

啤酒工厂酵母管理

李永仙 顾国贤

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室,江苏 无锡 214036)

摘要: 啤酒厂的酵母管理工作非常重要。①双乙酰还原结束后,应低温贮酒,彻底分离酵母泥,以降低酵母的死亡与自溶,保证酿造的啤酒有纯正风味。②大生产扩培麦汁辅料比不宜超过25%。扩培麦汁不必绝对无菌。③酵母扩大培养采用逐级降低温度的方法,并注意溶氧水平的控制。④保证大罐接种量的一致性。⑤建议在主酵结束封罐后,先降低发酵罐锥底温度再迅速从罐底回收种酵母泥。⑥在2℃以下饲养种酵母8~12h,用5%稀磷酸进行酸洗。⑦及时分离发酵罐内沉淀的酵母。(陶然)

关键词: 企业管理; 啤酒生产; 啤酒酵母; 质量管理

中图分类号:F27;TS262.5;TS261.11 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2005)03-0098-04

Yeast Management in Breweries

LI Yong-xian and GU Guo-xian

(Key Lab of Industrial Biotech of Education Ministry Jiang'nan University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: Yeast management is of vital importance in breweries and covers the following aspects: ①after reduction of biacetyl, low-temperature beer storage operated to separate slurry completely and to reduce yeast death and yeast autolysis, which could ensure pure beer taste; ②auxiliary materials ratio less than 25% during wort expand culture, and absolute aseptic wort culture not required; ③gradual temperature reduce method applied during yeast expand culture and dissolved oxygen content well controlled; ④ensuring consistent big pots inoculation quantity; ⑤after the ending of chief fermentation and pots sealing, reduce of pots bottom temperature of fermentation pots firstly and then reclamation of slurry rapidly from pots bottom; ⑥8~12 h raise of yeast seed under 2℃ and washing by 5% diluted phosphoric acid; ⑦separation of precipitated yeast from fermentation pots timely. (Tran. by YUE Yang)

Key words: enterprise management; beer brewing; beer yeast; quality management

1 啤酒酵母的扩大培养

酵母的扩大培养是否正确合理将影响发酵、影响啤酒风味^[1,2]。严格的无菌操作、适宜的培养基、合理的扩大比、正确的通风量和接种时间是扩培的关键。

1.1 培养基

优良的麦汁是酵母适宜的培养基。

目前很多工厂扩培麦汁(实验室和大生产)直接采自大生产的麦汁,而生产啤酒经常是过高的辅料比,过低的麦汁浓度和氨基氮,贫乏的营养状态培养不出健壮、优良的酵母。

在实验室阶段的扩培,要求选择优良的麦芽,低辅

料比(15%~20%),在实验室制备。较长时间的糖化,麦汁浓度控制在11°P,低苦味值(约12),并且在麦汁煮沸时添加鸡蛋清澄清麦汁,培养器皿干热灭菌后,麦汁采用温和的条件进行消毒(如0.04 MPa, 20 min)。严禁在消毒时形成过多焦糖和类黑色素等有害物质。

作为大生产的扩培麦汁,也应专门为酵母扩培制造一锅特殊的啤酒麦汁,辅料比不宜超过25%,麦汁氨基氮高(如200 mg/L麦汁以上),麦汁浓度为11°P(特别对于一级、二级扩培)。

1.2 大生产麦汁杀菌

有很多啤酒厂汉生罐麦汁杀菌采用0.1 MPa, 30

收稿日期 2004-11-15

作者简介:李永仙(1964-),女,本科,高级工程师,长期从事酿酒科学教育与研究工作,发表论文多篇。

min, 这样的杀菌条件过于强烈, 再因为汉生罐一般没有搅拌器, 麦汁在罐内加热升温 and 降温均采用汉生罐的夹套进行, 罐内麦汁对流慢、传热慢、时间过长(6~8 h), 杀菌后麦汁颜色过深, 并形成大量焦糖和类黑色素等对酵母有毒的物质, 营养成分(如氨基酸、维生素等)也损失过多。

实际上并不追求麦汁绝对无菌, 但必须达到野生酵母、大肠菌群、变性黄杆菌、乳酸菌等全部死灭, 而对某些耗氧微生物和孢子, 由于不在啤酒发酵中繁殖, 他们的存在与否不会对啤酒发酵和风味造成损害。所以大生产扩培麦汁只要求消毒, 条件可温和得多。

国外很多啤酒厂大生产麦汁, 直接采用经回旋沉淀槽沉淀后的热麦汁输送至酵母扩培间二级种子罐, 适当补充营养物质(如添加酵母营养盐), 用外置薄板加热至 100℃, 保持 20 min, 再用外置薄板冷却至汉生罐培养温度, 泵入汉生罐。作为汉生罐培养麦汁, 不用再消毒。留下的作二级扩培麦汁, 这样麦汁既能保证无菌, 又能保证麦汁营养和少产生对酵母有毒害的物质^[3]。

1.3 扩大比

在逐级扩大培养中, 正确选择扩大比, 会影响到起始细胞浓度、扩大培养时间、酵母菌龄一致性以及在扩大培养中抵抗杂菌污染的能力。扩大比遵循的原则如下: 在汉生罐以前各级, 由于采用较高培养温度(25~27℃), 酵母倍增时间短, 无菌操作条件好, 可采用 10:20; 反之, 汉生罐以后各级, 采用低温培养(不大于 13℃), 酵母倍增时间长, 杂菌污染机会多, 扩大比宜小, 一般 1:4~5。例如: 大罐发酵, 每罐麦汁量为 100 m³, 若希望发酵接种后细胞培养后浓度为 15×10⁶~20×10⁶ 个/mL, 则汉生罐以后各级扩大比若定为 1:5, 可按如下安排, 设每一级细胞培养浓度为 7.5×10⁷ 个/mL, 则最末一级(N)罐有效容积为大罐容积。

$$V_n = \frac{1.875 \times 10^7}{7.5 \times 10^7} \times 100 \text{ m}^3 = 25 \text{ m}^3$$

$$n-1: 25 \text{ m}^3 / 5 = 5 \text{ m}^3$$

$$n-2: 5 \text{ m}^3 / 5 = 1 \text{ m}^3$$

$$n-3: 1 \text{ m}^3 / 5 = 0.2 \text{ m}^3 \text{ (即定为汉生罐容积)}$$

目前在一些啤酒生产厂家中, 酵母扩大培养增殖级数太少, 常常采用培养过程中追加麦汁(分次追加法)来补救, 例如上例缺少 5 m³ 一级, 直接从 1~25 m³ 级。可用先加 5 m³ 麦汁培养 24 h, 再补 6 m³ 麦汁培养 8~12 h, 再补 13 m³ 麦汁培养 6~8 h, 但这种方法仅仅是一种无奈之举。这样的结果使一级酵母将长时间处于低肽氨酸麦汁中, 形成较多的双乙酰前驱物质(α-乙酰乳酸), 同时由此培养出的种酵母, 菌龄差异大, 大小不整齐, 均会影

响到第一次发酵。

1.4 培养条件

1.4.1 温度 卡尔酵母最适生长温度是 31.6~34℃, 实际生产的扩大培养过程中, 还需考虑到减少酵母的死亡率、减少染菌的可能及让酵母逐步发酵温度。因此, 酵母扩大培养采用逐级降温方法。

例如, 对于国内的青岛酵母, 扩大培养过程中的温度变化为:

液体试管(28℃)→小锥型瓶(25℃)→大锥型瓶(23℃)→卡氏罐(20℃)→汉生罐(13~15℃)→一级繁殖罐(12~13℃)→二级繁殖罐(11~12℃)→发酵(10℃)

不同的菌株有不同的温度适应性, 培养温度的确定应参照其最佳的发酵温度。

1.4.2 通风 啤酒酵母可以在好气或厌氧条件下繁殖, 但效果不同。酵母菌进行有氧呼吸 1 mol 麦芽糖时可以获得较多合成细胞用的能量(38 个 ATP), 每消耗 1 g 糖能得到 0.5 g 酵母干物质; 在进行无氧发酵时, 每消耗 1 g 糖仅能得到 0.0278 g 酵母干物质, 而且会积累较多抑制繁殖的酒精, 当麦汁中某种氨基酸缺乏时, 氨基酸转换困难, 细胞合成就受到阻遏。在扩培过程中, 氧是非常重要的“营养物质”。

实际生产中, 溶氧控制水平及措施:

1.4.2.1 实验室培养阶段: 容器装液量不超过 1/2, 留有孔穴, 有氧气; 使用棉塞, 提供氧进入途径; 灭菌后, 培养基放置 2~3 d, 使麦汁吸氧; 接种后 4~8 h 振荡一次, 排出 CO₂, 吸入 O₂。

1.4.2.2 汉生罐: 溶氧水平 6.0 mg/L 培养 4 h 后, 每隔 1~2 h, 通风 10 min; 培养到 24 h 后, 每隔 3~4 h, 通风 5 min。

1.4.2.3 繁殖罐: 溶氧水平一级繁殖罐 4~5 mg/L, 二级繁殖罐 3~4 mg/L 培养 6 h, 每隔 6 h 通风 10~15 min; 20 h 后, 每隔 6 h 通风 10 min。

2 啤酒酵母的接种

下面啤酒发酵中, 由理论和经验可以概括为:

每 1 度麦汁发酵需接种密度为 1×10⁶ 个/mL, 但不低于 8×10⁶ 个/mL;

每 1 度麦汁主发酵最高温度为 1℃, 但不低于 8℃;

每 1 度麦汁发酵麦汁溶氧水平为 1 mg/L, 但不低于 8 mg/L;

酵母在发酵中增殖遵循 $M=Z_0 \times 2^n$

式中: M——发酵中酵母最高密度;

Z₀——接种活细胞密度;

n——增殖级数。

理论上认为,为了控制发酵代谢副产物(如高级醇和醛类)不产生过多,应控制 $n < 3$ 。

发酵中酵母最高密度 M 受酵母品种、培养基营养、发酵温度和溶氧水平和接种量的制约。对国内多数啤酒厂家使用的酵母,在 11°P 麦汁,在 $10\sim 11^{\circ}\text{P}$ 发酵时,一般最高密度可达 $6.0 \times 10^7 \sim 6.5 \times 10^7$ 个/mL,若要 n 小于3,如 $n=2.5$,则 $6.5 \times 10^7 = Z_0 2^{2.5}$, $Z_0 = 1.15 \times 10^7$ 个/mL。

接种量过低,酵母增值慢,起酵慢、增殖级数大,发酵中产生的高级醇会增多。接种量过高,起酵快,降糖快,酵母易衰老,后酵时酵母死亡率增加,酵母自溶分泌高碳链脂肪酸会增加,啤酒易老化。

大罐接种量的一致性在保证发酵一致性、风味一致性的基础,现代啤酒发酵大罐均很大($100\sim 600 \text{ m}^3$),而使用的啤酒酵母有一定的凝聚性。如何保证接种后大罐内酵母分布均匀,这是保证大罐内上、中、下各部分发酵均匀一致、少产生有害物质的基础。大罐接种必须把麦汁、空气、酵母正确地定量添加,而且必须把液-气-固三态乳化成一均一的乳化态,一般在泵后通过一台“静态混合器”将三者乳化后进罐。

3 种酵母泥的回收、饲养及酸洗

各类酒酿造中,只有啤酒可以用发酵后回收的酵母作为下次发酵的种酵母,在传统发酵中可以使用10代或更多,现代大罐发酵一般也可使用5代。

3.1 种酵母回收时间

种酵母常常在大罐双乙酰还原结束、发酵液降温至 $4\sim 5^{\circ}\text{C}$ 时回收,发酵曲线见图1。

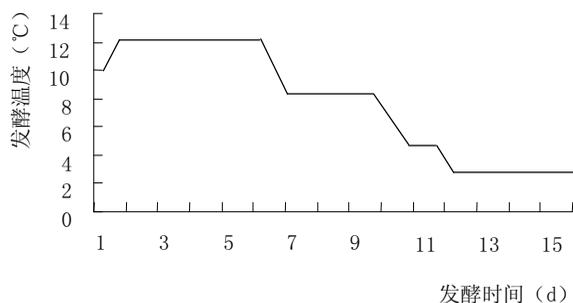


图1 常规发酵曲线

笔者曾测定若干啤酒厂回收种酵母代数,它和发酵速率和发酵度无关,而使用代数和酵母泥中杂菌含量(特别是微好氧菌)成级数关系,且和酵母泥种酵母死亡率成正函数关系(见表1)。发酵中污染微生物生长曲线见图2。

大肠菌群等污染微生物在发酵前期麦汁中有氧状态下迅速繁殖,繁殖速度受污染、起始密度和酵母出芽率制约,发酵 $3\sim 4$ d后,溶氧耗尽,发酵液进入还原态,好氧菌开始死亡,在后酵中,虽然好氧菌几乎完全死亡,

表1 酵母泥种酵母好氧菌含量(个/ 10^7 个酵母)

酵母使用代数	杂菌数	酵母死亡率(%)
0	10^0	0
1	10^1	12.5
2	10^2	2~4.0
3	10^3	4.5~6.0
4	10^4	5.0~6.5
5	10^5	6.5~7.5

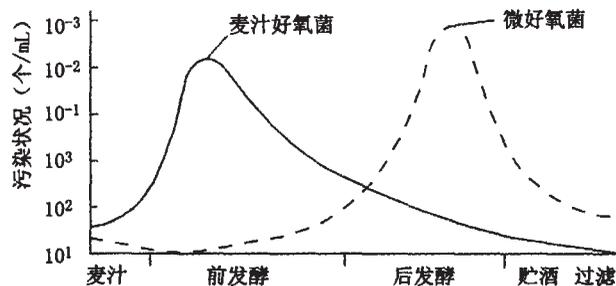


图2 发酵中污染微生物繁殖曲线

但其代谢产物早已存在于发酵液中,最后保留在成品酒中。

乳酸菌等微好氧菌,在发酵前期略有减少,在发酵 $2\sim 4$ d后略有增长,当发酵进入双乙酰还原后期,酵母衰老、死亡、自溶后,分泌出肽、氨基酸、维生素等,正好为微好氧菌提供了营养源,微好氧菌迅速繁殖,一般降温前增殖至最高密度,随着降温,酵母絮凝沉淀,微好氧菌被吸附在酵母团中一起沉降因而数量减少。

如果在 $4\sim 5^{\circ}\text{C}$ 排种酵母,周围会有较多杂菌和较高酵母菌死亡率。故主张在主酵结束封罐后,先降低发酵罐锥底温度,再迅速从罐底回收种酵母泥,这样能使种酵母的质量更好。

表2 不同时间排种酵母泥的质量

种酵母泥代数	3代		5代	
	主酵结束	后酵结束	主酵结束	后酵结束
排酵母时间				
微好氧菌污染率(个/ 10^7 个酵母)	$10^1\sim 10^2$	$10^2\sim 10^3$	10^2	10^4
酵母死亡率(%)	1.5~2.0	5.0~6.0	2.0~2.5	6.0~8.0
酵母肝糖染色率(%)	90	80	85	70

主酵结束回收种酵母,在大罐上部和中部,发酵液中悬浮酵母密度并不明显减少,还原双乙酰的速率不会受到影响。

3.2 种酵母的饲养

现代发酵均有种酵母泥回收罐,一般都在回收罐底注入或泵入酵母泥,这样酵母泥中有较高浓度的二氧化碳,高浓度的二氧化碳对酵母有毒害,因此回收酵母泥打进储罐时建议采用将酵母从储罐顶部喷下的方式,释放二氧化碳,这样更有利于保持种酵母的活性。

在回收种酵母泥时,虽然罐底温度降至 $0\sim 3^{\circ}\text{C}$,但

排出酵母泥的温度依旧在 8℃左右,酵母泥稠密,传热困难,因此需要预先在酵母储罐中注入等体积的无菌冰水(0~1℃),这样可将注入的酵母泥温度降低到 5℃,并且浓度变得稀薄,再用小剪切力的泵(如齿轮泵),将酵母泥浆从罐内泵出,用薄板冷却至 2℃以下,进罐饲养。

酵母在 2℃以下,对外部环境的生理活动趋于停滞,此时酵母慢慢进入生理休眠期,正待出芽的酵母全部转化为营养细胞状态,这样酵母在接种后出芽更均匀。一般在 2℃以下饲养时间为 8~12 h,经过休眠后的酵母,接种发酵后会更强壮,出芽更整齐。

如果休眠时间过长(>24 h),在接种前需提前 2~3 h 对酵母储罐进行通风,使酵母复苏,形成芽尖,接种后起酵速率不会降低。

3.3 酵母泥的酸洗

目前大生产的技术和控制水平还很难做到发酵液中绝对无杂菌,多数厂家排放 3 代以后的酵母泥的杂菌大多在 $10^2\sim 10^3$ 个,这样的酵母泥如不经过酸洗处理,已不再适合作种酵母,尤其在酿制纯生啤酒时,3 代以后的酵母应当废弃。

酵母泥的酸洗处理就是在从酵母回收罐泵出冷却的酵母泥中用定量泵添加稀磷酸(5%),调节酵母泥 pH2.8~3.0,维持 2 h 后立即使用,如果加磷酸时再添加 50 mg/L 的 Nisen 效果会更好,可杀灭酵母泥中 90% 的污染细菌。罐内 pH 会随着存放时间的延长而升高,不需进一步调节。

4 及时分离发酵罐内沉淀的酵母

发酵后至发酵结束,由于发酵液中营养枯竭,高浓度的二氧化碳和酒精,过高的罐压,过高的温度(单罐酿造时,储酒时罐温达到 0℃,罐中央的温度常常还在 5~6℃,需 5~8 d 才能降到 0~1℃),沉淀的酵母泥中温度会更高,这些菌能加速酵母的衰老、死亡、自溶,衰老的酵母细胞膜壁渗漏,酵母胞内渗漏物质是啤酒许多异杂味的来源。酵母细胞与啤酒风味的关系见图 3。

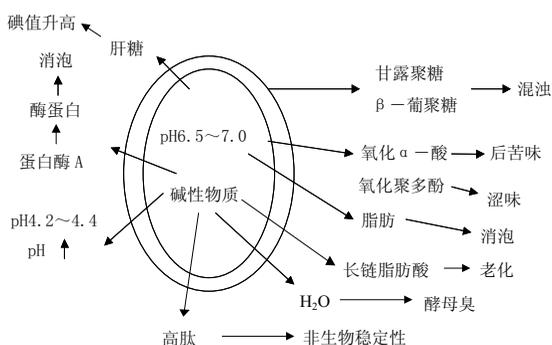


图 3 酵母细胞与啤酒风味的关系

4.1 酵母泥的 pH 值

酵母体内平衡的 pH 为 6.5~7.0,发酵后期发酵液的 pH 为 4.2~4.4,如果酵母体内物质渗漏会使酵母外围发酵液 pH 升高,胞内物质渗漏越多, pH 升高越大,采用 ΔpH 大小来反映酵母胞壁渗漏程度。 ΔpH 的测定方法如下:先测啤酒 pH_1 ,如=4.2,再取此啤酒的酵母,用 6000 r/min 离心 10 min 后,酵母形成泥状,分离澄清的啤酒,再测此澄清后的啤酒的 pH_2 ,则 $\Delta\text{pH}=\text{pH}_2-\text{pH}_1$ 。

ΔpH 在 0.1~0.3,表示正常或接近正常,此酵母泥可以作为种酵母; ΔpH 在 0.3~0.5,表示已泄露,但不严重,此酵母泥尚可作种酵母; ΔpH 在 0.5~1.0,表示泄露严重,风味改变大,应废弃此酵母。

4.2 酵母的吸附

酵母在发酵时会吸收 α -酸和多酚,在壁膜间积累并氮化和聚合,若氧化 α -酸和聚酚渗漏进入啤酒,会增加啤酒不愉快后苦味和涩味。

4.3 酵母细胞壁结构

酵母细胞壁外层和中层的甘露聚糖、 β -葡聚糖很易脱落(大剪切力输送酵母泥也会引起脱落),使酵母泥变得粘稠,进入啤酒会增加啤酒的雾浊,过滤困难。

4.3.1 胞内脂肪泄漏会降低啤酒的泡持性。

4.3.2 胞内长链脂肪酸泄漏,氧化后就形成啤酒的老化味。

4.3.3 胞内 H_2S 很容易泄漏,只要啤酒中达到 50 ng/L,就会形成酵母臭。

4.3.4 胞内含氮物质常以高肽泄漏,降低啤酒非生物稳定性。

4.3.5 胞内蛋白酶 A 和肽结合没有活性,在泄漏时肽会脱落,形成活性很强的蛋白酶 A,它在啤酒中切割泡沫蛋白,使泡沫活性变差。单罐酿造超长时间贮酒(如大于 2 月),或纯生啤酒装瓶后超过 1 个月,啤酒泡持性会变得很差。但在经过热消毒的啤酒,蛋白酶 A 在 58℃ 以上就开始钝化,丧失活性。

4.3.6 胞内贮存肝糖(主要是海藻糖)泄漏,会使啤酒碘值不正常,有时可达 0.3~0.4,使啤酒非生物稳定性变差。

因此,不论酿造何类型的啤酒,在双乙酰还原结束后,贮酒期降低酵母死亡、自溶,酒温越低越好,分离酵母泥越彻底越好,这样才能保证酿造啤酒有纯正优良的风味。

参考文献:

- [1] 顾国贤. 酿造酒工艺学(第二版)[M]. 北京:轻工出版社, 1999.
- [2] 管敦仪. 啤酒工业手册[M]. 北京:轻工出版社, 1982.
- [3] J.S.Hough, et al. Malting and Brewing Science[M]. Bristol: Stonebridge Press, 1982.