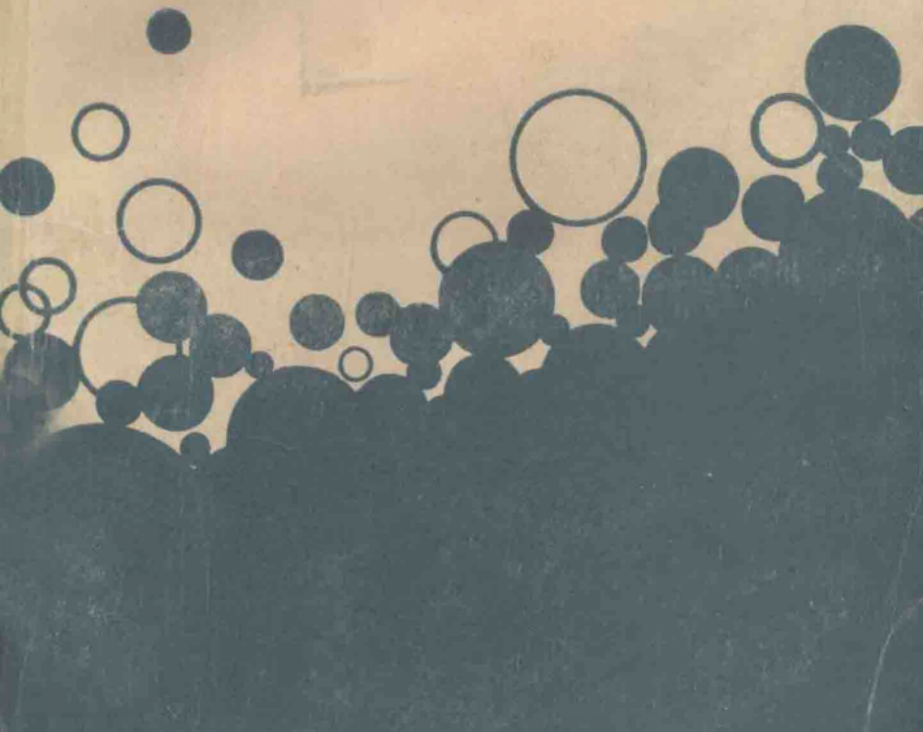


啤酒酵母



上海市食品工业公司职工中等专业学校

啤 酒 酵 母

杜 绿 君
袁 惠 明 编 著

上海市食品工业公司职工中等专

序

“六五”期间，我国啤酒工业得到飞速发展，平均每年以30%的速度递增，这是世界各国罕见的。随着党的经济政策逐步落实，人民生活水平不断提高，以及人们生活习惯的改变，作为低酒精，清凉解渴又富有营养的饮料——啤酒逐渐为人们所接受和喜爱，预计我国啤酒工业高速度发展将持续一段时间。

啤酒工业要高速发展，必须依靠科技进步。目前上百个大型啤酒厂正在新建和扩建，要有一大批有经验的工程技术人员参加；轻工业部推广12项啤酒新技术；大量的引进技术，要消化吸收；有些项目要攻关；这些都要有掌握啤酒技术基本知识的人材。但目前由于众所周知的原因，技术人员深感缺少，大有阻碍啤酒发展之势。

啤酒工业顺利发展所需的技术人员，按目前正规方法培养，显然跟不上形势需要，因此，要动员社会力量，多方面、积极培养。要采用多种方式，例如办短训班、专修班，举行专题讲座，老厂培训等，力求在较短的时间内培养出一批技术人员，以弥补当前的不足，保证啤酒工业的正常发展。

目前信息不畅，技术交流受阻，以及“书荒”严重地影响啤酒行业技术水平的提高，影响技术人员的培养。要扭转目前的状况，我们要依靠政策；还要求啤酒同行放开胸怀，以大局为重，考虑整个啤酒工业的发展，通力合作，共同振兴我国啤酒工业，为祖国四个现代化贡献力量。不要只考虑一个单位或本地区的利益，要互通情报，交流技术经验。我们希望啤酒同行和各单位领导共同努力，把我国啤酒工业的水平提高一步。特

别希啤酒望同行及前辈化些时间，总结自己的经验，著书立说，在技术交流和推广新技术活动中贡献新的力量。

啤酒工业的高速发展，给我们技术人员开辟了一个崭新的活动天地。近来，我俩走了一些工厂，结识了很多新朋友，深深地感到一些工厂技术水平尚较低，甚至无技术员；同时也钦佩各地啤酒同行的干劲，所以总想自己怎样投身于空前的啤酒发展高潮中去，尽到自己的责任。去年获有机会，应邀参加啤酒酵母学习班，利用业余时间编写了一本讲义，主要讲述啤酒厂微生物管理。这次以“啤酒酵母”印成一个小册子，感谢上海食品工业公司同志的帮助。这本小册子作为献给啤酒工业发展的一份薄礼，也作为互通信息，交流技术的一个尝试。由于我俩才疏学浅，长期在啤酒生产第一线工作，理论水平较低，手头资料也缺乏，一定有很多不足之处，敬请啤酒同行提出宝贵意见，这样反过来又可促进交流，对我俩也是一个学习的好机会。

这本小册子的编写，得到了老师、同学及同行的帮助和指导，在这里表示感谢。

1986年5月1日

目 录

第一章 实验室及实验室装备	(1)
(一) 实验室的一般要求	(2)
(二) 实验室的一些仪器设备	(3)
第二章 实验室的一般操作	(7)
(一) 玻璃器皿的准备	(7)
(二) 培养基的准备	(11)
(三) 接种	(18)
第三章 啤酒酵母的扩大培养	(23)
(一) 扩大培养的要点	(29)
(二) 酵母的扩大培养	(31)
(三) 酵母的保藏	(36)
(四) 生产酵母的指标	(41)
(五) 一些特殊情况的处理	(46)
(六) 一些酵母培养设备系统	(51)
第四章 生产过程中的微生物检查	(57)
(一) 麦芽汁稳定性试验	(59)
(二) 麦芽汁培养试验	(60)
(三) 发酵液和啤酒保存试验	(61)
(四) 啤酒培养试验	(63)
(五) 酵母水试验	(63)
(六) 发酵液死灭温度检查	(64)
(七) 总细菌数测定	(65)
(八) 过滤法总细菌数的测定	(70)

(九)	空气中细菌数的测定	(72)
第五章	啤酒病害菌的检查和鉴别	(75)
(一)	啤酒病害菌的检查和鉴别	(76)
1.	需氧和嫌氧微生物的区分	(76)
2.	格氏染色(Grem stain)	(79)
3.	酒精氧化成醋酸试验	(83)
4.	过氧化氢酶活性试验	(84)
5.	醋酸菌的检查	(84)
6.	发酵单孢菌的检查	(85)
7.	大肠菌群的测定	(86)
8.	麦芽汁和酵母中的大肠菌	(93)
9.	乳酸菌	(94)
10.	足球菌(<i>Pediococcus Cerevisiae</i>)	(96)
11.	李氏多级选择培养基	(97)
(二)	野生酵母的检查和鉴别	(100)
1.	利用野生酵母抗热性分离	(101)
2.	孢子形成试验	(102)
3.	选择培养基鉴别分离法	(106)
4.	酒石酸蔗糖培养基野生酵母的离集	(111)
5.	免疫萤光法	(112)
(三)	霉菌	(120)
第六章	啤酒酵母的选育	(123)
(一)	酵母的分离和纯化	(133)
(二)	酵母形态和细胞大小的测定	(138)
(三)	酵母发酵力的测定	(140)
(四)	最终发酵度的测定	(142)
(五)	酵母凝聚力的测定	(144)

(六)	酵母死灭温度的测定	(146)
(七)	发酵过程中的酵母曲线	(147)
(八)	发酵过程中的降糖曲线	(150)
(九)	双乙酰的形成和还原曲线	(150)
(十)	酵母对 α -氨基氮的同化	(151)
(十一)	酵母耐酒精度的测定	(151)
(十二)	嫩啤酒的品评和化学物理分析	(153)
第七章	酵母的鉴定	(155)
(一)	酵母的生长的巨大菌落	(162)
(二)	形态及假菌丝的形成	(164)
(三)	酵母对糖的发酵	(164)
(四)	酵母对糖的同化	(166)
(五)	酵母孢子的形成	(168)
(六)	酵母对硝酸盐的同化	(168)
(七)	酵母对乙醇的同化	(69)
(八)	酵母生长发酵的最适pH	(169)
附 录		(171)
(一)	常用玻璃器皿名称规格	(171)
(二)	<i>Sacharomyces</i> 属特性汇总	(174)
(三)	<i>Sacharomyces Cerri</i> SIAE 异名	(175)
(四)	国内几家啤酒厂酵母性能	(176)
(五)	常用消毒灭菌剂	(184)
(六)	洗液的配制	(185)
(七)	主要参考书	(186)

第一章 实验室及实验室装备

啤酒是以麦芽为主要原材，经糖化制得麦芽汁，再由酵母发酵而制得的。啤酒发酵是采用纯粹培养酵母来进行的，不同的工厂采用不同的酵母菌株，使用不同的工艺条件，使各个厂的啤酒保持不同的风格。为了保证生产的正常进行，必需定期扩大培养酵母；为了保证啤酒质量，防止微生物污染，需要定期进行微生物检查；为了保持酵母的纯粹和不断改良，需要分离选育。所有这些，尚包括必要时对菌种的鉴定，都要在实验室中进行。有人说啤酒酵母是啤酒厂的命脉，这话并不太过份。确实，无酵母不能生产啤酒，啤酒的口味香味，不论是理化指标或感观指标都与酵母有密切关系。要扩大生产，提高质量，在酵母方面下些功夫是合算的，它投入少，产出的可能多，有远见的啤酒厂领导者，无不将酵母工作(包括啤酒厂微生物工作)放在技术工作的首位。国内绝大多数啤酒厂都有或准备建立微生物实验室，配备称职的技术人员负责此项工作就是最好的例证。

应该看到，啤酒厂的微生物工作与其它行业工厂相比更重要，但它的重要性往往不那么明显，那样直观地被人们所注意。作为生产的领导者，在安排人事的时候，必须考虑到此项工作的特殊性，要安排有一定专业知识，一定业务观点，热爱本职工作，细心务实的同志来担任，并要信任他，不要随便更换。碰到问题，分析原因，承担责任，热情鼓励，不要片面地指责埋怨，这样事情总会办好。啤酒厂微生物工作者本身应具备不求名利，工作严谨，实事求是的优良品质，即使目前水平

不高，相信定能胜任工作。还要记住：当啤酒质量发生问题时，人们很自然地与酵母联系在一起，有时可能感到委屈，要有信心，不受干扰，坚持做好本职工作。

实验室要有一定的装备，任何工作的进展都要有一定的物质基础，在一定的物质条件下就要看人的主观能动性，重要的是更多地去实践，在实践的基础上不断总结提高。边学习边实践，定会在实际工作中做出成绩，更好的为生产服务。同时也不断地改善物质条件，把工作一步一步地推向新的领域。

(一)实验室的一般要求

啤酒厂微生物实验通常属于技术检验部门领导，很少建立专门的机构，因此微生物实验室和生化实验室在一起，但由于所负担的责任不一样实验室却分成两个部份。

实验室应建在厂的“中心”位置，紧邻生产车间，这样有利于工作。实验室的环境应清洁安静，有良好的采光和必要的通风，并且应干燥，不然易长霉。

实验室当然要有水、电、汽。以便洗涤、灭菌和各种仪器设备使用。通常包括无菌室、普通试验室。前者用于接种操作后者按装一般试验设备，例如恒温箱 烘箱，冰箱等；有时少量蒸汽灭菌也在实验室中进行，它的热源可用电或煤气但啤酒厂使用蒸气方便，可在单一的房间安放蒸汽灭菌釜。如果需要可设有恒温室，以便于进行培养试验或其它目的使用。

实验室不准外人随便进入，要保持整洁，不要在实验室用餐或吸烟。要有完善的操作规程，实验仪器要专人负责保管；建立档案制度和实验记录本，正确填写，不要占为私有，以便人事调动后能直接有条不紊地开展工作的。这些内容应订入实验室的规章制度。

(二) 实验室一些仪器设备

微生物实验室由于要求不同，仪器设备配备相差很大，此处仅为啤酒厂微生物实验室最简单必需的仪器设备作一介绍：

1. 接种室和超净台

接种室又称无菌室，是进行无菌操作的房间。酵母的移植，初期的酵母扩大培养及其它微生物操作都需在无菌室中进行。其大小按工作需要而定，一般4平方米即够，高2.5米左右。无菌室要求能密闭，墙壁地面光滑，便于清理。最好一面设有双重门，其它三面距地面90厘米处用瓷砖，上面用玻璃装饰。外面设有缓冲间，以防空气直接进入。室内设工作台，根据需求和房间大小而定，一般0.6~1.2平方米够用。除在工作台上装照明灯外，无菌室和缓冲间都应装紫外灯。无菌操作的工作服和拖鞋等用具可放在缓冲间内。

无菌室内除在工作台上放的接种用具外，东西越少越好。接种用具最简单的是一盏酒精灯和几支接种针，也可备有一量筒，中间贮有酒精，用完的接种针放在里面。

市售酒精灯，在接种操作有时嫌火焰太小，可自制酒精灯，方法很简单；找一合适的三角瓶，口上戴上电工用绝缘子，装上纱条即成。很好用，当然要做一个帽子。接种针不易买到，也较贵，在不得已的情况下也可自做。方法是找一合适的铜棍或铝棍，用小钻子在一端钻一小孔，深约1.5毫米然后找一合适粗细的电炉丝，一端弯转，塞入小孔，再用小锤轻轻砸紧，这样绝不掉落，手操作端套上一段塑料管，电炉丝的末端弯成需要的形状即可。此种接种针除散热慢一些外很好使用。

有人喜欢使用接种箱，大小以操作方便为准。正面为可上

抽的玻璃门，供放置工具使用，两侧为操作手孔，箱内装有照明和紫外灯。接种箱放于干净的房间内，大多数工厂放于无菌室内。

近来一些工厂使用了超净工作台，工作原理很简单，室内的空气先经过予过滤器进入风机，由风机加压送至加压箱，再经过过滤除尘粒，也就除去了细菌。洁净的空气经过均压层，以水平层流状态送至操作区。由于洁净的空气不断向一个方向流动，操作区为洁净空气控制，也就做到无菌。

超净台有单人操作和双人操作之分，工厂根据需要选择。购买后装于干净的房间内即能使用，很方便。超净台对啤酒厂微生物实验是合适的，但对如霉菌或病害菌的操作未必适用，会使孢子等污染环境。

2. 灭菌釜

灭菌釜是微生物实验室的必备设备，它用于培养基蒸气湿热灭菌。它实际上是一个承压容器，安有进汽阀、排汽阀、安全阀，和温度压力显示装置。稍大的灭菌釜一般直接采用锅炉房的蒸汽，而小型灭菌釜可直接加热，热源有用煤气，煤油喷灯或电。其大小视需要而选择。对啤酒厂来说，最好用两种：一种较大的，用于较大容量的灭菌；另一种较小的，用于小量，特别是试管培养基的灭菌。这样可各得其利。大容量的培养基灭菌时间要长一些，因升温需要较长时间，容量大小相差很大的培养基在一起灭菌是不合理的。小容量的培养基，在小容量灭菌釜中灭菌，缩短灭菌时间比较方便。

3. 电热烘箱

电热烘箱，实验室必备，用于干热灭菌。结构很简单，是一个绝热铁皮箱，里面分几格，装有双层门。以电为热源，通常为两组，一组用于升温，一组为恒温用。装有温度表和自动恒

温装置。上面有气孔。如果干燥用，还配有小的风机。此设备的关键部件是恒温装置，所以要经常检查恒温装置是否灵敏。自动装置失灵的不能采用，经常会引起温度升得过高，导致着火。

4. 培养箱

培养箱用于培养微生物，通常常年保持恒温。实际上为一箱子，保温部份有水夹套或其它绝热材料，如果是水夹套，不要断水。培养箱的温度表要校准。箱内要保持清洁。

5. 冰箱

啤酒厂微生物实验室有一个冰箱是方便的。可存放培养基，保留菌种或其它要求低温的实验使用。冰箱的安装避免日晒和热源，也不要安装在潮湿的地方。安放时要平稳，必要时调整地脚螺旋，不然振动声大，影响工作。冰箱电源一定要装有可靠的地线。

冷冻箱内一般不要放液体的东西，可在冰盒中制冰，供实验需要。冷冻箱内如果冻结很严，不要用硬工具撬取，可适当倒些水使表面融化后取出。冰箱调到适当温度即可，不必温度过低。

实验室冰箱内不要放与实验无关的东西。自己放的东西及时整理，不要无人管理。每隔一定时间要清理化冰。清理冰箱防止丢了有用的东西，因此存放的物品都要做有标鉴。

6. 显微镜

在微生物实验中，显微镜是必不可少的，它是观察微生物形态的必需工具，在实际生产中，许多实验要借助于显微镜。

显微镜种类很多，对我们工厂来说使用普通的光学显微镜。它是一种高度放大的光学仪器，与实验室其它仪器相比较是属于贵重的精密仪器。熟练地掌握显微镜使用技术，是微生物工

作者必须做到的。

显微镜的构造和使用方法，在其它有关书籍中都能找到，这里不再重复，但必须重申，使用显微镜时要小心，不要随意拆开玩弄；物镜和目镜要保持清洁，严禁用普通纸张或布擦刷，如果沾污灰尘等污物，可使用专用擦镜纸措擦；显微镜的金属和光学部份不耐腐蚀，尤其光学部份有用粘接剂，因此，绝不允许和酸碱或乙醚、酒精、氯仿等有机溶剂接触；使用完毕需将低倍镜转到中央位置，集光器下降，然后装入箱内，镜箱内应有干燥剂，一般为小袋装硅胶，並要经常更换；显微镜要放于干燥处，不要受阳光曝晒，不要随便搬动，如果需运输，一定要加紧固定螺丝，妥为包装。

7. 玻璃器皿

实验室常和玻璃器皿打交道，选用合适的玻璃器皿是重要的，常用的试管，三角瓶、培养皿等应选用统一型号，这样使用方便。啤酒酵母培养等特殊玻璃仪器，不易买到，有的以可委托制造，有的只好找代用。

玻璃器皿的选择宁愿选用价型较贵质量较好的，它厚薄均匀，耐用。如试管、三角瓶、培养皿等如果质量不好，管口或周边不平，底厚薄不均，除洗刷时易破外，还给做棉塞等操作带来很多不便，容易引起污染。质量的次的载片，盖片更不能应用。现抄录上海玻璃仪器厂产品目录，供选用，见附表。

第二章 实验室的一般操作

(一) 玻璃器皿的准备

酵母培养，微生物实验，细菌检查需要很多试管、三角瓶、移液管和培养皿等。为保证实验的正确性及酵母的顺利培养，除与其它实验室要求一样需洗刷干净外，尚需要无菌。培养酵母和其它微生物实验，“无菌概念”非常重要，它直接与各项工作的成败相关联。操作人员必须严格确立“无菌概念”。要达到无菌，操作要有一套正确的程序，玻璃器皿的准备是重要的一环。

1. 玻璃器皿的洗涤

玻璃器皿的洗涤，一般用毛刷涂刷，切勿使用能划伤玻璃的工具。对新的器皿通常用去污粉，肥皂等洗刷，有时使用较热的水，然后以自来水冲洗干净。如果需要可再用蒸馏水冲洗2-3次。

对已使用过的器皿，如果带培养基的应先除去培养基，固体培养基可收集于专用垃圾箱中，並要及时处理。各果需要，琼脂可回收。带固体培养基的器皿最好先煮一下，或蒸汽蒸一下，一方面使培养基融化易除去，另一方面也起到灭菌作用，防止不希望的微生物扩散。然后再进行洗涤。

对有油，蜡等器皿，可先擦去，加热洗涤，如果值得，可用有机溶剂洗。对于载片和盖片可先用2%的盐酸浸泡一小时，然后再用水冲洗，最后用蒸馏水洗，洗净烘干或浸于95%酒精中备用。

对于难洗的物品，可浸于洗液中，然后用自来水冲洗至无色，再以蒸馏水冲洗备用。

玻璃器皿的洗涤一定要轻拿轻放，防止损坏和划破手。在水槽及桌面上最好垫有胶板。对固体培养基及腐蚀性液体等切勿倒水槽内，以防阻塞和腐蚀。对有害菌器皿洗涤应事前经高压灭菌，防止传染和扩散。

玻璃器皿洗干净的重要标志是不带水滴及油污，烘干后不带白霜或黑斑。

2. 玻璃器皿的包扎

为达到微生物试验用的玻璃器皿无菌，使用前都要灭菌，并且保持无菌状态，因此器皿都要包扎。包扎操作很简单，但如包扎不当，会使操作不便，带来不良后果。

(1) 试管和三角瓶包扎

试管和三角瓶系装培养基用，一般为好氧培养，故都要加合适的棉花塞。其作用是使空气易通过，而尘埃及微生物由于棉花塞的过滤作用不能进入。做棉花塞不能过紧过松。过紧不利于过滤，操作麻烦，也易挤破管口，引起伤害；过松，显然不利于过滤作用，且易掉落。通常，棉花塞插入管口，其长度约为管径的1.5~2倍。对大口径器皿可适当减短。棉花以使用普通棉花为好，有时为美观及增加强度，棉塞外层可使用一薄层脱脂棉。脱脂棉易受潮，过滤性差且价贵，不宜作棉花塞。

棉花塞做法有多种，但目的一样，可各自选用。对小口径器皿，数量不多时可做成图2-1a样，它过滤性能好，也美观。做法为：先取一块棉花，铺开，中间垫少许棉花，揪住棉花块中心，窝成一头成圆球状，下部松散部份理直，折叠后插入口内。棉花塞两头是光的。图2-1b方法同前，但以光头插入。此法制作方便，适于大量制作，一次性使用。对大口径棉花塞，

以卷边法为宜。方法为取一块棉花，铺开，卷起两边，再卷成柱状，插入，见图2-2。做成的棉花塞应紧贴玻璃壁，没有皱纹和裂缝隙，灭菌后形状固定。

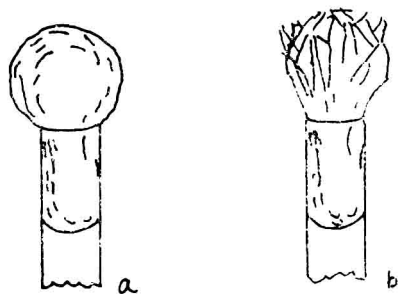


图 2-1 试管棉花塞形状

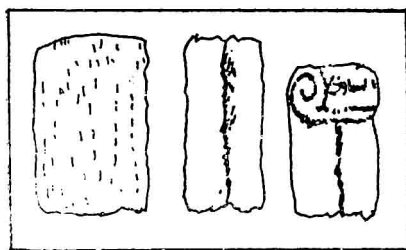


图 2-2 卷边法棉花塞的制作过程

若干支试管可用绳子扎在一起，在棉花塞部份包于油纸或牛皮纸(也可用旧报纸)用绳子扎紧，绳子应系活扣。每个三角瓶应单独包扎，棉花塞及瓶颈包于纸，用活扣以细绳子扎紧。

(2) 培养皿包扎

培养皿作平板分离和细菌计数用，少量可用纸单个包扎，大量使用时可10套叠在一起，用纸包成圆柱形，以绳扎紧，不