、假丝酵母属、毕赤氏酵母属、圆酵母属、红酵母属、酒香酵母属等。

来自于啤酒厂接种酵母的野生酵母检测表明,最易感染的野生酵母是毕赤氏酵母、菌膜假丝酵母、球拟圆酵母、平常球拟圆酵母,感染较少的有假丝酵母、汉逊酵母、红酵母等。图1是啤酒酵母和一种野生酵母的对比照片。

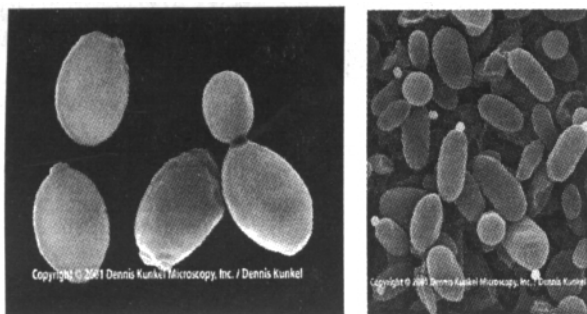


图1 培养酵母和野生酵母

巴氏酵母是一种能在麦汁中生长并产生异味的酵母。糖化酵母是另一种潜在的污染,通常表现为啤酒过度发酵,因为这种酵母能同化淀粉,而啤酒酵母不能。啤酒酵母只能发酵麦芽三糖。

收稿日期: 2002-07-25

作者简介: 王海明(1967-),男,江苏盐城人,硕士,副总工程师,发表学术论文40余篇。

嗜杀酵母也是一种野生酵母,这种酵母能在麦汁中生长,在发酵条件下,它们产生一种对接种酵母有毒的毒素,能够杀死培养酵母,但是并不是所有的接种酵母都受这种感染影响。

2 野生酵母对啤酒的危害

与接种酵母的生长和代谢相类似的野生酵母能导致酿造问题。野生酵母污染能引起一系列问题^[2,3]。

2.1 导致啤酒混浊或沉淀

在过滤或澄清除去培养酵母后,野生酵母生长能引起啤酒混浊。野生酵母沉降非常慢,因为表面缺乏较强的负电荷,所以对鱼胶澄清剂也不敏感。有些野生酵母对正常的巴氏处理具有特别强的抵抗力,尤其是在巴氏灭菌的 P_u 值较低时,这样的野生酵母存在可能导致啤酒混浊。典型的野生酵母混浊是啤酒首先失光并逐渐在瓶底部形成不规则的棕黑色沉淀,沉淀物具有粘着力,随时间延长,沉淀物会逐渐增多,沿瓶底边缘“生长”。

2.2 形成菌膜或醭

有空气存在时,某些野生酵母能快速生长,并在啤酒的表面形成菌膜,也能导致混浊。在管道、阀门、泵等连接处如发生滴漏,容易生长产膜的野生酵母,灌酒机酒阀、杀菌机等不及时清洗、消毒,也会生长这些类型的野生酵母。

2.3 发酵过度

某些野生酵母可以利用培养酵母不能发酵的糖,如麦芽三糖和糊精,产生更高的酒精含量,有时还能产生异味。

2.4 异味

所有的野生酵母污染几乎都能产生异味,某些酵母即使在非常低的浓度下对啤酒风味也有较大的影响。毕赤氏酵母和假丝酵母

母种在暴露于空气的容器中能氧化乙醇产生醋酸,糖化酵母能利用麦芽四糖、糊精产生乙醇。在培养酵母和野生酵母之间,酯、杂醇、有机硫化物、联二酮以及其他重要的啤酒风味产物也不同。一些野生酵母,包括酵母属的野生酵母,可将麦汁中的酚类物质转化为非常强烈的风味酚类,啤酒被这些野生酵母污染后,可产生强烈辛辣类似丁香的味道。

啤酒酵母呼吸缺陷型突变株随时都会产生。与正常菌株相比,其代谢产物不一样,也会影响啤酒的风味,如它们能产生令人不可接受的联二酮,尤其是双乙酰。呼吸缺陷型突变株是自发产生的,但也受多种物质的诱导,如铜盐和甲醛等。

3 野生酵母的来源

3.1 种酵母(原种或酵母泥)

种酵母是野生酵母的主要原因,尽管接种时野生酵母污染率很低,但是经过繁殖、发酵后,下一代酵母泥中的野生酵母污染率就高了。

3.2 气源(包括空气、氮气、二氧化碳、氧气)

空气是啤酒污染微生物的主要原因,空气中含有多种野生酵母,如果空气中含水量高,空气过滤器就很难完全除菌,另外,通风管道灭菌不及时或不彻底,也会导致野生酵母的滋生。笔者发现,即使使用钢瓶纯氧也不能保证完全无菌。啤酒厂所用氮气是由空气分离而制备,与空气一样存在污染的可能。啤酒厂回收的二氧化碳中夹带啤酒泡沫,存在营养物质,易引起微生物污染,供气终端如果没有有效的过滤器,在啤酒过滤和背压过程中将野生酵母带入啤酒中。

3.3 水源

啤酒酿造用水前期用水,如糖化投料水、洗槽水,并不需要绝对无菌;但是后期用水,如酵母洗涤用水、大罐冲洗用水、高浓稀释用水等,应使用无菌水,如果无菌水纯净度达不到要求,会导致野生酵母污染。

3.4 添加剂

在啤酒发酵、滤酒过程中,为了提高发酵度而添加真菌淀粉酶;为了提高啤酒的胶体稳定性添加硅胶、PVPP、木瓜蛋白酶等;为了促进双乙酰还原添加 α -乙酰乳酸脱羧酶;为了提高啤酒的风味稳定性添加Ve、亚硫酸氢钠、葡萄糖氧化酶等抗氧化剂;为了修饰啤酒的苦味添加酒花制品;生产特种啤酒时还加入果汁、水、糖、香料、色素等;滤酒过程中的助滤剂如硅藻土、珍珠岩、纤维素等。所有这些添加剂并非完全无菌,生产过程中不能掉以轻心,笔者曾碰到过因使用国内某厂生产的 α -乙酰乳酸脱羧酶而导致发酵染菌的问题。一般来说,这些添加剂添加越早,对啤酒的影响越大。

3.5 发酵容器、管道、阀门等死角部位的污垢

啤酒生产过程中污垢的形成是难免的,污垢也是微生物的藏身之地。污垢的成分有糖、蛋白质、酒花树脂、 β -葡聚糖、草酸钙等,设备、管道内壁的光滑度越差,污垢的粘着力越强,也越难以清洗。

3.6 包装材料

包装材料也含有微生物,但因为啤酒很快就通过杀菌机灭菌,所以对啤酒的质量影响不大。不过在生产纯生啤酒时,丝毫也不能马虎,必须保证啤酒瓶和啤酒瓶盖无菌。

3.7 周围的环境

生产车间墙壁、天花板、地面、设备和管道的外表潮湿,尤其是溅上啤酒残液后不及时清洗、消毒,容易引起微生物滋生和蔓延,

下水道不及时疏通、清理,在炎热的夏日会发黑、发臭,不仅容易滋生蚊蝇,更是微生物繁殖的理想场所。

3.8 不规范的无菌操作

啤酒生产过程中,尤其是在酵母扩培和发酵过程中,如果不遵守无菌操作规程,易引起微生物的污染。

4 野生酵母的检测

酵母属的野生酵母检查非常困难,因为它们的形态与培养酵母相似。非酵母属的野生酵母的形态差异较大,比较容易区分。在检出野生酵母后,通常没有必要进行鉴定。如果要进行鉴定或精确分类,需通过专业实验来完成。

4.1 野生酵母的常用检测方法^[3,4]

4.1.1 抗热性能 将酵母悬浮于无菌水中,在53℃处理10 min。再进行活力试验测定存活率,正常的培养酵母在试验中不会存活,野生酵母具有耐热性。

4.1.2 显微镜检查 这种方法具有一定的局限性,因为只有在污染的野生酵母达到很高的比率时,才能通过显微镜检查到,同时,感染的野生酵母在形态上与培养酵母差别较大时,才能得出结论。但是这种方法具有简单、快捷的优点。也可以通过样品的孢子形成试验来检查,大多数培养酵母在正常条件下不易形成孢子。

4.1.3 选择性培养基 选择性培养基广泛应用于啤酒工业,可为检查野生酵母污染提供简单而有效的方法。检查野生酵母的选择性培养基通常有以下几种:(1)选择性糖类;(2)放线菌酮;(3)赖氨酸;(4)结晶紫;(5)鉴别培养基。

通过结合使用这些方法可检查啤酒中的野生酵母。另外两个试验值得一提,一个是血清试验,另一个是呼吸缺陷型突变株试验。

最近几年,血清技术被用于培养酵母中的野生酵母的鉴定和定量检测。在紫外显微镜下,通过荧光抗血清可以从每100万个培养酵母中检查出1个野生酵母。

呼吸缺陷型突变株丧失了正常呼吸功能,不能氧化葡萄糖。这些细胞通常较小,代谢产物与培养酵母不同,从而影响啤酒的风味。呼吸缺陷型突变株最普通的试验是TTC(3-苯基4-唑氯化物)涂层技术。

TTC是一种无色的盐,当被还原时,能形成红色沉淀物。无菌收集几毫升啤酒或酵母,有必要稀释至500~1000个细胞/ml,每个平板取0.1 ml培养。为了获得统计的准确性,计数应大于500个菌落,可以制作多个平板。在无菌培养皿中制备一般生长琼脂平板,在每个培养皿的琼脂上添加0.1 ml样品,并涂布均匀。在有氧的条件下置于28~30℃下培养3 d,从培养箱中取出后,每个平板再用50℃ 20 ml的TTC涂布琼脂涂布,在室温下再培养3 h。观察酵母菌落,粉红至红色的菌落是呼吸正常型,无色菌落是呼吸缺陷型,一般呼吸缺陷型的比例不应超过10%。

4.2 关键检查部位

野生酵母的检查重点在麦汁冷却至成品啤酒的所有工序,以及所有和酒液接触的器具及添加剂。关键检查部位如下:

(1)酵母:包括新培养酵母和发酵回收酵母;(2)水;(3)气源;(4)麦汁;(5)啤酒;(6)添加剂;(7)设备表面。

5 野生酵母的防治

如果所有的酿造环节都不出现问题,那么啤酒厂就不会发生野生酵母污染。一旦遇到野生酵母污染,应立即更换酵母,这也是处理野生酵母污染的唯一措施。不过这仅仅是第一步,接下来应重

新评价清洁和消毒程序,检查所有设备是否真的清洁,消毒时间是否适当;回顾一下酵母的处理程序,是否受到了空气污染;是否所有的员工都理解了正确的操作程序和保持清洁、卫生对啤酒酿造的重要性。

5.1 种酵母

酵母感染了野生酵母,不能通过酸洗除去,如果污染率超过控制标准,只能弃之不用,并彻底灭菌后重新培养新的酵母菌种。

酵母培养室在每次扩培前以硫磺或甲醛密闭熏蒸24 h;扩培过程中,实验室用紫外线灭菌15~30 min,培菌现场每天用漂白粉溶液洒地过夜。发酵车间的地面应经常保持干净、无积水,地面、墙壁定期用2%左右的漂白粉刷消毒。

酵母泥的回收、洗涤、贮存、添加等程序应严格按照无菌操作规程进行,防止酵母泥受外界微生物污染。到发酵后期,随酒龄的增加,啤酒中好氧微生物数量基本不再增加,但是厌氧微生物数量逐步增加,由于野生酵母比培养酵母沉降速度慢,酵母回收或串种越迟,酵母泥中的野生酵母比例也会越高。目前,啤酒发酵基本上都采用锥形露天罐,采取罐对罐串种,可以减少操作环节,减少污染机会。根据我们的经验,在双乙酰还原结束就进行酵母串种,不但对控制微生物污染有利,而且可以缩短起发时间。

5.2 气源

压缩空气应该采用三级过滤,保证空气干燥,空气过滤器和空气管道定期消毒。钢瓶氧气必须经无菌过滤后才能使用。氮气、二氧化碳也必须经过终端过滤,过滤器和供气管道应定期用蒸汽杀菌。

5.3 CIP程序

CIP程序要保证达到应有的效果,对频次、清洗剂、消毒剂的选择和浓度、温度、压力、时间等必须严格控制。

去除野生酵母,或至少维持较低的水平,最重要的是使用无野生酵母的接种酵母和保持设备无菌。良好的酵母扩培设备是必不

可少的,同时必须定期进行微生物检查,包括冷麦汁、无菌空气管路、无菌水、接种酵母、添加剂等,以及所有用于贮存、输送、处理的设备。绝对的无菌是可以达到的,但是很多啤酒厂宁愿接受稍低的标准。一般认为每瓶啤酒中野生酵母的临界水平为4~10个,但是,在这种低水平的污染下,很多野生酵母并不会生长。然而,对于糖化酵母而言,并没有安全标准,即使有1个野生酵母存在,也能引起啤酒混浊或沉淀。

6 野生酵母与兰比克啤酒

事物总是一分为二的,在我们想方设法去除野生酵母污染的同时,野生酵母也酿造了闻名遐迩的兰比克啤酒。

兰比克啤酒(Lambic beer)是一种古老的传统啤酒,是唯一利用野生酵母自然发酵酿造的啤酒^[4]。最初仅在比利时的布鲁塞尔酿制,后来发展到法国、荷兰等国。虽然产量不大,但作为啤酒的一个特殊品系而存在至今。

据说参与兰比克啤酒发酵的微生物多达70多种,其中只有2种有分类名称,即兰比克酒香酵母(*Brettanomyces lambicus*)和布鲁塞尔酒香酵母(*Brettanomyces bruxellensis*)。

兰比克啤酒呈粉红色,口感复杂,具有特殊的酒香味和酸味,像葡萄酒而不太像啤酒,酒精含量5.0%(v/v)。

参考文献:

- [1] William A. Hardwick Ph. D. ,Handbook of Brewing[M].Marcel Dekker inc. 1994.481.
- [2] Hough J.S.et.al. , Malting and Brewing Science ,Volume 2[M]. Chapman & Hall , 1982.770~773.
- [3] Fal Allen. Wild Yeast Detection and Remediation[J].Brewing Techniques ,1994 , (11/12) .
- [4] 管敦仪.啤酒工业手册(修订版)[M].北京:中国轻工业出版社,1998.

四川省食品发酵学会第六届会员代表大会召开



本刊讯:四川省食品发酵学会于2002年12月20~22日在成都市温江区召开了第六届会员代表大会。本次会议乘十六大的东风,借助我国已加入WTO以及西部大开发的历史机遇而召开。来自四川及省外的食品与发酵相关部门、科研单位、大专院校及企事业单位65家,参会代表135人。学会挂靠单位四川省食品发酵工程研究设计院以及本次会议协办单位四川省豪吉食品(集团)有限公司、四川省小角楼酒业公司、广州市华柏食品添加剂有限公司、四川雅仕曼桃园酒庄酒业有限公司、成都森林食品开发有限公司、成都新繁食品有限公司为会议的胜利召开给予了大力支持。四川省科学技术协会、四川省食品工业协会、四川省轻工业行业管理办公室等有关领导到会祝贺并作了重要讲话。

会议审议通过了《第五届理事会工作报告》、《四川省食品发酵学会章程》修改稿和《四川省食品发酵学会科技咨询、技术服务及培训管理办法》修改稿。选举产生了第六届理事会,其中:理事64人,特邀理事6人(其中:日本3人,重庆市3人),常务理事25人。四川省食品发酵工业研究设计院陈功同志当选为理事长,魏夕和、赖登一、谢义贵、张良、赵东、王祖俊、卢一、蒲彪同志当选为副理事长,康建平同志当选为秘书长。推举陈远铭、金济良、胡永松、徐占成、李大和、杜诚斌同志为名誉理事长。聘任了3个工作委员会(学术委员会、咨询委员会及科普委员会)及4个专业委员会(食品专业委员会、发酵专业委员会、酿酒专业委员会及农产品贮藏与加工专业委员会)的正副主任。审议了第六届理事会工作计划要点。还进行了专业委员会的学术论文交流。

会议一致认为,本次大会开得很成功,充分发扬了民主,广泛征求了意见,大会选举出的领导机构涵盖专业面较广泛,注重老中青结合,具有较广泛的代表性并富有生气与活力。第六届理事会将在四川省科协领导下,在挂靠单位四川省食品发酵工业研究设计院的大力支持下,带领全体会员,团结协作,与时俱进,开拓创新,积极开展学会各项活动,为促进四川省的食品与发酵行业快速发展而努力奋斗。(康建平,朱秀容)