

Mikrobiologisch sensible Getränke – Ein Risikobewertungssystem

BEWERTUNGSSYSTEM | Alkoholfreie, alkoholarme und Biermischgetränke weisen oft eine schlechtere mikrobiologische Stabilität auf als vergleichbare Vollbiere. Schutzfaktoren, die in Bier mikrobielles Wachstum hemmen, sind vermindert beziehungsweise „verwässert“ oder nicht vorhanden. Es können allerdings auch neue Schutzfaktoren auftreten. Da zur objektiven Beurteilung des mikrobiologischen Risikos eines solchen Getränkes meist konkrete Daten fehlen, wurde ein System zur Beurteilung dieses Risikos entwickelt.

DER DEUTSCHE BIEMARKT ist im Wandel. Schon seit Jahren schrumpft in Deutschland der Marktanteil von Bier, während alkoholarmes, alkoholfreies Bier und Biermischgetränke immer beliebter werden [1, 2]. Doch diese Getränke sind

mikrobiologisch deutlich anfälliger als das klassische, reine Vollbier. Die Schutzbarrieren, die Bier für die meisten Mikroorganismen zu einem ungeeigneten Nährboden machen, nämlich der Gehalt an Ethanol, der Gehalt an Hopfenbittersäuren, der

niedrige pH-Wert, der Mangel an Nähr- und Wachstoffsstoffen sowie das anaerobe Milieu, werden in alkoholarmen bzw. -freien Bieren sowie Biermischgetränken abgeschwächt oder aufgehoben. Diese Getränke können also als mikrobiologisch sensible Getränke kategorisiert werden [3]. Da zum mikrobiellen Risiko der Getränke oft konkrete Daten fehlen, wurde ein mikrobiologisches Analysen- und Bewertungssystem entwickelt, das eine Beurteilung dieses Gefahrenpotenzials erlaubt.

■ Mikrobiologisch sensible Biere

Biermischgetränke und sensible Biersorten wie alkoholarme und alkoholfreie Biere sowie hopfenreduzierte Biere können für mikrobiologischen Verderb anfälliger sein als „normale“ Biertypen. In dieser Studie wurden sensible Biersorten und Biermischgetränke mit einem ausgewähl-



Autoren: Dipl.-Ing. Robert Riedl (Foto), Dipl.-Ing. Jennifer Koob (Foto) und Dr.-Ing. Mathias Hutzler, Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität (BLO), TU München, Freising, Dipl.-Ing. Christian Hackl, Brau Union Österreich AG, Linz/A, sowie Dr.-Ing. Fritz Jacob, Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität (BLO), TU München, Freising

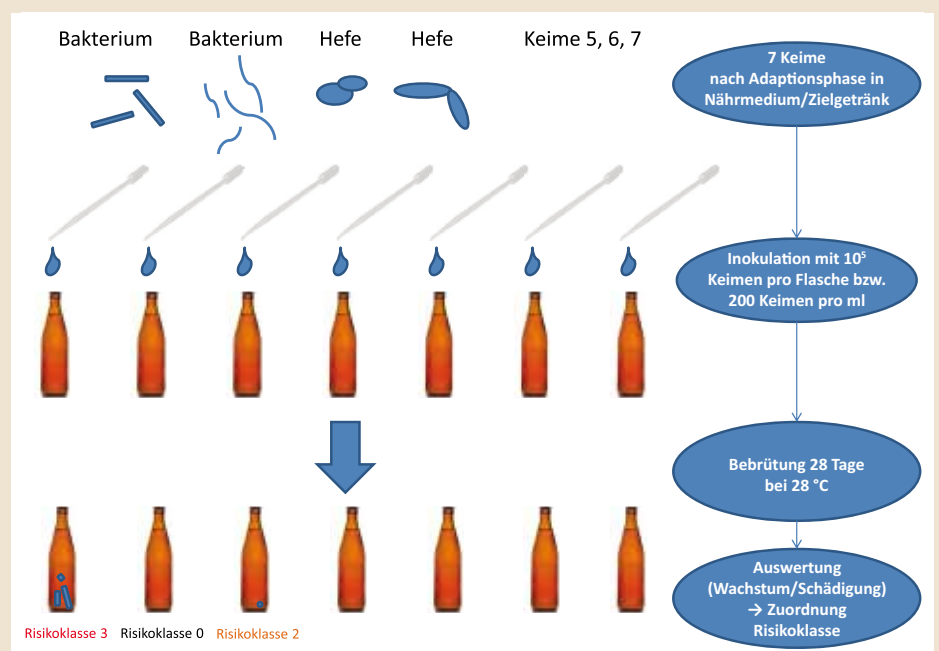


Abb. 1 Schematischer Ablauf der Risikoanalyse (exemplarisch 7 unterschiedliche Mikroorganismenstämme)

AUSWAHL DER VERWENDETEN MIKROORGANISMEN MIT IHRER BRAUBIOLOGISCHEN CHARAKTERISIERUNG

Einteilung Mikroorganismen	Mikroorganismenset A alkoholfreies, alkoholarms Bier, Bier, Standard-Bier	Mikroorganismenset B Biermischgetränke, Standard-Biermischgetränk	Braureimikrobiologische Charakterisierung
Bierschädliche Bakterien	1. <i>L. brevis</i> FZ BLQ 4	1. <i>L. brevis</i> FZ BLQ 4	Schleimbildner <i>Lactobacillus brevis</i>. Stamm isoliert aus Bier mit 4,5. Vol.-%, 18 BE. Infektion wurde in Füllerumfeld und auch in nassen Kartonagen nachgewiesen. In Biofilmen tritt dieser Keim in der 2. - 3. Stufe auf, d. h. in der fakultativ bis strikt anaeroben Phase . Durch Schleimbildung ist die Auswertung auch bei trüben Bieren möglich.
	2. <i>Pectinatus portalensis</i> FZ BLQ HBS1	–	<i>Pectinatus</i> ist eine typische Sekundärkontaminante. In Biofilmen tritt dieser Keim in der 3. Stufe auf, d. h. in der strikt anaeroben Phase. Dieser Keim ist nicht hopfensensitiv, d. h. hohe Bittereinheiten haben keinen Einfluss auf dessen Wachstum. <i>Pectinatus</i> -Stämme können je Isolationsort z. T. sensitiv gegenüber erhöhten Alkoholgehalten (> 3 Vol.-%) und verringerten pH-Werten sein (pH < 4,4) sein, jedoch wurden <i>Pectinatus</i> -Stämme unter Laborbedingungen schon schrittweise bis auf 12,5 Vol.-% und pH-Wert= 3,5 herangeführt. <i>Pectinatus</i> tritt sehr häufig im Füllerumfeld als so genannte Streuinfektionen auf. Die Wichtigkeit dieses Keimes nimmt weitergehend zu. 2010 und 2011 traten vermehrt <i>Pectinatus</i> -Infektionen in Erscheinung.
Saccharomyces Brauereikulturhefen	3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> FZ BLQ H TUM 68	3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> FZ BLQ H TUM 68	Gängigste obergärige Weizenbierhefe. Obergärige Bierhefe ist normalerweise nicht in Biofilmen zu finden. Eine Verschleppung in den Abfüllbereich (z. B. Biofilme) aus dem primären Produktionsbereich ist möglich. Obergärige Kulturhefe kann in Biofilmen der Stufe 2 und 3 gut bestehen. Jedoch werden häufiger <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -Wildhefen als Sekundärkontaminanten im Abfüllbereich gefunden.
	4. <i>Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis</i> FZ BLQ H TUM 34/70	4. <i>Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis</i> FZ BLQ H TUM 34/70	Gängigste untergärige Bierhefe. Eine Verschleppung in den Abfüllbereich (z. B. Biofilme) aus dem primären Produktionsbereich ist möglich. Untergärige Kulturhefe kann in Biofilmen der Stufe 2 bestehen. Sie ist unter Umweltbedingungen sensibler als die obergärige Kulturhefe. Da sie in der Regel bei höheren Temperaturen langsamer wächst als wilde Hefen, kann sie in Biofilmen mit diesen langfristig nicht konkurrieren.
Saccharomyces Fremdhefe	5. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> FZ BLQ TUM SY 1	5. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> FZ BLQ TUM SY 1	Übervergärende Saccharomyces-Schadhefe, welche durch Glucoamylasen langkettige Dextrine vergären kann, welche normale Bierhefen nicht vergären können. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> ist eine typische Sekundärkontaminante. Aufgrund ihrer übervergärenden Eigenschaft ist sie als Bombagenverursacher sehr gefürchtet. Diese Hefe tritt typischerweise in Biofilmen der Stufe 2 und 3 auf.
Nicht-Saccharomyces Fremdhefen	6. <i>Dekkera anomala</i> FZ BLQ 2-C-1	6. <i>Dekkera anomala</i> FZ BLQ 2-C-1	<i>Dekkera anomala</i> ist eine typische Schadhefe für Bier und alkoholfreie Getränke. Zum Teil können diese Hefen ähnlich wie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> in relativ nährstoffarmen Getränken wachsen. Diese Hefe tritt vermehrt in Zusammenhang mit Biermischgetränken und karbonisierten zuckerhaltigen alkoholfreien Getränken in Erscheinung.
	7. <i>Wickerhamomyces anomalus</i> FZ BLQ 17-C-3	–	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> ist eine der am häufigsten auftretenden Hefearten in Brauereien. Sie kann schon bei der Ansiedlung von Biofilmen auftreten und ist die dominante Hefespezies in Biofilmen in Brauereien. In Bieren mit normalem Alkoholgehalt, niedrigem Restextrakt und einer sehr niedrigen Restsauerstoffkonzentration kann diese Hefe normalerweise nicht wachsen, d. h. sie liegt latent vor. In der Regel, wenn mehrere dieser Faktoren nicht zutreffen, kann ein Wachstum auftreten.
	–	8. <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> FZ BLQ 17-L-2	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ist eine Hefe, die rote Kolonien bildet. Sie ist eine typische aerobe Hefe und kann in Produkten nur wachsen, wenn hohe Restsauerstoffgehalte vorliegen. Sie kann in der aeroben Phase von Biofilmen auftreten (vornehmlich Stufe 1 - 2). Sie tritt häufig als Schadhefe in nicht-karbonisierten alkoholfreien Getränken auf.
	–	9. <i>Kazachstania exigua</i> FZ BLQ H 2-G-7	<i>Kazachstania exigua</i> ist eine potenzielle Schadhefe, d. h. bei verminderten selektiven Eigenschaften und v. a. bei erhöhtem Restextrakt kann diese Hefeart auftreten. Über die Anwesenheit dieser Hefe in Biofilmen ist wenig geschrieben. Sie müsste in Stufe 2 und 3 gut bestehen können. Früher hieß diese Hefeart <i>Saccharomyces exiguus</i>.

Tab. 1

ten Set von voradaptierten Mikroorganismen beimpft, um das produktspezifische Spektrum an schädlichen Keimen zu beobachten. In einem sehr sensiblen Getränk wachsen alle oder fast alle der aus-

gewählten Mikroorganismen. Das heißt auch, dass in einem sensiblen Getränk ein breiteres Spektrum an Mikroorganismen wachsen kann als in einem Standard-Bier. Ziel dieser Studie war, den mikrobiologi-

schen Risikostatus oder in anderen Worten die mikrobiologische Stabilität der untersuchten Biere und Biermischgetränke zu bestimmen. Abbildung 1 zeigt den schematischen Analysenablauf mit den

Schritten Adaption, Beimpfung, Bebrütung und Auswertung.

■ Analysenschema

Sieben verschiedene Mikroorganismenstämmen wurden in sieben Flaschen des Produktes überimpft (ein Stamm pro Flasche). Alle Mikroorganismen wurden vorher an das Zielprodukt adaptiert. Zur Adaption werden die Mikroorganismen in eine Mischung aus 75 Prozent Zielprodukt und 25 Prozent doppelt konzentrierter Nährbouillon (MRS oder MIB für Bakterien, YM für Hefen) beimpft. Die getesteten Stämme waren bei allen getesteten Getränken in der Lage, in der Mischung Zielgetränk/Nährbouillon anzuwachsen. Die adaptierten Mikroorganismen wurden mit einer Konzentration von 200 Zellen/ml in das Zielprodukt überimpft. Für alkoholfreie Biere (AFB) und alkoholarme Biere (AAB), Malzbier und Standard-Biere wurde das Mikroorganismenset A aus Tabelle 1 überimpft. Tabelle 1 beschreibt die ausgewählten Mikroorganismenstämmen aus getränketechnologischer und biologischer Sicht. Für Biermischgetränke wurde Mikroorganismenset B aus Tabelle 1 überimpft. Die Flaschen wurden verschlossen und bei 28 °C für 28 Tage bebrütet. Die Proben wurden visuell nach sieben, 17 und 28 Tagen auf Trübung, Gasbildung, Schleimbildung und Agglomeration überprüft. Verdorbene Proben wurden in „+/-“ für leichtes Wachstum und „+“ für Wachstum kategorisiert. Nach 28 Tagen wurden die Proben geöffnet und die Zellkonzentration entweder mikroskopisch mittels Thomazählkammer oder mittels der Methode „dekadischer Verdünnungsreihe/Agarkultur“ bestimmt (je nach Grad des Wachstums). Jedes Ergebnis der Wachstumsanalyse eines Keims wurde in Risikokategorien nach Tabelle 3 eingeteilt. Die Risikostufen können von Stufe 0 (kein Wachstum) bis Stufe 3 (starkes Wachstum) reichen. Die Risikokategorien der einzelnen Keime wurden für jedes Getränk summiert und gemittelt. Ein Mikroorganismenset von sieben Mikroorganismen kann eine maximale Summe an Risikopunkten von $7 \times 3 = 21$ Risikopunkten und eine durchschnittliche Risikostufe von $(7 \times 3) / 3 = 3$ erreichen. Daraus folgt, dass eine Probe mit Risikogruppe 3 für einen Keim durch mikrobiellen Verderb durch diesen stark gefährdet ist. Allgemein sehr empfindlich für mikrobiellen Verderb ist ein Getränk, wenn alle beimpften Mikroorganismen

SPEZIFIKATIONEN DER UNTERSUCHTEN BIERSORTEN					
AFB1	Alkoholfreies Bier			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	0,42	25	4,26	0,52	3,14
AFB2	Alkoholfreies Bier			obergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	0,4	11,7	4,26	0,58	3,46
ARB1	alkoholreduziertes Bier			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	3,04	24,5	4,34	0,51	1,6
ARB2	alkoholreduziertes Bier			obergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	4,2	10,5	4,32	0,6	1,3
B1	dunkles Bier mit erhöhtem Restextrakt			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	4,39	19,5	4,39	0,49	1,9
Standard-Bier	Helles Vollbier			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	5,1	22	4,4	0,53	0,2
BMG1	BMG			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	1,9	8	3,5	0,5	5,3
BMG2	BMG			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	2,5	9,8	3,65	0,5	0,06
Standard-BMG UG	Standard-Biermischgetränk (Radler)			untergärig	
	Vol.-%	BE	pH-Wert	CO ₂ GV-%	V. Z. g/100ml
	2,39	14,3	3,77	0,53	4,15
Aspartam					

Vol.-% = Volumenprozent Alkohol BE = Bittereinheiten
 CO₂ GV-% = Kohlenstoffdioxidkonzentration in Gewichts-Volumenprozent
 V. z. g/100ml = Vergärbare Zucker in Gramm pro 100 Milliliter

Tab. 2

RISIKOKATEGORIEN NACH WACHSTUM	
Risiko-klasse	Kategorisierung (Festlegung nach Parametern)
0	kein Wachstum (keine Trübung nach 28 Tagen)
1	sehr leichtes/geringfügiges Wachstum (nach 28 Tagen +/- oder > 0,005 Millionen Zellen/ml und ≤ 0,05 Millionen Zellen/ml)
2	schwaches Wachstum (+/- oder + nach 28 Tagen und > 0,05 Millionen Zellen/ml und ≤ 1 Millionen Zellen/ml)
3	starkes Wachstum (+ nach 7 oder 14 Tagen oder > 1 Millionen Zellen/ml nach 28 Tagen)

Tab. 3

starkes Wachstum zeigen und damit in die Risikogruppe 3 eingestuft werden, womit auch die gemittelte maximale Risikogruppe 3 erreicht wird. Für jede untersuchte

Probe eines Bieres und Biermischgetränkes wurden die Summe und die durchschnittliche Risikokategorie bestimmt. Die Summe und die durchschnittlichen Werte der

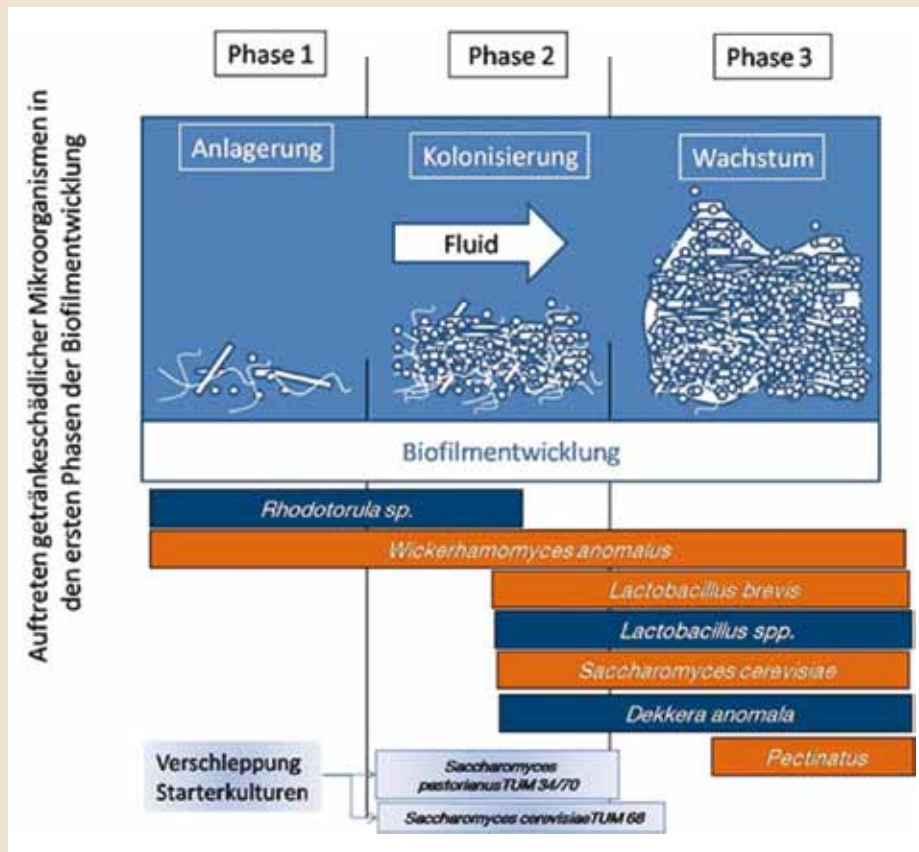


Abb. 2 Schema der Mikroorganismenauswahl anhand der Beteiligung an der Biofilmbildung

Mikroorganismen gezielt auswählen

Tabelle 1 und Abbildung 2 „beschreiben die Charakteristiken der verwendeten Mikroorganismen für die Braumikrobiologie und ihre Rolle in Biofilmen sowie in welchen Phasen der Biofilmbildung die verwendeten Mikroorganismen typischerweise wachsen“. Abbildung 1 zeigt ein vereinfachtes Modell der Biofilmentwicklungsstufen bis zur Wachstumsphase (in der Literatur werden verschiedene Modelle mit unterschiedlichen Festlegungen der Phasenbeschreibung gezeigt). Innerhalb der Mikroorganismen-Sets wurden Spezies/Stämme ausgewählt, die ein unterschiedliches Gefährdungspotenzial aufweisen. Sie können typischerweise als Sekundärkontaminanten insbesondere in Biofilmen auftreten [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Durch Produktionsfehler können auch lebende Kulturhefen in den Sekundärbereich, d. h. klassischerweise nach der Filtration verschleppt werden, weswegen zwei typische Vertreter der Kulturhefen ebenfalls getestet wurden.

Exemplarische Auswertung

In Tabelle 4 ist exemplarisch die Auswertung des alkoholreduzierten Weizenbieres AFB2 dargestellt. Aus dem visuell kontrollierten Wachstum wird je nach dessen Stärke eine Risikoklasse vergeben und über das Organismenset gemittelt. *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus*, *Dekkera anomala* und *Wickerhamomyces anomalus* weisen starkes Wachstum in diesem Biertyp auf. Daraus ergeben sich eine Summe von 15 Risikoklassensekunden und ein Durchschnitt von $15/7=2,14$. *Pectinatus* wuchs in diesem Biertyp nicht, Bierkulturhefe nur schwach. Es ist interessant, dass mikrobielles Wachstum und Produktschädigung des Stammes *Lactobacillus brevis* FZ-BLQ4 durch seine Eigenschaft des Schleimbildungsvermögens trotz der natürlichen Trübung beobachtet werden konnte. Dieser *Lactobacillus brevis*-Stamm eignet sich also besonders gut zur Beimpfung von naturtrüben Bieren. Das mikrobiologische Risiko für dieses Getränk ist damit als hoch anzusehen. Zusammenfassend sind die Risikogruppen der einzelnen getesteten Organismen in Tabelle 5 für das Mikroorganismenset A und in Tabelle 6 für das Mikroorganismenset B dargestellt. Die Summe der Risikokategoriepunkte sowie deren Durchschnitt sind in Abbildung 3 grafisch dargestellt.

EXEMPLARISCHE AUSWERTUNG DES ALKOHOLREDUZIERTEN WEIZENBIERES (AFB2) ...

... inklusive der Einteilung in Risikoklassen und der Risikobewertung Σ und \emptyset

Parameter, Zeit	Trübung/visuelle Schädigung			Zellkonzentration (Millionen/ml)**	Risikobewertung
	Tag 7	Tag 14	Tag 28		
Mikroorganismen					
1. <i>L. brevis</i>	+	+	+	50,4	3
2. <i>Pectinatus portalensis</i>	*	*	*	0	0
3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+/-	+/-	+/-	0,04	1
4. <i>Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis</i>	*	+/-	+	0,89	2
5. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>	+	+	+	4,0	3
6. <i>Dekkera anomala</i>	+	+	+	1,9	3
7. <i>Wickerhamomyces anomalus</i>	+/-	+	+	0,64	3
(+) starke(s) Wachstum, Trübung (+/-) leicht(s) Wachstum, Trübung (-) kein(e) Wachstum, Trübung					Σ
* Trübung durch Mikroorganismen visuell nicht auswertbar: trübes Produkt					15
** Liegt die Mikroorganismenkonzentration unter der Nachweisgrenze der Mikroorganismen-Zählkammern, so wird die Zellkonzentration zur Vereinfachung der grafischen Auswertung auf 0 festgelegt					\emptyset
					2,14

Tab. 4

Biere und der Biermischgetränke können mit dem Standard-Bier und dem Standard-Biermischgetränk verglichen werden. Die

getesteten Biersorten und ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften sind ausführlich in Tabelle 2 dargestellt.

Empfindliche alkoholfreie und alkoholreduzierte Biere

Die beiden alkoholfreien Biere gelten nach diesem Schema als mikrobiologisch sehr empfindlich, da alle getesteten Mikroorganismenstämme – mit Ausnahme von *Lactobacillus brevis* in AFB1 – wachsen. In Summe und Schnitt der zusammengefassten Risikokategoriepunkte zeigen sich damit auch im Vergleich zu den anderen getesteten Biertypen deutlich erhöhte Werte. Der untersuchte Stamm *Lactobacillus brevis* ist, wie Folgestudien gezeigt haben, nur bis zu einem Bittersäuregehalt von durchschnittlich 22 BE lebensfähig. Dies erklärt das fehlende Wachstum in AFB1, welches diesen Wert mit 25 BE überschreitet. Unter Verwendung eines hopfentoleranteren Stammes würden durch das damit verbundene Wachstum von *Lactobacillus brevis* die durchschnittlichen Risikokategoriepunkte noch weiter steigen. Das starke Wachstum an Kultur- und Wildhefen ist dem verhältnismäßig hohen Gehalt an vergärbaren Zuckern zuzuschreiben.

Die beiden alkoholreduzierten Biere weisen ein vergleichbares Wachstum an wilden Hefen auf wie die alkoholfreien Biere. In ARB1 wachsen auch Kulturhefen stark an, deren Wachstum in ARB2 nur schwach zu beobachten ist. *Lactobacillus brevis* wächst nur in ARB2, was analog zu den alkoholfreien Bieren auf den Bittersäuregehalt zurückzuführen ist. Der Aufbau von Toleranzen während Adaption an ein neues Medium konnte bei verschiedenen Spezies beobachtet werden [10]. Der umgekehrte Schluss, dass sich dieselben Toleranzen während Stammhaltung und Lagerung wieder zurückbilden können, ist ebenfalls denkbar. Dies würde erklären, weshalb der verwendete *Pectinatus*-Stamm nur in den alkoholfreien Bieren angewachsen ist. Die Alkoholtoleranz könnte während der Lagerung auf nichtselektiven Medien abgebaut worden sein. Unter Verwendung von hopfen- bzw. alkoholresistenteren Bakterienstämmen würden die Risikokategoriepunkte noch höher ausfallen. Das mikrobiologische Risiko ist also auch bei den alkoholreduzierten Bieren als hoch einzustufen.

Vollbier verhältnismäßig stabil

Das Bier B1 weist ein ähnlich großes mikrobiologisches Risiko auf wie das alkoholreduzierte Bier ARB2. Nur die Hefe *Wickerhamomyces anomalus* wächst in B1 schlechter

RISIKOBEWERTUNG NACH KEIMEN UND BIERTYPEN (MIKROORGANISMENSET A)

Getränk	AFB		ARB		Bier	
	AFB1 UG	AFB2 OG	ARB1 UG	ARB2 OG	B1 UG	Standard-Bier
Mikroorganismen						
1. <i>L. brevis</i>	0	3	0	3	3	3
2. <i>Pectinatus portalensis</i>	3	3	0	0	0	0
3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3	3	3	1	1	0
4. <i>Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis</i>	3	2	3	2	2	0
5. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>	3	3	3	3	3	3
6. <i>Dekkera anomala</i>	3	3	3	3	3	3
7. <i>Wickerhamomyces anomalus</i>	3	3	2	3	2	0

AFB= alkoholfreies Bier ARB= alkoholreduziertes Bier

OG = obergärig UG= untergärig

Tab. 5

RISIKOBEWERTUNG NACH KEIMEN UND BMG (MIKROORGANISMENGRUPPE B)

Getränke	BMG		
	BMG1 UG	BMG2 UG	Standard BMG
Mikroorganismen			
1. <i>L. brevis</i>	0	0	0
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	3
3. <i>Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis</i>	0	0	3
4. <i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>	1	3	3
5. <i>Dekkera anomala</i>	3	3	3
6. <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	0	0
7. <i>Kazachstania exigua</i>	3	0	3

BMG= Biermischgetränk

Tab. 6

an als in ARB2. Das für ein Vollbier außergewöhnlich starke Hefewachstum ist auf den verhältnismäßig hohen Gehalt an vergärbaren Zuckern zurückzuführen. Mit einer durchschnittlichen Risikokategoriepunktzahl von über 2,0 ist dieser Biertyp deutlich anfälliger als das untersuchte Standard-Bier.

Das Standard-Bier ist, wie zu erwarten, mikrobiologisch als stabil einzustufen. Hefewachstum zeigten die dextrinspaltende Hefe *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* und die ebenfalls übervergärende Hefe *Dekkera anomala*. Das Wachstum von *Lactobacillus brevis* begründet sich darin, dass sich der Bittersäuregehalt des Standard-Bieres mit 22 BE gerade noch am Limit des verwendeten Stammes befindet.

Biermischgetränke stabiler Getränketypp (verglichen mit Referenz)

Saccharomyces cerevisiae var. *diastaticus* wächst in BMG1 nur in sehr geringen Mengen, während Bierkulturhefen gar nicht wachsen. Die beiden Nicht-*Saccharomyces* Hefen *Kazachstania exigua* und *Dekkera anomala* wiesen starkes Wachstum auf. Das schlechte Wachstum von *Saccharomyces*-Hefen deutet darauf hin, dass in dem natürlichen Nichtbieranteil des naturtrüben BMG1 Hemmstoffe enthalten sind, die *Saccharomyces*-Hefen in ihrem Wachstum hemmen. Aufgrund des niedrigen pH-Wertes kann der verwendete *Lactobacillus brevis*-Stamm nicht wachsen. Somit sollte

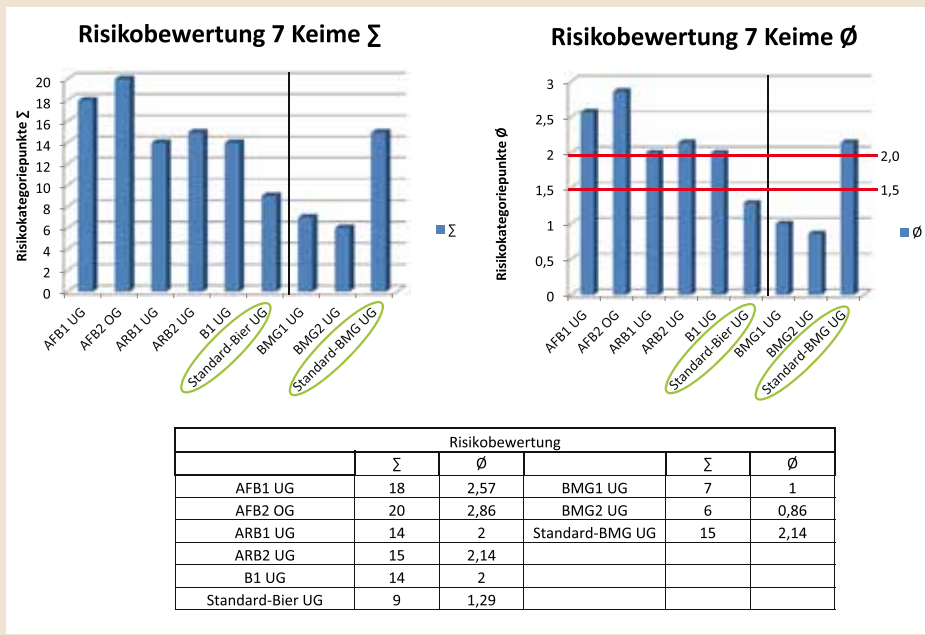


Abb. 3 Übersichtsbewertung der getesteten Biertypen Σ und Ø

die betriebsbiologische Überwachung ihren Fokus auf Nicht-Saccharomyces-Wildhefen richten. In BMG2 wachsen *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* und *Dekkera anomala* stark an. Das Wachstum anderer Mikroorganismen konnte nicht beobachtet werden. BMG2 ist ein süßstoffbasiertes Biermischgetränk, wodurch nur ein sehr geringer Anteil an fermentierbaren Zuckern im Getränk vorliegt und ein Wachstum der meisten Hefen einschränkt. *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* und *Dekkera*-Hefen können Dextrine spalten und so auch in Medien wachsen, die andere Hefen nicht verwerten können. In einem Hygienemonitoring sollte also gezielt auf die so genannten übervergärenden Hefen geachtet werden. Insgesamt sind beide Biermischgetränke als mikrobiologisch mit dem Standard-Biermischgetränk (Referenz Standard-BMG UG) als stabil anzusehen (Abb. 3).

Zusammenfassung

Das hier behandelte mikrobiologische Analysen- und Bewertungssystem eignet sich sehr gut, um neuartige sensible Produkte auf ihre mikrobiologische Anfälligkeit zu untersuchen und ihr mikrobiologisches Risiko abzuschätzen. Beide alkoholfreie und alkoholreduzierte Biere sowie der Biertyp B1 sind als mikrobiologisch instabiler als das untersuchte Standard-Bier anzusehen. Bei der Abfüllung dieser alkoholfreien und alkoholreduzierten Biere ist auf strikte Füllerhygiene zu achten, und es sind strenge Kontrollen durchzuführen. Weiter emp-

fehlt es sich, zusätzliche Monitoringsysteme einzuführen. Die getesteten Biermischgetränke sind stabiler als das Standard-Biermischgetränk.

Lactobacillus brevis und damit die meisten anderen *Lactobacillus spp.*, die in der Füllerumgebung vorkommen können, können sowohl in den getesteten obergärigen Bieren als auch im Biertyp B1 wachsen. *Pectinatus* ist in den beiden alkoholfreien Proben angewachsen. Bierkulturhefe und *Wickerhamomyces anomalus* können in allen Bierproben wachsen. Die alkoholfreien Biere können als ausgezeichnete Nährmedien für Biofilme und bierschädliche Mikroorganismen aus dem Abfüllbereich gesehen werden. Bierreste sollten minimiert und so oft wie möglich entfernt werden. Neben Tunnelpasteurisation sollte ein Monitoringsystem, das biofilmbildende Bakterien (Essigsäurebakterien), Lactobacillen, die biofilmbildende Hefe *Wickerhamomyces anomalus* und *Saccharomyces*-Hefen abdeckt, etabliert werden. Für diese Biertypen ist es erforderlich, dass Biofilmphase 1 nicht überschritten wird.

Die untersuchten Biermischgetränke sind als mikrobiologisch stabil einzustufen. Unter der Voraussetzung einer einwandfreien und stetig kontrollierten Füllerhygiene sollte eine Abfüllung der beiden Getränke BMG1 und BMG2 nach Kurzzeiterhitzung, aber ohne nachfolgende Tunnelpasteurisation ohne bedenkliches Kontaminationsrisiko gewährleistet werden können. Hierbei ist die Etablierung spezieller Monitoring-

systeme empfehlenswert beziehungsweise erforderlich. Für BMG1 und BMG2 sollten übervergärende Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* und *Dekkera*-Hefen sowie Nicht-Saccharomyces-Hefen überwacht werden. Für beide Produkte ist eine zusätzliche Kontrolle des Wachstums von *Wickerhamomyces*-Hefen erforderlich. Dies kann ein Werkzeug sein, um Hefen enthaltende Biofilme zu detektieren, bevor sich stark produktschädigende Fremdhefen ansiedeln.

Literatur

1. Kelch, K.: „Die größten Getränkehersteller 2010“, BRAUWELT 41, 2011, S. 1224-1225.
2. Kelch, K., Hohmann, C.: „Inlandsabsatz für selbsthergestelltes Bier 2010 leicht rückläufig – Aufwind im Kleinen“, BRAUWELT 47, 2011, S. 1453-1457.
3. Menz, G.; Aldred, P.; Vriesekoop, E.: „Pathogens in Beer“, Hrsg. V. R. Preedy, Elsevier/Academic Press, London, 2009, S. 403-413.
4. Back, W.: „Biofilme in der Brauerei und Getränkeindustrie“, BRAUWELT 24/25, 2003, S. 766-777.
5. Back, W.: „Sekundärkontaminationen im Abfüllbereich“, BRAUWELT 16, 1994, S. 686-695.
6. Storgards, E.: „Process hygiene control in beer production and dispensing“, VTT Publications, 2000, S. 1-105.
7. Timke, M.; Wang-Lieu, N. Q.; Altendorf, K.; Lipski, A.: „Fatty acid analysis and spoilage potential of biofilms from two breweries“, Journal of Applied Microbiology 99, 2005, S. 1108-1122.
8. Timke, M.; Wang-Lieu, N. Q.; Altendorf, K.; Lipski, A.: „Identity, beer spoiling and biofilm forming potential of yeasts from beer bottling plant associated biofilms“, Antonie van Leeuwenhoek 93, 2008, S. 151-161.
9. Timke, M.; Wolking, D.; Wang-Lieu, N. Q.; Altendorf, K.; Lipski, A.: „Microbial composition of biofilms in a brewery investigated by fatty acid analysis, fluorescence in situ hybridisation and isolation techniques“, Applied microbiology and biotechnology 66, 2004, S. 100-107.
10. Behr, J.; Ganzle, M. G.; Vogel, R. F.: „Characterization of a highly hop-resistant *Lactobacillus brevis* strain lacking hop transport“, Applied and environmental microbiology 72, 2006, S. 6483-6492.