



Mikrobiologische Nachweismethoden für mittelständischen Brauereien

Thomas Leo Huber

T.L. Huber BrewXpert



Thomas Leo Huber

- > Mehr als 25 Jahre Erfahrung in der Brau- und Getränkebranche
- > 15 Jahre lang bei Doemens als Lehrer, Leiter Hefebank, sowie stellvertretender Leiter Labor
- > Berater in den Bereichen:
 - 🔴 Energie und Umwelt
 - 🧫 Hefe und Gärung
 - > Qualitätssicherung – mikrobiologische Betriebsberatung
 - 🌾 Technologie
- > Sachverständiger für die Brau- und Getränkeindustrie

Was will der Braumeister von den Nachweismethoden?

- > preiswert
- > einfach
- > wenig Aufwand
- > schnelles Ergebnis
- > sichere Aussage



Wichtige Bestandteile der

mikrobiologischen Qualitätssicherung

Mikrobiologische Untersuchungsmethoden im Labor

Probenahme

Probenanreicherung und Bebrütung auf speziellen Nachweismedien

Auswertung

Identifizierung



Sensorische Beurteilung der Biere, des Wassers, der Hefe, sowie der Räumlichkeiten, Gerätschaften, Gefäße und Maschinen

Reinigung der Anlagen

gegebenenfalls Haltbarmachung der Rohstoffe, Hilfsstoffe, Zwischen- und Endprodukte

Vergleich Probenanreicherung



Plattenausstrich

- Schnelle Anreicherung
- geringe Probenmenge (0,05µL)
- mittlerer Vorbereitungsaufwand (Plattengießen)
- geringe Aussagekraft
- quantitative und qualitative Aussage
- geringer Kostenaufwand

Thomas Leo Huber



Membranfiltration

- Aufwendige Anreicherung
- große Probenmenge
- hoher Vorbereitungsaufwand (Plattengießen, Sterilisation)
- hohe Aussagekraft
- quantitative und qualitative Aussage
- hoher Kostenaufwand



Flüssiganreicherung

- schnelle Anreicherung
- mittlere bis große Probenmengen
- geringer Arbeitsaufwand (sterile Flaschen)
- hohe Aussagekraft
- qualitativer Nachweis
- mittlerer bis geringer Kostenaufwand

Die neuen auf dem Markt





Was ist neu und anders als bisher!

Grundlage: „Vergiss einfach alles, was Du über die klassischen Nachweismedien für die Brauerei weißt!“

Bisher

- ein Nachweismedium für Bierschädlinge braucht immer einen Hefehemmstoff
- Der verwendete Hemmstoff ist Cyclohexid
- Medium für alkoholfreie Erfrischungsgetränke benötigt als Hemmstoff Bestandteile von Zitrusfrüchten
- Nährmedien im Erfrischungsgetränkebereich haben meist keinen Indikatorfarbstoff
- Nährmedien zur Umfeldkontrolle benötigen immer auch Hemmstoffe, um bierähnlich zu sein
- Der pH-Wert von Nährmedien wird durch anorganische Säuren wie HCL und H_2SO_4 eingestellt
- Ansatz von Spülwasserproben in Flüssiganreicherung mit Zugabe von sterilem Bier

BBGT

- Unterscheidung von Proben mit aktiver Hefe und ohne
- Unterscheidung von Nährmedien für obligater oder potenzielle Bierschädlinge
- Kein Cycloheximid, da dieses als mutagen eingestuft ist
- Es gibt viele Erfrischungsgetränke ohne Zitrusfrüchte. Zitronensäure ist aber in mehr Getränken drin. Daher sollte Zitronensäure in ein AfG-Medium
- Verwendung eines pH-Wert-unabhängigen Indikators zur Identifizierung von mikrobiellem Wachstum
- In einem Nährmedium zur Hygienekontrolle in der Abfüllanlage sollte keine Wachstumsbeschränkungen herrschen. Daher keine Hemmstoffe und auch ein pH-Wert von 7 beim ALP-Nektar und ALP-Agar
- Verwendung von wachstumsfördernden Säuren zur pH-Wert-Einstellung (z.B. Zitronensäure oder Ascorbinsäure)
- Flüssiganreicherung von Spülwasser und Produktwasser direkt nur mit Bouillon

Medien obligat und potenziell Bierschädliche

Obligat bierschädliche Bakterien (BOB-Nektar oder FBK-Booster-Serum)

Bittereinheiten und Alkohol wurde so gewählt, dass Schädlinge wie z.B. Lactococcus lactis nicht mehr wachsen können

Kein Hefehemmstoff

Einsatz für pasteurisierte Biere und filtrierte Biere

Obligat bierschädliche Bakterien (HBK-Booster-Serum)

Hefehemmstoff

durch den hohen Anteil der Probe werden hier nur obligat schädliche Bakterien nachgewiesen

Vorwiegend bei Bierproben mit aktiver Hefe

Potenziell bierschädliche Bakterien (BPO-Nektar)

Niedriger Alkoholgehalt (0,5%Vol) und geringere Bittereinheiten

Hefehemmstoff

Einsatz bei allen Produkten möglich aber vorwiegend für Proben mit aktiver Hefe gedacht



Wasser mit Flüssiganreicherung

Produktwasser/Brauchwasser/Spülwasser

Membranfiltration 0,45µm von 100 - 500 ml

SPW-Ambrosia

1:4 mit Probe gemischt

5-7 Tage/28 °C

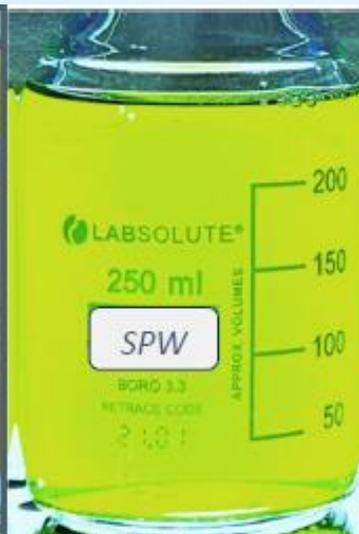
**Bierschädliche
Bakterien**



Spülwasserprobe



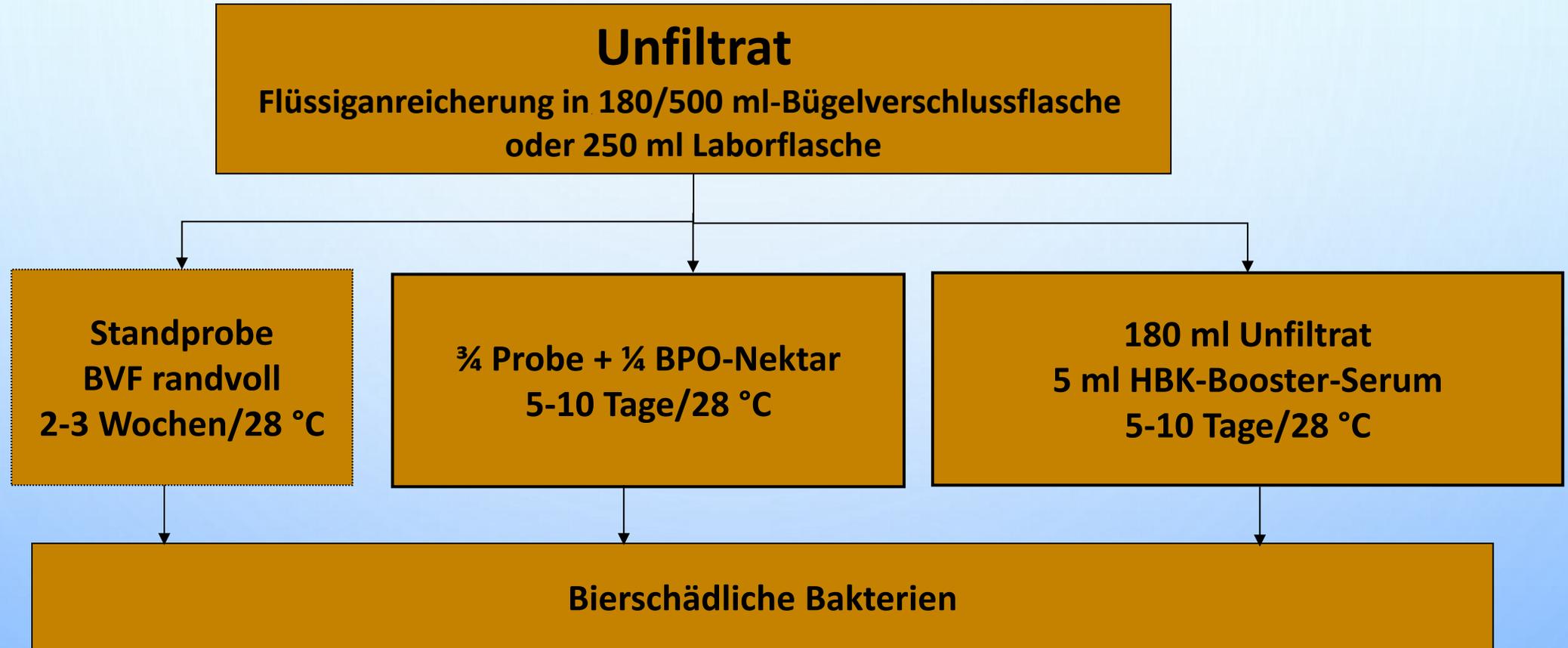
SPW-
Ambrosia



4:1 Probe zu SPW
optimale Mischfarbe



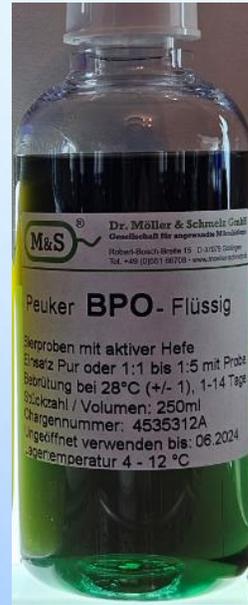
mit Lactobacillus brevis
Wachstum



Beispiel: Farben bei Einsatz von Nektar



Lagertankprobe „helles Lagerbier“,



BPO-Nektar



5:1 Probe:BPO
Mischfarbe

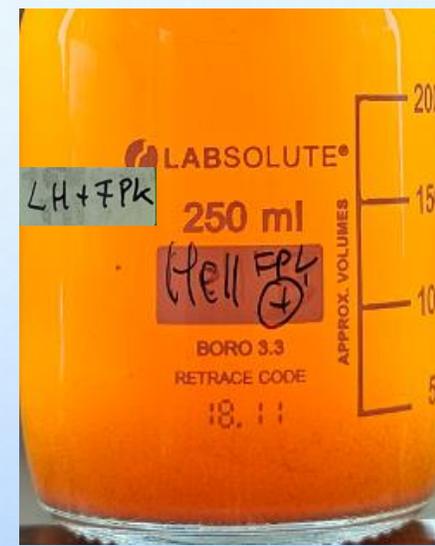
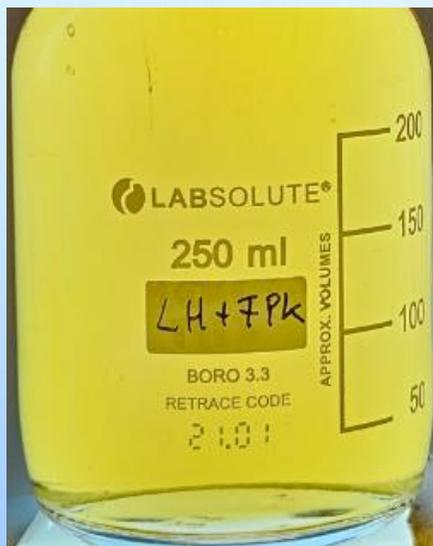


mit Lactobacillus-Wachstum

Der mögliche Farbumschlag bis
rot-orange



Farben bei Booster-Serum (FBK und HBK)



Lagertankprobe „helles Lagerbier“,

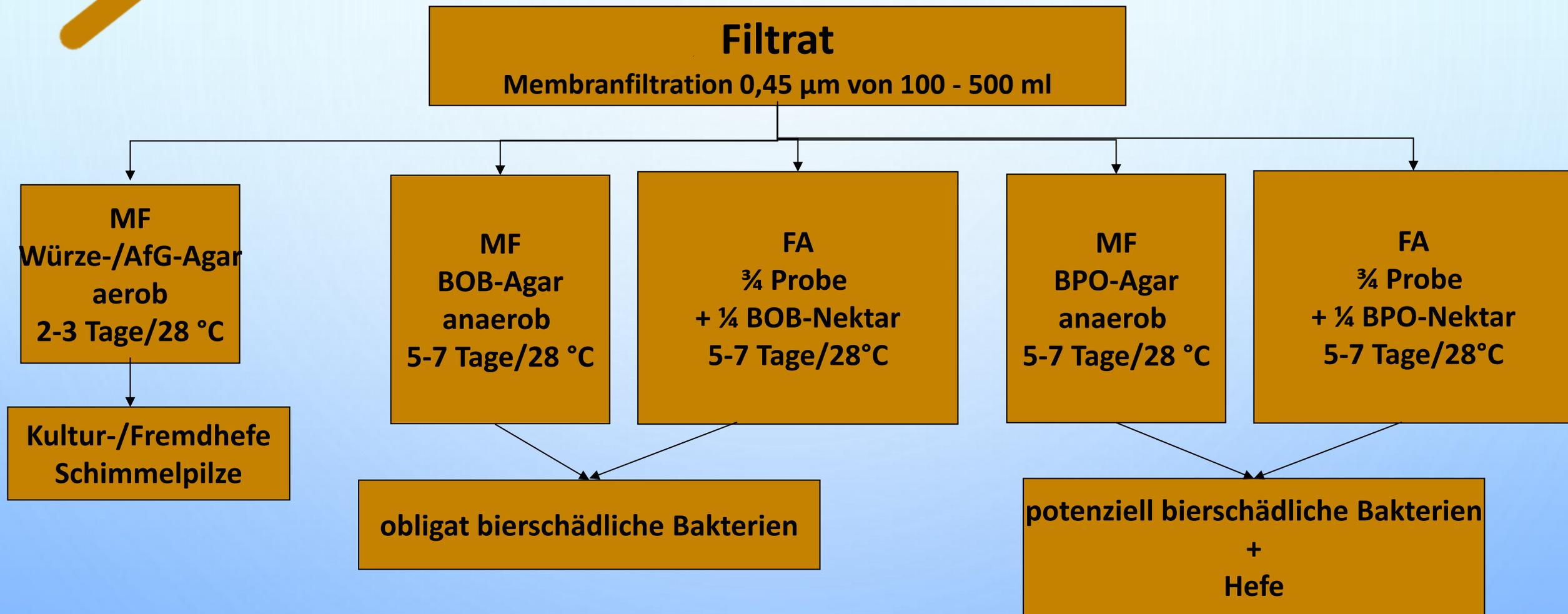
FBK- Booster Serum

10:1 Probe:FBK
Mischfarbe

mit Lactobacillus-Wachstum



Kontrolle filtrierte Biere



Alternative zur klassischen Membranfiltration die sogenannten Monitore



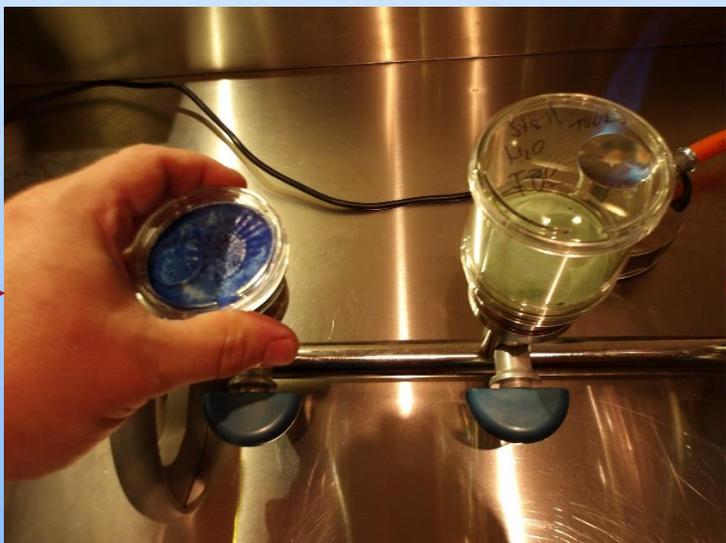
- > Es wird nur ein Adapter benötigt für die bestehende Filtereinheit
- > Gebrauchsfertige sterile Filtereinheiten für 100 ml Probenvolumen
- > Vorteile eines flüssigen Nährmediums bei quantitativer Auswertung
- > Kein sterilisieren der Filtereinheit mit brennendem Alkohol
- > kein Verflüssigen und Plattengießen
- > Weniger Kreuzkontaminationen
- > Nur 2,5 ml Nährmedium benötigt

Merck Millipore 55plus
ca. 2,1€ pro Stück
Adapter 5 Stück ca. 30 €



Biosart 100 Monitor ca. 3,8 € pro Stück
Adapter 1 Stück ca. 35€

Membranfiltration Millipore 55Plus Monitor



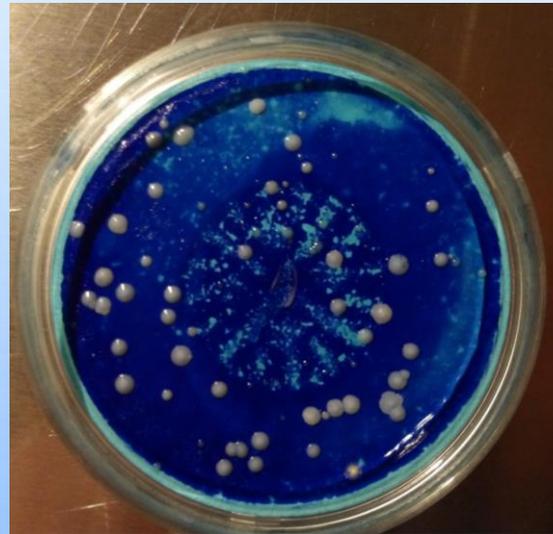
Beispielplatten



Bunter Reihe nach Peuker AfG, HBK, ALP



Schimmel auf AfG



Hefen auf AfG



Lactobacillus brevis auf BOB



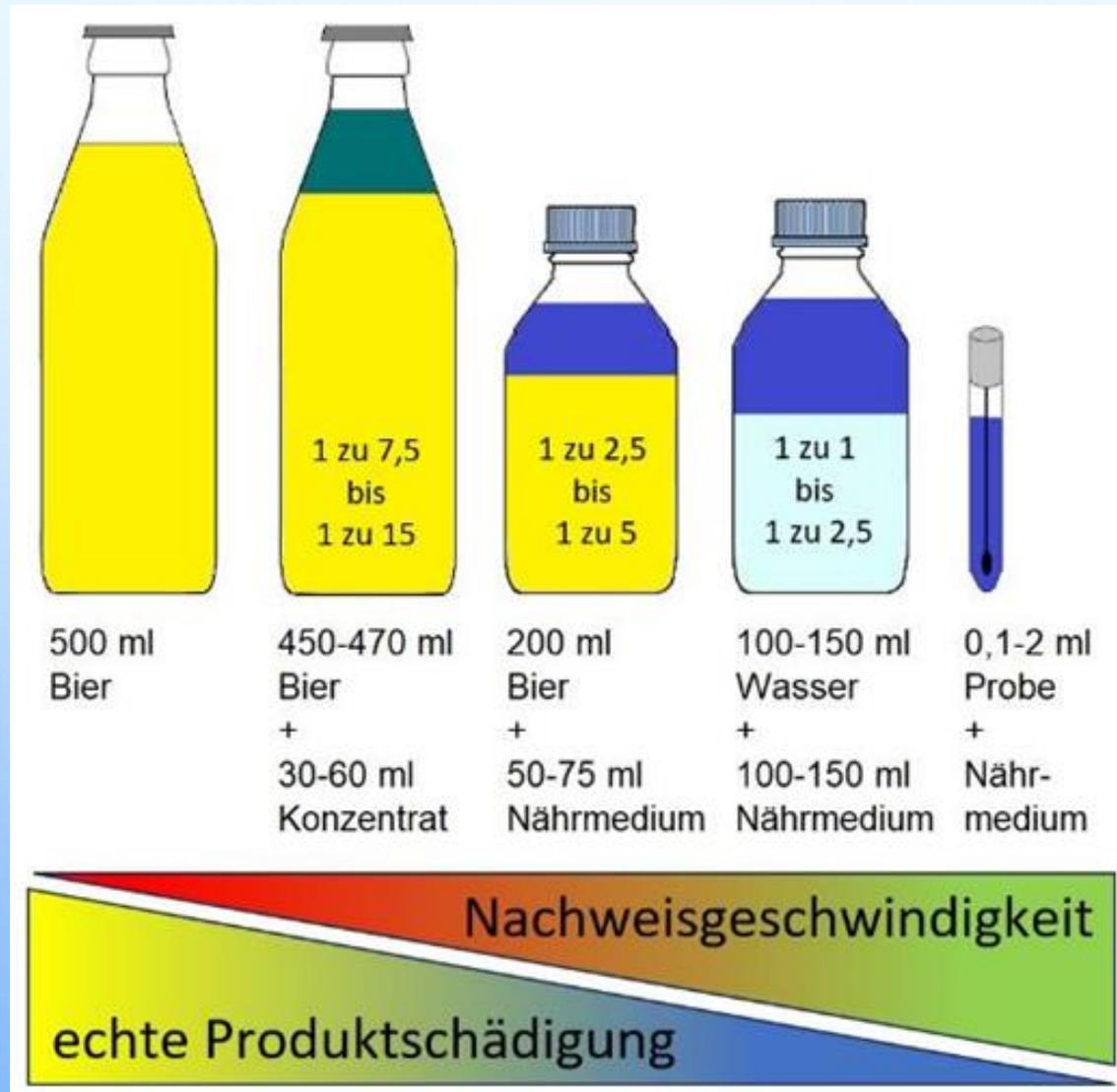
Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



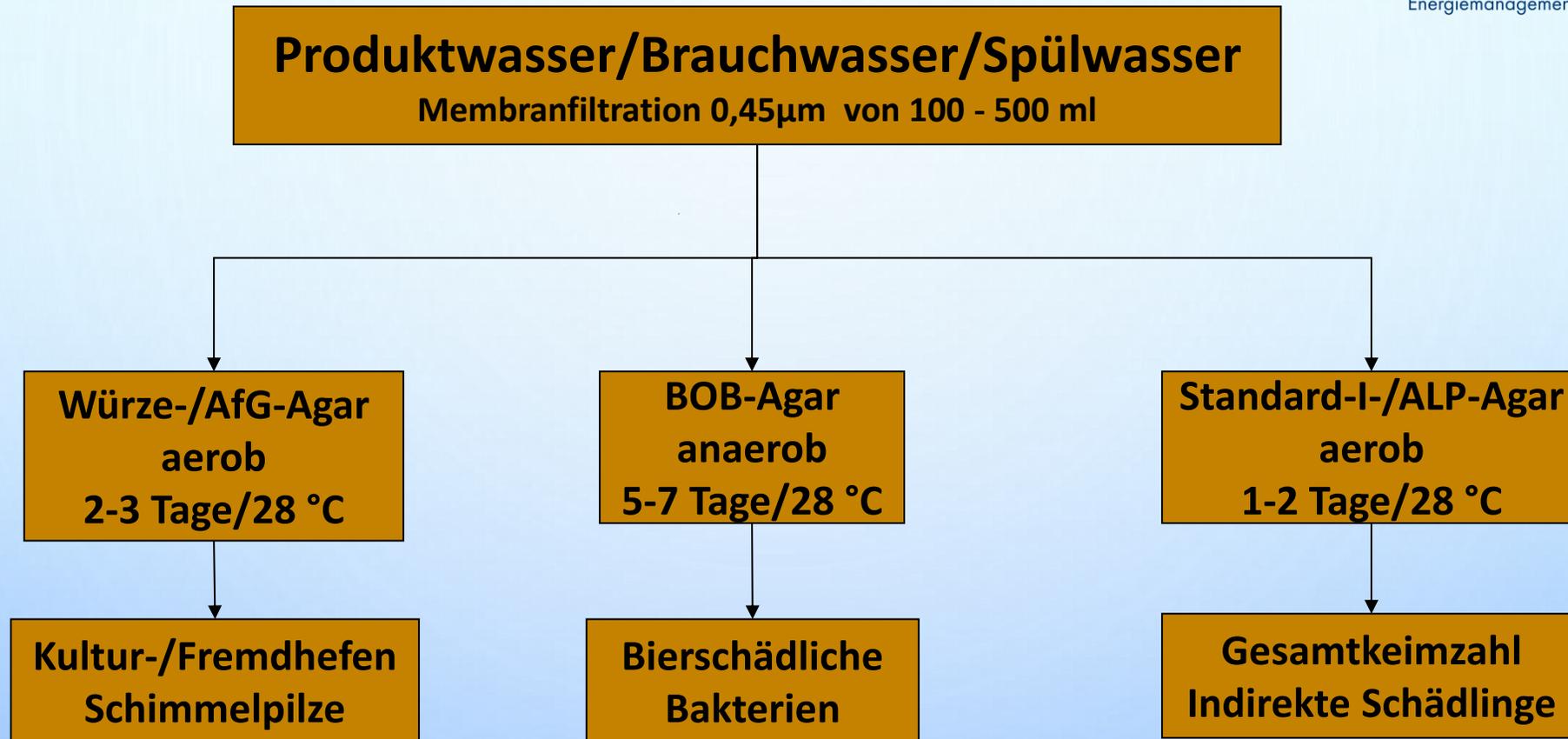
Anhang

Weitere Methoden

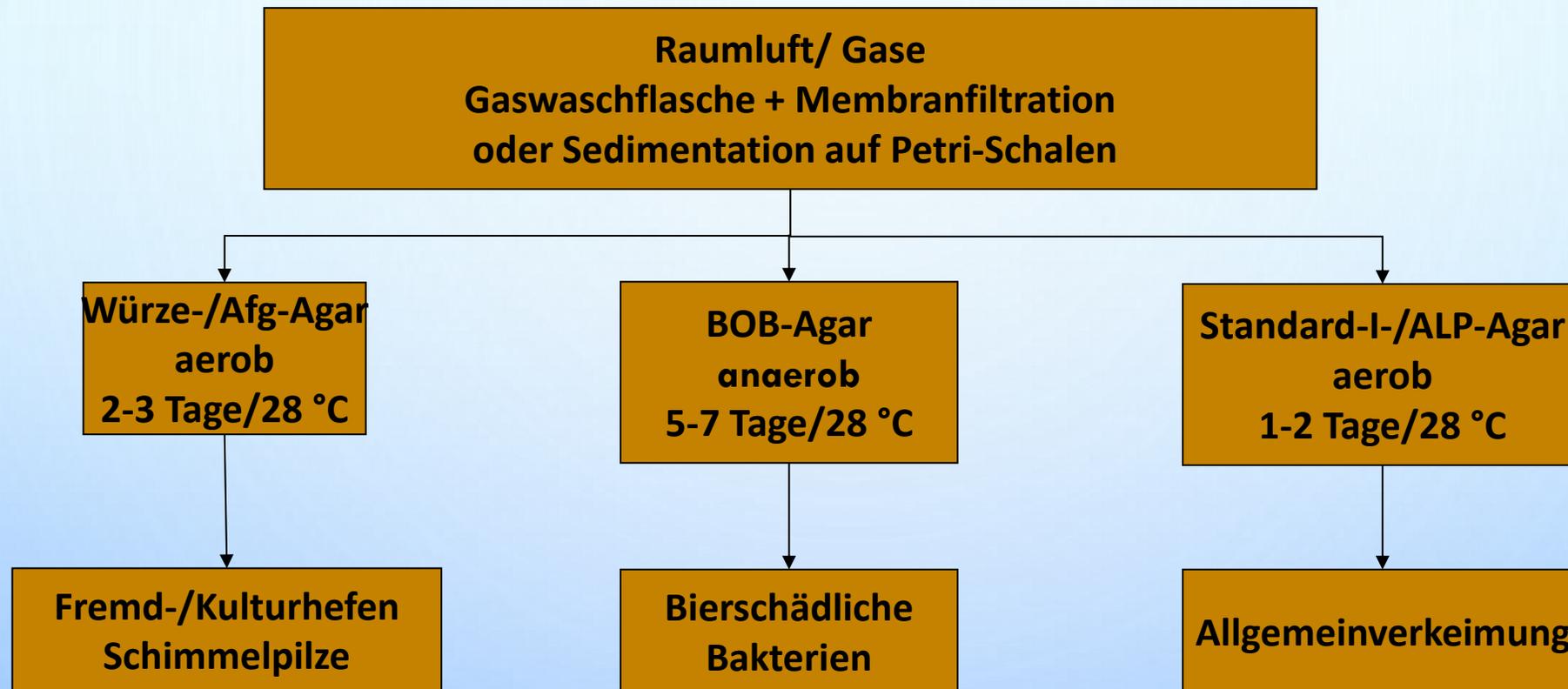
Nachweismethoden :Produktschädigung vs. Nachweisgeschwindigkeit



Wasser mit Membranfiltration



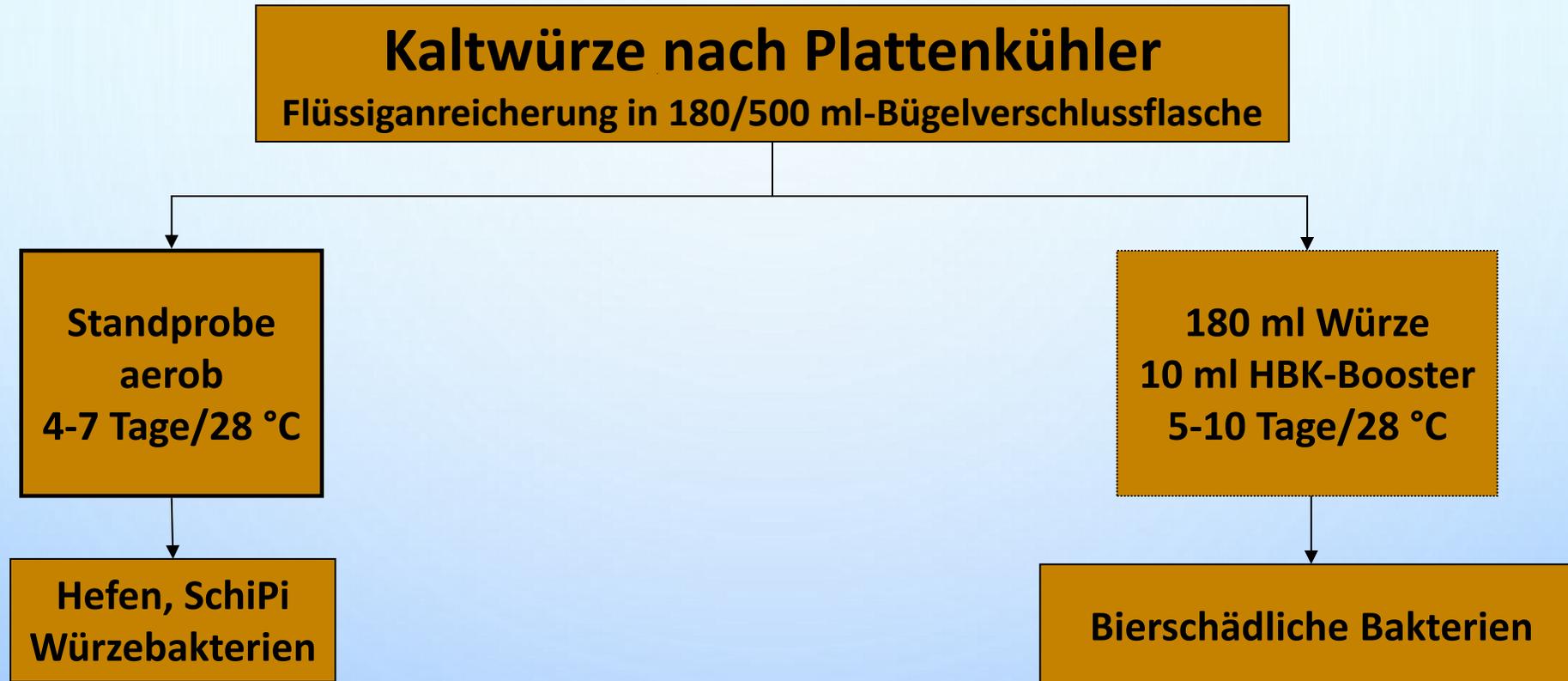
- Bei chlorhaltigen oder chlordioxidhaltigen Wasser sollten 10 mg Natriumthiosulfat-Pulver pro 500 ml Probenmenge zur Inaktivierung des Chlors bzw Chlordioxids in die Probenahmeflaschen vorgelegt werden



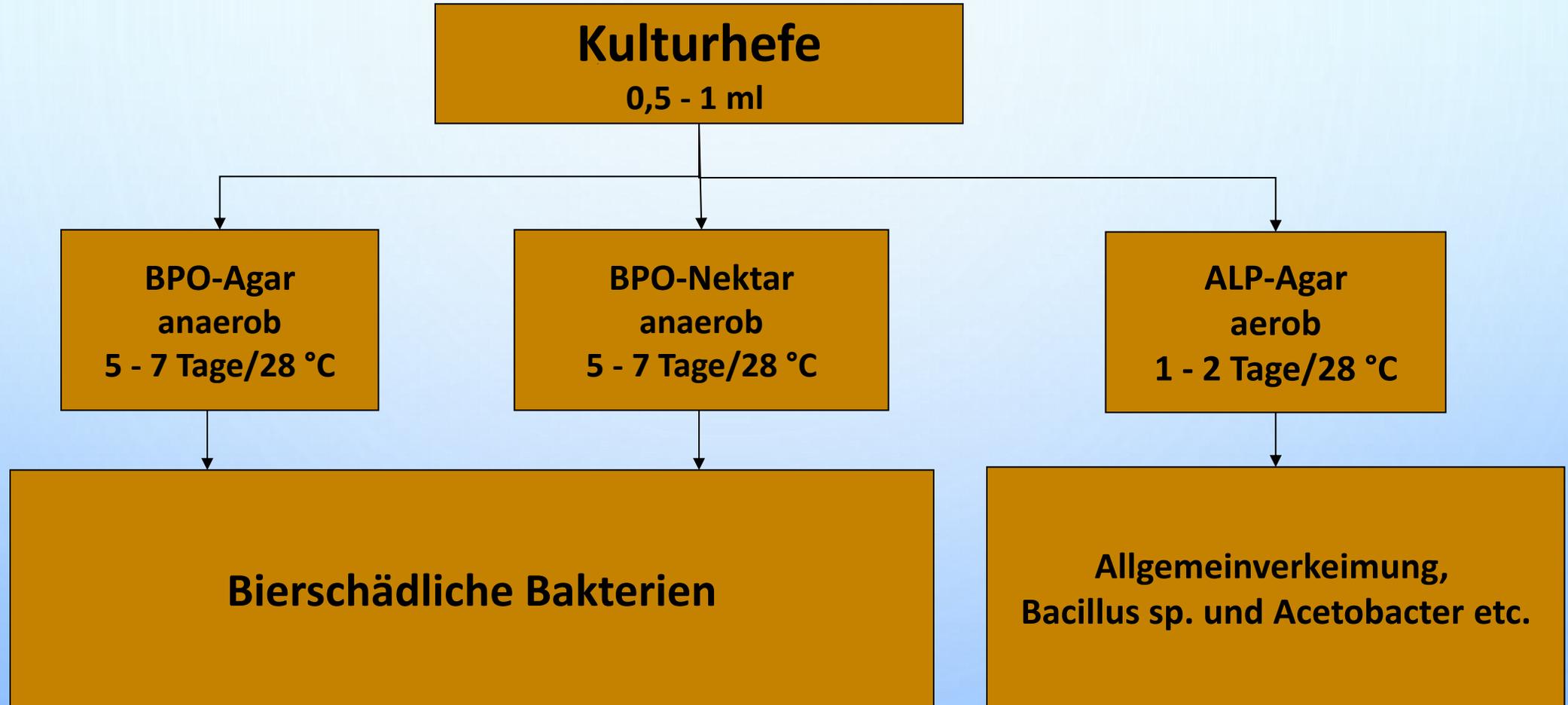
Weitere mögliche Proben

- Leerflaschen
- Kronkorken
- Kieselgur
- etc.

Würze

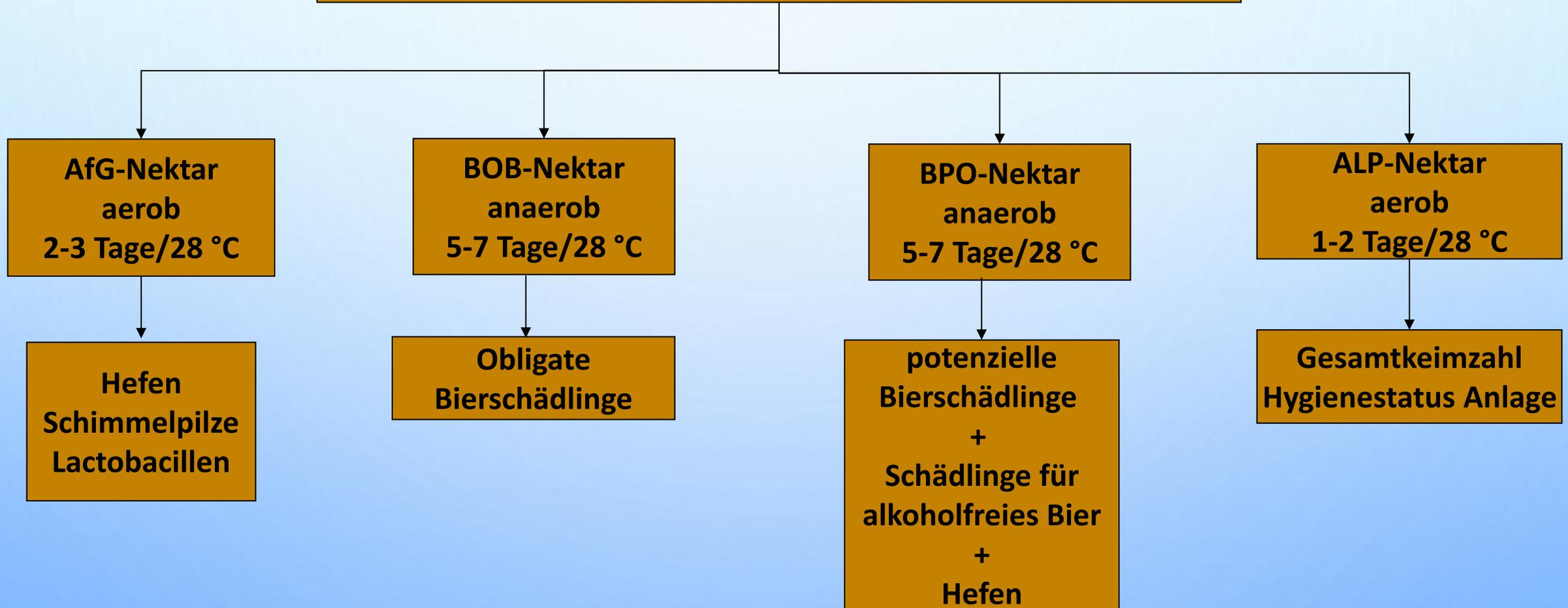


Nachweis von Bakterien in Hefe



Abstrichproben zur Hygienekontrolle

Abstrichproben Flüssiganreicherungen





ALP-Abstriche nach drei Tagen





AfG-Abstriche nach drei Tagen



Tabelle zeigt den Anwendungszweck & Ort der Nährmedien in unterschiedlichen Betriebsarten der Brau- & Getränkeindustrie

2024-11-03 V5

Betriebsart	ALP - allgemein- verkeimung	AFG - potentiell schädlich in AFG	BPO - potentiell schädlich in Bier	BOB - potentiell schädlich in Bier	HBK -obligat schädli. Unfiltrat	FPK -obligat produktschädlich	SPW - Brauerei obligat schädlich	PWA AfG-Wasser obligat schädlich
Zielkeim-Spektrum	H / S / B	H / S / B	B (PS)	B (OS) / H	B (OS)	B (OS) / H	B (OS) / H	B (OS) / H / S
Kleinbrauerei (unfiltriert)	Sterilitätsprobe (Wasser / CIP)	-	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	-	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	-	Spülwasser / Zutat (Wasser)	-
Brauerei (nur filtriertes / pasteurisiertes)	Sterilitätsprobe (Wasser / CIP)	-	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	Abstriche / nach Filter/KZE,	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	Verkaufsbier (nach Filter/KZE)	Spülwasser / Zutat (Wasser)	-
Brauerei (Bier, auch alkoholfrei, Biermischgetr.)	Sterilitätsprobe (Wasser / CIP)	Erfrischungsgetr. / Biermischgetr.	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	Abstriche / nach Filter/KZE,	Hefe, Gär- & Lagertank Proben	Verkaufsprodukt (nach Filter/KZE)	Spülwasser / Zutat (Wasser)	Produktwasser / Zutat (Wasser)
Lohnabfüllung Bier (Pasteur)	Sterilitätsprobe (Wasser / CIP)	-	-	Abstriche / nach Filter/KZE,	-	Verkaufsprodukt (nach Filter/KZE)	Spülwasser / Zutat (Wasser)	-
Kellerei & Kellerei (Saft / Cider / Wein) pasteurisiert	Sterilitätsprobe, Produkt	Getränke / Saft, Abstrich	-	-	Hefe, Gärproben	Verkaufsprodukt (nach Filter/KZE)	-	Produktwasser / Zutat (Wasser)
Erfrischungsgetränke AF (inkl. Lohnfüllung AFG)	Sterilitätsprobe, Produkt	Erfrischungsgetr., Abstrich	-	-	-	Verkaufsprodukt (nach Filter/KZE)	-	Produktwasser / Zutat (Wasser)
Mineralbrunnen / Wasser	Sterilitätsprobe, Produkt, Abstrich	-	-	-	-	-	-	Produktwasser / Zutat (Wasser)

Tabelle zeigt Einsatz der Nährmedien in Proben und mögliches Wachstum: H = Hefe, S = Schimmel, B = Bakterien, PS = potentiell produktschädlich, OS = obligat bierschädlich

Nährmedium	ALP - allgemein- verkeimung	AFG - potentiell schädlich in AFG	BPO - potentiell schädlich in Bier	BOB - potentiell schädlich in Bier	HBK -obligat schädli. Unfiltrat	FPK -obligat produktschädlich	SPW - Brauerei obligat schädlich	PWA AfG-Wasser obligat schädlich
Zielkeim-Spektrum	H / S / B	H / S / B	B (PS)	B (OS) / H	B (OS)	B (OS) / H	B (OS) / H	B (OS) / H / S
Abstrichproben	"Schnelltest"	Option "mittel"	(X)	obligat	-	-	-	-
Spülwasser (Brauerei)	"Schnelltest"	(X)	(X)	Option "mittel"	-	-	obligat	-
Hefe, Geläger	-	-	obligat	Option "mittel"	-	-	-	-
Bier trüb (aktive Hefe)	-	-	obligat	Option "mittel"	Produkttest	(X)	-	-
Bier trüb (pasteurisiert)	"Schnelltest"	(X)	(X)	obligat	-	Produkttest	-	-
Bier klar (filtriert)	"Schnelltest"	(X)	(X)	obligat	-	Produkttest	-	-
Biermischgetränk	"Schnelltest"	obligat	(X)	Option "mittel"	-	Produkttest	-	-
Mineral- / Tafelwasser	"Schnelltest"	Option "mittel"	-	-	-	(X)	-	-
AfG klar	"Schnelltest"	obligat	-	-	-	Produkttest	-	-
AfG trüb	"Schnelltest"	obligat	-	-	-	Produkttest	-	-
Produktwasser AfG	"Schnelltest"	Option "mittel"	-	-	-	-	-	obligat

