

Leading in Integrated Beverage Solutions



DÖHLER GROUP



The Innovation Network.

Integrated Beverage Solutions



Service, Safety, Quality

Hochwertige Getränke erfordern konstant hohe Produktsicherheit, die ständig überprüft werden muss. Durch Döhler **Micro-safety Design**[®] (DMD) wird dieser Anspruch gewährleistet: Es ist die Plattform für praktizierte Lebensmittelsicherheit entlang der gesamten Wertschöpfungskette. Seit Jahren ist Döhler in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Werner Back von der TU München/Weihenstephan führend auf dem Gebiet der Nährmedien zur mikrobiologischen Untersuchung in der alkoholfreien Getränkeindustrie und in Brauereien.

Mit den Döhler Nachweismedien NBB[®], OFS-Agar, TransFast, LMC etc. und modernen molekularbiologischen Methoden (*Vermicon Identification Technology*, VIT) für den einfachen, schnellen und effizienten Nachweis von mikrobiologischen Verunreinigungen bei Getränken aller Art werden schädliche Mikroorganismen identifiziert, bevor ein schadhaftes Endprodukt das Haus verlässt. Da fast alle Nachweismedien von Döhler gebrauchsfertig sind und ohne weitere Behandlungsmaßnahmen eingesetzt werden können, bieten sie weitere Vorteile.

Mit Hilfe einer speziellen Probenahmetechnik, dem Bypass-Membran-System (BM-System), unterstützt Döhler die Validierung von Produktionsanlagen. Neben kompetenter Beratung werden in den Döhler-Labors auch spezielle Auftragsanalysen durchgeführt. Unsere langjährige Erfahrung wird durch spezielle

Kenntnisse der Partner im Döhler „Innovation Network“ ergänzt. Damit bieten wir unseren Kunden pragmatische Lösungen für mikrobiologische Fragestellungen – flexibel, zeitnah und zuverlässig.



*Top quality drinks require consistently the highest product safety standards and this necessitates a constant review and monitoring regime. Döhler **Micro-safety Design**[®] (DMD) guarantees this standard and provides a platform for excellent food safety practice along the entire added-value chain. Döhler, in collaboration with Professor Werner Back of Munich/Weihenstephan Technical University, has been leading the nutrient-media field of microbiological monitoring for the soft drinks and brewing industries for many years.*

*Using the Döhler detection media for example NBB[®], OFS-Agar, TransFast, LMC etc. and modern molecular biological methods (*Vermicon Identification Technology*, VIT) for simple, quick and efficient detection of microbiological contaminations for all beverage types,*

microorganisms can be identified long before sub-standard finished goods leave the factory premises. Virtually all Döhler detection media are provided ready-to-use.

Meanwhile, the Bypass-Membrane-System (BM-System) is a special sampling technique designed for production plant validation. For special tailor-made customer analysis Döhler is also able to offer a bespoke service based in their own laboratories.

Our long-time experience together with the special knowledge of our partners in the Döhler “Innovation Network” provides pragmatic solutions for microbiological questions – flexible, rapid and reliable.

Nährmedien und weitere Qualitätsparameter	1.1
für die praxismgerechte Betriebskontrolle	
<i>Nutrient Media and Microbiological Parameters</i>	<i>1.1</i>
<i>for Quality Control</i>	
Keime zuverlässig und schnell erkennen	1.2
<i>Detection of Microorganisms: Reliable and Fast</i>	<i>1.2</i>
Nährmedium zum Nachweis getränkeschädlicher Keime (OFS-Agar)	1.3
<i>Nutrient Media for the Isolation of Spoiling</i>	<i>1.3</i>
<i>Microorganisms in Beverages (OFS-Agar)</i>	
Nachweis getränkeschädlicher Keime (SSL-Bouillon)	1.4
<i>Isolation of Spoiling Microorganisms in Beverages (SSL-Broth)</i>	<i>1.4</i>
Nähragar nach DEV	1.5
<i>Nutrient Agar as per DEV</i>	<i>1.5</i>
DEV-Lactose-Bouillon	1.6
<i>DEV-Lactose-Broth</i>	<i>1.6</i>
Handhabung der Nährböden OFS-Agar und DEV-Nähragar	1.7
<i>Handling of the Nutrient Media OFS-Agar and DEV Nutrient Agar</i>	<i>1.8</i>
TransFast – schneller und selektiver Nachweis von	1.9
AfG-schädigenden Mikroorganismen	
<i>TransFast – Rapid and Selective Detection of</i>	<i>1.9</i>
<i>Microorganisms Harmful to Soft Drinks</i>	
TransFast – Herstellungsanleitung für die Nährmedien	1.10
<i>TransFast – Making up the Culture Media</i>	<i>1.10</i>
TransFast – Auswertung	1.11
<i>TransFast – Analysis</i>	<i>1.11</i>
Praxisnahe Betriebskontrolle im AfG-Betrieb	1.13
<i>Practice-Orientated Production Control</i>	<i>1.13</i>
Produktliste	1.17
<i>Product List</i>	<i>1.18</i>

Nährmedien und weitere Qualitätsparameter für die praxisgerechte Betriebskontrolle

Nutrient Media and Microbiological Parameters for Quality Control



Keime zuverlässig und schnell erkennen

Die Döhler Nachweismedien für alkoholfreie Getränke (AfG) ermöglichen dem Anwender, schädigende Mikroorganismen in der gesamten Prozesskette der Getränkeherstellung zuverlässig und schnell nachzuweisen. Die Nährmedien wirken äußerst selektiv: Nur die für den Verderb verantwortlichen Keime finden optimale Bedingungen für ein schnelles Wachstum. Alle Nachweismedien sind gebrauchsfertig, eine zusätzliche Ausmischung und Sterilisation sind nicht erforderlich. Der Prüfstempel der Technischen Universität München/Weihenstephan auf dem Etikett bürgt für kontrollierte Qualität.

Mit OFS-Agar, SSL-Bouillon und dem TransFast-System (Bouillon und Gel) können Schimmelpilze, Hefen, Milch- und Essigsäurebakterien in Süßgetränken nachgewiesen werden. TransFast zeichnet sich dabei durch besondere Schnelligkeit aus.

Mit TransFast-Bouillon steht zudem ein Nährmedium zur Anreicherung getränkeschädlicher Mikroorganismen zur Verfügung. Speziell für Wasseruntersuchungen stehen LMC-Konzentrat und DEV-Nähragar zur Verfügung: Sie dienen dem Nachweis von *E. coli*/coliformen Keimen beziehungsweise der Gesamtkeimzahl.

Detection of Microorganisms: Reliable and Fast

The Döhler nutrient media for the soft drinks industry give the user the possibility to detect harmful microorganisms reliable and fast. The culture media are very selective: only spoiling microorganisms will have optimal conditions for growth. All culture media are ready-to-use, additional mixing and sterilization are not necessary.



The inspector's stamp of the Technical University of Munich/Weihenstephan guarantees controlled quality.

*With OFS-Agar, SSL-Broth and the TransFast-System (Broth and Gel) harmful moulds, yeast, lactic and acetic acid bacteria could be verified. TransFast is characterized by a special rapidness. For pre-enrichment of harmful microorganisms TransFast-Broth will be the best choice. Specially for analyzing water LMC-Concentrate and DEV-Nähragar are available for detection of *E. coli* and coliform bacteria respectively Total Viable Count (TVC).*

OFS-Agar (pH 5,0 ± 0,1)

OFS-Agar (pH 5.0 ± 0.1)

Nährmedium zum Nachweis getränkeschädlicher Keime

(Hefen, Schimmelpilze, Essigsäure- und Milchsäurebakterien)

Einsatzgebiete:

- AFG-Bereich
 - Molkereibereich
 - Keltereibereich
- a) Gussplattenverfahren, Fertiggetränke, Spülwasserproben, Kultivierung von Keimen
- b) Basis-Nährboden für Membranfilter

Verarbeitung:

(Gussplattenverfahren)
In den Petrischalen ca. 3 ml (9 cm Durchmesser) oder 10–15 ml (14 cm Durchmesser) Untersuchungsmaterial vorlegen und dann mit flüssigem, temperiertem Agar (3–4 mm hoch) auffüllen und durch kreisende Bewegungen mit dem Untersuchungsmaterial durchmischen. Anschließend wird die Probe 3 Tage bei 28 °C bebrütet.

Auswertung:

Aufgrund des artspezifischen Wachstums und der Geruchsentwicklung der Keime beim Gussplattenverfahren lässt sich durch makroskopische Auswertung der Proben bereits eine sehr gute Beurteilung des Befundes erzielen.

Erkennungsmerkmale:

Hefen

Matte, gelblich-weiße oder rote Kolonien. Teilweise sternförmiges Wachstum oder Kahmhaut-bildend (Kahmhefen).

Schimmelpilze

Bilden großes, rundes Mycel mit weißem Rand (Durchmesser meist größer als 0,5 cm) mit grünem, braunem oder schwarzem Zentrum.

Milchsäurebakterien

Kleine, elypsenförmige (im Nährboden), auf der Oberfläche glasige Kolonien. Geruchsbild: leicht säuerlich nach verdorbener Butter. Katalase-negativ.

Essigsäurebakterien

Wachstum nur auf der Oberfläche. Glasiges Erscheinungsbild, stark stechender Essigsäuregeruch. Katalase-positiv.

Nutrient Media for the Isolation of Spoiling Microorganisms in Beverages

(Yeasts, moulds, acetic and lactic acid bacteria)

Application:

- Soft drinks
- Dairy
- Winery

- a) *Pour plate method, Ready-to-Drink (RTD) beverages, rinse water samples, cultivation of microorganisms*
- b) *Nutrient base for membrane filters*

Preparation:

(pour plate method)
Place approx. 3 ml or 10–15 ml of the test sample into the Petri dishes (9 cm diameter and 14 cm diameter respectively) and fill with warm agar to a height of

3–4 mm. Swirl the mixture in the Petri dishes. Place test sample into an incubator for three days at a temperature of 28 °C.

Analysis:

A good evaluation of the results can be achieved by the macroscopic examination of samples due to the individual growth characteristics and odorous emissions of each species.

Characteristics:

Yeasts

Mat, yellow-whitish or red colonies. Partially star-like growth or formation of a white film (non-fermenting yeast).

Moulds

Form large, circular mycel with white edge (diameter usually above 0.5 cm) with green, brown or black centre.

Lactic acid bacteria

Small, shiny, elliptical colonies on the surface of the nutrient media. Odour: slightly acidic, resemble rancid butter. Catalase-negative.

Acetic acid bacteria

Growth limited to surface. Shiny; extremely pungent acetic acid odour. Catalase-positive.



SSL-Bouillon (pH 5,0 ± 0,1) SSL-Broth (pH 5.0 ± 0.1)

Nachweis getränkeschädlicher Keime

(Hefen, Schimmelpilze, Essigsäure- und Milchsäurebakterien)

Einsatzgebiete:

- AfG-Bereich
- Molkereibereich
- Keltereibereich

Spurennachweis in filtrierbaren und nicht filtrierbaren Getränken oder Grundstoffen.

Vorlage von Tupferproben, Kultivierung von getränkeschädlichen Keimen aus dem AfG-Bereich.

Verarbeitung:

200 ml Fertiggetränk bzw. 10–20 ml Konzentrat, Püree, Mark, Grundstoff oder Zuckersirup mit 50 ml Bouillon vermischen und 2 Tage bei 28 °C bebrüten. Anschließend Gussplatte mit 3 ml Untersuchungsmaterial anlegen (Nährmedium OFS-Agar). In diesem Fall reichen 2 Tage bei 28 °C Bebrütung, da sich die Keime aus der Anreicherung heraus bereits in einer optimalen Wachstumsphase befinden.

Auswertung:

Die Interpretation des Befundes ist in erster Linie ein qualitatives Ergebnis. Es lassen sich aber auch mit etwas Erfahrung über die ermittelte Keimzahl Rückschlüsse auf die Ausgangsverkeimung ziehen (siehe Diagramm).

Isolation of Spoiling Microorganisms in Beverages

(Yeasts, moulds, acetic and lactic acid bacteria)

Application:

- Soft drinks
- Dairy
- Winery

Tracer studies in filterable and non-filterable beverages and base ingredients.

Test medium of swabs, cultivation of spoiling microorganisms of RTD beverages.

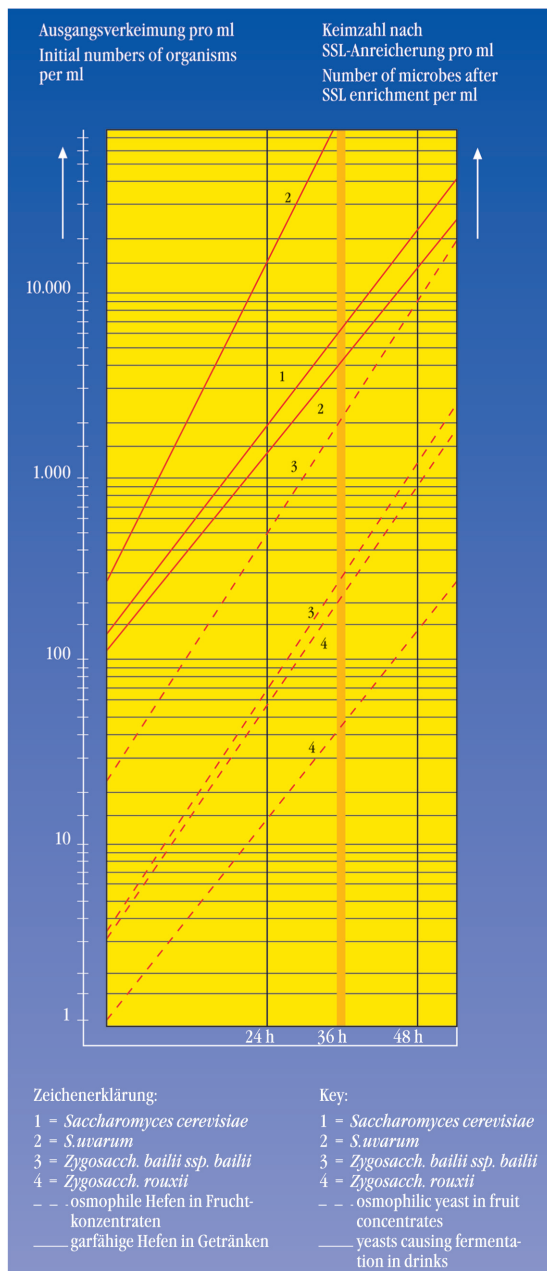
Preparation:

Mix 200 ml of RTD beverages resp. 10–20 ml concentrate, puree, compound or sugar syrup with 50 ml broth and keep in an incubator for 2 days at 28 °C.

Prepare pour plate with 3 ml test medium (culture medium OFS-agar). For this it is sufficient to incubate the sample for 2 days at 28 °C as the microorganisms are at their optimum growth phase due to enrichment.

Analysis:

The interpretation of the results is primarily a qualitative one. With some experience it is, however, possible to estimate the initial number of organisms that resulted in the final number of microorganisms (see diagram).



Nähragar nach DEV (pH 7,3 ± 0,2)

Einsatzgebiete:

Bestimmung der Gesamtkeimzahl im Wasser nach dem deutschen Einheitsverfahren und der Trinkwasser-Verordnung. Gesamtkeimzahlbestimmung aus diversen Lebensmitteln und Spülwasserproben. Gussplattenverfahren, Basis-Nährboden für Membranfilter.

Verarbeitung:

Bei Wasseruntersuchung entweder 1 ml Untersuchungsmaterial im Gussplattenverfahren anlegen oder entsprechende Menge über Membranfilter filtrieren.

Bei Wasseruntersuchung nach DEV:

1 Probe 24 Stunden bei 37 °C, 1 Probe 48 Stunden bei 20 °C bebrüten (zulässige maximale Keimzahl: 100 KBE (bei 20 °C) bzw. 20 KBE (bei 37 °C) pro ml Untersuchungsmaterial).

Bei Gesamtkeimzahlbestimmung aus anderen Untersuchungsmaterialien gelten die entsprechenden aktuellen Verordnungen.

Auswertung:

Nach entsprechender Bebrütungszeit (in der Regel 2 Tage) werden die Kolonien ausgezählt. Ist die Keimzahl nicht mehr auszählbar, muss die Untersuchung nochmals über eine Vorverdünnung durchgeführt werden.



Nutrient Agar as per DEV (pH 7.3 ± 0.2)

Application:

Evaluation of the Total Viable Count (TVC) in water as per German standard method (DEV) and drinking water regulations.

Evaluation of Total Viable Count (TVC) in various food products and rinse water samples. Pour plate method, nutrient base for membrane filters.

Preparation:

For water analysis, either prepare 1 ml of the test sample according to the pour plate technique or filter the appropriate quantity (using a membrane filter).

Water analysis as per DEV: incubate 1 water sample for 24 hours at 37 °C, incubate 1 water sample for 48 hours at 20 °C (maximum permitted number of microorganisms: 100 cfu per ml at 20 °C; 20 cfu per ml at 37 °C).

For evaluation of total number of microorganisms from different test materials the appropriate actual regulations apply.

Analysis:

After an appropriate period of incubation (usually 2 days) the colonies are counted. If the number of microorganisms can not be established testing must be repeated using a serial dilution of the sample.

DEV-Lactose- Bouillon (pH 7,2 ± 0,1)

Einsatzgebiete:

Qualitativer Vortest zur Bestimmung von *E. coli* und coliformen Keimen im Wasser.

Verarbeitung:

Probeflasche mit Nährlösungskonzentrat mit entsprechender Menge Untersuchungsmaterial (250 ml) auffüllen und max. 48 Stunden bei 37 °C bebrüten (siehe Grafik).

Um die beschriebene Anwendung von DEV-Lactose-Bouillon auch für carbonisiertes Mineralwasser zu ermöglichen, muss das Mineralwasser vor der Untersuchung entcarbonisiert werden (z. B. durch Ausschütteln der Kohlensäure oder durch Neutralisierung mit Lauge).

Auswertung:

Tritt innerhalb der Bebrütungszeit eine deutliche Farbveränderung in Richtung Zitronengelb, Trübung oder Gasbildung auf, so ist der Befund positiv. Genauere Identifizierung ist dann durch Ausstrich auf Endo-Agar oder vergleichbare Nährmedien und anschließende „Bunte Reihe“ möglich.

DEV-Lactose- Broth (pH 7.2 ± 0.1)

Application:

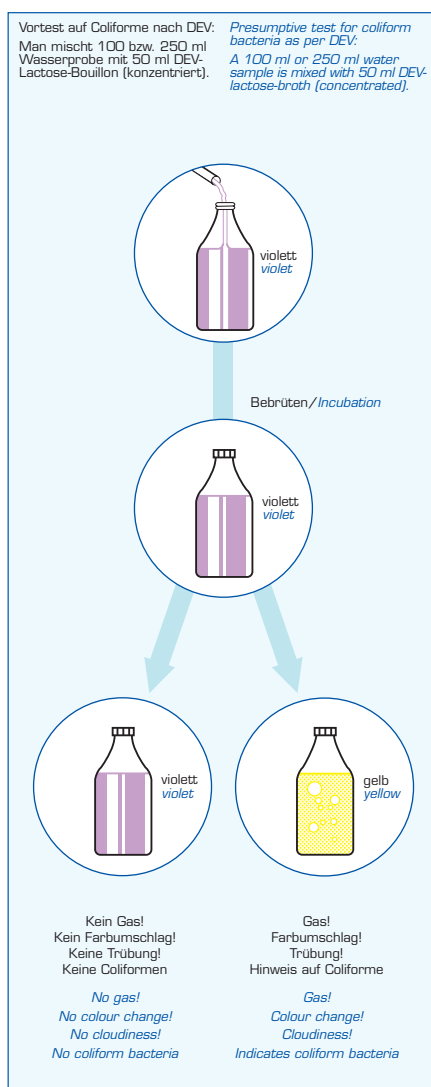
Qualitative presumptive test for evaluation of *E. coli* and coliform bacteria in water.

Preparation:

Add test sample (250 ml) to concentrate in test bottle and incubate for a maximum of 48 hours at 37 °C (see graphic). Using the method for carbonated mineral water, the water must be decarbonated before testing (e. g. decarbonation by shaking or neutralisation with sodium hydroxide).

Analysis:

If there is a definite change in colour to (opaque) yellow, cloudiness or gas is released by the sample during incubation, the result is positive. A more definite identification is possible by addition to Endo-agar or similar nutrient media and subsequent colour sequence test.



Handhabung der Nährböden OFS-Agar und DEV-Nähragar

Die verschlossene Nährbodenflasche wird bei max. 95 °C so lange erhitzt, bis sich der Nährboden vollständig verflüssigt hat. Anschließend lässt man den Nährboden langsam auf 45–48 °C abkühlen. Temperaturdifferenzen von mehr als 20 °C sind zu vermeiden.

Tupferprobe:

Als Vorlage für sterile Abstrichtupfer in Röhrchen kann SSL-Bouillon oder physiologische Kochsalzlösung verwendet werden. Mit der durch den Abstrichtupfer kontaminierten Vorlage wird eine Gussplatte mit entsprechendem Agar hergestellt.

Katalase-Test:

Dieser Test eignet sich zur Differenzierung zwischen Essigsäure- und Milchsäurebakterien. Auf eine Einzelkolonie 1 Tropfen einer 5%igen Wasserstoffperoxidlösung (H_2O_2) träufeln. Bei den Katalase-positiven Essigsäurebakterien ist ein starkes Aufschäumen zu beobachten, während bei den Milchsäurebakterien keine Reaktion auftritt.

GRAM-Verhalten (KOH-Test):

Anstelle der aufwendigen GRAM-Färbung kann das GRAM-Verhalten auch mit dem sog. KOH-Test überprüft werden. Der Test beruht auf den unterschiedlichen Zellwandstrukturen von GRAM-negativen bzw. GRAM-positiven Mikroorganismen.

Für den Test wird eine möglichst dichte Organismen-Suspension (Reinkultur) mit

5%iger Kalilauge behandelt. Man entnimmt am besten eine einzelne große oder mehrere kleine gleichartige Kolonien von Ausstrichplatten und vermischt das Organismenmaterial auf einem Objektträger mittels Impföse mit einem Tropfen Kalilauge. Nach kurzer Einwirkzeit zeigen sich bei GRAM-negativen Bakterien Schleimfäden beim Antupfen mit der Impföse, während sich bei GRAM-positiven Arten die Konsistenz nicht verändert.

Oxidase-Nachweis:

Der Nachweis der Oxidase ist ein Schlüsseltest zur Unterscheidung von *Enterobacteriaceen* (Oxidase-negativ) und nicht fermentierenden GRAM-negativen Bakterien, die gewöhnlich Oxidase-positiv sind. Man tropft eine 1%ige wässrige Lösung von N,N-Dimethyl-1,4-phenylen-diamid-dihydrochlorid auf die Kolonien junger Agar-Kulturen. Der Nähragar sollte mög-



lichst frei von Glukose und Nitrat sein. Bei Oxidase-positiven Organismen färben sich die Kolonien nach kurzer Einwirkzeit zunächst rosa bis purpurrot, später dunkelbraun oder schwarz. Im Handel sind für den Oxidase-Nachweis auch fertige Teststreifen erhältlich. Hierbei wird dann eine Mikroorganismen-Suspension auf den Teststreifen mittels Impföse verbracht und nach einer Einwirkzeit die entsprechende Färbung sichtbar.

Handling of the Nutrient Media OFS-Agar and DEV Nutrient Agar

The unopened bottle containing solid nutrient media will be heated at max. 95 °C until the media is liquefied completely. Let the media cool down slowly to a temperature of 45 to 48 °C. Differences of temperature more than 20 °C must be avoided.

Swab Samples:

As test medium for sterile swab applications in test tubes SSL-broth or physiological saline solution can be used. Swabs taken from the test medium are used for a pour plate with appropriate agar.

Catalase-Test:

This is a test to differentiate between acetic acid and lactic acid bacteria. Apply one drop of a 5 % hydrogen peroxide solution (H₂O₂) to a single colony. The Catalase-positive acetic acid bacteria produce a strong effervescent reaction, whereas the lactic acid bacteria show no reaction at all.

GRAM-Screening (KOH-Test):

Instead of the complex GRAM-staining-test it is possible to evaluate bacteria with the so-called "KOH-test". This screening is based on different cell wall structures of GRAM-positive and GRAM-negative microorganisms.

A suspension of microorganisms (pure culture) is treated with caustic potash solution (5 %). Preferably take one big colony or collect a number of small, similar colonies from Petri dishes and

mix these material on a microscope slide by an inoculation loop together with a drop of caustic potash solution. After a short time GRAM-negative bacteria will show slimy threads if dabbed with an inoculation loop. GRAM-positive bacteria will show no reaction.

Oxidase Detection:

The detection of the enzyme Oxidase is one of the key tests for differentiation of Enterobacteria (Oxidase-negative) and other non-fermenting GRAM-positive bacteria, which are normally Oxidase-positive.

For evaluation of the colonies in a fresh culture (Petri dish) a few drops of 1 % aqueous solution of N,N-Dimethyl-1,4-phenylenediamid-dihydrochlorine are added. Preferably, the nutrient media should be free of glucose and nitrate. Colonies of Oxidase-positive microorganisms turn pink to crimson, later dark brown to black. Ready-to-use test kits are also available. In this case a suspension of microorganisms will develop colours on a test stripe in the same way as described above.



TransFast – schneller und selektiver Nachweis von AfG-schädigenden Mikroorganismen

Bei diesem mikrobiologischen Test handelt es sich um eine Bouillon zur Voranreicherung von nicht filtrierbaren Fertiggetränken, die es ermöglicht, eine größere Untersuchungsmenge (ca. 200 ml) verarbeiten zu können.

Das zweite Nährmedium ist ein Gel zur Direktuntersuchung von Membranfilter, Spülwasserproben, Fertiggetränken, Grundstoffen und den oben erwähnten Voranreicherungen.

Der Nachweis erstreckt sich auf Mikroorganismen, die in einem pH-Bereich kleiner 4,5 (speziell Süßgetränke) wachsen können und dort zum Verderb führen (Schimmelpilze, Hefen, Milch- und Essigsäurebakterien).

Mikrobiologische Ergebnisse liegen im Regelfall bereits nach 1, max. 2 Tagen vor. Bei Voranreicherung verlängert sich der Test um 1–2 Tage.

Verarbeitung:

Untersuchungsmaterial in den 80 ml Sterilröhrchen vorlegen und dann entsprechend den aufgeführten Mengen mit Gel unter sterilen Bedingungen auffüllen. Die Proben werden dann in einen Lichtkasten gestellt, der im vorderen Bereich eine Glasscheibe hat und mit einer Bebrütungs-temperatur von 28 °C betrieben werden muss.

TransFast – Rapid and Selective Detection of Microorganisms Harmful to Soft Drinks

This test is based on a broth which concentrates non-filterable ready-to-drink beverages prior to examination for

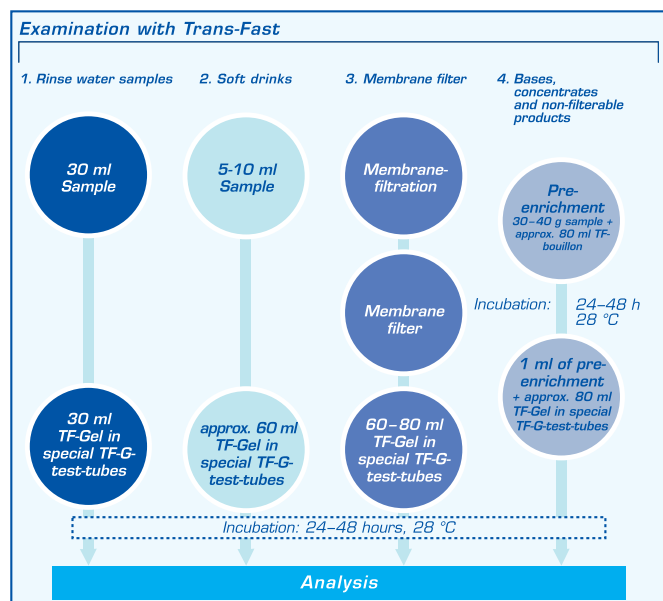
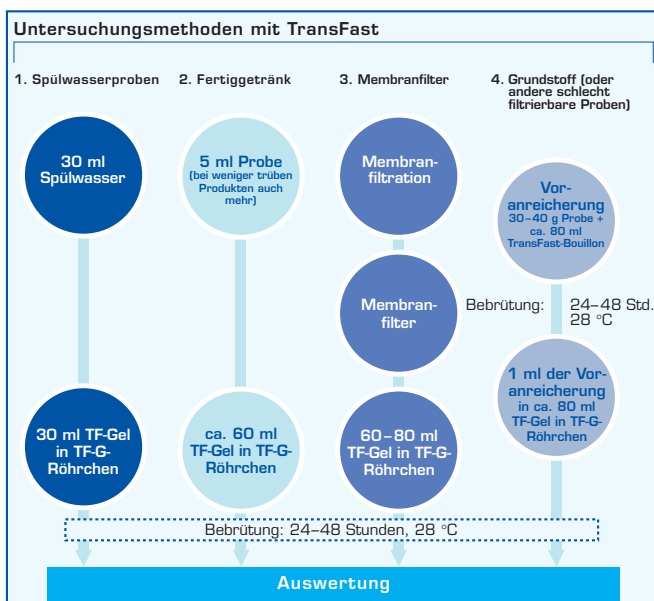
microbe content and enables a larger volume (approx. 200 ml) to be analyzed. The second culture medium is a gel which enables membrane filters, rinse water samples, ready-to-drink beverages, raw materials and the concentrated beverages mentioned above to be examined directly.

The test detects microorganisms which can grow in a pH-environment of less than 4.5 (beverages), and spoil the product (mould, yeast, lactic and acetic acid bacteria). Microbiological results can usually be obtained after 24 hours or at most two days. An additional pre-enrichment procedure requires again 1–2 days.

Preparation:

Place the material to be examined in a sterile 80 ml test tube and fill with appropriate amount of gel under sterile conditions.

Place the samples in a glass-fronted viewing box which can be kept at an incubating temperature of 28 °C.



TransFast – Herstellungs- anleitung für die Nährmedien

pH-Einstellung

Bei 40–50 °C wird der pH-Wert mit Komponente 2 auf einen Wert von 4,3–4,4 eingestellt. Der pH-Wert muss mit einem pH-Meter mit Temperaturkompensation eingestellt werden.

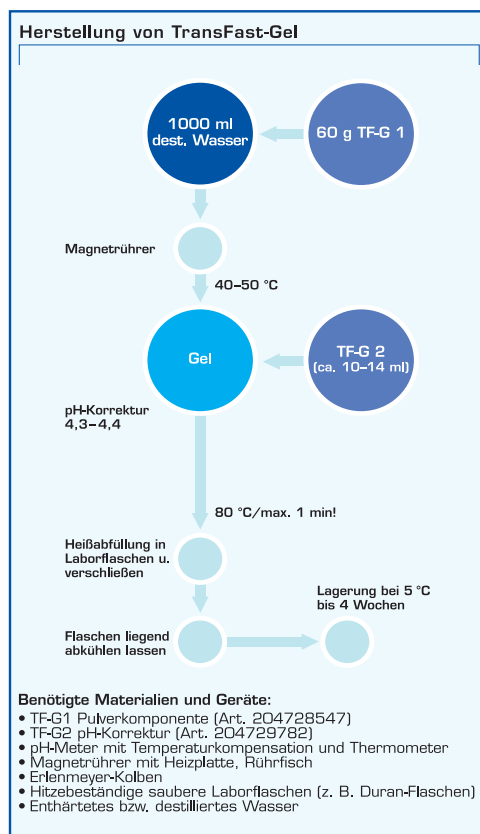
Pasteurisation des Nährmediums

Nach erfolgter pH-Einstellung wird der Ansatz auf 80 °C aufgeheizt, dort etwa 60 sec. heißgehalten und dann in vorbereitete saubere Flaschen abgefüllt und verschlossen.

Die Flaschen und die Schraubverschlüsse müssen für hohe Temperaturen geeignet sein. Anschließend wird die Flasche umgelegt, damit sichergestellt wird, dass auch der Kopfraum der Flasche keimfrei wird. Das fertige Nährmedium ist leicht opal und kann Schlieren aufweisen. Dies hat keinen Einfluss auf die Untersuchung.

Haltbarkeit des fertigen Nährmediums

Nach Abkühlung kann das Nährmedium bis zu 4 Wochen bei 5 °C aufgehoben werden. Nach 4 Wochen sollte das Nährmedium aufgebraucht sein.



Finally turn the bottle upside down to ensure that the headspace is sterilized. The prepared culture medium is pale opal in colour and may be streaky. However, this will not effect any tests.

Shelf life of the prepared culture medium

After cooling, the culture medium can be kept for up to 4 weeks at 5 °C. After 4 weeks it should be used up or discarded.

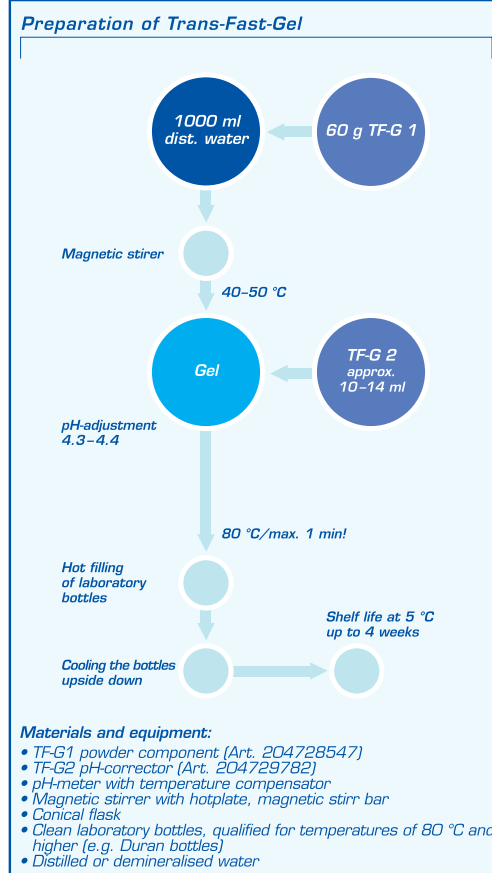
TransFast – Making up the Culture Media

pH-adjustment

When the solution reaches 40–50 °C adjust the pH-level to 4.3–4.4 using component 2. Use a pH-meter which compensates for temperature to carry out the adjustment.

Pasteurizing the culture medium

When the pH-level has been adjusted, heat the solution to 80 °C, and maintain it at this temperature for approximately 60 seconds. Pour it into prepared, clean bottles and seal. The bottles and screw tops must be able to withstand a temperature of 80 °C.



TransFast – Auswertung

Nach 1 bzw. 2 Tagen ist im Gel bei vorliegender Verkeimung ein Nachweis durch Sichtkontrolle möglich. Wenn Erfahrung vorliegt, kann bereits eine makroskopische Differenzierung der gewachsenen Keime erfolgen. Zur genaueren Bestimmung müssen (wie auch im Gussplattenverfahren) die Kolonien mikroskopiert werden.

Durch den niedrigen pH-Wert im Nährmedium erfolgt eine starke Selektion in Richtung produktschädigender Keime. Es ist daher durchaus möglich, dass speziell bei Spülwasserproben in dem Gel gewisse Keime nicht mehr wachsen, die aber beim klassischen Gussplattenverfahren erkennbar sind. Diese spielen im Fertiggetränk keine Rolle und können vernachlässigt werden; auch im Gel stören sie nicht die mikrobiologische Interpretation. Im Regelfall werden die Anlagen mit normalem (nicht pasteurisiertem) Wasser gespült, sodass durchaus mit unproblematischen Wasserkeimen zu rechnen ist, die nicht nachgewiesen werden und auf das Endprodukt keinerlei Einfluss haben.

TransFast – Analysis

After one or two days, any cultures in the gel can be detected with the naked eye. Even at this stage, the cultures which have grown can be distinguished macroscopically by an experienced technician.

However, as in the Petri dish method, the colonies must be examined under a microscope to identify them more accurately.

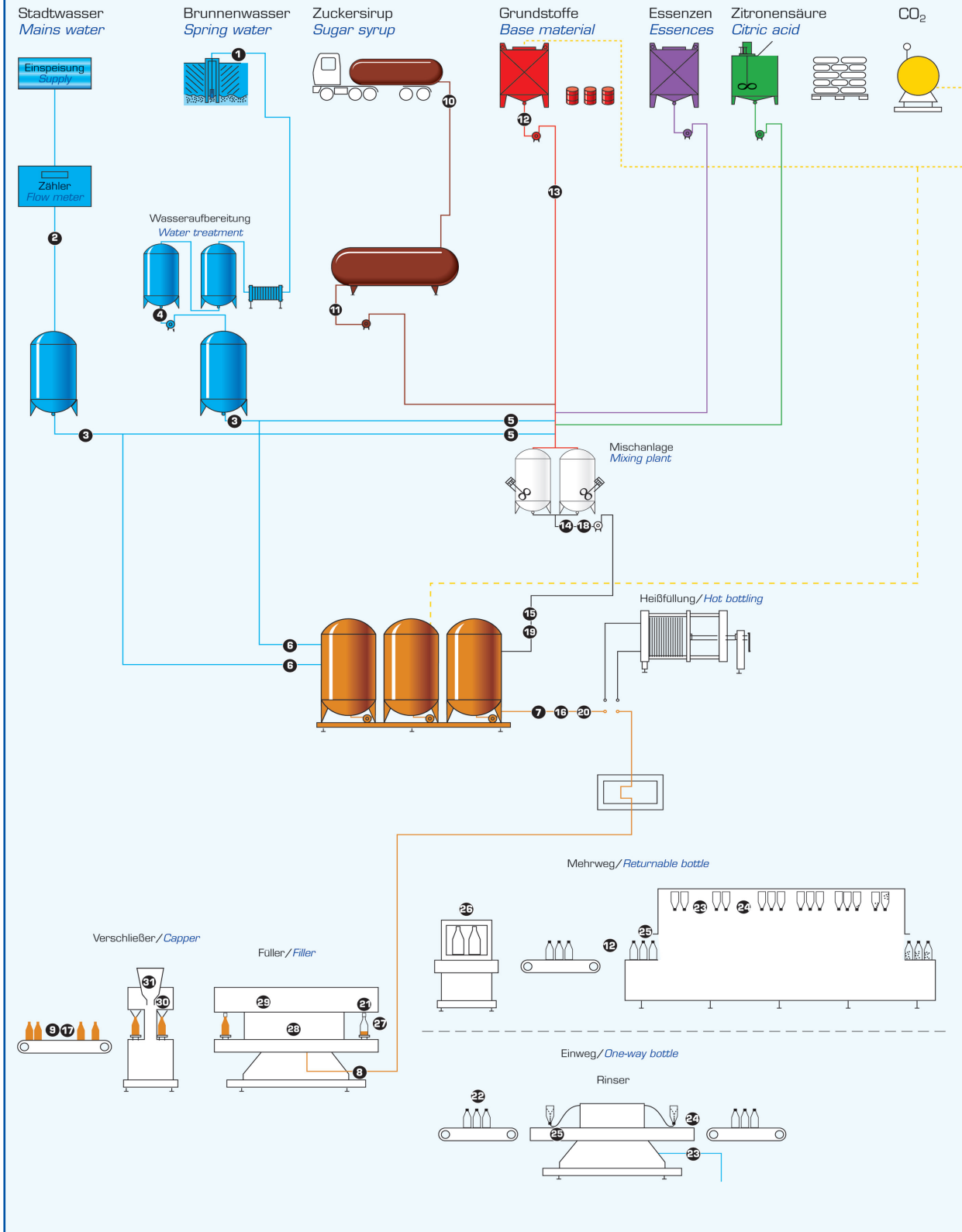
The relatively low pH-value in the culture medium inhibits growth and only allows a selective number of cultures, which cause spoilage, to grow.

It is therefore quite possible that certain cultures will not grow in the gel, particularly in rinse water samples, which can otherwise be detected in the classic Petri dish method.

However, they have absolutely no spoilage effect on the ready-to-drink beverage. They can be ignored, and have no bearing on the analysis of microbes found in the gel. Equipment is generally washed with normal water which has not been pasteurized, and consequently the microbes found in water are present. These cannot be detected and do not have any effect.



Praxisnahe Betriebskontrolle im AfG-Betrieb/Practice-Orientated Production Control



Probe	Probenstellen	Anzahl der Proben	Zu untersuchende Keime	Nährmedium			
				DEV Lact. Bouillon	DEV Standard	OFS TFG	SSL TFB
1 Wasser	nach Brunnenpumpe	2 x pro Monat	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
2 Wasser	nach Stadtwasserszähler	2 x pro Monat	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
3 Wasser	nach Drucktank oder Wasserreserve	2 x pro Monat	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
4 Wasser	nach Wasseraufbereitung und Wasserzähler	2 x pro Monat	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
5 Wasser	im Sirupraum vor Ausmischbehälter	2 x pro Monat	Getränkesschädlinge			•	
6 Wasser	Mixer-Einlauf	1 x pro Woche	Getränkesschädlinge			•	•
		1 x pro Monat	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
7 Wasser	Mixer-Auslauf (bei Mineralwasser)	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
8 Wasser	Füller-Einlauf	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
9 Wasser	aus abgefüllten Flaschen	bei jeder Abfüllung 2 Flaschen	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime	•	•		
10 Zuckersirup	aus Tankzug	bei jeder Lieferung	Getränkesschädlinge			•	
11 Spülwasser	aus Lagertank	vor jedem Befüllen	Getränkesschädlinge			•	
12 Grundstoff	aus Gebinde	bei jeder Lieferung	Getränkesschädlinge			•	
13 Grundstoff	aus Befüllleitung für Ausmischbehälter	2 x pro Woche	Getränkesschädlinge			•	
14 fertiger Sirupansatz	aus Ausmischbehälter	2 x pro Woche	Getränkesschädlinge			•	•
15 fertiger Sirup	vor Mixer	2 x pro Woche	Getränkesschädlinge			•	•
16 Fertiggetränk	Mixer-Auslauf	2 x pro Woche	Getränkesschädlinge			•	•
17 Fertiggetränk	aus abgefüllten Flaschen	2 x bei jeder Abfüllung	Getränkesschädlinge			•	•
18 Spülwasser	Ausmischbehälter	nach Reinigung	Getränkesschädlinge			•	
19 Spülwasser	Leitung zum Mixer	nach Reinigung	Getränkesschädlinge			•	
20 Spülwasser	Mixer-Ausgang	nach Reinigung	Getränkesschädlinge			•	
21 Spülwasser	aus Füller	nach Reinigung	Getränkesschädlinge			•	
22 gereinigte Flasche	nach Waschmaschine	1 x pro Woche 5 Flaschen	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
23 Kaltwasser-Nachspritung	Waschmaschine	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
24 Warmwasser-Nachspritung	Waschmaschine	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
25 Tupferproben	Flaschenausgabe Waschmaschine	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
26 Tupferproben	Flaschen-Inspektor	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
27 Tupferproben	Füllventile	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
28 Tupferproben	Füller Scherbenspülung	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
29 Tupferproben	Füllerverkleidung	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
30 Tupferproben	Verschleißer Verschlussübergabe	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	

Stufenkontrolle Einweggebinde

Probe	Probenstellen	Anzahl der Proben	Zu untersuchende Keime	Nährmedium			
				DEV Lact. Bouillon	DEV Standard	OFS TFG	SSL TFB
22 gereinigte Flaschen	nach Rinser	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
23 Rinser Wasser	vor Rinser	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
24 Tupferproben	Auslaufwanne Rinser	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	
25 Tupferproben	Greifer	1 x pro Woche	Gesamtkeimzahl, coliforme Keime und Getränkeschädlinge	•	•	•	

Test sample	Location of test points	Frequency of test samples	Microorganisms to be examined	Nutrient media			
				DEV lact. broth	DEV stand- ard	OFS TFG	SSL TFB
1 Water	After well pump	2 x per month	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
2 Water	After mains water flow meter	2 x per month	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
3 Water	After pressure tank or reservoir tank	2 x per month	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
4 Water	After water treatment and water flow meter	2 x per month	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
5 Water	In syrup chamber before mixing vessel	2 x per month	Beverage spoiling organisms			•	
6 Water	Mixer inlet	1 x per week	Beverage spoiling organisms			•	•
		1 x per month	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
7 Water	Watermixer outlet (for mineral water)	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
8 Water	Filling inlet	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
9 Water	From filled bottles	2 x per bottling operation	Total viable count, coliform bacteria	•	•		
10 Sugar syrup	From tanker	each delivery	Beverage spoiling organisms			•	
11 Rinse water	From storage tank	before each bottling operation	Beverage spoiling organisms			•	
12 Base material	From packaging	each delivery	Beverage spoiling organisms			•	
13 Base material	From inlet hose to mixing vessel	2 x per week	Beverage spoiling organisms			•	
14 Final syrup starting solution	From mixing vessel	2 x per week	Beverage spoiling organisms			•	•
15 Final syrup	Before mixer	2 x per week	Beverage spoiling organisms			•	•
16 Final beverage	Mixer outlet	2 x per week	Beverage spoiling organisms			•	•
17 Final beverage	From filled bottles	2 x per filling operation	Beverage spoiling organisms			•	•
18 Rinse water	Mixing vessel	after cleaning	Beverage spoiling organisms			•	
19 Rinse water	Inlet to mixer	after cleaning	Beverage spoiling organisms			•	
20 Rinse water	Mixer outlet	after cleaning	Beverage spoiling organisms			•	
21 Rinse water	From filler	after cleaning	Beverage spoiling organisms			•	
22 Cleaned bottle	After rinser	1 x per week 5 bottles	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
23 Post-spray cold water	Rinser	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
24 Post-spray hot water	Rinser	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
25 Swab samples	Bottle outlet at rinser	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
26 Swab samples	Bottle inspection	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
27 Swab samples	Filler valves	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
28 Swab samples	Filler: broken pieces spray	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
29 Swab samples	Filler casing	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
30 Swab samples	Capper: point of capping	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	

Process Control One-Way Bottle

Test sample	Location of test points	Frequency of test samples	Microorganisms to be examined	Nutrient media			
				DEV lact. broth	DEV stand- ard	OFS TFG	SSL TFB
22 Rinsed bottles	After rinser	1 x per week 5 bottles	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
23 Rinse water	Before rinser	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
24 Swab samples	Water discharge rinser	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	
25 Swab samples	Gripper	1 x per week	Total viable count, coliform bacteria and beverage spoiling organisms	•	•	•	

Mikrobiologische Nährmedien für die praxisgerechte Betriebskontrolle

Produkt	Artikel-Nr.	Gebinde
OFS-Agar Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • AfG-, Molkerei- und Kellerei-Bereich • Fertiggetränke, Spülwasserproben, Kultivierung von Keimen • Gussplattenverfahren, Basis-Nährboden für Membranfilter 	204707782	9 x 250 ml
SSL-Bouillon Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • AfG-, Molkerei- und Kellerei-Bereich • Spurennachweis in filtrierbaren und nicht filtrierbaren Getränken oder Grundstoffen • Vorlage von Tupferproben, Kultivierung von getränkeschädlichen Keimen aus dem AfG-Bereich 	204712782	9 x 250 ml
LMC-Konzentrat Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Qualitativer Vortest zur Bestimmung von <i>E. coli</i> und coliformen Keimen in Wasser 	204713700	9 x 50 ml
DEV-Agar Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Bestimmung der Gesamtkeimzahl im Wasser nach DEV und der Trinkwasser-Verordnung • Gesamtkeimzahlbestimmung aus diversen Lebensmitteln und Spülwasserproben • Gussplattenverfahren, Basis-Nährboden für Membranfilter 	204726782	9 x 250 ml
TransFast-Bouillon (TF-B) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Voranreicherung von nicht filtrierbaren Fertiggetränken • Möglichkeit eine größere Untersuchungsmenge (ca. 200 ml) zu verarbeiten 	204727782	9 x 250 ml
TransFast-Gel 1 (TF-G1 Pulverkomponente) Herstellung: TF-G 1 + TF-G 2 Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Direktuntersuchung von Membranfiltern, Spülwasserproben, Fertiggetränken, Grundstoffen und den TF-B-Voranreicherungen • Mikroorganismen, die in einem pH-Bereich kleiner 4,5 (speziell Süßgetränke) wachsen können und dort zum Verderb führen • Mikrobiologische Ergebnisse im Regelfall nach 1, max. 2 Tagen 	204728547	600 g Alubeutel
TransFast-Gel 2 (TF-G 2 pH-Korrekturkomponente) Herstellung: TF-G 1 + TF-G 2 Anwendung: s.o.	204729782	9 x 250 ml
TransFast-Gel Röhrchen (80 ml)	204730001	Beutel (100 St.)

Microbiological Culture Media for Practical Operational Monitoring

Product	Article-No.	Package
OFS-Agar Application: <ul style="list-style-type: none"> • Soft drinks, dairy, winery • Ready-to-drink (RTD) beverages, rinse water samples, cultivation of microorganism • Pour plate method, nutrient base for membrane filters 	204707782	9 x 250 ml
SSL-Broth Application: <ul style="list-style-type: none"> • Soft drinks, dairy, winery • Tracer studies in filterable and non-filterable beverages and base ingredients • Test medium of swabs, cultivation of spoiling microorganism of RTD beverages 	204712782	9 x 250 ml
LMC-Concentrate Application: <ul style="list-style-type: none"> • Qualitative presumptive test for evaluation of E.coli and coliform bacteria in water 	204713700	9 x 50 ml
DEV-Agar Application: <ul style="list-style-type: none"> • Evaluation of the Total Viable Count (TVC) in water as per DEV and drinking water regulations • Evaluation of the Total Viable Count (TVC) in various food products and rinse water samples • Pour plate method, nutrient base for membrane filters 	204726782	9 x 250 ml
TransFast-Broth (TF-B) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Broth which concentrates non-filterable ready-to-drink beverages prior to examination for microbe content and enables a larger volume (approx. 200 ml) to be analyzed 	204727782	9 x 250 ml
TransFast-Gel 1 (TF-G 1 Powder) Preparation: TF-G 1 + TF-G 2 Application: <ul style="list-style-type: none"> • Gel which enables membrane filter, rinse water samples, ready-to-drink beverages, bases, raw materials and the concentrated beverages mentioned above to be examined directly • Microorganism which can grow in a pH-environment of less than 4.5 (soft drinks) and spoil the product • Microbiological results usually be obtained after 24 hours or at most two days 	204728547	600 g Alubag
TransFast-Gel 2 (TF-G 2 pH-Correction Fluid) Preparation: TF-G 1 + TF-G 2 Application: see above	204729782	9 x 250 ml
TransFast Gel Tubes (80 ml)	204730001	Bag (100 p.)

Nachweis von Bierschädlingen mittels NBB®	2.1
<i>NBB® Culture Media for Beer-Spoiling Bacteria</i>	<i>2.1</i>
Kombinierter Untersuchungsplan zur sicheren Erfassung von Spurenkontaminationen....	2.7
<i>Combined Test Plan for a Secure Recording of Trace Contaminations</i>	<i>2.7</i>
Mikroflora in der Brauerei.....	2.8
<i>Microflora in the Brewery</i>	<i>2.8</i>
Einteilung der bierschädlichen Bakterien	2.9
<i>Classification of Beer-Spoiling Bacteria</i>	<i>2.9</i>
Untersuchung von Hefeproben	2.10
<i>Examination of Yeast Samples</i>	<i>2.10</i>
Untersuchung von Unfiltratproben	2.12
<i>Examination of Samples of Unfiltered Beer.....</i>	<i>2.13</i>
Untersuchung von filtriertem Bier	
Untersuchung von Würze- und Wasserproben auf bierschädliche Bakterien	
Untersuchung von Druckluft und CO₂	2.14
<i>Examination of Filtered Beer Samples</i>	
<i>Detection of Beer-Spoiling Bacteria in Samples of Wort and Water</i>	
<i>Examination of Compressed Air and CO₂.....</i>	<i>2.15</i>
Schwachstellenanalyse	2.16
<i>Analysis of Weak Spots.....</i>	<i>2.16</i>
Auswertung	2.18
<i>Analysis.....</i>	<i>2.18</i>
Luftkeimanalyse.....	2.19
<i>Analysis of Air-Borne Germs</i>	<i>2.19</i>
Produktliste	2.20
<i>Product List.....</i>	<i>2.21</i>

Nachweis von Bierschädlingen mittels NBB®

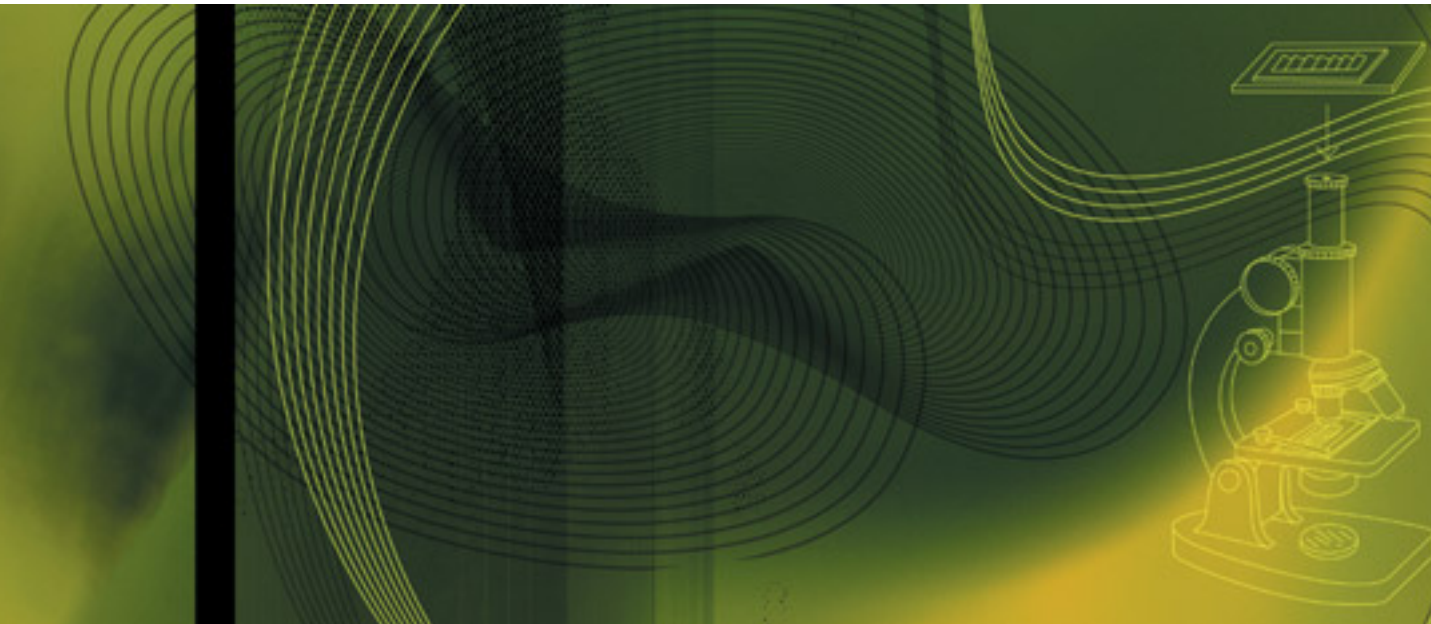
NBB® Culture Media for Beer-Spoiling Bacteria



NBB®-Medien enthalten hitzeempfindliche Wuchsstoffe für Bierschädlinge. Daher sollte schonend, so kurz wie möglich und nicht mehrfach erhitzt bzw. aufgekocht werden!

NBB® media are containing heat-sensitive growth promoting substances for beer-spoiling bacteria. Therefore, a sparing, short as possible and not multiple heating resp. boiling should be applied.

Nachweis von Bierschädlingen mittels NBB®



Das Nährmedium NBB® wurde zum spezifischen Nachweis von Bierschädlingen entwickelt. Je nach den in der Brauerei anfallenden Probetypen kommen NBB-Agar (NBB-A), NBB-Bouillon (NBB-B), NBB-Bouillon-Anreicherungsmedium (NBB-B-AM) und NBB-Konzentrat (NBB-C) zur Anwendung. Durch diese unterschiedlichen Varianten ist die Untersuchung größerer Volumina auch bei trüben bzw. stark hefehaltigen Proben und somit ein Spurennachweis von Bierschädlingen in jedem Probetyp möglich. So werden z. B. Spülwässer und klare Biere membranfiltriert und auf NBB-A inkubiert. Hefeproben (Reinzucht, Ernte- oder Betriebshefe, Geläger, Hefebodensätze) werden in NBB-B inkubiert (ca. 0,5 ml Hefesuspension auf ca. 10–20 ml NBB-B) und hefe-trübe Biere (Jungbier, Unfiltrat, Hefeweizen) werden mit ca. 5 % NBB-C versetzt. Bei der Schwachstellenanalyse werden die Abstrichproben in NBB-B-AM inkubiert.

Die bierspezifische Selektivität ist bei NBB® so eingestellt, dass alle unter vor-schriftsmäßigen Kultivierungsbedin-

gungen eindeutig angewachsenen Keime eine Bedeutung für die biologische Betriebskontrolle haben, während die harmlose Begleitflora gehemmt oder zumindest beeinträchtigt wird. Hierzu gehören auch hopfenempfindliche Keime, z. B. Milchsäurebakterien, die nicht aus der Brauerei stammen. Außerdem sind die selektiven Bestandteile der verschiedenen NBB®-Medien in ausgewogener Form auf den Probetyp abgestimmt.

Bei allen Verfahren erfolgt durch die in NBB® enthaltenen Nähr- und Wachstoffsowie aufgrund der zugesetzten speziellen stimulierenden Substanzen ein sicherer und schneller Nachweis aller bierschädlichen Bakterien. Da die Schnelligkeit des Nachweises von mehreren Faktoren abhängt (Ausgangskeimzahl, Keimart, Adaptationsgrad im Bier, physiologischer Zustand und Herkunft der Keime), kann bei stärkeren Kontaminationen schon eine Bebrütung von 1 Tag ausreichen, bei Spurenkontaminationen oder sehr langsam wachsenden Stämmen (z. B. *Lactobacillus lindneri*) werden dagegen

meist mehrere Tage benötigt. Erfahrungsgemäß wird eine hohe Nachweissicherheit erzielt, wenn NBB-A- und NBB-B-Proben nach 5 Tagen, NBB-B-AM-Proben nach 3 Tagen und NBB-C-Proben nach 7–12 Tagen endgültig ausgewertet werden, wobei Bebrütungstemperaturen von 25–28 °C eingehalten werden sollen.

Dies entspricht besonders bei Spurenkontaminationen (1 Keim in der Probe) und bei schwer nachweisbaren Bierschädlingen einem Zeitgewinn von meist mehreren Tagen im Vergleich zu anderen üblichen Nachweisverfahren und von teilweise mehreren Wochen im Vergleich zu normalen Haltbarkeitsproben.

Die ab 2001 erfolgte Verbesserung der Wuchs- und Hemmstoffzusammensetzung und die Prozessoptimierung führen zu einem weiteren Zeitgewinn von 1–2 Tagen. Im Zuge der ständigen Weiterentwicklung und Optimierung unserer Nährmedien wurde u. a. die Hemmstoffkomponente in NBB-B und NBB-C umgestellt. Die Umstellung in den Flüssigmedien war

erforderlich, da Actidion auch das Wachstum von *L. lindneri*, *Pediococcus damnosus* und anderen anspruchsvollen, empfindlichen Bierschädlingen verlangsamt. Außerdem sollte die Voranreicherung für die Schnellnachweismethoden mittels VIT (Vermicon Identification Technology) und PCR (Polymerase Chain Reaction) maximal 2 Tage benötigen. Bei der früheren Version war eine ausreichende Voranreicherung nach max. 48 Stunden Inkubation nicht immer möglich bzw. eindeutig.

Der große Vorteil der neuen Hemmstoffkomponente besteht darin, dass alle Bierschädlinge (auch *L. lindneri* und *L. brevisimilis*) gleich schnell anwachsen (1–2 Tage Zeitgewinn). Außerdem ist die Selektivität erhöht, sodass die harmlose

angesehen werden, da diese als Indikatorkeime bei der Schwachstellenanalyse, z. B. am Füller/Verschleißer oder auch im Unfiltratbereich, eine wichtige Rolle spielen. Deshalb wurde speziell für die Abstrichproben ein entsprechend geeignetes Bouillon mit der Bezeichnung NBB-B-AM entwickelt. Hier findet neben optimaler Vermehrung aller Bierschädlinge (einschließlich *Pectinatus* und *Megasphaera*) auch ein gutes Wachstum von Essigsäurebakterien, von anderen Indikatorkeimen (z. B. *Enterobacter* spp.) und von Fremdhefen statt. Kulturhefen werden hier nicht vollständig gehemmt. Diese gelten aber bei der Schwachstellenanalyse ebenfalls als Indikatoren. Durch die teilweise stärkere CO₂-Bildung beim Vorliegen von Hefen können mit NBB-B-AM in geschlossenen Gefäßen erhöhte Drücke auftreten.

in keiner Form verändert. In der Praxis hat sich sogar gezeigt, dass der selektive Nachweis von Bierschädlingen schneller und eindeutiger erfolgt. Die Anwendung als Voranreicherung für die Schnellnachweismethoden mittels VIT und PCR ist nun ebenfalls sicher durchzuführen.

Bei der PCR-Technik kann die Anreicherungszeit im Selektivmedium (NBB-B, NBB-B-AM) verkürzt werden, da nachträglich in-vitro die DNA hochspezifisch amplifiziert wird. In der Regel genügen 1–2 Tage Bebrütungszeit, da die Schnellmethode mit einer sehr geringen Nachweisgrenze (100–1000 Keime/ml) arbeitet. Auch bei der auf der Fish-Technologie (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) basierenden VIT ist eine Verkürzung der Voranreicherung möglich.

GRAM-negative Begleitflora wesentlich besser gehemmt wird. Dadurch werden die Befunde eindeutiger. Hefen werden ebenfalls gehemmt. Die Hemmstoffkonzentration wurde aber so dosiert, dass Kulturhefen (ähnlich wie früher) kurz anwachsen und durch CO₂-Produktion eine typische anaerobe Atmosphäre in der Flüssiganreicherung bewirken und nach einigen Stunden gehemmt oder abgetötet werden. Dabei können die Hefezellen atypische Formen annehmen (Involutionenformen). Als Nachteil kann die Hemmung der GRAM-negativen Essigsäurebakterien und bestimmter *Enterobacteriaceen*

Deshalb sollte bei der Schwachstellenanalyse auf bruchssichere Gefäße (Plastikgebinde) geachtet werden. Für die Untersuchung der Betriebshefe sollte nur das normale NBB-B verwendet werden. NBB-B-AM eignet sich ebenso zur Schwachstellenanalyse in Mineralbrunnen und in der gesamten Getränkeindustrie, da hier ähnliche Indikatorkeime wie in der Brauerei (Essigsäurebakterien, *Klebsiella*, schleimbildende Hefen und Schimmelpilze) durch Biofilmbildung in Erscheinung treten können. Durch die neue Zusammensetzung bei NBB-B und NBB-C wird die bisherige Verfahrensweise und Aussagekraft

VIT lässt mit Hilfe von Gensonden zur spezifischen Markierung und mit einem Fluoreszenzmikroskop zur einfachen und sicheren Auswertung bei sachgerechter Anwendung einen Befund nach längstens 48 Stunden zu. Hier werden spezifisch nur die gewünschten lebenden Zielorganismen detektiert. Die Schnellnachweise basieren auf genetischen Grundlagen und können somit explizit eine Verkeimung nachweisen und bieten gleichzeitig eine Identifizierung. Zur kontinuierlichen Probenahme im Filtratbereich und zur Validierung von Abfüllanlagen bei klaren Produkten kann das einfach zu hand-

habende Bypass-Membran-System (BM-System) eingesetzt werden. Es wird eine Erhöhung der Nachweissicherheit bei Spurenkontaminationen durch deutlich größere Probenmenge unter Beibehaltung der Auswertsystematik mit NBB-B, NBB-B-AM oder NBB-C erreicht. Das Bypass-Membran-System dient auch als Basis für Schnellnachweise. Durch die beschriebenen Vorteile wird eine hohe Sicherheit erzielt.

NBB® Culture Media for Beer-Spoiling Bacteria

of yeast sediments from bottles) are incubated in NBB-B (approx. 0.5 ml yeast suspension in approx. 10–20 ml NBB-B) and yeast-hazy beers (green beer, unfiltered beer, Bavarian or German wheat beer) are mixed with approx. 5 % NBB-C. For analysis of weak spots swabs are incubated in NBB-B-AM.

Due to the selectivity of beer all microorganisms growing clearly under correct conditions are relevant for biological production control. The harmless accompanying flora will be inhibited, especially hop-sensitive germs, e.g. lactic acid bacteria, which are not from the brewery. The selective parts of all NBB® media

incubation temperatures have to be between 25 and 28 °C and the final evaluation has to be made after 5 days for the NBB-A and the NBB-B samples, after 3 days for the NBB-B-AM samples and after 7–12 days for the NBB-C ones. Compared with other detection methods (several days) and normal shelf life samples (several weeks) you have a gain in time, especially with trace contaminations (1 germ in the sample) and difficult-to-detect beer-spoiling bacteria. You get an additional gain in time (1–2 days) by the improved composition of growth promoting substances and inhibitors and the process optimization in the new NBB® since 2001. As part of our continu-

The nutrient media NBB® has been specifically developed to detect beer-spoiling microorganisms. Depending on the types of samples collected in the brewery, a choice can be made among NBB-Agar (NBB-A), NBB-Broth (NBB-B), NBB-Broth-Enrichment-Medium (NBB-B-AM) and NBB-Concentrate (NBB-C). The different variations allow analysis of larger volumes and also of samples which are cloudy and/or contain large numbers of yeast cells: a detection of even minute traces of beer spoilers is thus possible. Rinse water and bright beer are for example incubated on NBB-A after membrane filtration.

Yeast samples (0.5–1.0 ml of pure culture, crop-pitching-tank-bottom yeast or

*are also suited to the sample type. The nutrients and the growth-promoting substances as well as the added stimulating compounds contained in NBB® are the features which give NBB® the capability for a quick and reliable detection of any beer spoiling bacteria using any procedure. As the quickness of the response depends on several factors (initial cell count, type of germs, degree of adaptation to beer, physiological condition and origin of the germs), an incubation as short as one day can be enough in case of higher contaminations, while mostly several days are needed in case of trace contaminations or of very slowly growing strains (e.g. *Lactobacillus lindneri*). Experience has shown that in order to attain a high degree of reliability the*

*ing efforts to refine and optimize our nutrient media, we have changed the inhibitory components of NBB-Broth and NBB-Concentrate. The change made to the liquid media was essential, because Actidione also slows the growth of *L. lindneri*, *Pediococcus damnosus* and other demanding sensitive beer-spoiling microorganisms. The pre-enrichment processes for rapid-identification methods by VIT and PCR also require a max. 2 days. With the earlier version, adequate pre-enrichment was not always possible or clear cut after an incubation period of up to 48 hours.*

*The major advantage of the new inhibitory components is that all beer-spoiling microorganisms (including *L. lindneri**

and *L. brevisimilis*) grow at equal rates (1–2 days time gain). In addition, sensitivity is enhanced, so that harmless accompanying GRAM-negative forms are much more effectively inhibited, making the findings more clear cut. Yeasts are likewise inhibited. The inhibitor dose was selected so that culture yeasts (as before) grow briefly and, as a result of CO₂-production, generate a typi-

cal anaerobic atmosphere in the enriched liquid. After a few hours they are then inhibited or killed. In the process, the yeast cells may take on atypical forms (involution forms). A disadvantage is the inhibition of GRAM-negative acetic acid bacteria and specific Enterobacteriaceae, since these play a very important role as indicator microorganisms in the analysis of weak spots, e.g. at the filling/capping machine or in the prefiltration area. For this reason, a suitable broth, called NBB-B-AM, was developed for swab samples. This provides optimum proliferation for all beer-spoiling microorganisms (including *Pectinatus* and *Megasphaera* spp.); moreover, it does not entirely inhibit the growth of acetic acid bacteria, other indicator microorganisms (e.g. *Enterobacter* spp.)

analysis of weak spots. With NBB-B-AM, the greater volume of CO₂ sometimes produced in the presence of yeasts may give rise to higher pressures in closed sample bottles. Care should therefore be taken to use burst-proof sample bottles (e.g. plastic sample bottles) in the analysis of weak spots. For the actual analysis of brewer's yeast, only normal NBB-B should be used.

media (NBB-B, NBB-B-AM) can be reduced. Usually 1–2 days are adequate, as the rapid-identification method works with a very low detection limit (100–1000 germs/ml). A reduction time for the pre-enrichment is also possible by VIT, based on the Fish-technology (fluorescence in situ hybridization). With specific marked gene probes and a fluorescence microscope for easy and reliable evaluation you receive

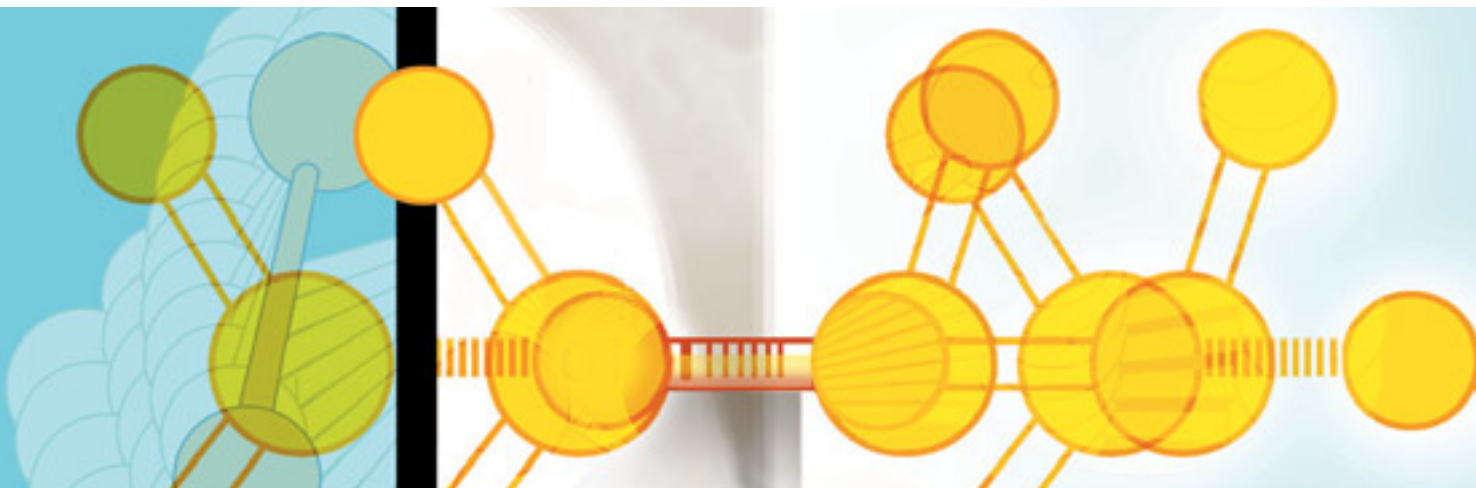
cal anaerobic atmosphere in the enriched liquid. After a few hours they are then inhibited or killed. In the process, the yeast cells may take on atypical forms (involution forms). A disadvantage is the inhibition of GRAM-negative acetic acid bacteria and specific Enterobacteriaceae, since these play a very important role as indicator microorganisms in the analysis of weak spots, e.g. at the filling/capping machine or in the prefiltration area. For this reason, a suitable broth, called NBB-B-AM, was developed for swab samples. This provides optimum proliferation for all beer-spoiling microorganisms (including *Pectinatus* and *Megasphaera* spp.); moreover, it does not entirely inhibit the growth of acetic acid bacteria, other indicator microorganisms (e.g. *Enterobacter* spp.)

NBB-B-AM is also suitable for analysis of weak spots for the beverage industry, as similar indicator microorganisms as in the brewery (acetic acid bacteria, *Klebsiella*, slime-shaping yeasts and moulds) are of particular relevance by producing biofilms. The new compositions of NBB-B and NBB-C do not alter the procedure or the predictive value of the tests in any way. Indeed, it has been found in practice that the selective detection of beer-spoiling microorganisms is even faster and yields more clear-cut results. Therefore, pre-enrichment as an application for rapid-identification methods by VIT (Vermicon Identification Technology) and PCR (Polymerase Chain Reaction) is confirmed.

Due to the following in-vitro specific amplification of the DNA by the PCR technique the pre-enrichment time in the selective

the results after max. 48 hours. Only the selected and living microorganisms will be specifically detected. These rapid-identification methods are based on molecular-biological fundamentals. A contamination can be explicitly detected and identified at the same time.

The easy-to-use bypass-membrane-system can be used for continuous sampling in the filtered area and for validation of filling machines for clear products. By obvious greater sampling volume the increase in detection security for trace contaminations is reached by using the common procedures for NBB-B, NBB-B-AM or NBB-C. For rapid-identification methods the bypass-membrane-system is the basis. Due to the described advantages a high security will be obtained.



Kombinierter Untersuchungsplan zur sicheren Erfassung von Spurenkontaminationen

Combined Test Plan for a Secure Recording of Trace Contaminations

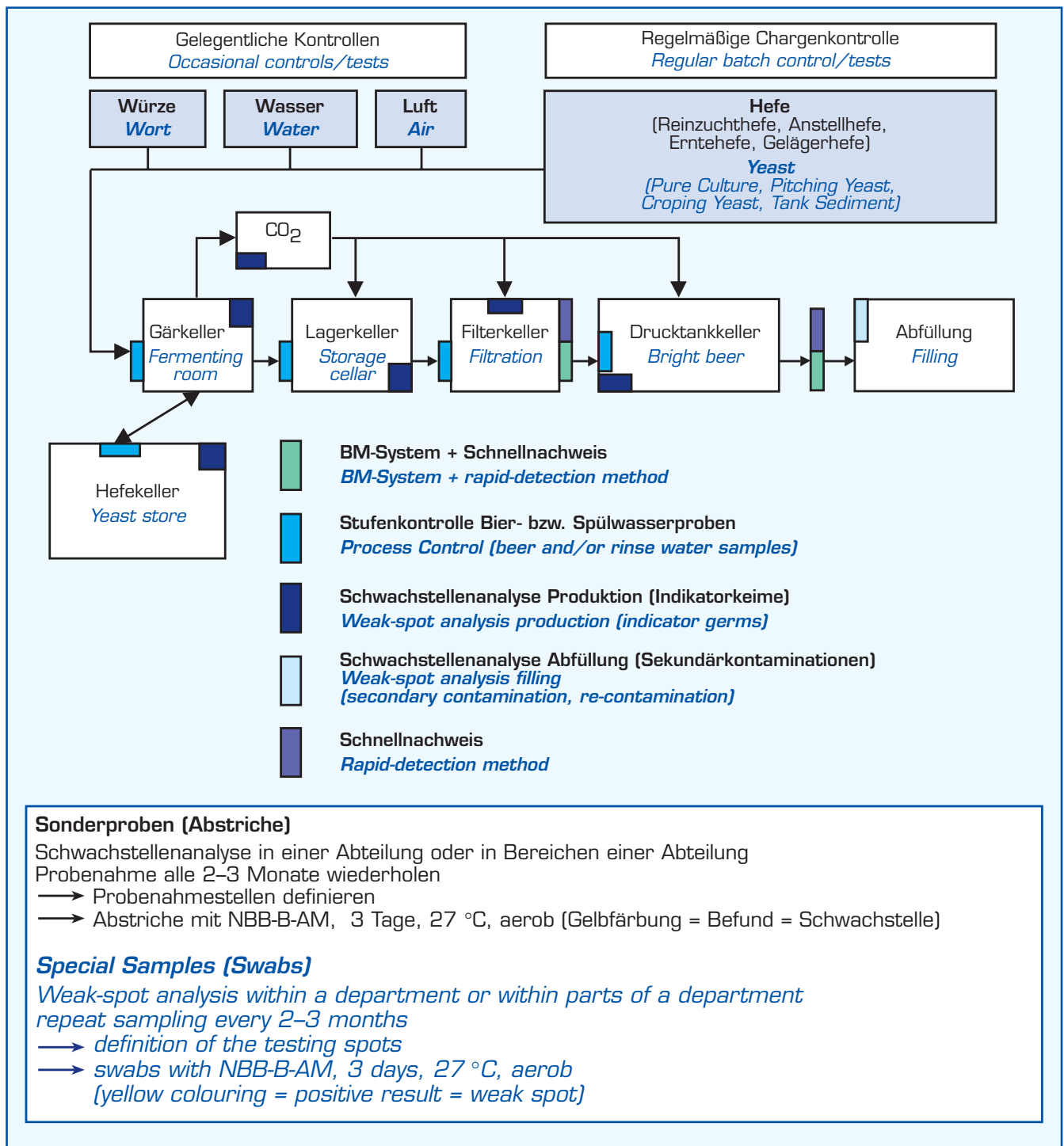


Abb. 1: Schema Bierproduktion und Probenahme

Fig. 1: Diagramm of beer production and sampling

Mikroflora in der Brauerei

Microflora in the Brewery

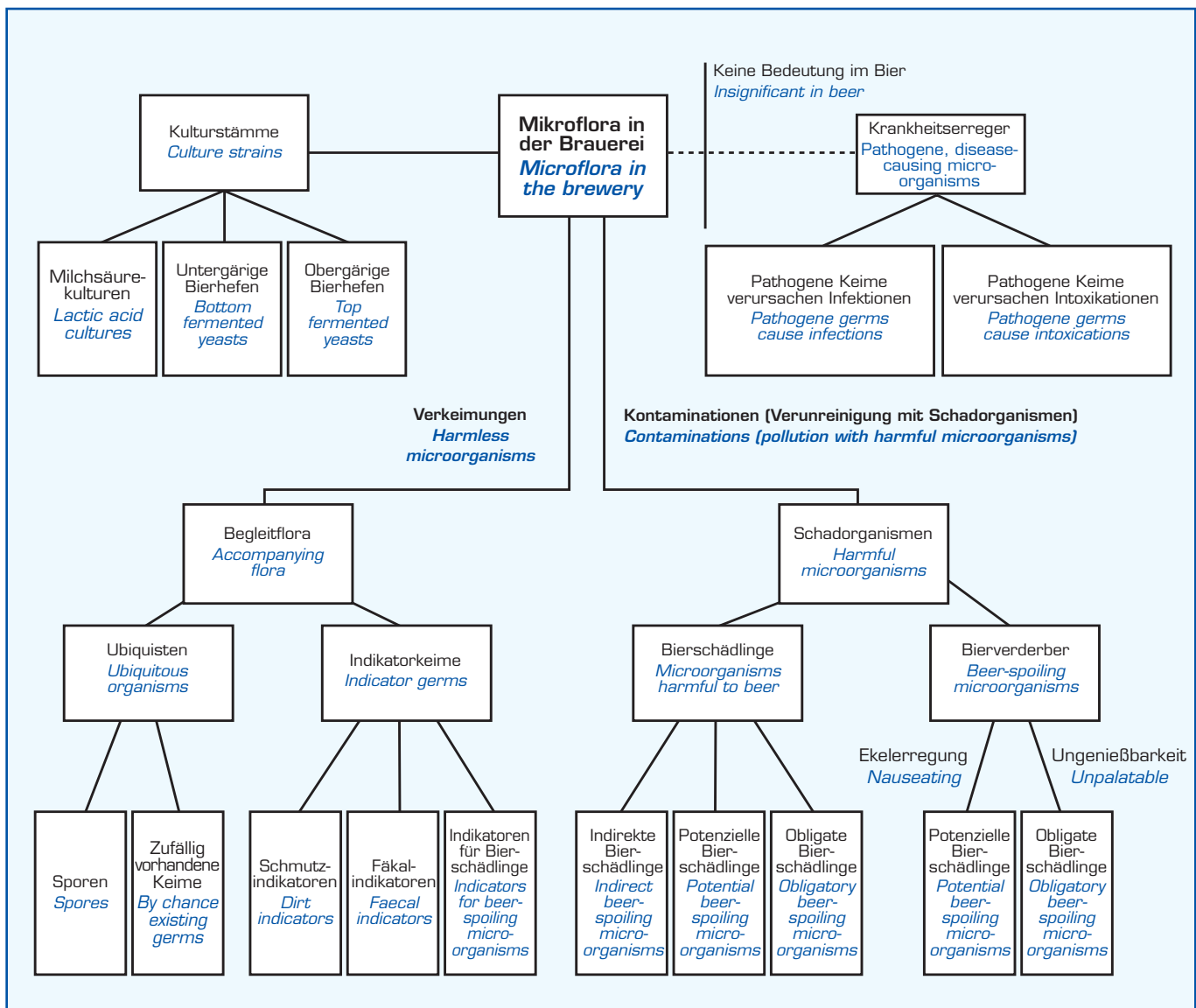


Abb. 2: Mikroflora in der Brauerei

Fig. 2: *Microflora in the brewery*

Einteilung der bierschädlichen Bakterien

Classification of Beer-Spoiling Bacteria

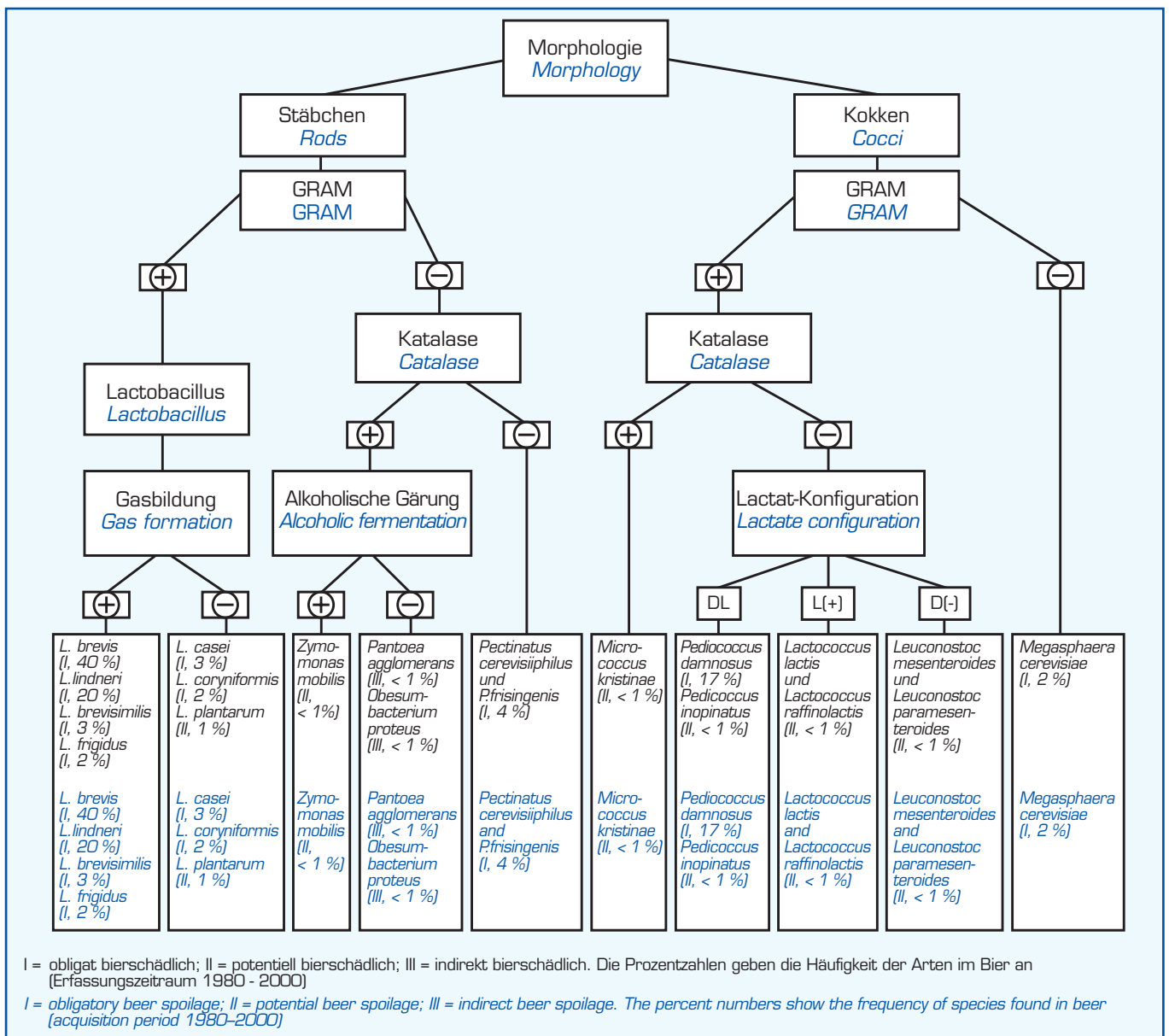


Abb. 3: Einteilung der bierschädlichen Bakterien

Fig. 3: Classification of beer-spoiling bacteria

Untersuchung von Hefeproben

Bei der Untersuchung von Hefeproben werden hohe Anforderungen an die biologische Reinheit gestellt. Neben obligaten Bierschädlingen sollen daher auch alle potenziell bierschädlichen Arten sowie indirekte Bierschädlinge und eventuell (bei aerober Bebrütung) Indikatorkeime erfasst werden. Zu Letzteren gehören vor allem Essigsäurebakterien (z. B. *Acetobacter pasteurianus* und *Gluconobacter frateurii*), aber auch bestimmte GRAM-negative *Enterobacteriaceen* (z. B. *Enterobacter*-Arten, *Pantoea agglomerans*, *Obesumbacterium proteus*), Laktokokken oder Katalase-positive Mikrokokken. Die Untersuchung erfolgt mittels NBB-B, da hier die Nachweisempfindlichkeit am größten ist.

Bei stärkeren Kontaminationen und bei typischen Bierschädlingen tritt ein Indikatorumschlag in den Proben von Rot nach Gelb auf. Beim Vorliegen von Spuren oder bei der Untersuchung älterer Gelägerhefen ist der Farbumschlag durch autolyisierende Hefezellen allerdings oft nicht deutlich, sodass die Proben bei der endgültigen Auswertung auf alle Fälle mikroskopiert werden müssen. Das Wachstum der bierschädlichen Bakterien ist aber so intensiv, dass die mikroskopischen Befunde eindeutig sind (mehrere oder sogar zahlreiche verdächtige Zellen in jedem Gesichtsfeld). Bei vereinzelt vorliegenden Bakterienzellen (z. B. 1 bis 3 Stäbchen pro 10 Gesichtsfelder bei ca. 600-facher Vergrößerung) handelt es sich entweder um tote oder um harmlose Keime, die in dieser Menge, besonders bei stärker verunreinigten Hefeproben, bereits vor der Bebrütung enthalten waren.

Bei zweifelhaften Fällen überträgt man die Probe mittels Impföse in neue NBB-Bouillon. Bei dieser zweistufigen Anreicherung tritt beim Vorliegen von lebensfähigen Bierschädlingen innerhalb von 2 Tagen massives Wachstum mit Indikatorumschlag auf.

Als Kulturgefäße werden am besten Reagenzgläser mit gasdurchlässigen Verschlüssen (z. B. Schaumstoffstopfen) verwendet. Um das hitzeempfindliche Medium nicht unnötig zu beeinträchtigen, verwendet man bereits zuvor sterilisierte Kulturgefäße, die in Flammennähe direkt aus den Originalflaschen entsprechend befüllt werden. Für etwas größere Probevolumina an dickbreiiger Hefe (1–2 ml) sind auch 50-ml-Bügelverschlussprobefläschchen (50-ml-BVPF) gut geeignet. Hier werden entsprechend 20–30 ml NBB-B zugesetzt (Abb. 4). Noch größere Hefeproben (ca. 10 ml) können auch mit NBB-C entsprechend Abb. 4 (auf Schüttler) untersucht werden. Hefeproben können auch sehr praktisch mit Steriltupfern (möglichst mit Schraubkappe) untersucht werden. Man entnimmt mit dem Tupfer direkt Hefe- oder Gelägerproben (gesamt ca. 0,5 ml) von mehreren Stellen des Hefebehältnisses und füllt die Röhrchen zu etwa 70 % mit NBB-B. Die Schraubkappe sollte bei der Bebrütung nicht fest zugedreht werden, damit eine CO₂-Entweichung möglich ist. Bei zu großen Hefeproben und festem Hefesediment besteht die Gefahr, dass bei Spurenkontaminationen einzelne Zellen von Bierschädlingen keinen Kontakt mit NBB-B haben. In solchen Fällen sollte das Sediment aufgewirbelt werden (z. B. Schüttler, langsame Bewegung).

Bei der Untersuchung von Hefeproben ist nicht unbedingt eine anaerobe Bebrütung erforderlich, da die Hefe durch kurzes

Angären eine günstige CO₂-Atmosphäre in der Probe bewirkt. Nach kurzer Zeit wird die Kulturhefe durch die im NBB[®]-Medium enthaltene Selektivkomponente gehemmt, sodass die Nähr- und Wachstumsstoffe uneingeschränkt für eventuell vorhandene Bierschädlinge zur Verfügung stehen.



Examination of Yeast Samples

*A very high biological purity is required for yeast samples. The goal is hence to detect not only absolutely harmful beer-spoiling organisms, but also all potentially harmful species, the indirectly beer-spoiling organisms and, in case of aerobic incubation, also the indicator germs. To the last mentioned belong in the first place the acetic acid bacteria (e. g. *Acetobacter pasteurianus* and *Gluconobacter frateurii*) as well as some GRAM-negative *Enterobacteriaceae* (e. g. *Enterobacter*-species, *Pantoea agglomerans*, *Obesumbacterium proteus*), Catalase-positive micrococci or lactococci. NBB-B is applied in such cases, as it's detection-sensitivity is the highest.*

If the contaminations are high enough and if the organisms are typical beer-spoilers, the colour of the indicator in the samples turns from red to yellow. In case of trace contaminations or of checks of older, autolyzing yeast cells from tank-bottoms, the change of the indicator colour is not evident enough, and the samples have to be examined

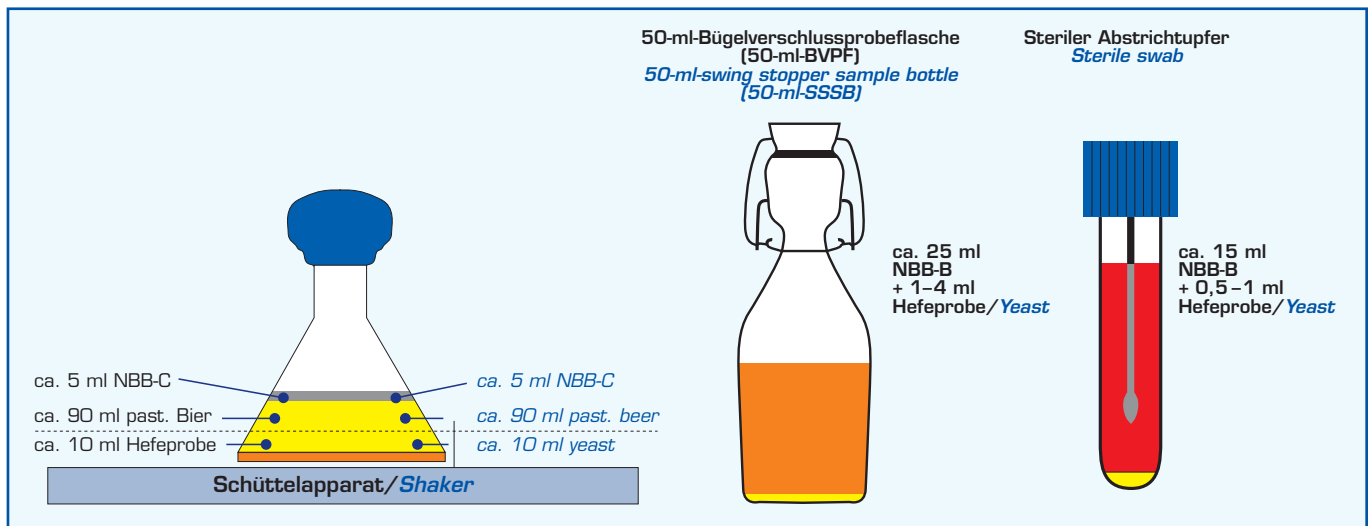


Abb. 4: Nachweis von bierschädlichen Bakterien in Hefeproben Fig. 4: Detection of beer-spoiling bacteria in samples of yeast

under the microscope before a final answer can be given. But as the growth of the beer spoiling bacteria is quite strong, the results are clear and easy to interpret, with several or even many suspect cells in each microscopic field. Scattered bacterial cells (e. g. 1-3 rods in 10 microscopic fields at a magnification of 600x) are however either dead or belong to harmless species, and were probably present in the (contaminated) yeast already before incubation. In doubtful cases it is advisable to transfer a sample, with a suitable inoculating loop, into new NBB-broth. If living beer-spoiling organisms are present, with this two-stage incubation they exhibit a strong growth and the colour of the indicator turns within 2 days.

The most suitable containers for these tests are test tubes with porous stoppers (e. g. plastic-foam plugs). In order not to stress unnecessarily the heat-sensitive culture medium it is recommended to use already sterilised containers, and to fill them, close to a flame, directly from the original bigger flasks. For larger samples of thick yeast slurry

(1-2 ml) also 50-ml-swing stopper sample bottles (50-ml-SSSBs) are quite suitable, into which 20-30 ml NBB-B are added (fig. 4). The examination of larger yeast samples (approx. 10 ml) could be done under the use of a shaker. A very practical way to check yeast samples are also sterile swabs (if possible with screw stopper). The sample of yeast or of tank bottoms is taken with the swab from various spots of the yeast container (total volume approx. 0.5 ml) and the tube is filled up to approx. 70 % with NBB-B. The screw-stopper should not be tight during the incubation, in order to allow the CO₂ to escape. If the samples are too large and/or if the yeast sediment is too dense, in case of trace contaminations there is the danger that some cells of the beer-spoiling organisms do not come in contact with the NBB-B. Under such circumstances it is advisable to re-suspend the sediment (e. g. by means of a slowly moving shaking table).

In checking yeast for purity anaerobic conditions are not absolutely necessary, as the yeast itself, at the start of the fermentation, provides for a favourable CO₂-environment in the sample. But after a short time the selective component present in the medium inhibits the culture yeast, so that the nutrients and the growth promoting substances are completely and without any restriction available for the beer spoilers, if they are present.

Untersuchung von Unfiltratproben

Hefehaltige Gär- und Lagerkellerproben sowie Hefeweißbier können sehr einfach mit NBB-Konzentrat (NBB-C) untersucht werden. Man versetzt die Proben am besten in 180-ml-Bügelverschlussprobenfläschchen (180-ml-BVPF) mit 5 % (± 1 %) NBB-C. Der Bügelverschluss sollte wegen der kurzen Angärung der Kulturhefe anfangs nur lose aufgesetzt werden. Diese Proben weisen die höchste bierspezifische Selektivität auf (vergleichbar mit Haltbarkeitsproben). Die Selektivität kann aber auch individuell gesteuert werden, indem die Flaschen mehr oder weniger mit sterilem Wasser aufgefüllt werden (siehe Abb. 5). Eine anaerobe Bebrütung ist wegen des hohen Bieranteils nicht erforderlich. Es ist aber darauf zu achten, dass NBB-C grundsätzlich nur zusammen mit Bier angewandt wird, da sonst keine bierspezifische Selektivität vorliegt. Häufig hat es sich als günstig erwiesen, wenn in die BVPF ca. 120–150 ml der Jungbierprobe gezwickelt werden und nach Zugabe von

NBB-C mit sterilem Wasser anschließend randvoll aufgefüllt wird.

Dadurch werden die im unfiltrierten Bier vorliegenden höheren Konzentrationen an wachstumshemmenden Hopfenbitterstoffen reduziert. Außerdem erzielt man auf diese Weise ohne großen Arbeitsaufwand randvoll gefüllte Flaschen. Als Bebrütungszeit werden mindestens 7, höchstens 12 Tage bei 27 °C empfohlen. Während Hefen, besonders Kulturhefen, in diesen Proben gehemmt werden (NBB-C muss aber sofort der hefehaltigen Probe zugesetzt oder vorgelegt werden!), können sich bierschädliche Bakterien ohne Konkurrenz vermehren und erreichen hohe Keimdichten (Abb. 6), sodass die mikroskopische Analyse unproblematisch ist (kein Indikatorumschlag bei NBB-C). So müssen hier, wie auch bei der Auswertung der NBB-B-Proben, nur eindeutige mikroskopische Befunde mit mehreren oder zahlreichen verdächtigen Bakterien pro Gesichtsfeld als Befund bewertet werden. Bei vereinzelt vorliegenden Stäbchen oder Kokken (z. B. 1 Bakterienzelle pro 10 Gesichtsfelder bei ca. 600-facher Vergröße-

rung) handelt es sich gewöhnlich um tote Zellen oder um harmlose Latenzkeime. Bei zweifelhaften Fällen kann man auch hier eine zweite Anreicherung mit NBB-B durchführen. Obwohl bei Kontaminationen meist zusätzliche Trübungen und Bodensätze in den mit NBB-C angesetzten Unfiltratproben auftreten, ist die mikroskopische Kontrolle der Probe bei der endgültigen Auswertung unbedingt erforderlich. So wachsen manche Bierschädlinge (z. B. *Pediococcus damnosus*) vorzugsweise im Hefebodensatz. Bei größeren Probenvolumina (1–2 l Tropfflasche) kann der blanke Überstand membranfiltriert werden. Die abgesetzte suppigefällige Hefesuspension wird in BVPF umgeschüttet und der Membranfilter ebenfalls zugesetzt (5 % NBB-C und randvoll mit sterilem Wasser auffüllen).

Die Untersuchung von Unfiltratproben kann auch einfach und sicher mit NBB-B erfolgen. Man entnimmt eine größere Unfiltratprobe (ca. 1 l) mit einem sterilen Gefäß oder einer größeren Probeflasche und lässt die Hefe etwas absetzen (eventuell vorhandene Bierschädlinge setzen sich

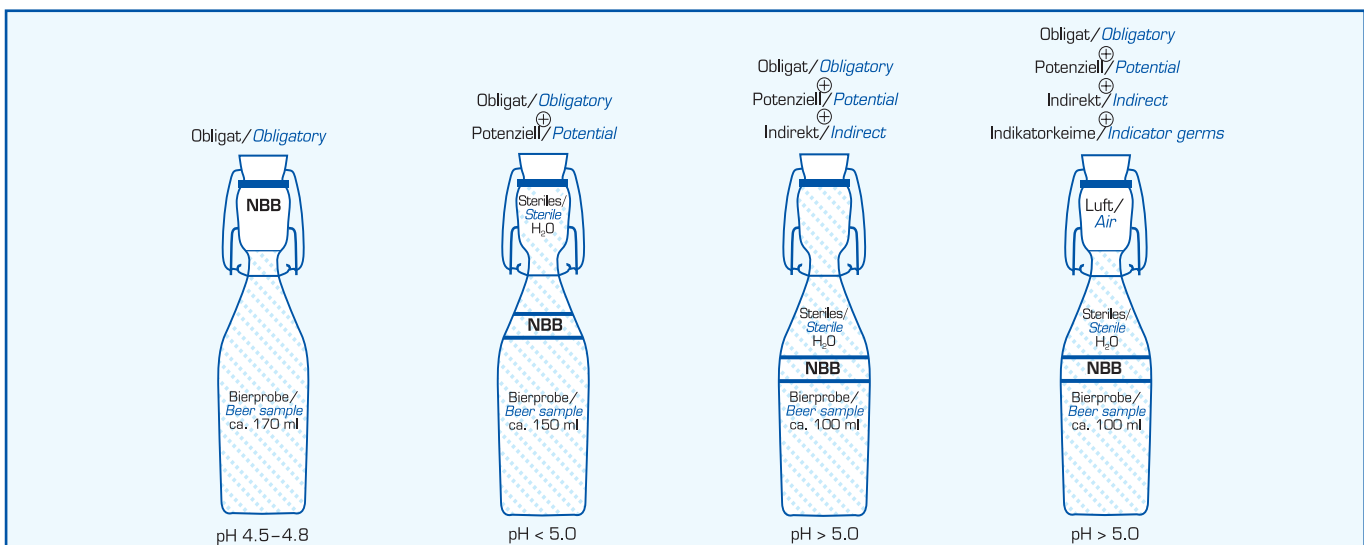


Abb. 5: Selektiver Nachweis von Bierschädlingen entsprechend ihrer Schädlichkeitskategorie. Hefehaltige Proben immer mit 5 % NBB-C versetzen. Filtriertes Bier kann auch mit ca. 10 % NBB-B versetzt werden.

Fig. 5: Selective detection of beer-spoiling bacteria corresponding to harmfulness. Add additional 5 % NBB-C of yeast containing samples. Filtered beer be alternatively admitted with approx. 10 % NBB-B.

weitgehend mit der Kulturhefe ab). Dann wird der Überstand abgeschüttet und verworfen. Mit steriler Pasteurpipette oder Steriltupfer werden von verschiedenen Stellen ca. 0,5 ml Hefesuspension entnommen und wie bei „Hefeproben“ beschrieben untersucht. Hier ist die Selektivität etwas eingeschränkt, der Nachweis aber deutlich schneller.

Examination of Samples of Unfiltered Beer

The purity of samples of green beer or of beer from the maturation stage or of wheat beer containing yeast can very easily be checked with NBB-concentrate (NBB-C). To the hazy samples, collected in 180-ml-swing stopper sample bottles (180-ml-SSSBs), 5 % (± 1 %) NBB-C is added and if necessary the bottles are filled up to the brim with sterile water. To avoid over-pressure the swing-stoppers should be closed tightly only later. These samples exhibit the highest beer-specific selectivity (comparable with shelf-life samples). But this selectivity can even be steered individually, by filling up the bottles more or less with sterile water (fig. 5). An anaerobic incubation is not necessary as the beer volume is high. Attention has, however, to be paid to use NBB-C always together with beer, as otherwise no beer-specific selectivity is given. It has often resulted advantageous to draw samples of approx. 120–150 ml green beer and to fill them up to the brim with sterile water after the addition of NBB-C. In this way, the higher concentrations of growth-inhibiting hop bitter substances are reduced. Furthermore, this procedure allows to obtain brim-full

bottles without any effort. A minimum of 7 and a maximum of 12 days at 27 °C are recommended for the incubation. While in these samples yeasts, and particularly culture yeasts, are inhibited (but NBB-C has to be added immediately to the sample containing yeast, or poured into the bottle before the sample is drawn), beer-spoiling bacteria grow very well in such a competition-free environment (fig. 6), and attain high germ counts, so that the microscopic examination becomes unproblematic (there is



Abb. 6: Jungbierproben
links: Trübung durch Kulturhefe
rechts: zusätzliche Trübung durch Bierschädlinge

Fig. 6: Green beer sample
left: cloudiness by culture yeast
right: extra cloudiness by beer-spoiling microorganisms

no colour change in NBB-C). Also here, as we have already seen in discussing the evaluation of the NBB-B samples, only undoubted microscopic results should be considered: this requires that several suspect bacteria can be seen in each microscopic field. Scattered rods or cocci (e.g. 1 cell in 10 microscopic fields

at a magnification of 600x) are usually dead or harmless latent germs. In doubtful instances it is again advisable to carry out a second enrichment in NBB-B. Although in case of a contamination the hazy samples incubated with NBB-C exhibit usually an increase of the turbidity and/or of the sediments, their final microscopic evaluation is absolutely necessary. Some beer-spoiling organisms (e.g. *Pediococcus damnosus*) grow preferentially in the yeast sediment. In case of larger sample sizes (e.g. a “drop-flask” containing 1–2 liters of beer), it is advisable to proceed as follows: at first, the bright supernatant liquid is membrane-filtered, then the yeast sediment is suspended and poured into a SSSB into which the membrane filter and 5 % NBB-C are added before filling it up to the brim with sterile water.

Also the examination of unfiltered beer samples can be carried out simply and reliably with NBB-B. A large sample of unfiltered beer is drawn into a sterile container or into a suitable flask, which are kept until the yeast sediments to some extent (most of the beer-spoiling organisms which may be present sediment together with the yeast). The supernatant liquid is then poured away. With a Pasteur pipet or with a sterile swab approx. 0.5 ml yeast suspension are taken from various spots and the check is carried out as described under “Yeast Samples”. The selectivity is slightly reduced, but the time needed for a detection of the spoiling organisms is remarkably shorter.

Untersuchung von filtriertem Bier

Klare Bierproben werden üblicherweise membranfiltriert. Der Filter wird in Petrischalen auf NBB-A bei 27 °C bebrütet. Zur Inkubation dienen Anaerobiose-Töpfe oder mit CO₂ begaste Exsikkatoren. Zum Gasaustausch müssen die Deckel der Petrischalen an der Auflagestelle mit Nocken versehen sein.

Bierschädlinge bilden meist deutliche Kolonien und verursachen Gelbfärbung. Sauerstoffreste in den Membranfiltern verhindern allerdings nicht selten das Wachstum der strengen Anaerobier *Pectinatus* und *Megasphaera* und erlauben andererseits leichtes Wachstum von Aerobiern (meist Essigsäurebakterien). Außerdem können Luftblasen im Membranfilter die schnelle Diffusion der Nähr- und Wuchsstoffe beeinträchtigen. Daher wird der Membranfilter oft auch in NBB-B im Anaerobiosetopf inkubiert. Dazu müssen die Kulturgefäße mit gasdurchlässigen Verschlüssen versehen sein (Schraubverschlüsse nicht fest zudrehen!).

Weitere Probenverarbeitungsmöglichkeiten:

- Sterile 50-ml-Bügelverschlussprobe-fläschchen (50-ml-BVVPF) mit betriebs-eigenem Vollbier (aus dem Haltbarkeits-schrank, nicht mehr sterilisieren!) bis zum Flaschenhals füllen. Membran-filter zugeben und mit NBB-B randvoll auffüllen. Optimaler Nachweis von Bierschädlingen einschließlich bier-schädlicher Hefen (Trübung, Bodensatz, kein Farbumschlag). Bei größeren Probemengen (Tropfflasche) ca. 40 ml

in 50-ml-BVVPF umschütten, Rest membranfiltrieren, Membranfilter ebenfalls in BVVPF geben und mit NBB-B randvoll füllen.

- Originalbierflasche mit 10–15 ml NBB-B randvoll auffüllen und wieder verschließen. Bebrüten im Haltbarkeits-schrank, jedoch nur 10 Tage statt 6 Wochen. Gärfähige Hefen (Kulturhefen und Fremdhefen) können ebenfalls nachgewiesen werden (Trübung, Bodensatz, kein Farbumschlag).
- Filtrierte Bierprobe mit 5 % NBB-C versetzen. Randvolle Probeflasche (plus sterilem Wasser) oder anaerobe Bebrütung. Nachweis aller Bierschädlinge, Hefen werden gehemmt.

Untersuchung von Würze- und Wasserproben auf bierschädliche Bakterien

Hierzu werden ca. 50 ml der Probe (z. B. Anstellwürze oder Spülwasser) in 180-ml-BVVPF gefüllt und mit ca. 8 ml NBB-C versetzt. Dann wird mit pasteurisiertem Bier randvoll aufgefüllt, um ein bierspezifisches, selektives Milieu zu erreichen. Bebrütung ca. 5 Tage bei 27 °C.

Untersuchung von Druckluft und CO₂

Man lässt an einer Probenahmestelle das Gas ca. 1 Minute langsam in NBB-B (z. B. 20 ml NBB-B in 50-ml-BVVPF) einströmen. Möglichst nicht vorschießen lassen, da sonst evtl. vorhandene Bierschädlinge schnell ausgespült werden.

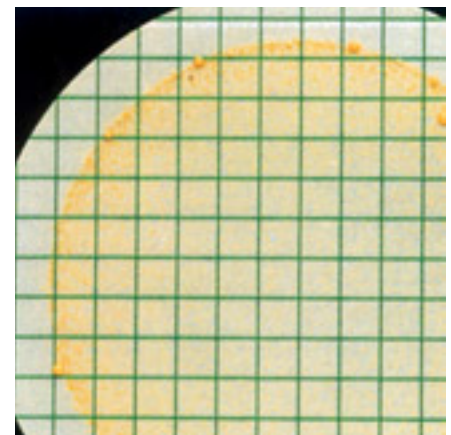
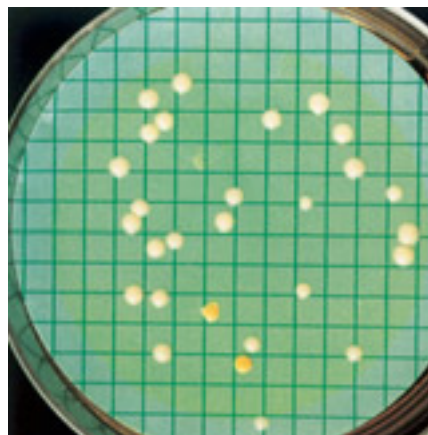


Abb. 7: Wachstum von bierschädlichen Bakterien auf NBB-Agar a) *L. brevis* b) *L. brevis* (Rasenbildung)

Fig. 7: Growth of beer-spoiling bacteria on NBB-Agar a) *L. brevis* b) *L. brevis* (overgrown)

Examination of Filtered Beer Samples

Bright beer samples are usually membrane-filtered. The filter is incubated in Petri dishes on NBB-Agar at 27 °C, placed in anaerobic jars or in exsiccators blanketed with CO₂. For a better gas exchange the covers of the Petri dishes should be dented.

Beer-spoiling bacteria usually form plain colonies and turn the colour to yellow. Residues of oxygen in the membrane filters hinder however not seldom the growth of strictly anaerobic organisms like *Pectinatus* and *Megasphaera*, allowing at the same time a slight growth of the aerobic ones (mostly acetic acid bacteria).

Furthermore, air blisters in the membrane filters may impair the rapid diffusion of the nutrients and of the growth promoting substances. For these reasons the membrane filters are often incubated in NBB-B anaerobic jars. The culture flasks should be equipped with gas-permeable plugs (screw stoppers not to be tightened!).

Further ways to process the samples:

- Fill up to the standard filling level a sterile 50-ml-swing stopper sample bottle (50-ml-SSSB) with standard beer taken from bottles subjected to the biological shelf life test (without sterilizing it). Put the membrane filter into the sample bottle and fill up to the brim with NBB-B. This procedure allows an optimum detection of beer-spoiling organisms including harmful yeasts (haze, sediment, no colour

change). If the volume of the sample is large (drop flasks), pour approx. 40 ml into the sample bottle and membrane filter the rest, then put the membrane filter into the sample bottle and fill up to the brim with NBB-B.

- Take a beer bottle from the bottling line, fill it up to the brim adding 10–15 ml NBB-B and crown it again. Incubate it in the shelf-life cabinet for 10 days instead of 6 weeks. Also fermenting yeasts (both culture and foreign) can be detected. Haze, sediment, no colour change.
- Add to a sample of filtered beer 5 % NBB-C. Brim-full sample bottle (add sterile water) or anaerobic incubation. Detection of any beer-spoiling organisms, inhibition of yeasts.

Detection of Beer-Spoiling Bacteria in Samples of Wort and Water

50 ml of the sample (e. g. pitched wort or rinse water) are poured into a 180-ml-SSSB and 8 ml of NBB-C are added. In order to create a beer-specific, selective environment the sample bottle is then filled up to the brim with pasteurized beer and incubated for approx. 5 days at 27 °C.

Examination of Compressed Air and CO₂

At a sampling point the gas is allowed to slowly flow (1 min.) into NBB-B (e.g. 20 ml NBB-B in a SSSB). No preliminary flushing should be allowed, as otherwise also the beer-spoiling organisms which may be present are blown away.

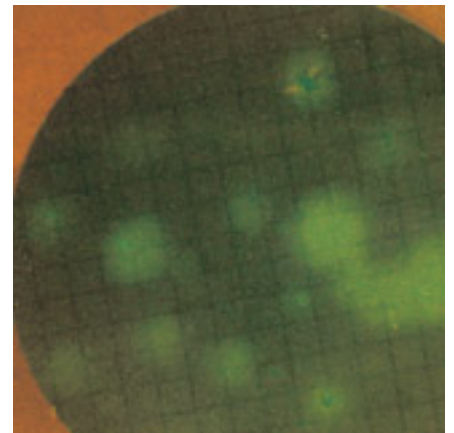


Abb. 7: Wachstum von bierschädlichen Bakterien auf NBB-Agar c) *P. damnosus* d) *L. lindneri* (MF-Kultur Unterseite)
Fig. 7: Growth of beer-spoiling bacteria on NBB-Agar c) *P. damnosus* d) *L. lindneri* (MF-culture underside)

Schwachstellen- analyse

(vgl. *Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie*, Band 2/2000, S. 214–218)

Die Entwicklung von Schwachstellen in der Brauerei- und Getränkeindustrie ist in Abb. 11 dargestellt. Die Überprüfung auf Indikatorkeime für Getränkeschädlinge erfolgt generell mit NBB-Abstrichen. Die Überprüfung auf Fäkalindikatoren am besten mit Lactose-Bouillon-Abstrichen. Eine regelmäßige Schwachstellenanalyse ist wesentlicher Bestandteil einer wirkungsvollen biologischen Betriebskontrolle. Im Produktionsbereich werden Schwachstellen des Bierweges und Kontaktbereiche (Blindkappen, Pumpen, CO₂-Leitungen, Bypässe u. a.) mittels Steriltupfer mit ca. 10 ml NBB-B-AM auf Biofilme überprüft (Abb. 9). Die Bebrütung erfolgt aerob max. 3 Tage bei 27 °C. Schwachstellen liegen vor, wenn innerhalb der Inkubationszeit Gelbfärbung durch Indikatorkeime (vor allem Essigsäurebakterien) auftritt. Im ungünstigen Fall können im Gemisch bereits auch Bierschädlinge bzw. Fäkalindikatoren vorhanden sein. Es genügt, wenn diese Bereiche alle 3 oder 6 Monate kontrolliert werden. Voraussetzung ist aber eine ordnungsgemäße Beseitigung nachgewiesener Verkeimungen.

Im Abfüllbereich werden Schwachstellen im direkten und indirekten Kontaktbereich von Waschmaschine-Flaschenabgabe, Bottleinspektor und vor allem Füller und Verschleißer mit NBB-B-AM-Steriltupfern überprüft. Besonders Sterne, Transportbänder, Verschraubungen und Hohlräume im Umfeld des Füllers kommen als Keimnischen und Ursachen für Sekundärkontaminationen in Frage (Abb. 10).

Erfahrungsgemäß kann der Hygienestatus sehr gut beurteilt werden, wenn einmal wöchentlich 20–30 Abstriche pro Fülllinie entnommen werden (Abb. 12).

Analysis of Weak Spots

(see *Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie*, Vol. 2/2000, page 214–218)

The generation of weak spots in brewery and soft drinks industry is shown in fig. 11. Analyzing for indicators of beverage spoiling microorganisms will be prepared with NBB-swabs, analyzing for faecal indicators with Lactose-broth-swabs.

The routine analysis of weak spots is an essential part of an effective biological quality control program.

In the production area the weak spots of the beer circuit and contact areas (blind caps, pumps, CO₂-lines, by-passes and others) are checked with sterile swabs with approx. 10 ml NBB-B-AM (fig. 9) and aerobic incubation for a maximum of 3 days at 27 °C. Weak-spots are present if within the incubation time the indicator germs (mainly acetic acid bacteria) turn the colour to yellow. In an unfavourable case beer-spoiling organisms or faecal indicators may already be present in the mixture. Provided that detected contaminations are correctly eliminated, it is sufficient to check these areas every 3 or 6 months.

In the packaging area the weak spots are checked with sterile NBB-B-AM swabs in the direct and indirect contact area of the soaker discharge, of the bottle inspector and particularly of the filler and capper. Especially starwheels, conveyors, gears

and inner surfaces in the filler area are frequently niches of contamination and cause secondary infections (fig. 10). By experience it has been found that the hygienic conditions can be very well ascertained taking every week 20–30 swabs from each filling line (fig. 12).

Sonderproben (Abstriche)

1. Produktion/Bierweg

- Dreiwegehähne
- CO₂-Leitungen
- Spundapparate
- CO₂-Dosierung
- Messeinrichtungen
- Füllstandanzeiger
- Blindkappen (Flächendichtungen!)
- Blindrohre, Leitungssäcke, Bypässe (bes. auch an der Zentrifuge, am Kieselgurfilter und am PVPP)
- Verschraubungen
- Pumpen
- Bottichwandungen (Überlaufrinnen)
- Bottichboden
- div. Einbauten und Nischen am Bierweg
- aufstehende Böden, Gully (Schläuche, Tankausläufe)
- Restbiertank/Althefetank (Umfeld)
- Ventilknoten (Unterseite)

Abb. 9: Sonderproben Produktion (Abstriche)

Special Samples (Swab)

1. Production/Beer Path

- Three-way cock
- CO₂-line
- Bunging apparatus
- CO₂-feeder
- Metering units
- Level indicator
- Blind caps
- Blind tubes, by-passes (especially on the separator, kieselgur filter and PVPP)
- Fittings
- Pumps
- Vessel sides (overflow channels)
- Vessel bottom
- Various installations and niches in the beer path
- Opened bottoms, sumps (hoses, tank outlets)
- Waste beer tank/old yeast tank (surroundings)
- Valve junction (underside)

Fig. 9: Special samples production area (swabs)

Sonderproben (Abstriche)

2. Abfüllbereich

Waschmaschine-Kopfteil (Kondenswasser von Ablaufrinne und Zahnblech)

Bottleinspektor

- Sterne
- Flaschentransportbänder
- Andere Feuchtstellen

- Sterne, innen
- Prallbleche
- Verschaltungen/Träger
- Führung Kunststoffschiene

Füller

- Füllrohre
- Steuerventile
- Tulpen
- Hubelemente
- Einlaufschnecke
- Sterne Oberfläche

Verschleißer

- Organe (Führung)
- Stempel
- KK-Einlaufschiene, Teller
- Verschalung
- Sterne
- Transportbänder

Abb. 10: Sonderproben Abfüllbereich (Abstriche)

Special Samples (Swabs)

2. Filling Area

Washer head (condensed water from different places)

Bottle Inspector

- Starwheels
- Bottle conveyor
- Other moist spots

- Starwheel, inside
- Baffles
- Panellings/girders
- Guideway of plastic rail

Filler

- Filling tube
- Control valves
- Bells
- Lifters
- Feed form
- Starwheel surface

Capper

- Guide rods
- Piston
- Crouner-inlet rail, plate
- Panelling
- Starwheels
- Bottle conveyor

Fig. 10: Special samples filling area (swabs)

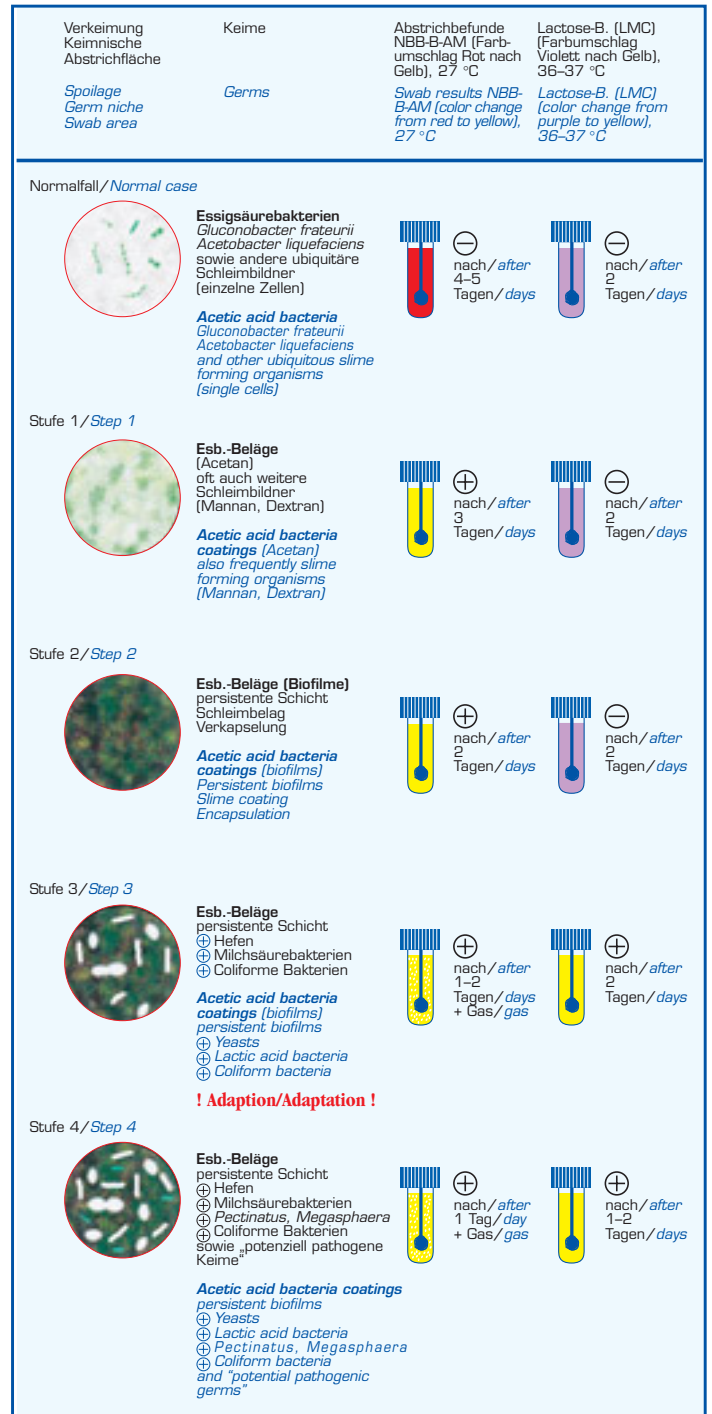


Abb. 11: Entwicklung von Getränkeschädlingen

Fig. 11: Generation of beverage spoiling microorganisms



Abb. 12: Abstriche von Schwachstellen einer Abfülllinie

Fig. 12: Weak spot swabs on a filling line

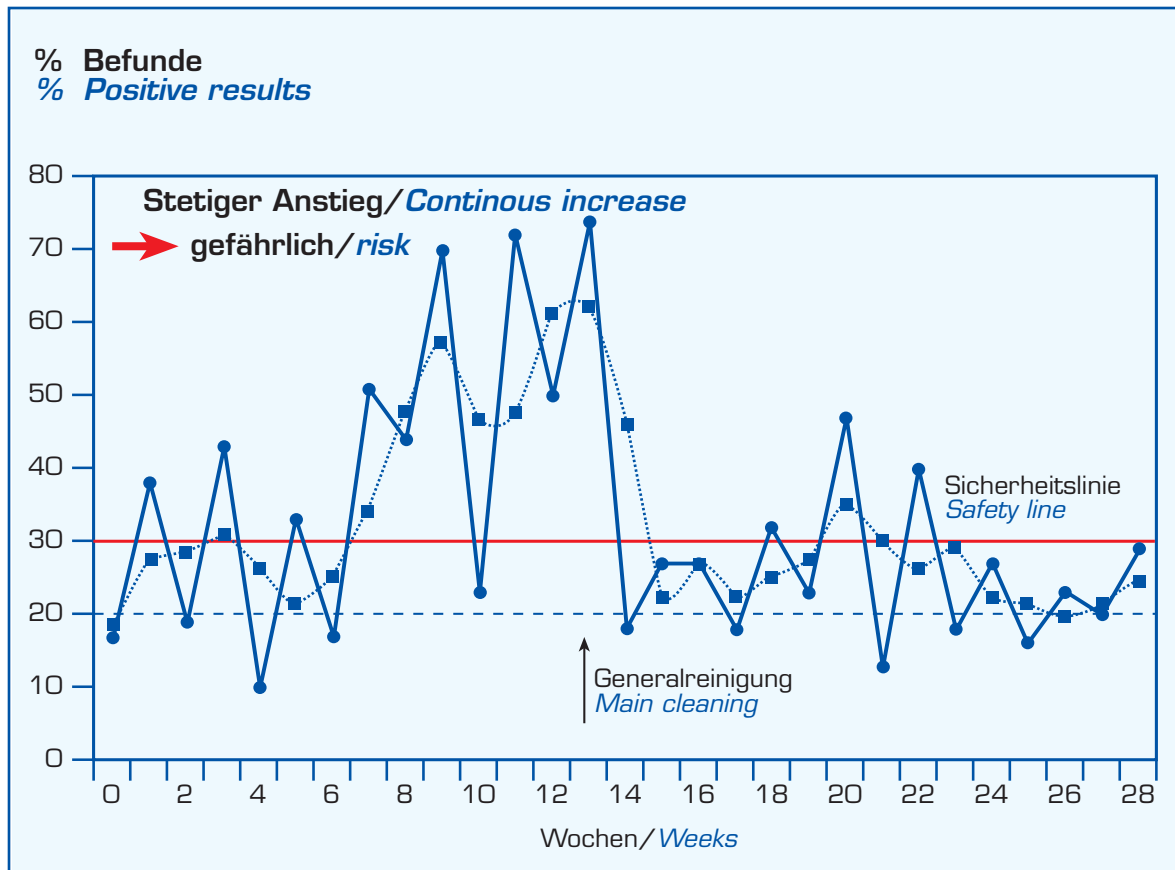


Abb. 13: Aufzeichnung der wöchentlichen Befunde im Flaschenkeller

Fig. 13: Documentation of the weekly results in the bottling area

Der biologische Zustand ist einwandfrei, wenn über mehrere Wochen durchschnittlich unter 30 % Befunde mit NBB-B-AM (Gelbfärbung nach 3 Tagen bei 27 °C aerob) vorliegen. Höhere oder ansteigende Befundlagen deuten auf persistente Biofilme hin, in die sich früher oder später auch Bierschädlinge und andere Problemkeime einnisten und adaptieren können (Abb. 13).

If within a period of several weeks in average less than 30 % of the findings are positive with NBB-B-AM (yellow colouring after aerobic incubation for 3 days at 27 °C), the biological condition can be considered satisfactory. Higher numbers of positive results, or their trend to increase, point at stiff and persistent biofilms, in which sooner or later also true beer-harmful organisms or other problematic germs will start to adapt themselves and to grow (fig. 13).

Literatur/Literature

Back, W.: Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie. Teil I (1994), Verlag Hans Carl, Nürnberg

Back, W.: Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie. Teil II (2000), Verlag Hans Carl, Nürnberg

Luftkeimanalyse

Luftkeimanalysen sind als zusätzliche Kontrolle zu den Abstrichproben im Flaschenkeller sinnvoll. Für Luftkeimanalysen ist der Luftkeimsammler RCS von BIOTEST (D-63303 Dreieich) sehr gut geeignet. Üblicherweise werden, zur Ergänzung der Abstrichproben an der Waschmaschine-Flaschenabgabe, am Bottleinspektor und aus dem Füller-/Verschließer-Bereich Luftkeimproben entnommen. Aussagekräftige Ergebnisse erhält man, wenn NBB-Luftkeimindikatoren (NBB-LKI) bei Ansaugzeiten von ca. 2 Minuten verwendet werden. Bei aerober Bebrütung (3 Tage bei 27 °C) werden vor allem Indikatorkeime nachgewiesen, bei anaerober Bebrütung (5 Tage bei 27 °C) typische Bierschädlinge. Gelb gewordene Felder mit einer oder mehreren Kolonien werden als Befund gewertet und in Prozent der gesamten Felder (34) angegeben. Bei aerober Inkubation sollten durchschnittlich unter 30 % gelbe Felder vorliegen (Abb. 8).

Dann ist erfahrungsgemäß eine hohe Sicherheit vor Sekundärkontaminationen erreicht worden. Die Ergebnisse sind meist vergleichbar mit den Abstrichpro-

ben. Sind die Befunde auf den Luftkeimindikatoren auffällig höher, deutet dies auf das Vorliegen von versteckten Schwachstellen hin.

Analysis of Air-Borne Germs

The analysis of air-borne germs is a useful supplement of the swabs in the bottling area. For this type of checks the air-germ collector RCS of BIOTEST (63303-Dreieich/Germany) is very useful. Air samples are usually drawn in addition to the swab samples at the soaker-discharge, at the swab inspector and from the area around the filler/capper. In order to obtain clear results air suction times of approx. 2 minutes have to be used, in conjunction with NBB-air-germ-indicators (NBB-LKI). The aerobic incubation (3 days at 27 °C) detects mainly indicator germs, while typical beer spoilers are detected by the anaerobic one (5 days at 27 °C). Fields turned yellow are considered positive and expressed as a percentage of the total fields (34). After aerobic incubation the

yellow fields have in average to be less than 30 %. By experience it is then sure that a satisfactory level of protection against secondary contaminations has been attained. The results of the air-germ indicators are usually comparable with those of the swab samples. If they are conspicuously higher, this means that hidden weak spots are present.



Abb. 8: Luftkeimindikatoren
 a) von Waschmaschine-Flaschenabgabe b) vom Füller c) vom Verschließer
 Befunde der Felder bei 5–20 % (a,b,c: Hygienezustand einwandfrei)
 d) Zahlreiche Kolonien mit *L. brevis* (Hygienezustand bedenklich)

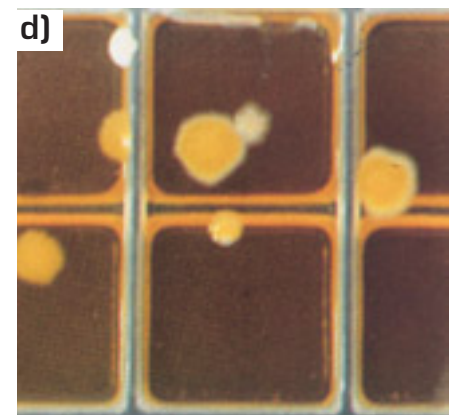


Fig. 8: Air-germs indicators
 a) from washer, bottle discharge b) from filler c) from capper
 positive results of the fields 5–20 % (a,b,c: sanitary conditions o.k.)
 d) a lot of colonies with *L. brevis* (sanitary conditions critical)

NBB®-Medien

Weiterentwicklung des NBB®-Nachweissystems: Optimierung der Wuchs-/Hemmstoffkomponente und des Spurennachweises. Anpassung an molekularbiologische Methoden.

Produkt	Artikel-Nr.	Gebinde
NBB®-Agar (NBB-A) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Selektiv für Bierschädlinge. Brauereihefen und die harmlose Begleitflora werden weitgehend gehemmt • Membranfiltration (Bierproben, Wasserproben) • Ausstriche mit Bierschädlingen • Hefeausstriche (Hefeproben sollten aber besser mit NBB-B auf Bierschädlinge untersucht werden) 	204709782	9 x 250 ml
NBB®-Bouillon (NBB-B) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Selektiv für Bierschädlinge. Brauereihefen und die harmlose Begleitflora (einschl. Indikatorkeime) werden weitgehend gehemmt • Übliche Betriebshefeprouben, Hefesedimente (0,5 ml Probe für 10–20 ml NBB-B) • Sediment oder Zentrifugat von hefetrüben Bierproben (z. B. Jungbier, Hefeweizen) • Inkubation von Membranfiltern • Für die schnelle Voranreicherung von Spurenverkeimungen für molekularbiologische Methoden (VIT, PCR) geeignet • Zusatz (5–20 %) zu filtriertem Bier. Bei randvoll gefüllten Flaschen (z. B. Bügelverschlussprobenflaschen) optimal für alle Bierschädlinge einschließlich <i>Saccharomyces diastaticus</i>, <i>Pectinatus</i> und <i>Megasphaera</i> (Brauereihefen und Indikatorkeime können hier teilweise anwachsen). In diesen Probenflaschen können auch sehr gut Membranfilter inkubiert werden 	204710782	9 x 250 ml
NBB®-Bouillon-Anreicherungsmedium (NBB-B-AM) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Optimalmedium für alle Bierschädlinge. Gutes Wachstum von Indikatorkeimen, insbesondere Essigsäurebakterien bei aerober Bebrütung. Wachstum von Hefen (auch Brauereihefen, jedoch langsam). Harmlose Begleitflora wird teilweise gehemmt • Ideal für Abstrichproben zum Nachweis von Biofilmen im Flaschenkeller und in der Produktion (Schwachstellenanalyse). Ebenso geeignet zur Schwachstellenanalyse in Mineralbrunnen und in der gesamten Getränkeindustrie, da hier ähnliche Indikatorkeime wie in der Brauerei (besonders Essigsäurebakterien, <i>Klebsiella</i>, schleimbildende Hefen) durch Biofilm-Bildung in Erscheinung treten • Inkubation von Membranfiltern • Sehr gut für die Inkubation von Membranfiltern (einschließlich Bypass-Membran-System) und für die schnelle Voranreicherung von Spurenverkeimungen für molekularbiologische Methoden (VIT, PCR) geeignet; hier auch guter Nachweis von <i>Pectinatus</i> und <i>Megasphaera</i> • Zusatz (5–20 %) zu filtriertem Bier (wie bei NBB-B) 	204706782	9 x 250 ml
NBB®-Konzentrat (NBB-C) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Anwendungskonzentration 5 % (3–7 %) bezogen auf das Gesamtvolumen der Probe. Nur verdünnt einsetzen und nur mit Bierproben oder Bieranteilen verdünnen • Insbesondere geeignet zum Spurennachweis von hefetrüben Bierproben (Jungbier, Zwickelproben, Hefeweizen). Hefen werden gehemmt • Auch als Zusatz von Haltbarkeitsproben sowie Bierproben vom Bier- und Abfüllweg (bei randvollen Flaschen und unverdünnten Bierproben selektiv für obligate Bierschädlinge). Hefen und Begleitflora werden gehemmt • Spülwasser- und Würzproben • Die Selektivität kann durch entsprechendes Verdünnen der Bierprobe mit sterilem Wasser beliebig eingestellt werden (siehe Abb. 5) • Geeignet zur Voranreicherung für molekularbiologische Methoden (VIT, PCR) 	204711782	9 x 250 ml
NBB®-B-Röhrchen Anwendung: wie NBB-B	204723646	Karton (20 St.)
NBB®-Luftkeimindikator (NBB-LKI) Anwendung: <ul style="list-style-type: none"> • Zusammen mit dem Luftkeimsammler RCS von BIOTEST (D-63303 Dreieich) zum Nachweis von Bierschädlingen und Indikatorkeimen in kritischen Kontaktbereichen der Flaschen- und Fassbierabfüllung, eventuell auch im Produktionsbereich 	204724244	Karton (50 St.)
NBB®-Pulver (NBB-P) Anwendung: wie bei NBB-A und NBB-B beschrieben	204716462	300 g Alubeutel
Steriltupfer	204725244	Karton (100 St.)

NBB[®] Media

Further development of the NBB[®] range: optimizing of the growth-promoting substances and inhibitors and of the detection of traces. Adaption on molecular-biological methods.

Product	Article-No.	Package
NBB[®]-Agar (NBB-A) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Selective for beer-spoiling microorganisms. Inhibition of culture yeasts and harmless accompanying flora • Membrane filtration (beer and water samples) • Smears of beer-spoiling microorganisms • Yeast smears (yeast samples should better analyzed with NBB-B to detect beer-spoiling microorganisms) 	204709782	9 x 250 ml
NBB[®]-Broth (NBB-B) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Selective for beer-spoiling microorganisms. Mostly inhibition of culture yeasts and harmless accompanying flora (incl. indicator germs) • Usual plant yeast samples, yeast sediments (0.5 ml sample for 10–20 ml NBB-B) • Sediment or separated product of unfiltered beer (e.g. green beer, wheat beer) • Incubation of membrane filters • For the quick pre-enrichment of traces of beer-spoiling bacteria for molecular-biological methods (VIT, PCR) • Add (5–20 %) to filtered beer. In completely filled bottles (e.g. swing stopper sample bottles) it is optimal for all beer-spoiling microorganisms incl. <i>Saccharomyces diastaticus</i>, <i>Pectinatus</i> and <i>Megasphaera</i> (culture yeast and indicator germs are suitable to a partly growth). Membrane filters can also be incubated in these bottles 	204710782	9 x 250 ml
NBB[®]-Broth-Enrichment-Media (NBB-B-AM) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Optimal medium for all beer-spoiling microorganisms. Good growth of the indicator germs, especially acetic acid bacteria with aerobic incubation. Growth of yeasts (as well culture yeast, but slowly). Partly inhibition of harmless accompanying flora • Perfect for swabs to detect biofilms in the filling and production area (analysis of weak spots). Also for analysis of weak-spots in the whole beverage industry, because you can find similar indicator germs (especially acetic acid bacteria, <i>Klebsiella</i>, slime forming yeasts) growing by biofilm-formation • Incubation of membrane filters • These samples are very suitable for incubation of membrane filters (incl. bypass-membrane-system) and for the quick pre-enrichment traces of beer-spoiling bacteria for molecular-biological methods (VIT, PCR); also good detection of <i>Pectinatus</i> and <i>Megasphaera</i> • Add (5–20 %) to filtered beer (see NBB-B) 	204706782	9 x 250 ml
NBB[®]-Concentrate (NBB-C) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Concentration for application 5 % (3–7 %) due to the whole volume of the sample. Only use diluted with beer samples or beer parts • Especially for detection of traces of beer-spoiling bacteria in unfiltered beer (yeast containing beer samples) (green beer, beer from the sampling cock, wheat beer). Inhibition of yeasts • Also as an additive for shelf-life samples and beer samples of the beer and filling path (in completely filled bottles and non diluted beer samples it is selective for obligatory beer-spoiling microorganisms). Inhibition of yeasts and accompanying flora • Rinse water and wort samples • Selectivity can adjust by diluting the beer sample with sterile water (see fig. 5) • Suitable for pre-enrichment for molecular-biological methods (VIT, PCR) 	204711782	9 x 250 ml
NBB[®]-B-Tubes Application: see NBB-B	204723646	box (20 p.)
NBB[®]-Air-Borne-Bacteria-Indicators (NBB-LKI) Application: <ul style="list-style-type: none"> • Using, additionally, the air-borne bacteria collector RGS from BIOTEST (63303 Dreieich/Germany), it is possible to detect beer-spoiling microorganisms and indicator germs in the most critical sectors of the bottling and kegging area, perhaps also in the production area 	204724244	box (50 p.)
NBB[®]-Powder (NBB-P) Application: see NBB-A and NBB-B	204716462	300 g Alubag
Sterile swabs	204725244	box (100 p.)

Focussed Product Portfolio



The Innovation Network.