

PIJIU SHENGCHAN
YOUHAI WEISHENGWU
JIANYAN YU KONGZHI

啤酒生产有害微生物

检验与控制

王树庆 王瑞明 编著



化学工业出版社

啤酒生产有害微生物 检验与控制

王树庆 王瑞明 编著



化学工业出版社

·北京·

本书就啤酒生产过程中有害菌的分类、特点、危害、检验方法和预防控制措施进行了详细的阐述。全书共分八章,第一章着重介绍了啤酒生产有害微生物的来源、分类及对啤酒质量的影响;第二章对啤酒生产中的各种污染细菌,包括革兰阳性菌和革兰阴性菌的种类、特点等进行了详细的介绍,并着重介绍了啤酒酿造有害细菌的酒花抗性机制;第三章介绍了啤酒生产过程中的野生酵母菌分类及特性;第四章着重介绍了传统的啤酒生产中有害微生物的检测及鉴定技术;第五章介绍了微量热法、抗阻测定、流动细胞计数、小菌落计数、直接表面荧光滤膜计数、免疫检测、ATP生物发光检测技术、聚合酶链反应检测等一些先进的啤酒有害菌检测技术;第六章重点介绍了清洗剂和杀菌剂的选择、生产设备的清洗方式等啤酒生产的清洗和消毒技术;第七章、第八章阐述了啤酒生产过程中污染微生物控制的关键点及控制程度,重点介绍了纯生啤酒生产过程的无菌控制措施。

本书内容丰富,实用性强,适用于啤酒工业的技术人员、微生物检验人员、生产人员阅读,也可作为相关专业大专院校师生的参考资料。

图书在版编目(CIP)数据

啤酒生产有害微生物检验与控制/王树庆,王瑞明编
著. —北京:化学工业出版社,2010.1
ISBN 978-7-122-06911-5

I. 啤… II. ①王…②王… III. 啤酒-微生物检定
IV. TS262.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第192588号

责任编辑:张彦

文字编辑:周倜

责任校对:陶燕华

装帧设计:周遥

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印装:大厂聚鑫印刷有限责任公司

720mm×1000mm 1/16 印张12 字数216千字 2010年1月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:35.00元

版权所有 违者必究

前 言

我国啤酒近年来以 6%~7% 的速度增长, 继续保持“世界啤酒第一产销大国”的地位。啤酒的生产品种也向多样化、个性化方向发展, 产品质量明显提高, 企业规模不断扩大, 啤酒工业整体装备水平不断提高, 但是与国外先进水平相比还有较大的差距, 特别是在啤酒酿造中有害微生物的检测技术与研究方面, 同国外相比还有较大的差距。

啤酒工业发达国家早在 20 世纪 30 年代就开始对啤酒酿造中的污染细菌进行了大量研究工作, 逐步建立起了一套完善的啤酒酿造有害微生物的检测与监控体系, 研究确定了大量的啤酒有害菌检测用培养基, 特别是一些厌氧微生物的检测培养基, 这些培养基在检测啤酒有害菌方面发挥巨大的作用。在啤酒有害菌的快速检测技术方面进行了大量的研究工作, 开发了许多有害菌的快速检测技术, 如 PCR 技术、荧光素酶测定技术、ATP 生物发光法检测技术等, 这些技术的应用大大缩短了有害微生物的检测与鉴定时间。对生产过程中各工序有害微生物的控制方面也有明确的要求, 使啤酒厂有害微生物的检测与控制工作达到了一个新水平。

在对啤酒酿造中有害微生物的检测方面, 我国大多数企业仍然采用传统的平板培养检测技术, 不但检测时间长, 而且只限于细菌总数和大肠菌群的检测, 一般用好氧培养来检测生产过程的污染微生物, 这两项指标和检验方法不能准确地反映出啤酒生产过程真正污染的程度。虽然我国对啤酒产品的卫生指标有国家标准规定, 但对生产过程的卫生控制和微生物检验没有明确的规定。因此, 许多啤酒厂的微生物检验实际上作用不是很大。

在啤酒酿造过程中, 厌氧菌的危害比好氧菌的危害性要大, 主要原因有两个方面, 一方面是随着生产技术的不断提高, 啤酒酿造过程中溶解氧的水平愈来愈低; 另一方面啤酒酿造过程基本上都是在厌氧条件下进行的。好氧菌在转入无氧状态后会停止生长或死亡。对啤酒酿造有严重影响的污染菌主要是长时间发酵过程污染的厌氧菌, 因此, 啤酒生产过程的微生物控制重点应放在厌氧菌的检测和控制上。

目前, 纯生啤酒、低酒精度啤酒、无醇啤酒、低苦味啤酒已成为啤酒产品的

主流，这些啤酒新品种的开发与研制对啤酒微生物的管理与控制工作提出了新的挑战，因为这些啤酒更容易被微生物污染。所以，目前啤酒厂微生物的控制与管理工作比以往任何时候都显得重要，啤酒工厂必须建立一套完整的微生物检测和控制体系，加强微生物的控制，建立完善的管理制度，快速而准确地检出引起啤酒腐败的污染菌，这样才能真正减少和解决污染，提高产品质量。

本书综合整理了国内外有关啤酒有害微生物方面的资料，对啤酒酿造中有害微生物的种类、特点、检测与鉴定、预防及控制等方面进行了详细介绍，基本上反映了啤酒有害微生物研究方面的最新内容，对提高我国啤酒行业的微生物检测与控制水平有一定的指导作用。

在本书的编写过程中得到了济南啤酒集团赵萍、新疆啤酒厂张丽以及山东轻工业学院中德啤酒技术中心董小雷老师的大力支持与帮助，在此一并表示感谢。由于编者水平有限，书中难免有不妥之处，敬请同行指正。

编者

2009年10月于济南

目 录

第一章 绪论	1
第一节 啤酒生产中的有害微生物污染	1
第二节 有害微生物污染对啤酒质量的影响	3
第三节 啤酒有害微生物的来源	4
第四节 啤酒生产中有害微生物的分类	4
一、专性啤酒有害微生物	5
二、潜在啤酒有害微生物	5
三、间接啤酒有害微生物	5
四、指示微生物	6
五、潜伏微生物	6
第五节 啤酒生产中有害微生物研究的意义	6
第二章 啤酒生产中的细菌	8
第一节 概况	8
第二节 革兰阳性菌	9
一、乳杆菌属	10
二、片球菌属	16
三、其他革兰阳性菌	18
第三节 革兰阴性菌	20
一、醋杆菌属	20
二、葡糖杆菌属	21
三、肠杆菌科	22
四、发酵单胞菌属	24
五、梳状菌属	24
六、巨球形菌属	25
七、月形单胞菌属	25
八、嗜发酵菌属	26
九、其他革兰阴性菌	26

第四节 啤酒生产的有害细菌	27
一、有害细菌的种类	27
二、乳酸菌的酒花抗性	28
三、酒花中的抗菌类化合物	29
四、乳酸菌的酒花抗性机制	30
第三章 啤酒生产中的野生酵母	32
第一节 酵母的分类	32
第二节 野生酵母的特征	34
第三节 野生酵母的类型	35
第四节 野生酵母污染对啤酒质量的影响	36
一、发酵型酵母	37
二、嗜杀酵母	38
三、培养酵母	38
四、好氧酵母	38
第四章 啤酒生产中有害微生物的检测及鉴定	40
第一节 啤酒生产中有害微生物的检测程序	40
一、检验取样	41
二、样品处理	45
三、选择性微生物培养基	46
四、培养方法	48
五、显微观察技术	52
六、计数和结果的报告	53
第二节 啤酒生产中野生酵母的检测与鉴定	54
一、野生酵母的检测方法	54
二、野生酵母的检查要点	62
三、野生酵母的鉴定	62
第三节 啤酒生产中有害细菌的检测	63
一、啤酒厂常遇的有害细菌	63
二、啤酒生产中有害细菌的检测方法	64
三、啤酒生产过程中有害细菌的检测方法	68
第四节 啤酒生产中有害细菌的鉴定	72
一、啤酒生产中有害细菌的鉴定程序	72
二、有害细菌在培养基上的生长特性	72
三、有害细菌的形态学检查	74

四、细菌的生物化学试验	77
五、啤酒生产中有害细菌常用的鉴定方法	84
第五章 啤酒生产中有害微生物的快速检测与鉴定技术	88
一、微量量热法	88
二、抗阻测定技术	89
三、流动细胞计数技术	90
四、小菌落检测法	91
五、直接表面荧光滤膜技术	91
六、免疫检测技术	92
七、ATP 生物发光检测技术	93
八、聚合酶链反应检测技术	94
九、其他方法	96
第六章 啤酒生产的清洗和消毒技术	98
第一节 清洗的基本原理	98
一、污物的存在形式	98
二、设备粗糙度与污物的关系	99
三、对清洗过程的基本要求	101
四、影响清洗的因素	102
第二节 清洗剂与杀菌剂	103
一、清洗剂	103
二、杀菌剂	107
三、清洗剂和杀菌剂的应用	110
四、清洗剂和杀菌剂对设备的影响	111
第三节 清洗方式	112
一、技术要点	113
二、CIP 清洗系统	116
三、CIP 清洗系统的缺陷	118
四、CIP 清洗的方式	118
第四节 清洗杀菌技术	120
一、传统工艺生产中的清洗杀菌技术	120
二、现代生产中的实用清洗杀菌技术	122
第七章 啤酒生产过程中污染微生物的控制	129
第一节 啤酒生产过程中的微生物污染	129
一、微生物污染的来源	129

二、微生物污染的类型·····	130
三、生产过程中的微生物污染·····	131
第二节 啤酒生产中微生物污染的关键控制点与控制要求·····	134
一、污染微生物的关键控制点·····	134
二、污染微生物的控制要求·····	135
第三节 啤酒生产过程中微生物污染的控制·····	137
一、产品控制·····	138
二、生产工艺控制·····	138
三、清洗灭菌控制·····	141
四、管路设计控制·····	142
五、二次染菌的控制·····	143
六、监测制度控制·····	143
七、管理控制·····	145
第八章 纯生啤酒的无菌控制·····	147
第一节 无菌过滤技术与系统简介·····	147
一、无菌过滤的技术要求·····	147
二、纯生啤酒无菌过滤系统·····	148
三、过滤操作和再生·····	150
第二节 纯生啤酒的无菌灌装系统·····	152
一、热处理法灌装系统·····	152
二、冷处理法灌装系统·····	160
第三节 无菌灌装工艺要求及其操作规程·····	163
第四节 无菌灌装车间卫生规范·····	164
一、洁净室及工作人员卫生要求·····	164
二、灌装车间设备卫生要求·····	165
第五节 纯生啤酒的取样与检测·····	166
一、成品的取样与检测·····	167
二、生产过程关键点的取样与检测·····	167
附录 1 酵母各属检索表 (J. Lodder, 1970) ·····	170
附录 2 酵母属分种的检索表 (J. Lodder, 1970) ·····	173
附录 3 啤酒厂重要的病害野生酵母形态与生理特征 ·····	177
参考文献·····	180

第一章 绪 论

啤酒是一种发酵饮料，它的酿造是一个复杂的过程，涉及植物学、生物化学、化学和微生物学等学科。虽然啤酒的生产已经有五千多年的历史了，但是对其酿造微生物学原理的理解才有一百五十多年的时间，而利用微生物酿造学原理来提高生产效率和保证产品质量时间就更短了。那时人们对啤酒生产的原理还不了解，特别是对生产过程中的主要微生物的作用还未认识。这些微生物在生产过程中不但抑制有害微生物的生长和繁殖，而且改善食品的口感和结构。随着知识的不断增加，人们逐渐认识到，啤酒质量的提高、发酵周期的缩短、啤酒的风味、啤酒的生物稳定性等都与微生物有关，所以说啤酒自生产以来就与微生物有着密切的关系。同样自从啤酒生产以来，因微生物的污染而造成的啤酒质量问题也一直困扰着酿造者。可喜的是 12~13 世纪，酒花在啤酒酿造过程中的使用，开创了啤酒生产技术的里程碑。由于酒花的抗菌作用，使得啤酒生产过程中微生物的污染问题显著降低，同时一些致病菌，如鼠伤寒沙门菌 (*Salmonella typhimurium*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 等也在啤酒中不能生长，因此，啤酒长期以来一直被认为是安全性食品。同时啤酒酿造过程中的一些因素，如较低的 pH 值、一定的酒精含量、高浓度的二氧化碳含量以及低的溶氧量等，也限制了许多微生物的生长。并且啤酒中的营养物质也极微量，所以它并不是微生物理想的生长环境。尽管如此，仍然有一些微生物能够在其中生长，特别是那些对啤酒质量有影响作用的有害微生物。这些微生物在啤酒中的生长繁殖，严重影响了啤酒的质量，如引起啤酒风味的变化，影响啤酒的生物稳定性等。

第一节 啤酒生产中的有害微生物污染

麦汁由于营养丰富，很容易受到微生物的污染，因此，麦汁在冷却后或冷却过程中，应及时接种培养酵母，以防止被微生物污染。相比而言，啤酒由于具有较低的 pH 值 (3.8~4.7)、一定含量的酒花树脂 (17~55mg/L 异 α -酸)、0~80g/L 的酒精含量、高的二氧化碳含量 (约 0.5%，w/v)、低的溶氧量等不利于微生物生

长的条件，所以只有一部分微生物能够在其中生长。这些微生物是啤酒有害细菌和野生酵母，它们能够在厌氧和营养缺乏的环境中生长。这些有害微生物的污染引起啤酒酿造的一系列问题，例如，造成啤酒混浊、产生异味、造成异常发酵等。啤酒厂一旦遭到这些有害微生物的污染，不但严重影响产品的质量，而且会给啤酒厂造成直接经济损失。表 1-1 为近几年来国外报道的啤酒有害微生物污染统计情况。

表 1-1 啤酒厂有害微生物污染情况 单位：次

微生物种类	2002 年	2003 年	2004 年	2005 年	2006 年	2007 年
短乳杆菌 (<i>L. brevis</i>)	36.0	42.0	40.0	50.0	42.7	48.8
林特奈乳杆菌 (<i>L. lindneri</i>)	10.0	4.0	10.0	7.5	12.7	11.4
<i>L. brevisimilis</i>	5.0	1.0	1.0	1.9	0	2.4
植物乳杆菌 (<i>L. plantarum</i>)	2.0	4.0	2.0	0.9	0.7	2.4
干酪乳杆菌 (<i>L. casei/paracasi</i>)	1.0	9.0	5.0	8.5	4.0	4.1
棒状乳杆菌 (<i>L. coryniformis</i>)	6.0	11.0	4.0	0.9	2.7	5.7
有害片球菌 (<i>Pediococcus damnosus</i>)	4.0	14.0	12.0	14.2	21.3	12.2
梳状菌属 (<i>Pectinatus</i>)	31.0	3.0	6.0	4.7	10.0	6.5
巨球形菌属 (<i>Megasphaera</i>)	6.0	2.0	4.0	3.8	4.0	1.6
变形肥杆菌 (<i>Obesumbacterium proteus</i>) 或成团肠杆菌	2.0	1.0	1.0	4.7	0	0
酵母属的野生酵母 (<i>Saccharomyces wild yeasts</i>)	0	6.0	11.0	4.7	2.0	3.3
非酵母属的野生酵母 (<i>Non-Saccharomyces wild yeasts</i>)	7.0	3.0	4.0	0	0	1.6

由表 1-1 看出引起啤酒腐败最多的微生物是短乳杆菌 (*Lactobacillus brevis*)，此外，林特奈乳杆菌 (*L. lindneri*) 和有害片球菌 (*Pediococcus damnosus*) 也是引起啤酒腐败的较多的微生物。与此相反，Methner 通过对另一家啤酒厂污染微生物的研究发现梳状菌和野生酵母是引起啤酒腐败的较多的微生物。而对于未加酒花或低酒精度啤酒来说，污染微生物的种类会更多。再者如果啤酒酿造过程中，工艺条件控制不当，啤酒污染微生物的种类也会有所不同，表 1-2 为啤酒酿造过程中厌氧条件控制不当时好氧菌的污染情况。

表 1-2 啤酒酿造过程中厌氧条件控制不当时好氧菌的污染情况

种类	霉菌	好氧酵母	发酵酵母	乳酸菌	乙酸菌	发酵单胞菌	肠杆菌	厌氧细菌
过程								
大麦和麦芽	+	+	—	+	+	—	+	—
发酵初期	—	+	+	+	+	—	+	—
发酵中期	—	—	+	+	—	+	—	—
发酵后期	—	+	+	+	+	+	—	+

由此可见，每个啤酒厂污染有害微生物的情况和种类各不相同，而且酿造过

程中各阶段污染有害微生物的情况和种类也不相同，这与每个啤酒厂生产过程中卫生条件的控制密切相关。我国现有的啤酒厂，也都有不同程度的厌氧菌或野生酵母污染现象的存在，对产品质量造成影响，如某些啤酒的双乙酰含量有的高达1.3mg/L，是正常生产的十几倍，有的出现异常发酵，有的造成啤酒混浊、酸败而产生异杂腐败气味等，严重影响了产量质量。如某啤酒厂由于厌氧菌的严重污染，引起倒罐，造成重大的经济损失等。这说明啤酒污染微生物，特别是有害微生物对啤酒酿造的影响巨大。作为酿造者来说，最重要的应该是认识到啤酒微生物污染的危害性，这样才能保持高度的警惕性，防止在啤酒酿造过程中发生微生物污染。

第二节 有害微生物污染对啤酒质量的影响

微生物污染啤酒以后不一定会对产品的质量造成影响，但是啤酒受到有害微生物的污染后，则一定会对啤酒的质量产生一定程度的影响。啤酒酿造受到有害微生物污染后会引引起一系列的产品质量问题，这些啤酒有害菌会导致啤酒混浊，增加啤酒的浊度，引起啤酒过滤困难，使啤酒变质，其代谢产物还可改变啤酒的香味和风味等。表 1-3 为有害微生物污染对啤酒发酵和产品质量的影响情况。

表 1-3 有害微生物污染对啤酒发酵和产品质量的影响

种类(属)	对发酵的影响	对产品质量的影响		
		混浊度	黏度	风 味
野生酵母	过高的发酵度	+	—	酯味、酚味、杂醇油高、双乙酰高、H ₂ S 味
乳酸菌 (<i>Lactobacillus</i>) 或片球菌 (<i>Pediococcus</i>)	—	+	—	乳酸、醋酸、双乙酰、丙酮
醋酸菌 (<i>Acetobacter</i>) 或氧化葡萄糖杆菌 (<i>Gluconobacter</i>)	—	+①	+①	乙酸
肠杆菌 (<i>Enterobacteria</i>)	延缓发酵速率,形成亚硝基化合物	—	—	二甲基硫化合物、乙醛、杂醇油、乙酸、酚类化合物、连二酮
发酵单胞菌 (<i>Zymomonas</i>)	—	+②	—	H ₂ S、乙醛
梳状菌 (<i>Pectinatus</i>)	—	+	—	H ₂ S、甲硫醇、乙酸、乳酸、丙酸、丁二酸、乙偶姻
巨球形菌 (<i>Megasphaera</i>)	—	+	—	H ₂ S、丁酸、戊酸、己酸、乙酸乙偶姻
月形单胞菌 (<i>Selenomonas</i>)	—	+	—	乙酸、乳酸、丙酸
嗜发酵菌 (<i>Zymophilus</i>)	—	+③	—	乙酸、丙酸
梭状芽孢杆菌 (<i>Clostridium</i>)	—	—	—	丁酸、戊酸、己酸、丙酸

① 表示有氧存在时。

② 表示在未成熟啤酒中。

③ 表示在 pH5~6 时。

啤酒作为纯微生物发酵的产品，保持纯正清爽和产品质量的一致性是最为重要的，但是在啤酒生产过程中，许多环节都有有害菌污染入侵的可能性，由于污染而影响啤酒的风味和稳定性，给啤酒厂保持产品质量的稳定性提出了严峻的挑战。通过了解有害微生物对啤酒质量的影响，有助于人们对污染微生物的类型有一个初步的认识，加强污染微生物检测的针对性。

第三节 啤酒有害微生物的来源

啤酒生产中的杂菌主要来自空气、水、接种酵母、回收的旧瓶子、周围环境、原料和设备等，而接种酵母的污染和发酵过程中的无菌程度特别重要。

啤酒生产麦汁和灌装过程中需要通风，如空气不洁，则易造成污染；酵母扩大培养、酵母泥贮藏等开放操作，由于与空气直接接触，容易造成污染。

工厂用水不洁净，用以洗涤发酵罐、贮酒罐、酵母、瓶子等，就可能造成啤酒染菌。特别是洗涤酵母的水应绝对无菌，否则酵母会因染菌而退化，且会蔓延到成品啤酒中，引起败坏。

原料也带入一部分杂菌，但在麦汁制备过程中，经过麦汁煮沸，杂菌已被消灭掉。但是在后发酵、贮酒、灌装等过程中使用的辅料，如抗氧化剂、酶制剂等应严格控制污染情况。

不洁的设备会带来污染，特别是与麦汁、啤酒和酵母接触的暴露部分，如管道的弯头、阀门、连接等处和设备的排污口，均易染菌，特别是设备、管道、阀门等存在死角的地方应注意彻底清洁灭菌。此外，设备表面尤其是与产品直接接触的表面应平滑，易于清洗，减少积垢，这样才能防止杂菌增殖。

周围环境的卫生状况也影响啤酒污染，特别是一些与啤酒直接接触的关键环节。如灌装过程中，从洗瓶机到灌装机间的无菌控制程度对成品啤酒的微生物污染具有严重的影响。

总之，在啤酒酿造过程中，凡是与啤酒生产接触的部位都可能是污染微生物的源头，因此，在啤酒酿造中应牢固树立无菌意识，减少或杜绝微生物污染啤酒的途径。

第四节 啤酒生产中有害微生物的分类

啤酒酿造中的污染微生物有细菌和酵母菌，以前人们将啤酒酿造中发现的污染微生物统称为有害微生物，实际上这种观点是不正确的。啤酒中的污染微生物

是否为有害微生物，关键取决于它们对啤酒质量是否造成危害。如果这种污染微生物对啤酒的质量不造成危害，则认为是无害的；反之，则认为是有害的。因此，根据对啤酒质量的危害程度，可将啤酒酿造中的污染微生物分为以下五种类型。

一、专性啤酒有害微生物

专性啤酒有害微生物 (absolute beer spoilage organisms)，这类微生物是指那些能够较快地适应啤酒酿造环境，在生产过程中以及在成品啤酒中生长繁殖，引起啤酒风味改变，造成啤酒混浊或沉淀等，给啤酒质量造成严重损害的微生物。这类微生物包括：短乳杆菌 (*L. brevis*)、林特奈乳杆菌 (*L. lindneri*)、*Lactobacillus brevisimilis*、坚硬乳杆菌 (*L. frigidus*)、棒状乳杆菌 (*L. coryniformis*)、干酪乳杆菌 (*L. casei*)、有害片球菌 (*P. damnosus*)、嗜啤酒梳状菌 (*P. cerevisiophilus*)、福瑞森加梳状菌 (*P. frisingensis*)、蜡形巨球形菌 (*M. cerevisiae*)、产乳酸月形单胞菌 (*S. lacticifex*) 和酵母属中的野生酵母如糊精酵母 (*Saccharomyces diastaticus*) 等。而且，随着微生物分离和鉴定技术的提高，还会发现一些新的专性啤酒有害微生物。

其中产乳酸细菌对啤酒质量的危害程度，与啤酒的 pH 值和酒花树脂有着密切的关系。对啤酒质量危害性最大的乳酸菌属于异型乳酸发酵菌，如短乳杆菌 (*L. brevis*)、林特奈乳杆菌 (*L. lindneri*) 等，而兼性异型乳酸发酵菌对啤酒质量危害性最弱。

二、潜在啤酒有害微生物

潜在啤酒有害微生物 (potential beer spoilage organisms)，这类微生物是指一般情况下，不在啤酒中生长，而当啤酒某些指标发生变化时，例如，pH 值升高、酒花苦味质含量降低、发酵度降低、酒精含量低、含氧量升高等时，能够在啤酒中生长的微生物。这类微生物有：植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)、棉子糖乳球菌 (*Lactococcus raffinolactis*)、肠膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*)、克氏微球菌 (*Micrococcus kristinae*)、意外片球菌 (*Pediococcus inopinatus*)、运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*)、棉子糖发酵单胞菌 (*Zymomonas raffinivorans*) 和酵母属中的野生酵母如巴氏酵母 (*S. pastorianus*) 等。

三、间接啤酒有害微生物

啤酒酿造过程中的有害微生物也叫间接啤酒有害微生物 (indirect beer

spoilage organisms), 这类微生物是指那些在啤酒生产过程中污染而引起啤酒风味变化, 但它们在成品啤酒中不生长的一类微生物。这类微生物一般是在接种酵母中或在发酵开始时造成污染, 引起成品啤酒出现质量问题。肠杆菌属、酵母属中的野生酵母和一些好氧酵母等属于该类微生物。肠杆菌属中的变形肥杆菌 (*Obesumbacterium proteus*) 和水生拉恩菌 (*Rahnella aquatilis*) 是啤酒酿造过程中最重要的间接啤酒有害微生物。从麦汁中分离出来的丁酸产生菌中的梭菌属也属于这类微生物。

四、指示微生物

指示微生物 (indicator organisms) 是啤酒酿造中的一类无害微生物。这类微生物不引起啤酒的质量问题, 但是它们的存在可以作为生产过程中卫生控制不好或者生产过程中发生污染的一个信号。这类微生物也经常同啤酒有害微生物的存在有密切的关系。这类微生物有: 醋酸菌属 (*Acetobacter*)、乙酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*)、氧化葡萄糖杆菌 (*Gluconobacter oxydans*)、克雷伯菌属 (*Klebsiella*) 和好氧野生酵母等。

五、潜伏微生物

潜伏微生物 (latent organisms), 这类有害微生物是指那些在啤酒生产过程中偶尔污染的微生物, 它们甚至能够在整个酿造过程中存在, 并且能够从成品啤酒中分离出来。它们一般来自生产周围环境, 如水、空气、土壤等。如果这些微生物污染经常发生, 则表明啤酒生产过程中的卫生条件控制不好。孢子产生菌、肠杆菌属、微球菌和产膜酵母等属于该类微生物。

第五节 啤酒生产中有害微生物研究的意义

啤酒的生产已有几千年的历史了, 但是当初人们对啤酒的生产原理并不清楚, 所以所生产的啤酒质量时好时坏。随着生产实践的不断提高, 人们逐渐掌握了生产质量好的啤酒的方法, 即从一批生产质量好的啤酒中回收一种东西, 反复使用, 可以保证所生产的啤酒质量。直到 19 世纪 60 年代后期, 法国科学家巴斯德发现并揭示了酵母是啤酒生产的主要微生物, 同时也发现了细菌和野生酵母可引起啤酒的腐败后, 人们才开始关注啤酒酿造中的污染微生物, 特别是那些对啤酒质量有影响的有害微生物, 啤酒酿造中有害微生物的研究进入一个新的时期。

早在 20 世纪 30 年代，西姆惠尔（Shimwell）就开始研究并分离了大量啤酒酿造中的污染细菌，奠定了近代啤酒酿造细菌学的基础。在五六十年代很少有新发现的污染细菌的报道，啤酒厂重点放在控制一些已知的污染细菌。近几十年来，随着啤酒生产技术的提高和生物技术的不断发展，逐步建立起了一套完善的啤酒酿造有害微生物的检测与监控体系，一些啤酒有害菌的快速检测技术也逐渐在啤酒酿造中开始应用，使啤酒的酿造能够在“无菌”条件下进行，对保证啤酒质量的稳定性奠定了坚实的基础。

目前，我国在对啤酒有害微生物检测方面还存在以下几方面的缺陷：一是产品的卫生指标有国家标准规定，也有规范的检验方法，但对生产过程的卫生控制和微生物检验，没有明确的规定；二是用一般培养法（好氧培养）来检测生产过程的污染微生物，特别是用检验啤酒成品的微生物指标——细菌总数和大肠菌群来进行生产过程微生物控制，实际上，这两项指标和检验方法基本上无法反映出啤酒生产过程的真正污染；三是仍然采用传统的平板培养方法来检测，该方法检测周期较长，且专一性差，对生产的指导意义不大。因此，有时出现产品的外观和口味已经发现异常了，实验室的微生物检查结果仍然合格。啤酒酿造过程除麦汁制造接触空气，冷麦汁要通风外，自酵母繁殖消耗氧、发酵产生二氧化碳后，整个发酵、后熟过程都处在二氧化碳饱和的无氧状态。在缺氧和无氧状态下，会污染生长一些厌氧菌，而好氧菌在转入无氧状态后会停止生长或死亡。对啤酒酿造有严重影响的污染菌主要是长时间发酵过程污染的厌氧菌，因此，啤酒生产过程的微生物控制重点应放在厌氧菌的检测和控制上。

虽然啤酒中的酒花树脂对有害微生物的生长有一定的抑制作用，但是由于麦汁和啤酒都含有多种氨基酸、糖、维生素、无机盐和微量元素，是微生物生长繁殖的良好基质，而啤酒酿造中许多过程是开放的，这又为微生物的入侵提供了方便。因此，在啤酒酿造的不同工段常出现不同程度的污染。啤酒的生产周期较长，又为有害微生物的生长提供了良好的条件。此外，微生物间能够形成菌团的特性，使得有害微生物对热、消毒和干燥的抵抗能力大大增强，由于啤酒酿造的设备，特别是发酵设备普遍采用低温清洗消毒工艺，因此，增加了啤酒有害微生物防治的难度。

啤酒酿造有害微生物研究的主要任务有以下几个方面：一是了解引起啤酒污染的有害微生物的特点；二是了解各种检测和鉴定有害微生物的方法；三是建立一套完善的有害菌检测和控制体系，控制各种可能出现的微生物污染。总之，只有在啤酒酿造的过程中消除有害微生物污染，或者使啤酒酿造过程中的有害微生物污染保持在最低限度内，才能生产出高质量的啤酒和保持产品质量的稳定性，因此，对于啤酒酿造中的有害微生物研究，无疑将具有特别重要的意义。

第二章 啤酒生产中的细菌

第一节 概 况

早在 19 世纪末，人们就认识到细菌是引起啤酒腐败的最重要的微生物。根据革兰染色法，可将细菌分为革兰阳性菌和革兰阴性菌两大类。1945 年，西姆惠尔（Shimwell）首次注意到革兰染色法对啤酒细菌学的重要性，指出革兰阳性菌对酒花树脂极其敏感，但是革兰阴性菌，则对酒花具有一定程度的抗性。后来研究证实，革兰阳性菌也会对酒花树脂产生一定程度的抗性。此外，西姆惠尔（Shimwell）对啤酒有害菌进行了系统的研究，他的研究在鉴定啤酒有害细菌方面具有很大的实用价值。

如前所述，由于酒花树脂的抗菌特性，再加上啤酒的营养成分极微量，以及啤酒较低的 pH 值和一定的酒精含量，限制了许多细菌在成品啤酒中的生长。而麦汁的营养成分要丰富得多，所以啤酒酿造过程中更容易受到微生物的污染，其污染微生物的种类要比污染啤酒的多。比较现在在啤酒酿造中发现的有害细菌，除了由于分类而造成的细菌的名称变化外，以及随着啤酒酿造过程中无氧控制水平的提高，增加了一些厌氧菌等外，基本上引起啤酒腐败的细菌种类几乎没有发生变化。因此，今天啤酒酿造所面临的有害微生物和以前一样，没有发生太大的变化。

乳杆菌属和片球菌属中的乳酸菌是啤酒酿造中最常见和危险的革兰阳性有害细菌，有些乳酸菌能够产生酒花抗性，增加了其对啤酒的危害性。微球菌属（*Micrococcus*）和葡萄球菌属（*Streptococcus*）中的一些细菌也能在啤酒中生存，在一定条件下克氏微球菌（*M. kristinae*）可在啤酒中生长并能引起啤酒的腐败。在特殊情况下，一些芽孢杆菌属中的好氧和孢子产生菌也可引起啤酒的质量问题，特别是对未加酒花的麦汁。醋酸产生菌是革兰阴性菌中对啤酒质量影响最大的有害菌，例如，氧化葡萄糖杆菌（*Gluconobacter oxydans*）、酸化醋杆菌（*Acetobacter aceti*）和巴氏醋杆菌（*A. pasteurianus*）等，这些细菌属于好氧菌。随着啤酒酿造过程中无氧控制技术的不断提高，这些好氧微生物对啤酒质量的危害