

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12N 1/16

C12N 1/20 C12N 1/14

C12C 11/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01110632.8

[43] 公开日 2002 年 11 月 20 日

[11] 公开号 CN 1380390A

[22] 申请日 2001.4.13 [21] 申请号 01110632.8

[71] 申请人 黄金富

地址 100032 北京市西城区金融街 27 号投资广场
B 座 19 层

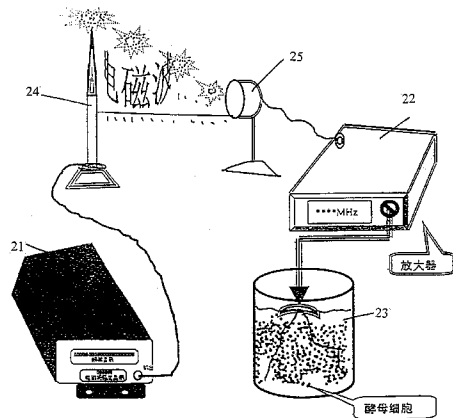
[72] 发明人 黄金富

权利要求书 3 页 说明书 8 页 附图 5 页

[54] 发明名称 用微交变生物电场调制啤酒菌种的方法和相应的啤酒

[57] 摘要

一种用微交变生物电场 (Micro - Alternating - field Biotechnology, 简称 MAB) 的电波激发啤酒菌种基因的方法来生产高效表达的啤酒菌种和用此菌种生产出商品质的啤酒,其特征是用某一频率的 MAB 电波激活啤酒菌种细胞中的隐性功能基因,使其恢复并高效表达,之后,加以驯化处理,就得到可直接利用的有高活力的啤酒菌种,用此菌种,采用通常的啤酒发酵生产方法,就可以生产出高品质的啤酒。



ISSN 1008-4274

1. 一种激活基因生产啤酒菌种的方法，其特征在于，采用微交变生物电场装置和技术，具体地说，包括如下步骤：
 - 1.1 设置啤酒菌种激活装置(2)，所述装置包括有频率发生器(21)、放大器(22)、基因激活箱(23)，其中，频率发生器(21)与放大器(22)相电讯连接，基因激活箱(23)中设置有放射板(231)、放大器(22)通过输出线接入基因激活箱(23)中的放射板(231)，
 - 1.2 配制适用于培养啤酒菌种的培养基甲(3)，并按常规进行灭菌处理，
 - 1.3 选择啤酒菌种，按照活细胞/培养基 $>1 \times 10^8$ 个/1000ml 的比例，注入培养基甲(3)中，并将注入菌种的培养基甲(3)放入基因激活箱(23)中培养，
 - 1.4 保持基因激活箱(23)中的湿度在 T1 范围，培养 H1 小时，
 - 1.5 打开频率发生器(21)，将输出的电波频率调节到 F1 范围，
 - 1.6 将放大器(22)输出调至 V1 范围，
 - 1.7 维持 F1、V1 和 T1 条件，激活 H2 小时，
 - 1.8 经以上条件激活后的啤酒酵母菌种细胞采用真空冷冻干燥方法制成安瓶或制成粉剂保存。
2. 如权利要求 1 所述的生产啤酒菌种的方法，其特征在于，所述啤酒菌种包括有霉菌、酵母菌和细菌。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的生产啤酒菌种的方法，其特征在于，所述啤酒菌种包括有曲霉菌、根霉菌、梨头霉菌、啤酒霉菌、酒精酵母、假酵母、拟内胞霉、汉逊酵母、乳酸菌、醋酸菌及芽孢杆菌。
4. 如权利要求 1 所述的生产啤酒菌种的方法，其特征在于，所述基因激活箱(23)中的温度 T1 为 $37 \pm 5^\circ\text{C}$ 培养时间 H1 为 24-56 小时，放大器(22)输出 V1 为按 5-10mv/ml 计为 5-10 伏，激活时间 H2 为 42-72 小时。

5. 如权利要求 1 所述的生产啤酒菌种的方法，其特征在于，使用的频率 F1 的范围是 7000M-18000MHZ。
6. 如权利要求 1 所述的生产啤酒菌种的方法，其特征在于，其啤酒菌种激活装置(2)还可以包括有发射单元(24)，接收单元(25)，其中发射单元(24)与频率发生器(21)相连接，将频率发生器(21)所发生的电波经发射单元(24)输出出去，输出给接收单元(25)，输出方式可以是无线的，也可以是有线的，接收单元(25)与放大器(22)相连接，接收单元(25)接收发射单元(24)所发射的电波信号，当发射单元(24)以无线电波形式输出时，接收单元(25)与发射单元(25)不用传输线相连接，作为发射部份的频率发生器(21)及发射单元(24)，可以和作为接收部份的接收单元(25)与放大器(22)与基因激活箱(23)相隔开。
7. 一种利用激活基因的啤酒菌种生产啤酒的方法，其特征在于，采用微交变生物电场装置和技术，具体地说，包括如下步骤：

第一步骤为驯化步骤，包括：

81. 设置驯化装置(6)，所述装置包括频率发生器(21)、菌种驯化罐(26)，其中，菌种驯化罐(26)中安装有电波放射板(261)频率发生器(21)的输出通过传输线连接到电波放射板(261)上，
82. 配制驯化用培养基乙(7)，
83. 取数量为 P 的按权利要求 1 的方法所激活后保存的啤酒菌种，倒入菌种驯化罐(26)中，
84. 将相应量的培养基乙(7)倒入菌种 A 驯化罐(26)中，
85. 开启频率发生器(21)，将输出的电波频率调节到 F1 范围，并将输出电压调到 V2 范围，使电压为 V2 频率为 F1 的电波通过菌种驯化罐(26)中的电波放射板(261)对在菌种驯化罐(26)中的驯化湿度为 T2 度，驯化时间为 H2 小时，
86. 将经过驯化的菌种 A 进行分离后在 0-4℃ 温度下进行保存。

第二步骤为造酒步骤，即利用经过驯化的菌种 A 作为制作啤酒的微生物菌种，进入生产啤酒的生产程序，生产出激活菌种基因的啤酒。

8. 如权利要求 7 所述的生产啤酒的方法，其驯化温度 T2 为 37 ± 5 °C，驯化时间 H2 为 48-96 小时，驯化时的电压 V2 为 5-10mv/ml，

即 1000ml 培养基所使用的电波强度为 5-10 伏，1000ml 培养基时的菌种 P 为 10-20ml。

9. 一种啤酒，采用常规方法进行生产制造，其特征在于，所用菌种是用权利要求 1 和权利要求 8 的方法所处理的菌种。
10. 如权利要求 9 所述的啤酒，其特征在于，当采用不同的酵母菌种，采用不同的经驯化的酵母菌种的不同组合，不同的比例组合，可以调配出多等级高品质的啤酒。

用微交变生物电场调制啤酒菌种的方法和相应的啤酒

本发明涉及微生物技术，特别是利用微交变生物电场技术(Micro-Alternating-field Biotechnology，简称 MAB)的无线电波激法生物基因制造啤酒菌种的方法和相应的啤酒。

啤酒是世界最流行的含酒精低度酒，但因一些生产因素，特别是地道的有名的啤酒由于水质和产地的限制，以及啤酒菌种的品质和数量限制，有的啤酒产量远不能满足市场需求，目前尚无其它方法生产出同样品质或更高质量的啤酒。

这样，寻找生产出具有同等的或更高质量的啤酒的新方法，利用此方法多生产高质量的啤酒，是十分需要的。

本发明的目的，在于提供一种生产啤酒菌种的新的生产方法，利用此菌种，可以生产出合乎质量标准的及高质量的啤酒，以及提供这种啤酒，供应市场和需要。

本发明的目的是这样实现的，采用这样一种啤酒菌种的制造方法，其特征在于，包括如下主要步骤，第一主要步骤：采用微交变生物电场(MAB)用某一频率的无线电波处理啤酒的微生物菌种，激法其隐性功能基因，之后，第二主要步骤：是对已激活其隐性功能基因的啤酒菌种进行驯化，第三主要步骤：是利用驯化了的菌种，生产超高质量的啤酒。

采用本发明的方法，可以快速地大量地生产出特殊品质的啤酒菌种，而利用这些菌种，可以不受啤酒生产所必须的水、酒窖等限制，采用普通啤酒的发酵生产方法，就可以生产出优良品质的啤酒，满足市场需要。

本说明书包括如下附图：

图 1 是菌种基因结构说明图，
图 2 是啤酒菌种激活装置说明图，
图 3 是啤酒菌种激活装置说明图的无线方式布设说明图，
图 4 是啤酒菌种基因被激活的方法的步骤说明图，
图 5 是菌种驯化装置说明图，
图 6 是菌种被驯化的方法的步骤说明图。
下面结合附图，对本发明的方法的各特征作进一步详细说明。

参阅图 1，图 1 是菌种基因结构说明图。

造酒是生物技术，常规生物技术研究采用的是生物化学、生物分子学等方法，这些方法都是由常规的化学方法衍变过来的。化学方法基本上是研究非生命物质的化合、分解、氧化还原等变化。生物则是有生命的物质，这些生命物质每时每分每秒都在不停地变化著，老一代死去新一代复生交替不变。仅是在组成肌体的最小单位一细胞中物质的代谢、物质的转换有序的进行著，从不停止。当今生物技术研究把肉体这种有形的物质作为生命全部实际上是十分不完全的。本发明的研究认为，一个有生命的生物体最基本的应由两大部分组成，一部分是看得见、摸得著的肉体，即有形物质；另一部分是常规理论认为看不见、摸不著的无形物质“电场”。这里所指的“电场”是存在于每一个生物体上的“生命电波”。在一个活的生命体上，这种生命电波不停的发射，当这种无形的“生命电波”失去以后，生命也就停止了，肉体也就成为死的物质一尸首（肉体）。当今世界的所有研究都是只研究死的物质一肉体，而从没有人研究“生命电波”。从某种意义上说肉体是一种死的物质，“生命电波”才是活的物质，肉体只是“生命电波”的宿主，即发射源。只有当肉体 and “生命电波”有机地结合在一起才能称之为生命的物质一生物。综上所述，在生命科学的研究上，“生命电波”的研究比肉体的研究更为重要！当然“生命电波”的研究一定要结合肉体才能是一个完整的生物研究。

本发明之所以能够成功地获得用于啤酒制造业的高效表达的菌种生物制品，关键是采用与常规生物技术完全不同的方法。本发明所涉及的方法，是采用 MAB 技术，又结合了生物体的生命真谛，既研究生命的肉体特性，又要研究生命体活物质“生命电波”。本发明研究“生命电波”能够寄宿在肉体上的必要条件，同时研究“生

命电波”对宿主物质的组成的调控。通过这种研究成功的获得了世界首创的高效表达的啤酒菌种。

图 1 中示出，啤酒菌种中的转化酶基因和其他基因一样，按照其作用分为两大部分，左侧部分为免疫基因的启动子部分，其中包括启动基因。启动基因担负着启动右侧功能结构基因表达免疫酶的数量、表达的时间等功能。右侧称之为功能结构基因部分，其中主要是结构基因，结构基因决定了该基因所表达酶的结构，即酶性质，也就是说只要结构基因碱基序列和基因链的卷曲结构不变，其所表达酶结构及性质就不会发生变化，但其所表达数量和表达时间、何时表达酶量少一些、何时表达酶量多一些、何时表达酶到最高峰等，完全受左侧启动基因的控制。当啤酒菌种细胞的转化酶的启动基因部分受到各种有害因子的影响，造成表达寻常时，直接影响到功能结构基因所表达免疫酶数量、表达时间曲线。当转化酶基因的功能结构基因部分受到外因子干扰，造成其碱基或卷曲形状发生变化时。会影响功能结构基因所表达转化酶的性质或者是活性。

本发明的研究发现许多带有阴离子或阳离子的“自由基”、各种各样的病原微生物所产生的毒素类物质，各种辐射源等都可能造成啤酒菌种细胞基因变异或“僵化”，对这种僵化的基因，在本发明中称之为“隐性基因”，这种隐性基因不能及时、准确的表达，使啤酒的菌种不能发挥高效表达。

本发明多年的研究发现，啤酒菌种的各种转化酶基因在各自的生命活动过程中，都会发射出一种特异性的“生命电波”，不同的转化酶基因所发射的“生命电波”不同，转化酶基因靠这些“生命电波”传输信息，对有害因子作出反应。因此当基因发生变化时，所发射的“生命电波”就会发生变化，那管是一种微小的变化都会造成“生命电波”的变化。本发明的关键在于发现了基因的“生命电波”会因有害因子造成改变，但也可以在带有有益电波物质的调控下恢复正常，被有害因子造成“僵化”的“隐性基因”，可使用有益因子激活。

本发明根据以上原理，采用“生命电波”的(MAB)人工电波的方法，创造一种“有益因子”，利用这种有益因子物质将僵化的隐性功能基因激活，从而实现啤酒菌种的转化酶的高效表达，获得具有高效表

达调控菌种细胞转化酶功能基因的特异性啤酒菌种。

参阅图 2，图 2 是啤酒酒种激活装置(2)的一个实施例说明图，是采用 MAB 技术，图中示出，本实施例的装置主要包括有频率发生器(21)、放大器(22)、基因激活箱(23)，其中，频率发生器(21)与放大器(22)相电讯连接，通常是通过传输线的有线方式连接，基因激活箱(23)中设置有放射板(231)、放大器(22)通过输出线接入到基因激活箱(23)中的放射板(231)上，须被激活的菌种被置入于基因激活箱(23)内，开启频率发生器(21)到所要求的频率 F，放大器(22)将输入的频率为 F 的生命电波加以放大，按预定要求的功率进行输出，传输到放射板(231)上，放射板(231)即按频率 F 辐射电波，激活在基因激活箱(23)中的菌种。

频率发生器(21)和放大器(22)是常用电子产品，可直接在市场上购买或自行制作，放射板(231)是无线电波发射天线，可以采用板状、杆状、网状等结构。

参阅图 3，图 3 是啤酒菌种激发装置(2)的又一实施例，是采用 MAB 技术的无线布设方式的实施例，是在图 2 基础上加以变化，所述装置包括有频率发生器(21)、放大器(22)、基因激活箱(23)，特别是，还可以包括有发射单元(24)、接收单元(25)，其中，发射单元(24)与频率发生器(21)相连接，将频率发生器(21)所发生的电波经发射单元(24)输出出去，输出给接收单元(25)，输出方式可以是无线的，也可以是有线的，接收单元(25)与放大器(22)相连接，接收单元(25)接收发射单元(24)所发射的电波信号，当发射单元(24)以无线电波形式输出时，接收单元(25)与发射单元(25)之间不用传输线相连接，作为发射部分的频率发生器(21)及发射单元(24)，可以和作为接收部分的接收单元(25)与放大器(22)与基因激活箱(23)相隔开。这种设置在某些情况下可以带来方便。只要接收单元(23)可以顺利收得到发射部分所发射的信号，相隔远一些也是可以的，因此，有时可以采用无线遥控的方式进行菌种的生命电波激发。

本图的实施例的布设最适合采用无线方式激发菌种。

参阅图 4，图 4 是啤酒菌种基因被激活的方法的步骤的说明图，即采用激活基因生产啤酒菌种的方法，其特征在于，包括如下步骤：

1. 设置啤酒菌种激活装置(2)，
2. 配制适用于培养啤酒菌种的培养基甲(3)，并按常规进行灭菌处理，
3. 选择啤酒菌种，按照活细胞/培养基 $\geq 1 \times 10^8$ 个/1000ml 的比例，注入培养基甲(3)中，并将注入菌种的培养基甲(3)放入基因激活箱(23)中培养，
4. 保持基因激活箱(23)中的温度在 T1 范围，培养 H1 小时，
5. 打开频率发生器(21)，将输出的电波频率调节到 F1 范围，
6. 将放大器(22)输出调至 V1 范围，
7. 维持 F1、V1 和 T1 条件，激活 H2 小时，
8. 经以上条件激活 的啤酒酵母菌种细胞采用真空冷冻干燥方法制成安瓶或制成粉剂保存。

上述步骤中，所采用的生产啤酒的菌种，包括有霉菌、酵母菌和细菌，特别地，可以包括如下的霉菌、酵母菌和细菌，即：曲霉菌、根霉菌、梨头霉菌、啤酒霉菌、酒精酵母、假丝酵母、拟内胞霉、汉逊酵母、乳酸菌、醋酸菌、芽孢杆菌等等，以及本说明书的附表一中所列所有酵母菌。

上述步骤中，所采用的培养基甲(3)的配方如下：

培养基甲成份	数量
甘露醇	16g
K_2HPO_4	0.25g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2g
NaCL	0.22g
$CaSO_4 \cdot H_2O$	0.5g
$CaCO_3$	6.0g
Urea	0.2-0.5g
啤酒花汁	20ml
蔗糖	100-300ml (1g/5ml)
蒸馏水	700-900ml

上述步骤中，所采用的基因激活箱(23)中的温度 T1 为 $37 \pm 5^\circ C$ 培养时间 H1 为 24-56 小时，放大器(22)输出 V1 按 5-10mv/ml 计为 5-10

伏，激活时间 H2 为 42-72 小时，以及使用的频率 F1 的范围是 7000M-18000MHZ。

参阅图 5，图 5 是啤酒的菌种的基因被激活后菌种要再进行驯化时采用的菌种驯化装置(6)的一实施例说明图。图中示出，也采用 MAB 技术，所述驯化装置包括频率发生器(21)，菌种驯化罐(26)，其中，菌种驯化罐(26)中安装有电波放射板(261)，频率发生器(21)的输出通过传输线连接到电波放射板(261)上。当驯化时，在菌种驯化罐(26)中放入相应培养基和被激活后的菌种，将频率发生器(21)调到所要驯化的频率，即可进行电波驯化。

参阅图 6，图 6 是啤酒的菌种的基因被激活后菌种要再进行驯化的步骤的说明图，被激活后和菌种要进行驯化，才能适应环境，进行造酒工艺中的淀粉转化为糖和糖转化为酒的过程。驯化步骤为：
(以采用 1000ml 培养基为例)

81. 设置驯化装置(6)，
82. 配制驯化用培养基乙(7)，
83. 取数量为 10ml 的按前述的方法所激活后保存的啤酒菌种，倒入菌种驯化罐(26)中，菌种活细胞含量 $\geq 1 \times 10^8$ 个/ml，
84. 将相应量的培养基乙(7)1000ml 倒入菌种 A 驯化罐(26)中，
85. 开启频率发生器(21)，将输出的电波频率调节到 F1 范围，并将输出电压调节到 V2 范围，使电压为 V2 频率为 F1 的电波，通过菌种驯化罐(26)中的电波放射板(261)对在菌种驯化罐(26)中的驯化温度为 T2 度，驯化时间为 H2 小时，
86. 将经过驯化的菌种 A 进行分离后在 0-4℃ 温度下进行保存。

上述步骤中，所采用的培养基乙(7)的配方如下：

培养基乙成份 (以 1000ml 为例)	数量	说明
淀粉汁	500ml	淀粉/水 = 1g/5ml
蔗糖汁	200ml	蔗糖/水 = 1g/5ml
(NH ₄) ₂ SO	0.25g	
K ₂ HPO ₄	0.2g	
啤酒花汁	20ml	

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.22g	
NaCl	0.5g	
CaSO ₄ · 2H ₂ O	0.3g	
CaCl ₂	3g	
激活后的啤酒 菌种培养液	20ml	含活细胞 > 1 × 10 ⁸ 个/ml
蒸馏水	适量	加至使总量达 1000ml

上述步骤中，所采用的诸参数，其驯化时的温度 T2 为 37 ± 5℃，驯化时间 H2 为 48-96 小时，驯化电压 V2 采用场强为 5-10mv/ml 时，即 1000ML 培养基所使用的电波强度为 5-10 伏。

当采用不同的酵母菌种，采用不同的经驯化的酵母菌的不同组合，不同的比例组合，就可以调配出相当于存贮了不同年份，多等级高品质的啤酒。

这样，这种利用激活基因的啤酒菌种生产啤酒的方法，其特征在于，包括如下两个步骤，即：

第一步为驯化步骤，将激活了基因的啤酒菌种按上面所述步骤进行驯化，

第二步为造酒步骤，即利用经过驯化的菌种 A 作为制作啤酒的微生物菌种，进入生产普通啤酒的生产程序，包括原料蒸煮、发酵等，转化为糖，再将糖转化为啤酒的生物过程，最后生产出激活了啤酒菌种基因的啤酒，

利用经过前述步骤激活和经过前述步骤驯化的啤酒菌种生产的啤酒，就成为超高品质的啤酒。采用本发明的方法还可以快速地提供大量的高品质啤酒菌种。因此，采用本发明的方法，可以取得良好的经济效益。

表 1

酿酒酵母、

椭圆酿酒酵母、

薛瓦酵母、德尔布酵母、蒙古德尔布酵母、少孢酵母、发酵性酵母、洛格酵母、蜂蜜酵母、小椭圆酵母、卵形酵母、罗斯酵母、鲁氏酵母、清酒酵母、树状假丝酵母、朗比克假丝酵母、克鲁斯酵母、解脂假丝酵母、中型平滑假丝酵母、近平滑假丝酵母、铁红酵母、皱褶假丝酵母、热带假丝酵母、产朊假丝酵母、阿舒假囊酵母、白地霉、异常汉逊酵母、阿拉伯糖醇汉逊酵母、杰丁汉逊酵母、土星汉逊酵母、施氏汉逊酵母、亚膜汉逊酵母、柠檬形克勒克酵母、油脂酵母、粉状毕赤酵母、膜醭毕赤酵母、红冬孢酵母、红酵母、小红酵母、深红酵母、卡尔斯酵母、葡萄汁酵母、威尔酵母、路德类酵母、中国类酵母、八孢裂殖酵母、栗酒裂殖酵母、掷孢酵母、白球拟酵母、无名球拟酵母、球拟酵母、平常球拟酵母、贝雷丝孢酵母、头状丝孢酵母、皮状丝孢酵母、威克酵母。

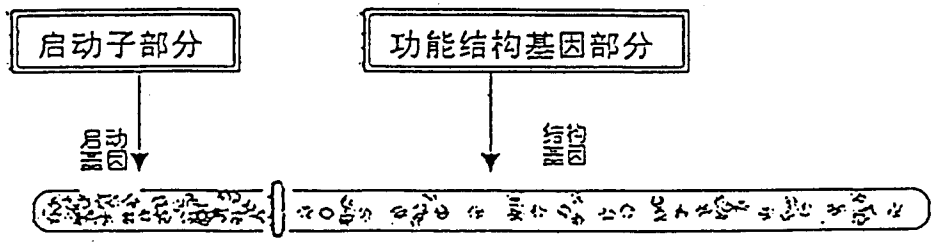


图 1

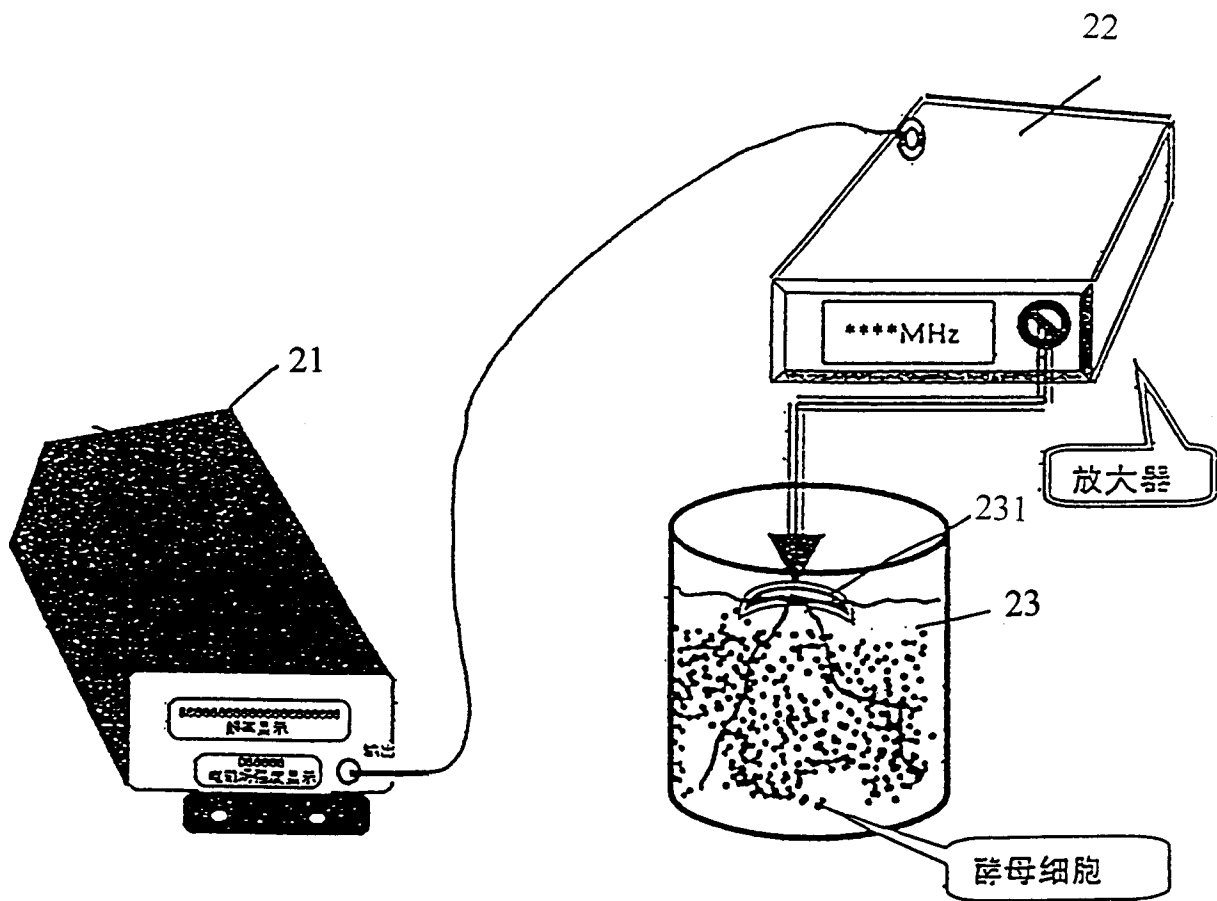


图 2

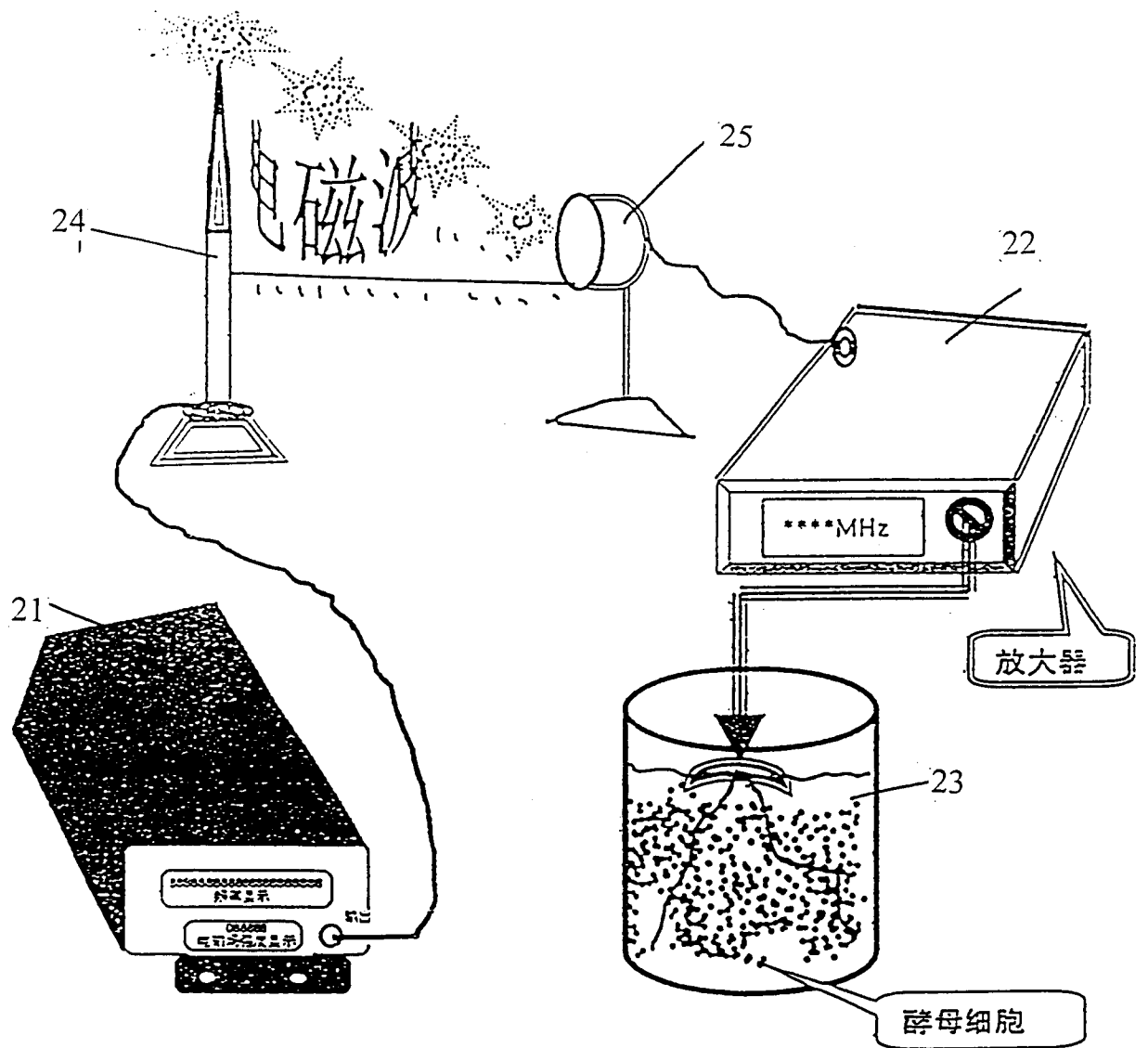


图 3

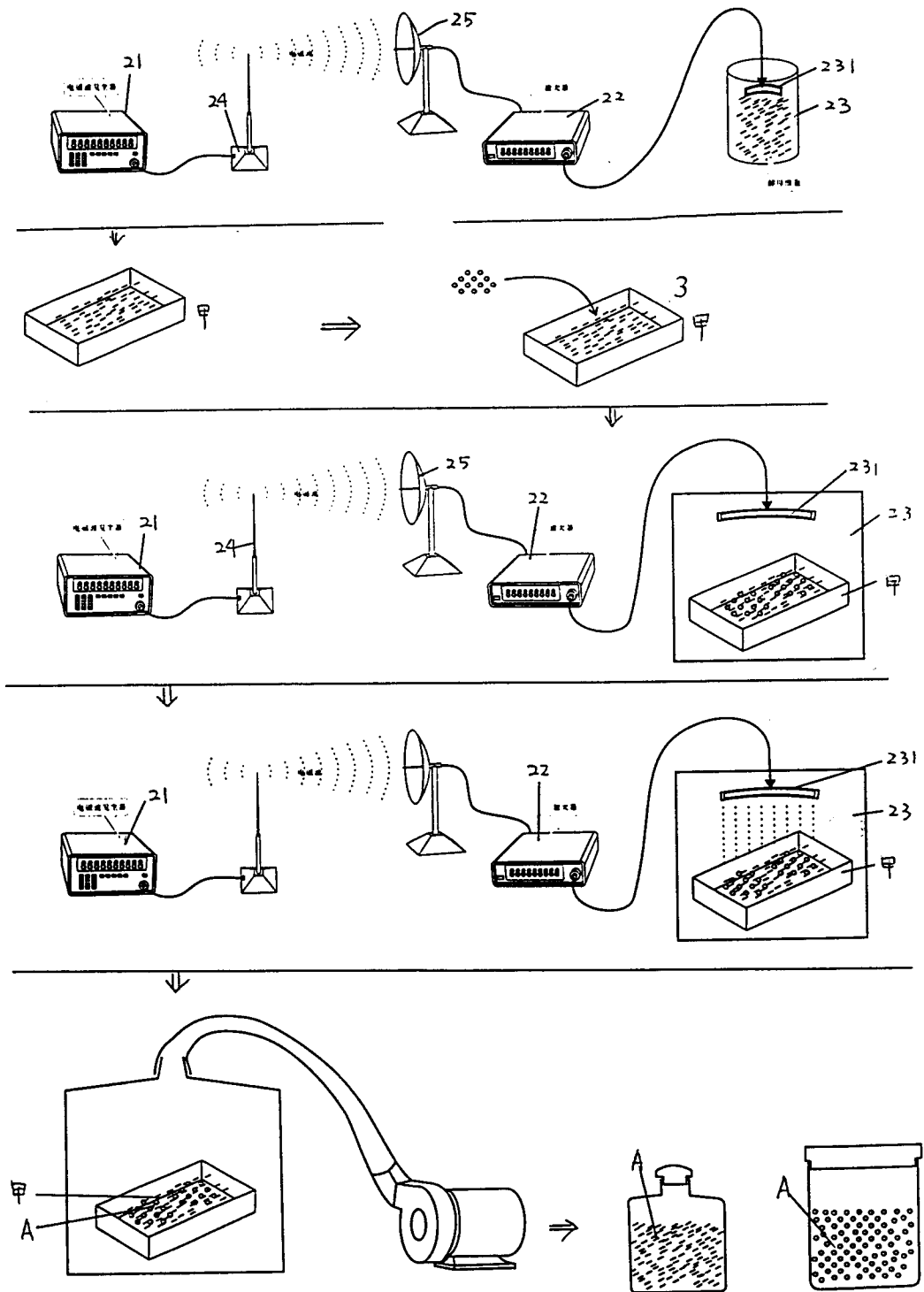


图 4

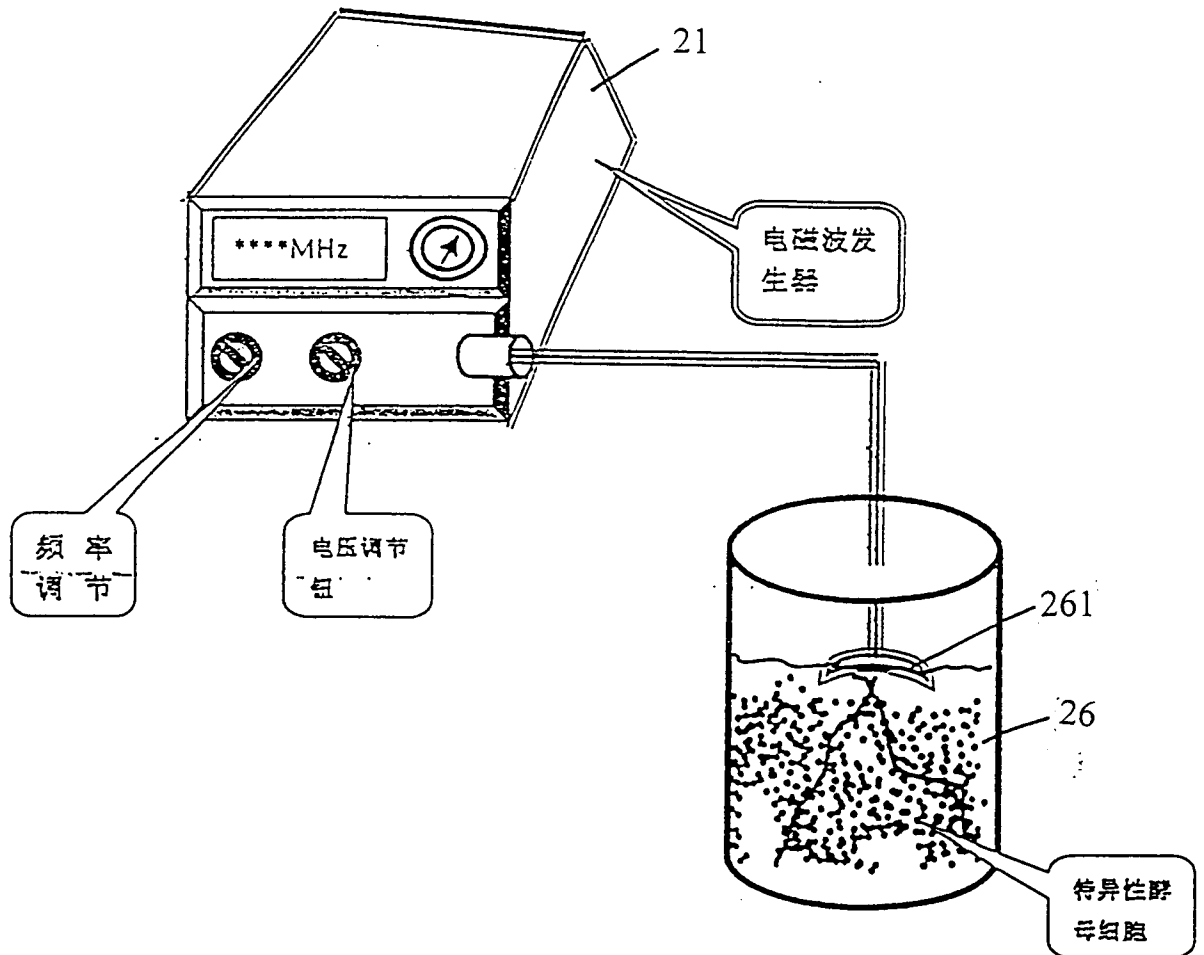


图 5

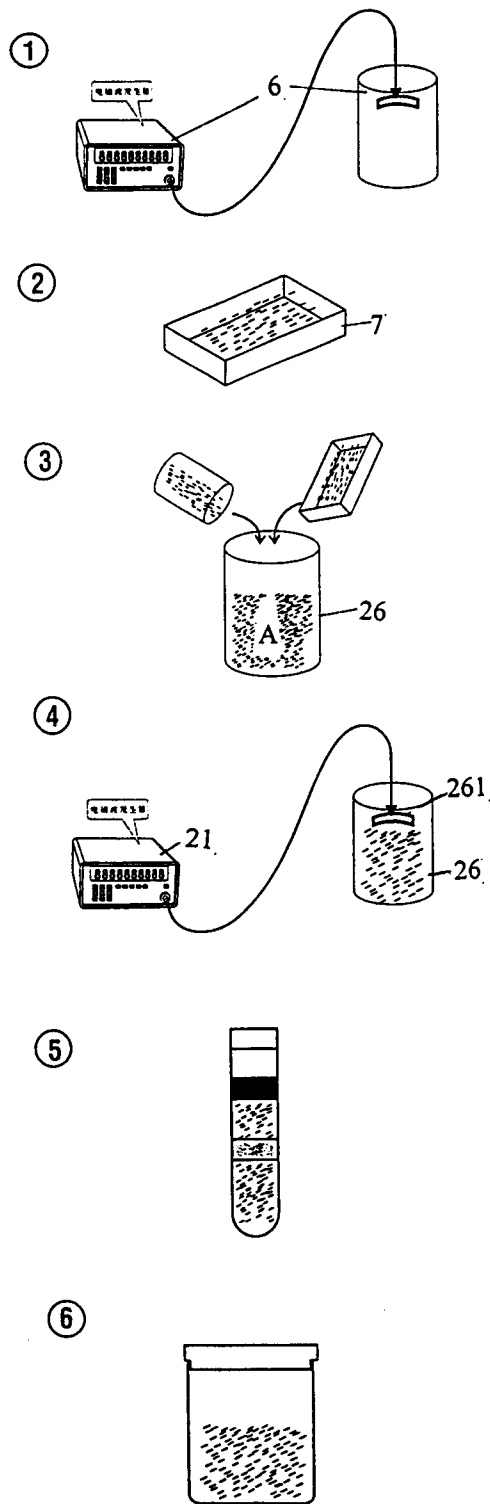


图 6