Oluen mikrobiologiaa

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- Mikrobit vaikuttavat oluen valmistusprosessiin pellolta pulloon asti
  "***From barley to beer***"

- Toisaalta siis myös pilaantuminen ja kontaminaatio voivat tapahtua käytännössä missä tahansa prosessin vaiheessa.

- Oluen valmistuksen kannalta keskeisimpiä ongelmamikrobeja ovat **bakteerit, villihiivat, homeet** ja **levät**.

- Panimohiiva puolestaan on välttämätön oluen valmistuksessa

  - **Villihiivoiksi** kutsutaan kaikkia niitä hiivoja, jota ei ole tarkoituksellisesti lisätty oluen käymisprosessiin.

- Levillä vaikutusta lähinnä raakaveden laatuun

Oluen mikrobiologiaa

http://www.foodrepublic.com/2013/02/13/what-is-wort/

- erityisesti **vierre ja panimohiiva** tarjoavat ravinteikkaan kasvualustan sekä bakteereille että villihiivoille
- bakteerit kasvavat nopeasti tuoreessa vierteessä, lisääntyminen jakaantumalla jopa joka 20 min vs. hiivat 1-2h

    - keittovaihe steriloi vierteen; vain tietyt itiöt voivat siitä selvitä
    - vierre voi kontaminoitua jäähdytyksessä ja sen jälkeen (jäähdytin, sen ulostulo ja putkistot)

- riskinä myös prosessin pitkäkestoisuus → ei-toivotut mikrobit saavat runsaasti aikaa lisääntyä ja kehittyä

- prosessit ja pesut **Cleaning-In-Place** → pitkät ajot pesujen välissä riskinä bakteerikasvustojen (ns. biofilmien) muodostumiselle eri pinnoille

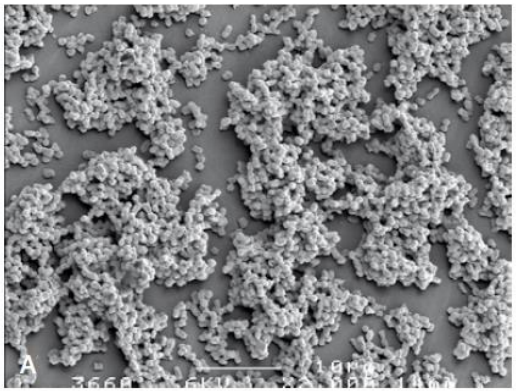
Biofilmin muodostuminen

- **Biofilmi** = *järjestäytynyt*, elolliseen tai elottomaan pintaan kiinnittynyt, useita lajeja sisältävä mikrobiyhteisö

- mikrobien ”luonnollinen elämäntapa ”

- esiintyy luonnostaan putkistoissa, hampaan plakissa, katetrit, plankton
- vastustuskykyisiä pesulle ja desinfektiolle

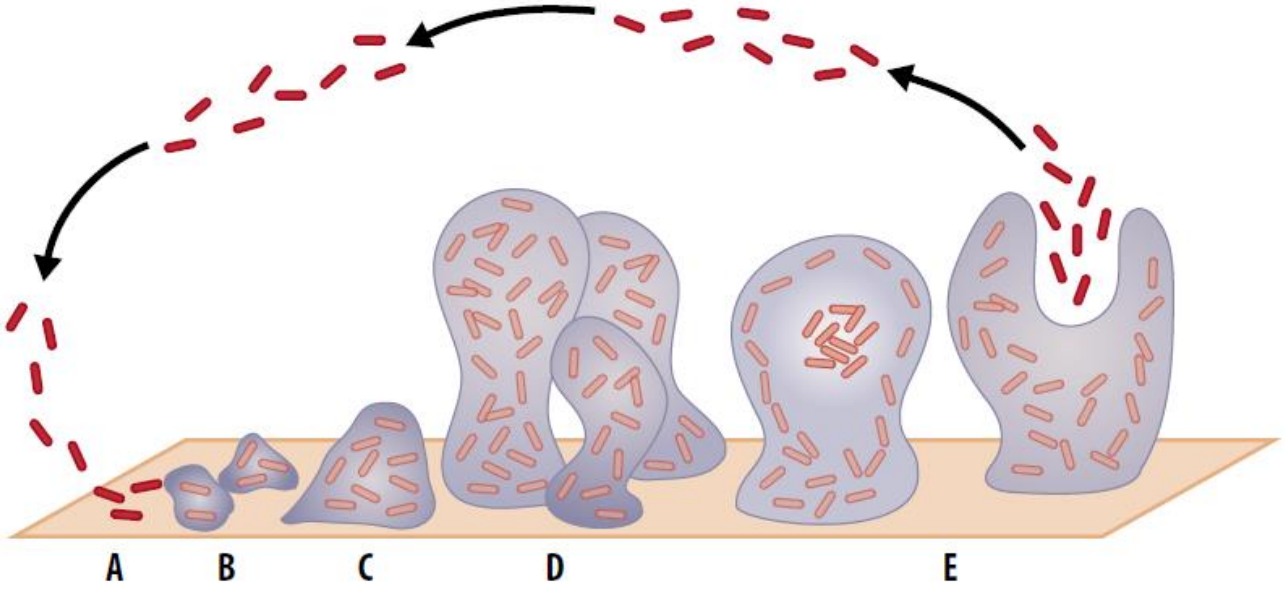
- mikrobi kiinnittyy esim. putken pinnalle ja alkaa tuottaa solunulkoisia polymeerejä (mm. polysakkarideja), johon mikrobit ”juurtuvat”



Tapianen T ym. Duodecim 2010; 126:765-772

Biofilmin muodostuminen

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES



KUVA 1. Biofilmin synnyn vaiheet. **A)** Mikrobien kiinnittyminen elolliseen tai elottomaan pintaan. **B)** Irreversiibeli adheesio. **C)** Monisoluinen kerroksittainen rakenne. **D)** Osa mikrobeista muodostaa biofilmissä sienimäisiä rakenteita ja vesikanavia. **E)** Biofilmistä voi irrota mikrobeja, jotka saattavat aiheuttaa uuden infektion.

Tapianen T ym. 2010, Duodecim 126:

Kontaminaation lähteet

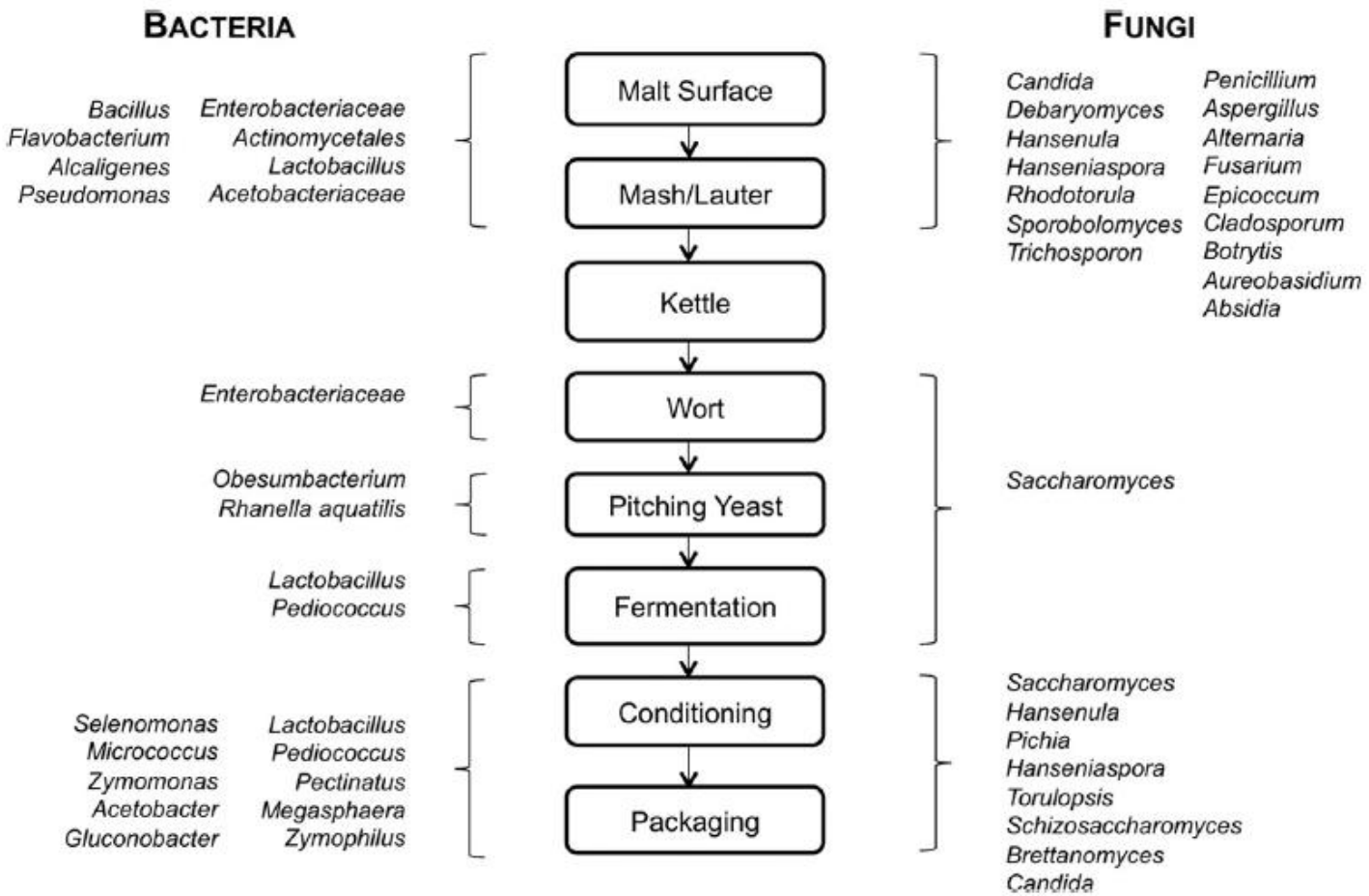
TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- raaka-aineet
  - maltaat
  - humala
  - lisäaineet
  - apuaineet; irish mosh
  - mausteet
  - panimohiiva
  - vesi

- laitteistot
- ilma
- eläimet ja hyönteiset tuotantotilassa
- pakkausmateriaalit

Kontaminaation lähteet

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES



Bokulich & Bamforth 2013

Valmiin oluen säilyminen

- Valmis olut on epäsuotuisa kasvualusta mikrobeille
- Valmiissa oluessa kontaminaatioita ehkäisevät:
  - alkoholipitoisuus
  - katkeruus l. iso-α-happopit.
  - humalaresistenssi → gram-positiivisten bakteerien kasvun esto
  - happamuus (pH 4.5 – 5.5)
  - hapettomuus
  - hiilidioksidi
  - vähäravinteisuus käymisen jälkeen
  - alhainen varastolämpötila

http://drinks.seriouseats.com/2013/03/sour-beer-what-is-brett-lacto-pedio-wild-yeast-flavors.html

Pilaaja-mikrobeista

http://www.labm.com/sectors/cosmetic/?index=16

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- Patogeenit eli tautia aiheuttavat mikrobit ovat harvinaisia kontaminaation aiheuttajia oluen koostumuksesta ja ominaisuuksista johtuen
- happea kasvuunsa vaativat mikrobit eivät siedä hapettomia olosuhteita → pilaajat ovatkin yl. anaerobisissa olosuhteissa viihtyviä mikrobeja

- Kontaminantit voidaan jaotella seuraavasti (Back 1994):

1. **absoluuttiset:** sietävät oluen ominaisuuksia, aiheuttavat sameutta, saostumia ja virhemakuja, esim. maitohappobakteerit
2. **potentiaaliset:** eivät normaalisti kasva oluessa, mutta jos pH korkea, matala alk. ja humala-pitoisuus sekä käymisaste pääsevät valloilleen
3. **välilliset:** eivät kasva lopputuotteessa vaan tietyissä prosessin vaiheissa (hiivaus, pääkäymisen alku), virhemaut, esim. villihiivat, enterobakteerit, voihappoa tuottavat klostridit
4. **indikaattoriorganismit:** eivät itse pilaa tuotetta, mutta ilmentävät kontaminanttien esiintymistä ja huonoa prosessihygieniaa, esim. eräät hiivat
5. **latentit organismit:** satunnaisesti prosessissa esiintyvät mikrobit, kertovat huonosta prosessihygieniasta (kontaminoitunut prosessivesi)

Lactobacillus -lajit

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

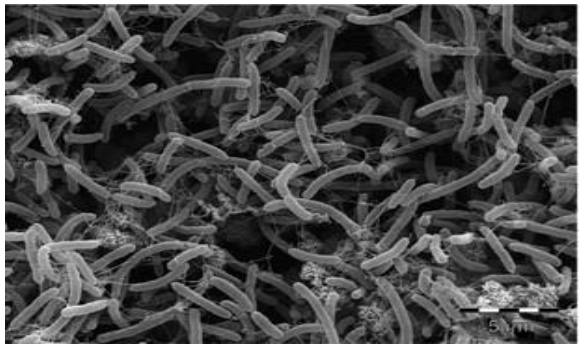
- lajeina esimerkiksi ***Lactobacillus brevis, L. lindneri***, *L. casei, L. buchneri* (diasetyyli)
- gram-positiivisia, fakultatiivisesti anaerobisia maitohappobakteereita
- hyödynnetään elintarviketeollisuuden käymisprosesseissa ja hapatettujen tuotteiden (jogurtti, kefiiri jne.) valmistamisessa
- haitallisimpia pilaajamikrobeita; aiheuttavat sameutta, rihmoja, happamuutta sekä tuottavat epätoivottuja aromeja kuten diasetyyliä ja rikkivetyä, jotka vaikuttavat flavoriin
- kykenevät lisääntymään oluessa; teho riippuu oluen pH.sta (optimi 4-6) sekä vastustuskyvystä humalan yhdisteille

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus_brevis

Pectinatus -lajit

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- *Pectinatus cerevisiiphilus, P. frisingensis, P. haikarae*
- gram-negatiivisia sauvabakteerita, obligaatteja anaerobeja → haastavia määrittää esim. viljelymenetelmillä
- koliformeja, kykenevät liikkumaan, piirteitä myös gram-positiivista bakteereita
- jopa kolmasosa kaikista panimoiden mikrobikontaminaatioista → voim. samentuminen sekä rikkiyhdisteiden haju
- erit. pastöroimattomissa oluissa
- pH-optimi 3,5 -6, alk.pitoisuus alle 4,5 til-%
  → esiintyvät erit. panimoprosessin alkuvaiheessa sekä annostelujörjestelmissä
- tuottavat propioni-, etikka-, meripihka- ja maitohappoja sekä asetaldehydiä

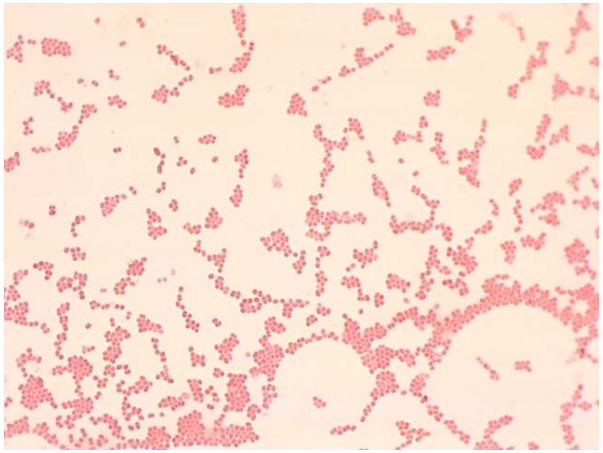


https://www.researchgate.net/figure/Scanning-electron-microscopy-of-Pectinatus-frisingensis-cells-adhering-onto-SPI-filter_fig1_273523249

Megasphaera

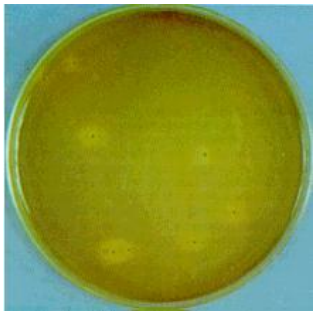
TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- *M. cerevisiae, M. paucivorans, M. sueciensis*
- gram-negatiivisia kokkibakteereita
- pH:n oltava yli 4 ja inhiboituvat, jos alk. pitoisuus yli 2,8 til-%
- aiheuttaa voimakasta samentumista
- tuottaa erityisesti voihappoa
- rikkivety-yhdisteet → ulostemainen haju



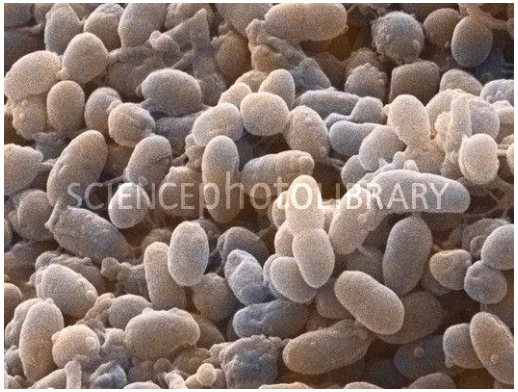
https://alchetron.com/Megasphaera

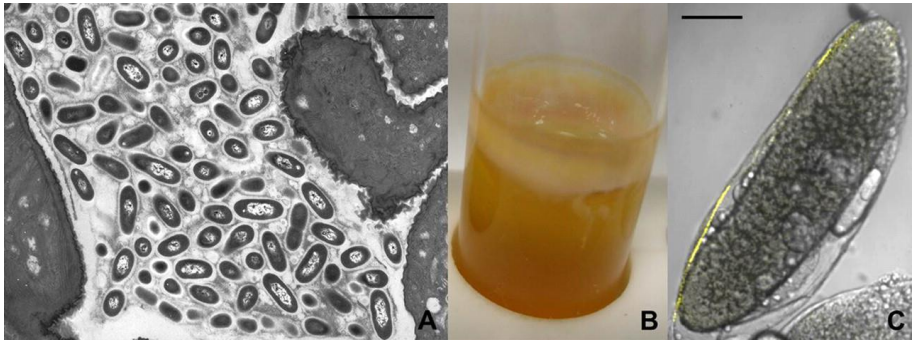
Etikkahapon tuottajat



http://www.brewingscience.com/identification_key_LMDA.htm

- edellä mainittujen lisäksi esim. *Acetobacter* ja *Gluconobacter* –suvut
- hanaoluessa ja panimoprosessin alkuvaiheissa esiintyviä aerobisia bakteereita
- etikkahapon tuotto, sameus, sivumaut, rihmat





http://aem.asm.org/content/76/21/6963/F1.expansion.html

Hiivoja moneen lähtöön

- **Villihiivat** = kaikki muut hiivat paitsi tarkoituksella vierteeseen lisätty hiivakanta → ovat kuitenkin ominaisuuksiltaan ja kasvuvaatimuksiltaan hyvin samanlaisia kuin panimohiivat.

- Villihiivat aiheuttavat maku- ja aromivirheitä.

- Lisäksi villihiivat voivat aiheuttaa sameutta, hallitsematonta vaahtoamista ja alentunutta alkoholinmuodostumista

- Useimmat villihiivat eivät kuole laimeassa happopesussa (hiivan uudelleenkäyttö)

- Hankala villihiiva on *Saccharomyces diatatícus*, joka kykenee käyttämään pidempiketjuisia sokereita (oluen runko) eli normaaleille panimohiivoille käymiskelvottomia sokereita

Panimohiivat

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- *Saccharomyces cerevisiae*:
  ALE pintahiivat

- *Saccharomyces carlsbergensis/pastorianus*:
  LAGERIT pohjahiivat

Mikrobikontaminaatiot prosessin eri vaiheissa - mistä kontaminaatio on peräisin ?

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- Pellolla ja viljan varastoinnissa suurin vaikutus homeilla (punaiset jyvät, Viking Malt <5 kpl/100g)
  - ✓ Homemyrkyt eli mykotoksiinit (syöpävaaralliset aflatoksiinit)
  - ✓ Hydrofobiinit pinta-aktiivisia proteiineja oluen kuohahdus ja liiallista vaahtoamista → ongelmaproteiineilla kestävä rakenne

- maltaan ja muiden raaka-aineiden varastoinnissa
- mallastuksessa
- keitossa (vierrettä pastöroiva/steriloiva prosessivaihe)
- vierteen jäähdytys
- käymisen aikana
- suodatus
- pumppausvaiheet (mäskäys, keitto, jäähdytin)
- astiointi → pullotus?
- tuotteen varastoinnissa

Mikrobikontaminaatioiden hallinta

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- ajan tasalla oleva ohjeistus
- työntekijöiden perehdytys ja koulutus

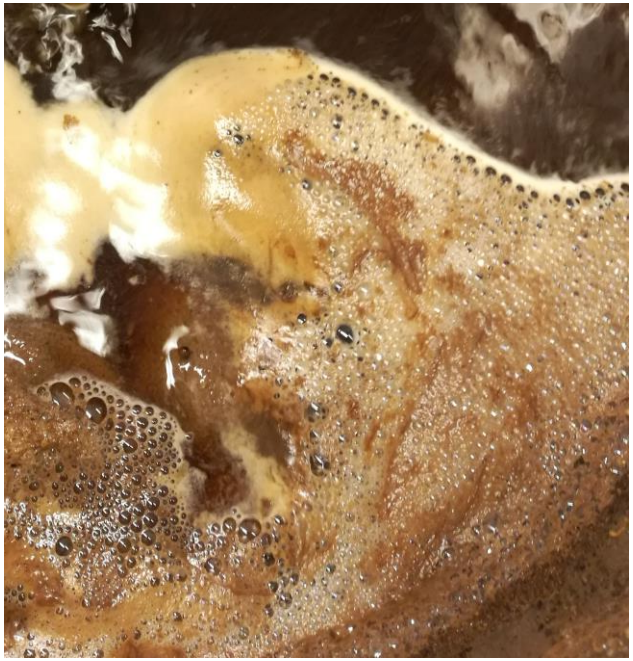
- hygienia:
  - henkilökohtaiset suojaimet: käsineet, hiustensuojat, suojavaatteet, jalkineet

https://www.provaate.fi/

- pesumenetelmät
  - biofilmin poisto
  - soveltuva pesuaineet käsipesuun
  - putkistojen kiertopesuun CIP

- laitteiston rakenne
  - pintojen kunto (naarmut keräävät likaa)
  - puhdistusta hankaloittavat materiaalit
  - hankalasti puhdistettavat rakenteet esim. putkistot, yhteet ja pumput hankalia kohteita mm. pullotuslaitteistot

Kontaminaatioiden hallinta

TURKU AMK
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

- Likainen pinta toimii kasvualustana mahdolliselle kontaminaatiolle