

啤酒酿造过程中微生物污染风险评估及快速检测方法研究

刘玲玲

福建省燕京惠泉啤酒股份有限公司 福建省泉州市惠安县 362100

摘要: 啤酒酿造是一个复杂且精细的纯种酵母的发酵过程,任何细菌以及外来野生酵母的污染均可能带来啤酒品质上的恶化,严重影响啤酒质量与风味。本评估,并运用快速检测方法,旨在为酿造企业构建全面风险防控体系、优化检测流程提供理论依据,助力啤酒行业稳健发展,提升产品质量与市场竞争力。

关键词: 啤酒酿造;微生物污染;风险评估;快速检测

在啤酒酿造漫长历史进程中,微生物一直扮演着核心角色。从麦芽汁制备到成品包装,微生物活动贯穿始终。然而,有害微生物污染如同隐匿的“敌人”,随时可能破坏酿造进程,导致啤酒浑浊、风味变差、保质期缩短等问题。目前啤酒酿造过程污染微生物传统培养技术检测时间长、结果严重滞后,准确评估微生物污染风险,及时快速检测,是保障啤酒品质、维护企业声誉的关键。

1. 啤酒酿造工艺概述

啤酒酿造是一个融合多学科知识与复杂工艺流程的过程,旨在将麦芽、水、啤酒花和酵母等原料转化为风味独特、口感宜人的啤酒。其主要包括麦芽粉碎、糖化、麦汁过滤、煮沸、发酵、过滤和包装等关键步骤。麦芽粉碎是酿造的起始步骤,通过粉碎设备将麦芽破碎,使其中的淀粉等物质更易在后续糖化过程中被酶分解。糖化则是利用麦芽自身的酶以及添加的酶制剂,将麦芽中的淀粉转化为可发酵性糖,形成麦芽汁。麦汁过滤是去除糖化过程中产生的麦糟等固体杂质,得到澄清的麦芽汁。煮沸环节不仅能杀灭麦芽汁中的微生物,还能使蛋白质变性沉淀,同时添加啤酒花,赋予啤酒独特的苦味、香气和防腐能力。发酵是酿造的核心阶段,酵母将麦芽汁中的糖分转化为酒精和二氧化碳,并产生多种风味物质。过滤是为了去除发酵液中的酵母和其他杂质,使啤酒更加澄清。最后,经过包装,将成品啤酒推向市场。了解啤酒酿造工艺的每一个环节,对于深入分析微生物在酿造过程中的生存环境、可能的污染途径以及如何进行有效的风险评估和检测至关重要。它为后续探讨微生物污染风险及防控策略提供了基础框架。

2. 啤酒酿造过程中微生物污染来源及种类

在啤酒酿造过程中,微生物污染来源广泛,主要包括原料、酿造设备、酿造用水、空气以及操作人员等方面。麦芽作为主要原料,可能携带各种细菌、霉菌和酵母菌。在麦芽的生长、收获、储存和运输过程中,若环境条件不当,微生物就会大量滋生。例如,在潮湿的环境下,霉菌容易在麦芽表面生长,产生毒素,影响啤酒质量。霉菌如曲霉、青霉等,在啤酒酿造环境中一旦滋生,其菌丝体和孢子会影响啤酒的色泽,使啤酒出现浑浊、变色等现象。此外,部分霉菌还会产生有害毒素,如黄曲霉毒素等,这些毒素对人体健康存在潜在危害,严重威胁啤酒的安全性。酿造设备如果清洁不彻底,残留的啤酒、麦汁等物质会成为微生物的“培养基”,使得细菌、酵母菌等微生物在设备表面形成生物膜,持续污染后续的酿造过程。酿造用水若未经过严格处理,可能含有各种水源性微生物,如大肠杆菌、假单胞菌等。

污染啤酒酿造的微生物种类繁多,对啤酒品质构成多方面威胁。常见细菌中,乳酸菌广泛存在且代谢活跃。在啤酒酿造环境中,乳酸菌能够利用麦芽汁中的糖类进行发酵,产生乳酸。随着乳酸含量的升高,啤酒的pH值下降,酸度显著增加,这不仅会改变啤酒原本的口感平衡,使其变得酸涩,还可能影响啤酒中其他风味物质的稳定性。醋酸菌同样具有破坏性,其具备将酒精氧化为醋酸的能力。在啤酒发酵后期或储存过程中,若醋酸菌污染发生,啤酒中的酒精会逐渐被转化为醋酸,导致啤酒散发出明显的酸败气味,严重破坏啤酒的风味,使其失去饮用价值。在啤酒酿造过程中,厌氧菌的快速检测也是至关重要,目前很多啤酒公司厌氧菌检测的培养时间5-7天,而且对于生长需求较为复杂的片球

菌属及乳杆菌来说,培养7天后生长效果并不是很理想,菌落只有针尖大小,不利于品管人员观察、计数。随若啤酒生产规模的不断扩大,啤酒污染菌的控制越来越受到酿酒师的重视,而且对污染微生物的监控手段提出了更高的要求。

在酵母菌类别中,野生酵母是不受欢迎的“闯入者”。与酿造过程中使用的纯种酵母不同,野生酵母代谢途径多样且难以控制。在发酵过程中,野生酵母可能产生诸如酚类、硫化物等不良风味物质,这些物质会掩盖啤酒原本应有的香气与风味,同时干扰纯种酵母的正常发酵进程,导致发酵速度异常、二氧化碳产生量不稳定等问题。准确识别这些污染微生物的种类及其特性,是科学开展风险评估与精准制定防控措施的基础与前提,对于保障啤酒质量与消费者健康至关重要。

3. 微生物污染对啤酒质量的影响

微生物污染对啤酒质量的影响是多方面的,从外观、口感、风味到保质期,都可能遭受严重破坏。

在外观上,微生物污染可能导致啤酒出现浑浊、沉淀等现象。例如,细菌或酵母菌的大量繁殖会使啤酒中的蛋白质、多糖等物质发生凝聚,形成肉眼可见的浑浊物,降低啤酒的透明度和美观度,影响消费者的第一印象。

口感方面,污染微生物的代谢活动会改变啤酒的化学组成,进而影响口感。乳酸菌发酵产生的乳酸会使啤酒的酸度增加,口感变得酸涩;某些细菌产生的蛋白酶会分解啤酒中的蛋白质,使啤酒的泡沫稳定性变差,口感变得淡薄^[1]。

风味是啤酒的灵魂所在,微生物污染对其破坏尤为严重。野生酵母在发酵过程中可能产生异味物质,如酚类、硫化物等,使啤酒带有不愉快的气味,掩盖啤酒原本的香气和风味。醋酸菌将酒精氧化为醋酸,使啤酒带有明显的酸败味,完全破坏了啤酒应有的风味平衡。

此外,微生物污染还会缩短啤酒的保质期。微生物在啤酒中持续生长繁殖,不断消耗营养物质,产生代谢废物,加速啤酒的变质过程,导致啤酒在货架期内就出现质量问题,给企业带来经济损失。深入研究微生物污染对啤酒质量的影响,有助于明确风险评估的重点和目标,为制定有效的防控策略提供依据。

4. 风险评估模型深度构建

微生物污染风险评估是保障啤酒质量的核心环节,通过构建科学合理的评估模型,能够全面、系统地分析污染的

可能性与影响程度。

风险评估模型一般遵循危害识别、危害特征描述、暴露评估及风险特征描述四个步骤。在啤酒酿造领域,危害识别是整个评估流程的基石。它要求企业和研究人员通过细致的调查与分析,确定可能污染啤酒的微生物种类及其来源。啤酒酿造的原料,如麦芽、啤酒花、酵母和水,在种植、收获、储存、运输及处理过程中,极易沾染各类微生物。设备长期使用后,若清洁不到位,会在管道、发酵罐等表面形成生物膜,成为微生物滋生的温床。此外,开放式的酿造环境,如车间通风口、操作区域等,以及未严格遵守卫生规范的操作人员,都可能成为微生物污染的源头。

危害特征描述则侧重于研究这些微生物对啤酒质量各方面的具体影响。微生物的代谢活动会显著改变啤酒的化学组成与物理性质。例如,乳酸菌大量繁殖会使啤酒酸度升高,口感酸涩,破坏原有的风味平衡;醋酸菌会将酒精氧化为醋酸,导致啤酒产生酸败味,严重影响口感与风味。某些微生物还会引发蛋白质凝聚,造成啤酒浑浊、沉淀,降低其透明度与美观度,同时加速啤酒变质,缩短保质期。

暴露评估旨在对微生物在酿造过程中进入啤酒的可能性与程度进行量化评估。这需要综合考量酿造工艺的各个环节,包括原料处理方式、设备清洁程度、酿造环境的卫生状况等。在开放式发酵过程中,空气与发酵液直接接触,微生物从空气中进入发酵液的风险较高。而密闭式发酵系统,若设备密封性良好,且定期进行消毒维护,微生物污染风险则相对较低。此外,原料的预处理方式,如麦芽的清洗、杀菌步骤是否到位,也会影响微生物的带入风险。

风险特征描述是将上述三个步骤的结果进行综合分析,从而确定微生物污染的风险水平。可采用定性或定量方法评估。定性评估常用风险等级表示,如高、中、低风险,这种方式简单直观,便于企业快速了解风险状况。定量评估则通过数学模型计算出具体风险数值,如基于概率统计的模型,考虑微生物的初始浓度、生长速率、传播途径等因素,能更精确地评估风险程度。构建这样的风险评估模型,能帮助企业提前识别潜在风险,采取针对性防控措施,降低污染概率与影响程度^[2]。

5. 快速检测技术在啤酒酿造中的应用

5.1 分子生物学检测方法

分子生物学检测方法以核酸为核心检测目标,凭借其

对微生物遗传信息的精准解析,在啤酒酿造微生物检测中发挥关键作用。聚合酶链式反应(PCR)是该领域的代表性技术,它利用DNA聚合酶在体外对特定DNA片段进行指数级扩增。针对啤酒酿造中常见的污染微生物,如乳酸菌、野生酵母等,设计特异性引物,引物能精准识别目标微生物的独特核酸序列。在PCR反应体系中,经过变性、退火、延伸等循环步骤,目标核酸片段得以大量扩增,通过凝胶电泳或荧光定量检测,可快速判断啤酒中是否存在相应微生物污染。

环介导等温扩增技术(LAMP)也是一种极具潜力的分子生物学方法。与PCR不同,LAMP能在等温条件下高效扩增核酸,无需复杂的温度循环设备。它通过设计多组特异性引物,识别靶标核酸的多个区域,在链置换DNA聚合酶作用下,短时间内合成大量扩增产物。该技术操作简便、反应迅速,特别适合在啤酒酿造现场或资源有限的环境中进行快速检测,为及时发现微生物污染提供了有力工具^[3]。

5.2 免疫学检测方法

免疫学检测方法基于抗原与抗体的特异性结合原理,实现对啤酒中微生物的快速检测。酶联免疫吸附测定(ELISA)是其典型代表,在啤酒微生物检测中应用广泛。首先将针对特定微生物的抗体固定在固相载体表面,当啤酒样品加入后,若存在相应微生物,其作为抗原会与固定抗体特异性结合。随后加入酶标记的二抗,二抗与已结合的抗原抗体复合物结合,形成“抗体-抗原-酶标二抗”夹心结构。加入底物后,酶催化底物发生显色反应,通过检测吸光度,即可判断样品中微生物的存在及含量。

胶体金免疫层析技术同样具有重要价值。在该技术中,将特异性抗体与胶体金颗粒结合,制备成金标抗体。检测时,啤酒样品在层析膜上流动,若样品中含有目标微生物,其与金标抗体结合形成复合物,在层析膜的检测线处与固定的抗体再次结合,形成肉眼可见的红色条带,实现对微生物的快速定性检测。该技术操作简便、检测速度快,可在短时间内给出结果,适用于啤酒酿造过程中的现场快速筛查^[4]。

5.3 传感器技术与生物传感器

传感器技术通过将物理、化学或生物信号转换为可检测的电信号、光信号等,实现对啤酒中微生物的实时监测。其中,生物传感器融合了生物识别元件与传感器技术,展现出独特优势。例如,基于电化学原理的微生物代谢传感器,利用微生物在代谢过程中产生或消耗的物质,如氢离子、电

子等,引起电极表面电位或电流的变化,通过检测这些电信号的变化,可实时监测啤酒发酵过程中微生物的生长情况。

光学传感器在啤酒微生物检测中也崭露头角。表面等离子体共振(SPR)传感器利用光在金属表面激发产生的表面等离子体共振现象,当啤酒中的微生物与固定在传感器表面的特异性识别分子结合时,会引起表面等离子体共振条件的改变,导致反射光的强度和角度发生变化,通过检测这些光学参数的变化,可实现对微生物的高灵敏度检测。生物传感器具有响应速度快、灵敏度高、可在线监测等优点,为啤酒酿造过程中的微生物动态监测提供了有效的手段。

5.4 其他新兴检测技术

微流控芯片技术是近年来迅速发展新兴检测技术,在啤酒酿造微生物检测中具有巨大潜力。微流控芯片通过在微小芯片上构建微通道网络,实现对啤酒样品的微量处理和分析。将核酸扩增、免疫反应等检测过程集成在芯片上,可实现对多种微生物的快速高通量检测。例如,在芯片上设计多个微反应单元,每个单元针对一种特定的微生物,通过微流控技术将啤酒样品和反应试剂精确分配到各个单元中,在芯片上完成检测反应,利用荧光检测或电化学检测等手段读取结果,大大提高了检测效率^[5]。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术也逐渐应用于啤酒微生物检测领域。该技术通过将微生物细胞或其代谢产物与基质混合,在激光照射下使样品离子化,离子在电场作用下加速飞行,根据离子飞行时间的不同来测定其质荷比,从而获得微生物的指纹图谱。通过与已知微生物图谱库进行比对,可快速准确地鉴定啤酒中的微生物种类。这种技术具有检测速度快、准确性高、可同时鉴定多种微生物等优点,为啤酒酿造过程中的微生物检测提供了新的技术选择。

结语

啤酒酿造过程中微生物污染风险评估及快速检测方法研究,对提升啤酒质量与行业竞争力意义重大。通过深入剖析酿造工艺各环节微生物污染来源、种类及影响,构建科学风险评估模型,快速检测技术的应用,为酿造企业提供了全面防控思路。未来,随着科技持续进步,将不断涌现更高效检测技术与精准防控策略,助力啤酒行业迈向更优质、更安全的发展新阶段,满足消费者对高品质啤酒的需求。

参考文献:

[1] 袁伟伟. 啤酒酿造过程中微生物控制研究[J]. 科学技

术创新 ,2018,(26):33-34.

[2] 于飞 . 啤酒酿造过程中微生物控制问题简述 [J]. 科技资讯 ,2016,14(07):46-47.

[3] 王伟 , 刘雅文 , 谷凤霞 , 等 . 啤酒腐败微生物与啤酒微生物稳定性研究进展 [J]. 微生物学杂志 ,2016,36(01):80-88.

[4] 方卉 .500L 自酿啤酒生产车间啤酒酿造过程中微生物污染及防治 [J]. 科技资讯 ,2015,13(08):93-94.

[5] 叶源年 , 陈丹东 . 啤酒酿造过程中的微生物控制 [J]. 啤酒科技 ,2012,(05):49-50+52.