

Förekomst av mjölksyrabakterier på ett ölbryggeri.



LUNDS
UNIVERSITET

Lunds Tekniska Högskola

Institutionen för livsmedelsteknik
Livsmedelsteknisk högskoleutbildning vid Campus Helsingborg

Tony Klintrup, Fredrik Sjöberg
Examensarbete 2009

© Copyright Tony Klintrup, Fredrik Sjöberg

Institutionen för livsmedelsteknik
Lunds universitet
Box 882
251 08 Helsingborg

Department of Technology, Engineering and Nutrition
Lund University
Box 882
SE-251 08 Helsingborg
Sweden

Sammanfattning

Förekomst av mjölksyrabakterier på ett ölbryggeri

Målet med arbetet är att hjälpa ett bryggeri att komma tillrätta med ett stort problem rörande produktkvaliteten. Bryggeriet har under en längre tid haft problem med förekomst av mjölksyrabakterier i sin produkt, vilket medfört att den surnat långt innan dess bästföremärkning gått ut. Genom mikrobiologiska provtagningar längs hela produktionskedjan så kunde det efter hand konstateras vilket som var roten till problemet. Eftersom produkten på bryggeriet är något relativt unikt, nämligen färsköl, så ställs det extra stora krav på hygien i produktionen. Färsköl är en färskvara och bör hanteras som en sådan och hållas vid kyltemperatur hela vägen ut till konsumenten. Jäsnings-/lagringsrummet på bryggeriet visade sig ha stor förekomst av mjölksyrabakterier. Dessa tillväxer mycket långsamt vid låga temperaturer, men relativt snabbt vid rumstemperatur. Det är en kombination av förekomst av bakterier och fel temperaturhållning efter tappning som varit den främsta orsaken till den dåliga produktkvaliteten. Arbetet har involverat mycket mikrobiologiskt arbete med mycket odling av prover från bryggeriet. Ett försök till identifiering av mikroorganismer genom PCR-teknik har även genomförts. Resultaten från detta försök visade att det rörde sig om samma bakterie i samtliga analyserade prover. Slutsatsen av arbetet blev att det krävs uppdaterade rengöringsrutiner samt viss nyinvestering i utrustning på bryggeriet, och/ eller eventuellt nya alternativa desinfektionsmetoder, om det i framtiden vill framställa färsköl utan mjölksyrabakterier.

Nyckelord: Mjölksyrabakterier, ölförstörande, färsköl, ölbryggning, PCR, bryggeri, HACCP

Abstract

Presence of lactic acid bacteria on a beer brewery

The purpose of this thesis is to help a brewery solve a mayor problem regarding the quality of their product. The brewery has for a considerable amount of time had a problem with the presence of lactic acid bacteria in their product, which has caused it to acid long before the expiration date has passed. The root of the problem could be established through microbiological sampling along the entire production chain. Since the product of the brewery is something relatively unique, namely fresh beer, the demands on hygiene in the manufacturing process is extra high. Fresh beer is a fresh product and should be handled accordingly and kept at a cool temperature all the way to the consumer. The fermentation-/ storage room in the brewery turned out to have a large presence of lactic acid bacteria. These grow very slowly at low temperatures, but relatively rapid at room temperature. It is a combination of presence of lactic acid bacteria and incorrect kept temperatures after filling that has been the main cause of the poor production quality. The thesis has required a lot of microbiological labour, consisting of cultivating samples from the brewery. An attempt to identify microorganisms through PCR-technology has been implemented. The results from this attempt showed that the samples contained identical bacteria. The conclusion of the thesis was the need for updated cleaning procedures, and some new investment in equipment, and /or possibly new alternative disinfection methods, if the brewery wants to produce fresh beer without lactic acid bacteria in the future.

Keywords: Lactic acid bacteria, beer spoilage, fresh beer, beer brewing, PCR, brewery, HACCP

Förord

Vi studerar på Livsmedelsteknisk högskoleutbildning, en utbildning som är förlagd till LTH vid Campus Helsingborg, Lunds universitet. Utbildningen omfattar två års heltidsstudier, dvs. 120 högskolepoäng. I utbildningen ingår ett examensarbete som omfattar 15 högskolepoäng.

Detta examensarbete utgör den avslutande delen i vår utbildning till livsmedelstekniker i Livsmedelsteknisk högskoleutbildning vid Lunds universitet. Utbildningen innefattar bland annat mikrobiologi, kemi, teknik inom livsmedelssektorn. Under 10 veckor har vi fått möjlighet att kombinera våra kunskaper inom dessa områden på ett bryggeri som har problem med mjölksyrabakterier i produktionen av färsköl och ta fram lösningar till detta.

Vi vill tacka vår handledare Nils-Bo Nilsson programledare på Livsmedelsteknisk högskoleutbildning (LTH Campus Helsingborg) som ställt upp med sin tid och sitt kunnande under hela examensarbetet. Vi vill även framföra ett tack till Christer Olsson mikrobiologilärare på Livsmedelsteknisk högskoleutbildning (LTH Campus Helsingborg) som varit en stor kunskapstillgång under vårt mikrobiella arbete. Dessutom vill vi framföra ett tack till ägaren och personalen vid Ystads bryggeri för ett intressant och spännande samarbete under dessa veckor.

Innehållsförteckning

1. Inledning och syfte	1
1.1 Inledning	1
1.2 Syfte	1
2. Ölbrygningsprocessen	2
2.1 Råvaror	2
2.1.1 Korn och mältning	2
2.2 Mäskning och vörtkokning	2
2.2.1 Mäskning	2
2.2.2 Silning	3
2.2.3 Vörtkokning och humletillsättning	3
2.3 Jäsning och lagring	3
2.3.1 Jäsning	3
2.3.2 Lagring	4
2.3.3 Slutprodukt	4
2.4 Färsköl	4
3. Ölbrygningsprocessen på bryggeriet i Ystad	5
3.1 Lokalen och utrustning	5
3.1.1 Brygningslokal	5
3.1.2 Jäsnings-/Lagringslokal	6
3.1.3 Tappningslokal	6
3.2 Översiktlig processbeskrivning	7
3.2.1 Mäskning	7
3.2.2 Silning och vörtkokning	7
3.2.3 Jäsning och lagring	7
3.2.4 Tappning	8
3.3 Flödesschema	9
4. Mikrobiologiska risker	10
4.1 Eventuella patogener	10
4.2 Mjölksyrabakterier och ölförstörande bakterier	10
4.3 Kontamineringsrisker på bryggeriet i Ystad	11
4.4 Produktkvalitet på bryggeriet i Ystad	12
5. Material och metod	13
5.1 Mikrobiologiska metoder	13
5.1.1 Odlingssubstrat	13
5.1.2 Substratsättning och provtagning	13
5.1.3 Provanalys	13
5.1.4 Gramfärgning	14

5.1.5 Gramningssnabbtest	14
5.1.6 PCR (Polymerase Chain Reaction)	14
5.2 Provtagnings tillfällen	14
6. Provresultat	15
6.1 Provresultat	15
6.2 Resultat av PCR-identifiering	17
6.3 Slutsatser av provtagningar	18
7. HACCP-plan	19
7.1 Faroanalys	19
7.2 Flödesbeskrivning och risker	20
7.3 HACCP-plan	20
8. Resultatdiskussion	21
8.1 Slutsatser	21
8.2 Åtgärdsförslag	21
8.3 Framtiden	21
8.3.1 Lysozym	21
8.3.2 Pastörisering	23
8.3.3 Membranfiltrering	23
8.3.4 UV-ljus	23
8.3.5 Provtagning för egenkontroll	24
Källförteckning	25
Bilaga I – Provtagningar och resultat	I
Bilaga II – HACCP-plan	I

1. Inledning och syfte

1.1 Inledning

Affärsklimatet för de små bryggerierna i Sverige, de s.k. mikrobryggerierna är idag riktigt tufft. Därför är det just nu mycket viktigt för bryggarna att de har en produkt vars kvalitet håller en jämn hög och pålitlig nivå. Har man dessutom en produkt som kräver extra noggrannhet vid tillverkning och distribution som färsköl så är detta speciellt angeläget.

Bryggeriet i Ystad har funnits i mer än tio år och har under denna tid haft en väldigt ojämn nivå av framgång. Det drivs av företaget Två bryggare AB vilket även driver ett svagdrickabryggeri i Tomelilla. I Tomelilla förekommer också tappningen av färskölen från Ystad.

Examensarbetet beskriver tillvägagångssättet för att lokalisera känsliga punkter i tillverkningsprocessen. Detta har bestått i ett antal besökstillfällen på bryggeriet där många mikrobiologiska prover tagits längs hela tillverkningsflödet. Dessa prover har sedan analyserats genom konventionella metoder såsom okulär besiktning i mikroskop och Gram-färgning. Ett behov av utformning av egenkontrollprogram med HACCP-plan (Hazard Analysis Critical Control Points-plan) har även funnits och med hjälp av detta arbete har detta blivit genomfört.

Rapporten börjar med en allmän beskrivning av ölbrygningsprocessen för att ge en bild av hur många steg den består av och vad som händer med råvarorna i processen. Sedan följer en specifik beskrivning av öltillverkningen i Ystad följt av en framställning av vilka skadliga mikroorganismer som kan förekomma på ett bryggeri. Detta följs av en beskrivning av hur det praktiska arbetet sett ut och vilka resultat det givit. Det sista som tas upp är HACCP-planen och sedan en resultatdiskussion innehållande slutsatser och lämpliga åtgärder.

1.2 Syfte

Syftet med detta arbete är att hjälpa ett ölbryggeri i Ystad att komma till rätta med sin färsköstillverkning. Bryggeriet har under flera år haft problem med förekomst av mjölksyrabakterier i sin produkt. Bakterierna orsakar att ölen surnar alldeles för fort och att den oftast är mer eller mindre sursmakande när den når sin slutkonsument. Mjölksyrabakterierna får goda förutsättningar att överleva hela vägen till tappning då ölen inte pastöriseras.

2. Ölbrygningsprocessen

Människan har tillverkat öl i minst 6000 år. Under denna tid har processen förfinats och även kunnat förklaras vetenskapligt. Idag har ölfremställningsindustrin en komplett bild av processen och kan i och med det påverka slutprodukten i allra högsta grad. Processen är dock fortfarande relativt komplicerad då den består av ett stort antal steg, nämligen: mältning, mäskning, vörtkokning, humletillsättning, jäsning, lagring, (eventuell filtrering och/ eller pastörisering) samt tappning (1).

2.1 Råvaror

De fyra grundläggande ingredienserna i nästan all öl som tillverkas i världen är: malt, humle, jäst och vatten. Beroende på hur dessa ingredienser kombineras och hur de kommer in i processen kan slutresultatet varieras oändligt (1).

2.1.1 Korn och mältning

När man tillverkar öl använder man sig av korn som den främsta råvaran, även om kornet på många ställen kombineras med andra ingredienser, s.k. råfrukt (exempelvis majs eller ris). Detta används på grund av att kornmalt är en relativt dyr råvara. Det finns många olika sorters korn, men den som används för öltillverkning skall helst ha hög stärkelsehalt, bra grobarhet, bra svällningsförmåga, låg proteinhalt samt variera så lite som möjligt i storlek.

Mältningsprocessens primära syfte är att få kornet att gro och att aktivera enzymer nödvändiga för nedbrytning av dess stärkelse till olika sockerprodukter (1). Dessa sockerprodukter konsumeras senare av jästen. Det första steget i mältningen är att blötlägga kornet i vatten (stöpning). Vid en uppnådd vattenhalt på ca 42 – 46 % skiljs vattnet från kornet vilket sedan får gro i 4 – 5 dagar i ca 15 °C innan gironingsprocessen är avslutad. Energikällan till gironingen består av fettförrådet i grodden, vilket är bra eftersom att man vill ha kvar så mycket stärkelse som möjligt senare i processen (2). Under gironingen aktiveras framför allt de stärkelsehydrolyserande enzymerna: α -amylas och β -amylas. Dessa enzymer är de viktigaste i bryggprocessen men en hel rad andra enzymer aktiveras här också. När man nått önskad mältningsgrad avbryts gironingsprocessen genom s.k. kölning. Kölning innebär att malten torkas i en kölna med hjälp av het luft. Beroende på vilka egenskaper man vill att malten skall få så varieras temperaturen och tiden malten vistas i kölnan (2).

2.2 Mäskning och vörtkokning

Nästa steg i processen och innan mäskningen inleds är den s.k. skrotningen vilket innebär att malten krossas. Krossningen utförs för att malkornets innehåll lättare skall kunna blandas ut med vatten samt att under silningen fungera som en fin silbädd för vörten (1).

2.2.1 Mäskning

Mäskningen som utförs i ett mäskkar inleds med att vatten och malt tillsätts. I detta steg kan man styra vilken alkoholhalt slutprodukten kommer att hålla beroende på vilken mängd malt man har i förhållande till vattnet. Det primära syftet här är att få olika enzymer att omvandla stärkelse till enkla sockerarter som sedan används av jästen vid fermenteringen. I och med att enzymerna är olika aktiva beroende på vilken temperatur blandningen håller, så sker en stegvis kontrollerad höjning av temperaturen.

Dessa raster som de kallas är vanligtvis tre till antalet, men vissa ölsorter, som exempelvis Ysta färsköl har fyra stycken eller fler. Vid ca 60 °C är β -amylas som mest aktivt och vid ca 70 °C är α -amylas som mest aktivt. Vid ca 52 – 55 °C gelatineras stärkelsen och blir löslig i vatten, detta medför att den blir bättre tillgänglig för enzymerna. Här aktiveras även proteaserna. Mäskningen fortgår i ca en timme eller till det inte finns mer stärkelse kvar att försockra. Här gör man en sista temperaturhöjning för att inaktivera enzymerna. Produkten kallas i denna fas för mäske (1).

2.2.2 Silning

Nu är mäskan väldigt grumlig bl.a. beroende på att mycket fasta partiklar fällts ut i den. Därför måste nu mäskan silas, detta utförs vanligtvis i ett silkar, där man ofta använder tyngdkraften för att skilja restmalten (de fasta partiklarna) från vätskan. Den bortsilade restmalten kallas för drav och kan användas till djurfoder. För att få ut så mycket extrakt som möjligt ur malten så pålakas draven här med hett vatten. Den återstående silade vätskan kallas nu för sötvört (1).

2.2.3 Vörtkokning och humletillsättning

Sötvörten hettas nu upp till kokningstemperatur och kokas därefter i en till två timmar. Under tiden tillsätts humle i flera s.k. givor. Mängden humle i förhållande till vörten är väldigt liten ca en till två promille. Genom att tillsätta humle får vörten mer doft och en beskare smak. När humlen kokas frisätts också iso- α -syror som bidrar till att produkten blir mer resistent mot många grampositiva bakterier (2). När kokningen är genomförd har vörten blivit helt steril. Nu måste den kylas ned till en temperatur som är lämplig för att få igång jäsningsprocessen. Beroende på vilken typ av jäsningsprocess används, kyls vörten ned olika mycket. Produkten kallas nu för stamvört (1).

2.3 Jäsning och lagring

2.3.1 Jäsning

Det finns tre olika vedertagna metoder för jäsning: överjäsning, underjäsning samt spontanjäsning. Överjäsning innebär att jäsningen sker vid relativt hög temperatur, ca 12 – 18 °C och att jästen flyter upp till ytan vid jäsningens avslutning, underjäsning innebär att jäsningen sker vid relativt låg temperatur 8 – 12 °C och att den sjunker ned till botten vid jäsningens avslutning och spontanjäsning innebär att man inte tillsätter någon jäst utan att man använder den s.k. husfloran för att genomföra jäsningen, detta innebär att även bakterier är delaktiga i fermentationsprocessen. Jästarten som används vid ölframställning är *Saccharomyces cerevisiae* och vissa av dess underarter, exempelvis *Saccharomyces cerevisiae carlsbergensis*. På grund av framför allt ekonomiska skäl återanvänds jästen upp till åtta gånger.

Vid jäsning pumpas stamvörten över till ett jäskar och blandas här med jästen. Mängden jäst som används är ca fem till tio liter per kubikmeter vört. Här tillsätts även en liten mängd syre för att få jästcellerna att dela sig och för att få igång själva fermenteringen, resten av jäsningsprocessen sker under anaeroba förhållanden. Jäsningen fortgår ända till alla kolhydrater som jästen kan fermentera är förbrukade. Själva jäsningsprocessen kan indelas i två delar: primärjäsning och efterjäsning (1).

2.3.2 Lagring

När primärjäsningen är avslutad, efter ca 4 – 10 dagar beroende på jäsningsmetod, förs vörten över till lagertankar där den förvaras i låg temperatur mellan en och fyra månader. Det är här efterjäsningen sker och vörten mognas till slutprodukten öl. Man håller hela tiden trycket i lagertanken genom att trycka in kolsyra ovanifrån. Detta förhindrar också att produkten kommer i kontakt med syre vilket skulle kunna medföra viss oxidering med medföljande restprodukter. Dessa skulle kunna påverka ölens kvalitet negativt (1).

2.3.3 Slutprodukt

När ölen är färdigmognad så filtreras den (inte alltid dock) och den kan även pastöriseras för att förlänga hållbarheten. Ölen tappas sedan upp antingen på flaskor eller på fat. Tappningen måste helst ske i ett slutet system så att inte koldioxid avgår eller att den inte utsätts för onödig kontamineringsrisk (1).

2.4 Färsköl

Öl som varken är filtrerad eller pastöriserad kallas för färsköl. Denna term verkar vara godtycklig då det inte finns någon officiell definition av den att hitta någonstans. När man tillverkar en färsköl är råvarukvaliteten och hygienkraven i bryggeriet extra viktiga att hålla höga då denna produkt är mycket mera utsatt för kontamineringsrisker än den filtrerade och pastöriserade motsvarigheten. Vidare så är det viktigt att denna öl efter tappning hålls vid kyltemperatur och helst konsumeras inom två veckor då den efter detta knappast kan beskrivas som en färskvara (3).

3. Ölbrygningsprocessen på bryggeriet i Ystad

3.1 Lokalen och utrustning

Brygningsutrustningen kan delas in i tre delar: Bryggpanna, silkar och Whirlpool finns i restauranglokalen vid Ysta bryggeriet. Jästankar och lagringstankar finns i ett angränsande rum till restaurangen och slutligen så finns tappningsmaskinen på bryggeriet i Tomelilla. I processen finns inga pumpar utan tyngdkraften och tryckskillnader orsakade av kolsyra används för att transportera produkten mellan de olika stegen i produktionen (4).



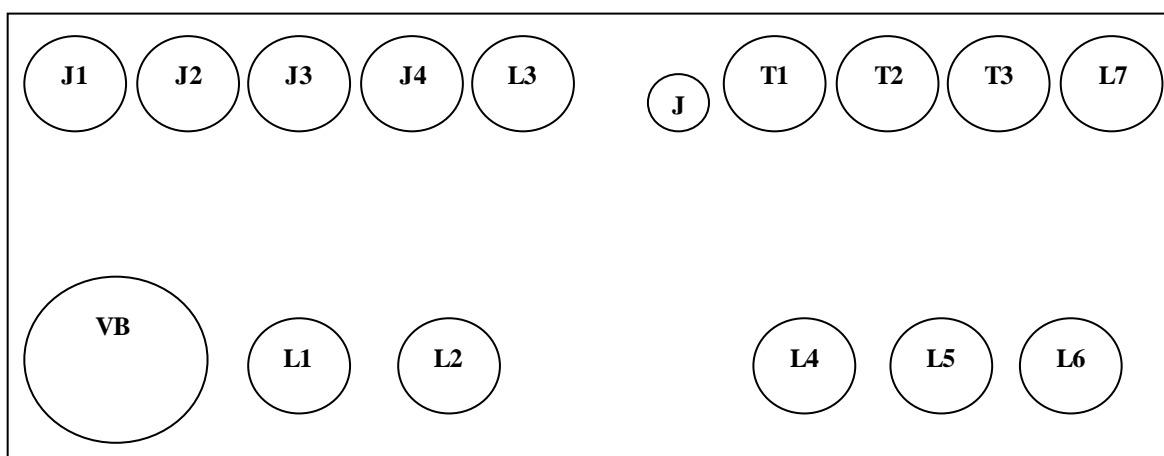
Bild 1: Mikrobryggeriet i Ystad

3.1.1 Brygningslokal

Utrustningen här består av en mäskepanna som också används som vörtpanna, ett silkar med underliggande Whirlpool samt rörledningssystem och värmväxlare för nedkylning. Det intressanta här är att denna lokal även är en fullt godkänd restauranglokal. Restaurangen drivs av en krögare som är fristående från bryggeriet. Mäskepannan rymmer 1500 liter vilket också oftast är storleken på batcherna som framställs (4).

3.1.2 Jäsnings-/Lagringslokal

Observera att översiktsskissen inte är skalenlig utan finns med främst för att ge en bild om utformningen samt att visa var de olika proverna tagits.



Figur 1: Layout för Jäsnings-/Lagringslokalen

Tabell 1: Förklaring av förkortningar

Förkortning	Innebörd	Volym
J 1 – 4	Jästtank 1 – 4	3 m ³
L 1 – 6	Lagringstank 1 - 6	3 m ³
L 7	Lagringstank 7	1,5 m ³
T 1 – 3	Trycktank 1 – 3	1,5 m ³
VB	Varmvattenberedare	
J	Jästbehållare	

Lokalen ligger vägg i vägg med restauranglokalen. Den består av fyra jästankar, sju lagertankar, tre trycktankar, en varmvattenberedare samt övrig utrustning. Lokalen har inga kylsystem förutom de som finns i jäst- och lagertankarna. Detta medför att temperaturen i lokalen är relativt låg men beroende på hur många av tankarna som används och vilken tid på året det är så varierar den i allra högsta grad. Väggar och golv är helt kaklade, problemet här är dock att det finns några takbalkar av trä som inte är täckta av kakel vilket beror på att lokalen inte var tänkt som livsmedelslokal när huset byggdes. Detta, tillsammans med att tankarna står väldigt tätt intill varandra och tätt intill väggen försvårar rengöringsarbetet. För hantering av jäst finns en hink som används för påfyllnad av jäst i jästankarna samt en behållare med inbyggda kylslingar där jästen förvaras mellan batcherna. Lokalen innehåller även ett rörledningssystem som drivs med hjälp av tryckskillnad orsakad av kolsyra. Detta rörledningssystem trycker även ut ölen till transportbilen när det är dags för tappning (4).

3.1.3 Tappningslokal

Denna lokal är belägen i Tomelilla där även produktion av svagdricka förekommer.

Lokalen är indelad i två utrymmen som är skilda av en plastridå. Den ena delen innehåller tappningsmaskinen och den andra fungerar som pallstningsutrymme.

Väggarna är målade i vit färg och golvet är kaklat. Tappningsmaskinen är nyinköpt och

tvättningen, tappningen och korkningen utförs i ett slutet system. Bryggeriet återanvänder inga flaskor utan köper hem helt nya efter behov (4).

3.2 Översiktlig processbeskrivning

3.2.1 Mäskning

Bryggerilokalen har ingen egen malkross utan krossningen utförs i Tomelilla och transporteras vidare till Ystad enligt behov. Den krossade malten kommer in i produktionslokalen och hålls sedan ned i mäskpannan vid processens början. I denna beskrivning kommer exemplet Ysta färsköl 4,8 % alkohol att användas. Det som främst skiljer denna från andra öltyper hos bryggeriet är mängden malt och humle som används. 290 kg malt blandas här med 1 m³ vatten som håller en temperatur av 52 °C. För att uppnå denna temperatur blandas 750 liter hetvatten från varmvattenberedaren med 250 liter kallvatten. Efter detta inleds de s.k. rasterna, för denna öltyp används fyra raster (4).

1. Proteinrasten – blandningen håller 52 °C i 10 minuter.
2. Andra rasten - blandningen håller 63 °C i 15 minuter.
3. Tredje rasten - blandningen håller 68 °C i 15 minuter.
4. Försockringsrasten - blandningen håller 71 °C i 20 – 25 minuter, mätningen av försockringsgrad görs med hjälp av jodlösning (1).

3.2.2 Silning och vörtkokning

Efter detta värms blandningen upp till 76 °C och trycks sedan över till silkaret. Här filtreras mäskan med hjälp av tyngdkraften i ca 20 minuter. Den bortfiltrerade malten kallas här för drav och tas ut genom en lucka i botten av silkaret. Efter detta pålakas draven med hetvatten under sex minuter. Detta görs för att få ut så mycket extrakt som möjligt. Produkten har nu blivit vört och överförs här tillbaka till mäskpannan som nu fungerar som vörtpanna. Eftersom vatten tillförts under processen får man nu 1600 liter vört i vörtpannan. Temperaturen höjs till kokning inleds och vörten får sedan koka i 100 minuter. Under denna tid tillsätts humlen. Mängden humle är 1800 g och tillförs under tre givor. När kokningen är slutförd trycks vörten över till en Whirlpool där den roterar under 20 minuter. Här avskiljs proteiner och humlerester. Vörten kyls sedan ned till 10 °C med hjälp av en värmväxlare. Att kyla ner en hel batch tar ca 45 minuter. För att jästcellerna senare i processen skall börja dela på sig tillsätts nu syre till vörten, mängden är fem g per 100 liter vört. Vörten trycks nu ut till jästanken (4).

3.2.3 Jäsning och lagring

För en hel batch på 1500 liter vört används 30 liter jäst. Jästen är av arten *Saccharomyces cerevisiae carlsbergensis* och köps in från Spendrups. Bryggeriet använder sig av underjäsning vilket innebär att jästen tillsätts underifrån och att den sjunker ned till botten när den verkat. Temperaturen regleras med hjälp av kylslingor i jästankens väggar. Nu skall blandningen hålla 12 °C i fyra till fem dagar. För att det återstående syret som finns i tanken skall kunna tryckas ut av koldioxiden som bildas av jästen så är tanken inte slutet de första dagarna. Efter detta inleds diacetylrasten som varar i två dagar. Diacetylen ger ölen en oangenäm doft och under diacetylrasten bryter jästen ned den till butandiol som, i mängden det är fråga om, inte har någon sensorisk påverkan på ölen (5). Temperaturen sänks nu till 10 °C och detta hålls sedan i sex dagar.

Med hjälp av kolsyra trycks produkten vidare till lagringstank. I jästanken tappas produkten ut genom en ventil som sitter en decimeter upp från botten, på detta sätt stannar jästen, som nu sjunkit ned, kvar i jäskaret. Produkten som går vidare innehåller fortfarande jästceller men nu i ett ganska begränsat antal (4).

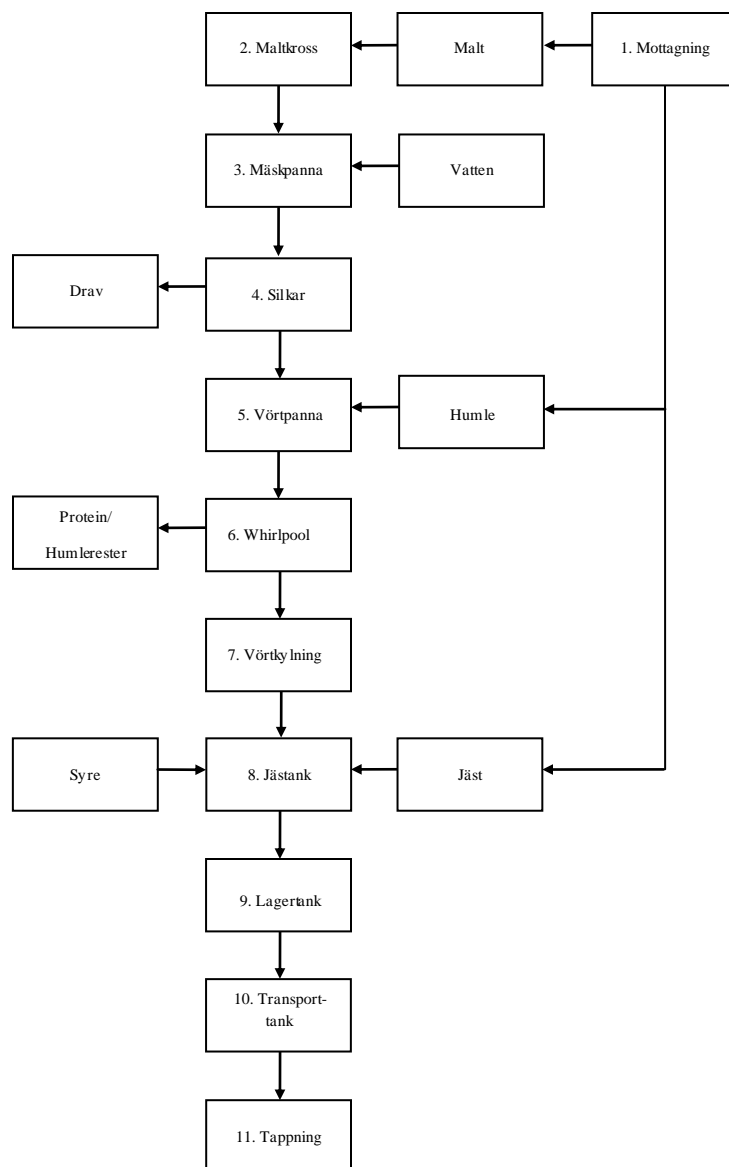
Jästen tappas ut från en bottenventil för återanvändning. Jästens pH-värde kontrolleras och om det är för högt tillsätts 75 procentig fosforsyra för att få ned pH-värdet till ca 2,1. Eftersom bryggaren anser att det inte finns några andra organismer som kan överleva vid detta låga pH-värde beskrivs jästen nu som ren (4). Vissa mjölktsyrebakterier har dock samma eller bättre förutsättningar att överleva under dessa förhållanden (6).

I lagertanken regleras temperaturen ned till 1 – 2 °C. Under denna del av processen sker den s.k. efterjäsnningen och blandningen mognar fram till öl. Ölen skall stå i lagertanken i minst tio dagar men står oftast och helst längre. När ölen sedan lämnar lagertanken är den färdig, då bryggeriets produkt är färsköl vilket innebär att den varken filtreras eller pastöriseras (4).

3.2.4 Tappning

När ölen skall tappas trycks den först ut till en steril engångssäck i en transporttank. Denna tank finns på en lastbil som kör ölen vidare till Tomelilla. Vid ankomst måste ölen först vila i två timmar för att den skall stabilisera sig. Här används höjdskillnad för att transportera in ölen till tappningslokalen. När ölen skall tappas används nya flaskor. Dessa tvättas med hjälp av dricksvatten inne i tappningsmaskinen. Flaskorna fylls och korkas sedan innan de lämnar tappningsmaskinen. Det sista steget som återstår innan utleverans är att lasta flaskorna i backar som sedan lastas på pall.

3.3 Flödesschema



Figur 2: Flödesschema färskölbryggningens processen på bryggeriet (4)

4. Mikrobiologiska risker

4.1 Eventuella patogener

Eftersom färdig öl är en speciell miljö är det endast ett fåtal mikroorganismer som kan leva i den. Mikroorganismerna som beskrivs i denna rapport är förvisso att betrakta som ölförstörande, men de är inga humanpatogener. Det skulle kunna förekomma någon sporbildande patogen bakterie i ölen, men risken för det är ytterst minimal. Det kan även finnas en risk för att toxiner producerade av mikroorganismer kan finnas i den färdiga produkten, men denna är också att betrakta som relativt obefintlig.

4.2 Mjölksyrabakterier och ölförstörande bakterier

En definition av vad mjölksyrabakterier är från 1919 lyder ”De sanna mjölksyrabakterierna formar en stor naturlig grupp av orörliga, spörlösa, grampositiva kocker och stavar som vid fermentering av socker huvudsakligen bildar mjölksyra” (6). Detta innebär att bakterien måste uppfylla följande kriterier för att definieras som mjölksyrabakterie:

1. Fermentera glukos och som främsta restprodukt bilda mjölksyra
2. Vara stavar eller kocker som är grampositiva
3. Vara orörlig
4. Inte vara sporbildande
5. Inte vara katalasproducerande
6. Kunna tåla låga pH-värden
7. Inte vara patogen

I brist på syre sker mjölksyrabakteriernas tillväxt betydligt långsammare. Arterna kan variera mycket utseendemässigt (8).

Tabell 2: Vanligt förekommande grampositiva bakterier i ölprocessen (2)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>P. damnosus</i>	<i>L. lactis</i>	<i>M. kristinae</i>
<i>L. linderi</i>	<i>P. inopinatus</i>		
<i>L. curvatus</i>	<i>P. dextrinicus</i>		
<i>L. casei</i>			
<i>L. buchneri</i>			
<i>L. coryneformis</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. brevisimilis</i>			
<i>L. malefermentans</i>			
<i>L. parabuchneri</i>			

Tabell 3: Vanligt förekommande gramnegativa bakterier i ölprocessen (2)

<i>Pectinatus</i>	<i>Selenomonas</i>	<i>Megaspharea</i>	<i>Zymomonas</i>	<i>Zymophilus</i>
<i>P. cerevisiiphilus</i>	<i>S. lactificex</i>	<i>M. cervisiae</i>	<i>Z. mobilis</i>	<i>Z. raffionosivorans</i>
<i>P. frisingensis</i>				

Nedan följer en närmare beskrivning av några ölförstörande bakterier:

Lactobacillus brevis

Denna bakterie är bland de vanligast förekommande arterna av mjölksyrabakterier på bryggerier. Problemen som *Lactobacillus* orsakar på ölbryggerier, liksom övriga ölförstörande bakterier, är en försurning av produkten i samband med att den fermenterar sockerarter och mjölksyra bildas som en restprodukt. Dessutom kan nämnas att den kan fermentera både dextrin och stärkelse, något som ytterligare förvärrar skadorna på produkten. Bakterien används även inom mejeriindustrin, där dess egenskaper utnyttjas vid tillverkning av syrade mjölkprodukter som exempelvis surkål och pickels. Det är inte förvånande att *Lactobacillus brevis* hittas på bryggeriet, dess förmåga att fermentera stärkelse och dextrin utöver de vanliga sockerarterna, gör att den trivs bra på ett bryggeri. *Lactobacillus brevis* är en grampositiv stavformad och icke sporbildande bakterie (9).

Lactococcus lactis

Lactococcus lactis är kocker som är grampositiva och vanligen orörliga. De växer i kedjor och är katalasnegativa. *Lactococcus lactis* förjäser liksom de andra mjölksyrabakterierna laktos och bildar mjölksyra som restprodukt. Denna art ger mjölk en naturlig syring (10).

Lactobacillus casei

Lactobacillus casei är en stavformad grampositiv orörlig och icke sporbildande bakterie. Den har ett pH-värdesoptimum på 5,5 men kan leva i ett väldigt brett pH-värdesspann. Bakterien som används vid yoghurt- och osttillverkning. Bakterien betraktas som en probiotisk bakterie. Den är fakultativt anaerob, mesofil och producerar mjölksyra genom fermentering av glukos och laktos. *Lactobacillus casei* har en mycket god förmåga att anpassa sig till nya levnadsmiljöer och framför allt till kallare temperaturer (11).

4.3 Kontamineringsrisker på bryggeriet i Ystad

Vid bryggning av färsköl som varken pastöriseras eller steriliseras på något sätt så är det extra viktigt att ha en ren och säker lokal, eftersom mikroorganismer finns överallt i lokaler, luft och på händer med mera. Bryggningsprocessen är sluten ända fram till jästtillsättningen och där börjar de stora problemen med mikroorganismer eftersom jästen tillförs med verktyg som måste vara sterila och lokalen riktigt rengjord. När jästen hanteras utanför tankarna utsätts den för lokalens och personalens mikrobiologiska flora. Slangar och verktyg som är rengjorda men lagras i lokal utsätts på nytt för lokalens flora.

4.4 Produktkvalitet på bryggeriet i Ystad

Nedan följer en produktkvalitetsanalys utformad enligt HACCP-principerna. Avsikten med analysen är att den skall användas parallellt med HACCP-planen. Detta kommer förhoppningsvis att innebära att produktkvalitetsarbetet blir en naturlig del i bryggeriets egenkontrollprogram.

Tabell 4: Produktkvalitetsanalys

Färskölsproduktion

Hanteringssteg	Risk som kan uppstå	Förebyggande åtgärd	Kritisk punkt J/N
1. Mottagning			N
2. Maltkross			N
3. Mäskpanna			N
4. Silkar			N
5. Vörtpanna			N
6. Whirlpool/centrifug			N
7. Vörtkyllning	Kontamination	Sköljning, renhållning	J
8. Jästank	Kontamination	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	J
9. Lagertank	Kontamination	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	J
10. Transporttank	Kontamination	Kontrollera att sterilsäck är hel och att slangar är rena.	J
11. Tappning	Kontamination	Kontrollera slangar, flaskor och tappmaskin, renhållning.	J

5. Material och metod

5.1 Mikrobiologiska metoder

Den allra största delen av det mikrobiologiska arbetet under examensarbetet har involverat grundläggande mikrobiologiska metoder som: substratberedning, substratsättning på olika former av provtagningsplattor, provtagning med hjälp av mikrobiologiska plattor, svabbar och flytande prover från ölbryggeriet, inkubering av prover, okulär analys av provresultat genom mikroskop, gramfärgning för att kunna utesluta vissa mikroorganismer samt även en PCR-identifiering (Polymerase Chain Reaction). Viktigt att nämna här är att sterilteknik har använts i den mån det varit möjligt under det mikrobiologiska arbetet. Sterilisering har utförts med hjälp av tryckkokning i autoklav och hantering av prover har mestadels skett i sterillum.

5.1.1 Odlingssubstrat

De två odlingssubstrat som främst använts i arbetet är Rogosa-agar och MRS-agar. Rogosa-agar är ett substrat som tillsammans med tillsatt ättiksyra och anaerob (utan tillgång till syre) inkubering är relativt specifik gällande mjölksyrabakterier. MRS-agar (de Man-Rogosa-Sharpe-agar) är också ett substrat som används för kultivering av mjölksyrabakterier men detta är inte lika specifikt. Ett annat substrat som använts, dock i väldigt begränsad utsträckning är TGA (Trypton-Glukos-Agar). I detta substrat kan nästan alla former av mikroorganismer tillväxa och det används följaktligen för att mäta den totala förekomsten av mikroorganismer (13).

5.1.2 Substratsättning och provtagning

De två typerna av mikrobiologiska odlingsplattor som främst använts är: tryckplattor och petriskålar. På tryckplattorna gjuts det uppvärmda substratet vilket sedan stelnar när temperaturen går ned. Dessa plattor trycks mot en specifik yta vilket medför att eventuella mikroorganismer som finns på denna yta fastnar på substratet på plattan där de sedan kan tillväxa. I petriskålarna hålls det flytande varma substratet vilket sedan stelnar. Skålarna används genom att en liten mängd flytande prov sätts och sprids ut på substratet i plattan. Utspridningsmetoden som används är skakning med sterila glaskulor. Proverna som sätts i petriskålarna är antingen flytande (bl.a. färsköl) eller tagna med svabb som strukits över svåråtkomliga ytor. Samtliga substrat har använts till dessa plattor.

Ett fåtal prover gjordes även med nedfallsplattor. Dessa sätts ut i en lokal med substratet öppet mot omgivningen. Plattorna står ute i ca en timme. Till dessa har endast TGA använts.

När de tagna proverna kommer tillbaka till labbet inkuberas de i olika temperaturer olika länge och antingen aerobt eller anaerobt. Rogosa-agar inkuberas i 37 °C i tre dagar, MRS-agar inkuberas i 30 °C i fem dagar och TGA inkuberas i 30 °C i tre dagar.

5.1.3 Provanalys

När inkuberingen är genomförd visar plattor som innehållit för substratet lämpliga mikroorganismer tillväxt. Denna tillväxt syns genom att kolonier av mikroorganismer har bildats. Antalet kolonier som förekommer på provplattan räknas. Ytan på plattan är känd och förhållandet mellan denna och förekomsten säger vilken koncentration av

kolonibildande enheter provtagningsstället har. En del slutsatser kan dras genom att titta på koloniernas form och färg och även genom deras doft. Vidare sätts prover från kolonierna på objektglas som sedan granskas i mikroskop. Här kan ytterligare okulär analys utföras och organismernas form och fördelning kan avläsas.

5.1.4 Gramfärgning

Denna metod fungerar först och främst som en uteslutningsmetod för bakterier. När de olika stegen i denna process genomförts kan en del slutsatser dras. Resultatet berättar om bakterien är gramnegativ eller grampositiv (7).

Gramfärgning utfördes enligt följande modell:

1. Fixering av bakterien på glasplatta
2. Infärgning med kristallviolett i 1 minut
3. Sköljning med vatten på provglasets baksida i 10 sekunder
4. Isättning i jod i 1 minut
5. Sköljning med vatten och därefter alkohol
6. Isättning i motfärgningsvätskan safranin

5.1.5 Gramnings snabbtest

Gramnings snabbtest innebär att det tas ett bakterieprov som sedan blandas med treprocentig KOH (kaliumhydroxid). Blir resultatet av detta trådigt och kletigt så är bakterien gramnegativ och händer ingenting så är den grampositiv (7).

5.1.6 PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR står för Polymerase Chain Reaction (Polymeraskedjereaktion) och är en molekylärbiolegisk metod som används bland annat för identifiering av bakterier. Metoden går kortfattat ut på att först extrahera DNA-molekyler ur bakteriecellen, sedan amplifiera molekylerna vilket innebär att de blir duplicerade många gånger om, slutligen sätts dessa DNA-sekvenser i en gel i vilken ström går igenom. Detta skall få DNA-sekvenserna att förflytta sig så att de blir avläsbara (7).

5.2 Provtagningsstillfällena

Tre besök på bryggeriet har genomförts. De två första besöken var på bryggeriet i Ystad och det tredje var både i Ystad och i Tomelilla. Beskrivningen av jäsnings-/lagringslokalen 3.1.2 samt flödesschemat 3.3 förklarar var de olika proverna har tagits.

Besök 1 genomfördes den 16:e april 2009. Vid detta tillfälle togs det ut flytande prover från produkt under bryggning. Proverna togs ut i vörtkokeriet, i Whirlpoolen och efter vörtkyllningen. Övriga flytande prover togs från färdig produkt under lagring samt på jästen som användes denna dag. Vidare togs det ut ett antal tryckprover från olika punkter inne i jäsnings-/lagringslokalen samt två tappade ölprover på flaska.

Besök 2 genomfördes den 28:e april 2009. Denna gång sattes ett antal nedfallsplattor ut, nya tryckprover togs i jäsnings-/lagringsrummet och svabbprover togs på svåråtkomliga platser som exempelvis slangar och kranar.

Besök 3 genomfördes den 19:e maj 2009. Det började i Tomelilla. Här togs det tryckprover på tappningsmaskin och på diverse punkter i tappningslokalen. Vidare togs ett antal svabbprover på produkt efter tappning och på tomflaskor före tvättning. I Ystad togs det tryckprover på jästbehållaren samt på jästhinken.

Se bilaga 1 för en komplett förteckning över när, var och hur proverna togs.

6. Provresultat

6.1 Provresultat

Vid första provtagningen visade en del prov satta på Rogosa-agar bakterietillväxt. Genom mikroskop kunde det konstateras att det var stavformade bakterier och sedan utfördes ett gramningsnabbtest. Eftersom testet inte visade något resultat betyder det att bakterien var grampositiv. En riktig gramfärgning utfördes också för säkerhets skull. Även efter denna gramfärgning så kunde man konstatera att stavarna är grampositiva. Eftersom detta var en första provtagning med syftet att lokalisera var i bryggingsprocessen kontamination av mjölksyrabakterier eller andra oönskade bakterier kan inträffa, så kom vi i detta skede inte längre i identifikationen av bakterierna än att det var mjölksyrabakterier som visade sig på proverna. Plattorna med MRS-agar visade också på tillväxt av mjölksyrabakterier. Gramfärgning utfördes och visade att det rörde sig om grampositiva stavar. Vid den andra provtagningen påvisades stavar vilka efter gramfärgning även denna gång visade sig vara grampositiva stavar. Vid den tredje provtagningen påvisades stavar återigen och efter gramfärgning konstaterades det att det var grampositiva bakterier. En isolation av mjölksyrabakterierna som påträffats har gjorts. Kolonierna sattes på MRS-agar i 30 °C i 5 dagar och frystes sedan in för att senare kunna användas i PCR-processen. Resultatet av provtagningarna visar att ölen blivit kontaminerad med grampositiva bakterier i jäsnings-/lagringslokalen i Ystad. De verktyg som används tillsammans med jäst och allmänt i lokalen visar att det finns grampositiva mjölksyrabakterier där. Ölen blir kontaminerad och mjölksyrabakterierna i den får tillväxa relativt ostört beroende på temperaturen ölen håller.

Tabell 5: De mest relevanta provresultaten

Provtagningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Resultat		
			Substrat	Inkubering	
16/4 2009	Lagertank 2. 4,8 % färsköl 11/2 2009	Tryckplatta	MRS 17.	Aerob	2 x 10³ cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 18.	Aerob	2 x 10³ cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 17.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 18	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästbehållare utsida	Tryckplatta	TGA 2	Aerob	3 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 1	Aerob	60 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 2	Anaerob	2 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 1	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 2	Anaerob	< 1 cfu

28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 1	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästthink insida	Tryckplatta	TGA 4	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 3	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 4	Anaerob	∞
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 3	Aerob	Mögel 3 cfu/28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 4	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 3	Aerob	1 cfu / 28,3 cm²

Flytande prover inkuberade i 21 ° C den 16 april 2009

28/4 2009	Öl 1. Färsköl 3,5 %	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Öl 2. Mörk öl 5,0 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009	Öl 3. Färsköl 4,8 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009	Jästtank 1 lagertank	Petriskål	MRS	Anaerob	1,6 x 10³ cfu/ml
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	3,1 x 10³ cfu/ml
28/4 2009	Lagertank 2. 4,8 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞
28/4 2009	Lagertank 4 julöl	Petriskål	MRS	Anaerob	∞
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞
28/4 2009	Jäst	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	50 cfu/ml
19/5 2009	Jästbehållare utsida	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Tryckplatta	MRS	Anaerob	2 cfu/28,3 cm² (PCR)

∞ = överväxt, mer än 300 cfu/platta (cfu = coloni forming units (kolonibildande enheter)). Fullständigt provtagningschema finns i Bilaga 1.

6.2 Resultat av PCR-identifiering

De olika momenten i PCR-processen ända fram till punkten då proverna skickades iväg utfördes av Crister Olsson, mikrobiologilärare på Livsmedelsteknisk högskoleutbildning. PCR-metoden som användes i detta arbete ledde till att DNA-sekvenser från bakterier från tre olika provtagningar kunde tas fram och jämföras. Tre prover från varje provtagning skickades iväg, dvs. 9 st. Företaget som gjorde identifieringen heter Eurofin MVG Operon och är beläget i Tyskland.

Resultat visade sig på 8 prover vilka visade att det med mycket hög sannolikhet rörde sig om samma bakterie i alla tre prover, nämligen *Lactobacillus casei* eller *paracasei*. En beskrivning av bakterien finns i kapitel 4.2.

Tabell 6: PCR-resultat

Prov	Sannolikhet	Bakterie
Jästbehållare 19/5	99,8 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Jästbehållare 19/5	99,8 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl 3, 4,8 % Bäst före 180609	100 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl 3, 4,8 % Bäst före 180609	100 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl 3, 4,8 % Bäst före 180609	99,9 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl mörk 2, 5,0 % Bäst före 180609	100 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl mörk 2, 5,0 % Bäst före 180609	100 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>
Färsköl mörk 2, 5,0 % Bäst före 180609	99,7 %	<i>Lactobacillus casei/ paracasei</i>

6.3 Slutsatser av provtagningar

Genom att följa flödesschemat och se var proverna har tagits så kan man konstatera att det finns förekomst av mjölksyrabakterier i den färdiga ölen. Kontamineringen sker inte i den slutna processen utan i samband med jästhanteringen. Verktyg och lokal är förmodligen utsatt för en oönskad flora av dessa grampositiva stavformade bakterier. Kort tids lagring verkar inte vara något bekymmer men om man lagrar en längre tid och/eller vid rumstemperatur tillväxer bakterierna och bildar mjölksyra som ger en syrlig smak till ölen. Den allvarligaste bristen i processen är jästbehållarens utformning, rengöring och allmänna hantering.



Bild 2 och 3: Jästbehållaren i jäsnings-/lagringslokalen på bryggeriet utan respektive med jästinnehåll

7. HACCP-plan

7.1 Faroanalys

Eftersom en HACCP-plan endast skall titta på fysiska, kemiska och mikrobiologiska hälsofaror så hanteras inte mjölksyrabakterieförekomsten i planen.

En faroanalys har genomförts som första punkt i utarbetningen av en HACCP-plan. De mest känsliga punkterna i flödet är inflödet av råvaror samt tappningen av produkten på bryggeriet i Tomelilla.

Tabell 7: Faroanalys färskölsproduktion (12)

Färskölsproduktion

Hanteringssteg	Risk som kan uppstå	Förebyggande åtgärd	Kritisk punkt J/N
1. Mottagning	Transportskador, mögeltoxiner	Mottagningskontroll, mottagare	J
2. Maltkross			N
3. Mäskpanna	Rengöringsrester	Sköljning	N
4. Silkar	Rengöringsrester	Sköljning	N
5. Vörtpanna	Rengöringsrester	Sköljning	N
6. Whirlpool/ centrifug	Rengöringsrester	Sköljning	N
7. Vörtkyllning	Rengöringsrester	Sköljning	N
8. Jästank	Kontamination	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	N
9. Lagertank	Kontamination	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	N
10. Transport-tank	Kontamination	Kontrollera att sterilsäck är hel och att slangar är rena.	N
11. Tappning	Kontamination, krossat glas	Kontrollera slangar, flaskor och tappmaskin.	J

7.2 Flödesbeskrivning och risker

- 1. Mottagning:** Malt mottas i Tomelilla. Kontrolleras av mottagare. Kvalitet kontrolleras och vid eventuella fel reklameras råvaran.
- 2. Maltkross:** Krossningen utförs i Tomelilla. Därefter transporteras den krossade malten till Ystad för användning i bryggeriet. Viktigt med kontrollerade lagringsförhållanden för att hålla god kvalitet och inte få oönskad tillväxt av patogener.
- 3. Mäskpanna:** Vatten och malt blandas. Vatten är av dricksvattenkvalitet. Temperaturen kontrolleras. Processen kontrolleras av bryggare och dokumenteras i bryggjournal.
- 4. Silkar:** Drav silas bort. Kontrolleras av bryggare och dokumenteras i bryggjournal.
- 5. Vörtpanna:** Humle tillsätts. Humlen kontrolleras. Vid avvikelse reklameras humlen. Temperaturen kontrolleras. Kontrolleras av bryggare och dokumenteras i bryggjournal.
- 6. Whirlpool/centrifugering:** Humle och proteinrester tas bort. Kontroll och dokumentation av bryggare i bryggjournal
- 7. Vörtykning:** Vörten kyls ned och kontrolleras och dokumenteras av bryggare i bryggjournal.
- 8. Jästank:** Jäst tillförs vörten. Fraktsedeln kontrolleras. Vid fel reklameras jästen. Här finns en stor kontamineringsrisk. Renhållningsschema följs. Dokumenteras av bryggare.
- 9. Lagertank:** Ölen lagras i tank. Här finns risk för kontaminering av mikroorganismer. Renhållningsschema följs. Dokumenteras av bryggare.
- 10. Transporttank:** Kontrolleras av bryggare att den är hel och obruten i sin sterila förpackning. Dokumenteras av bryggare.
- 11. Tappning:** Påfyllning och korkning av flaskor utförs av bryggare eller annan utbildad personal vid bryggeriet i Tomelilla. Här finns risk för fysiska skador vid glaskross och även risk för kontamination. Renhållningsschema följs. Regelbunden kontroll av maskin erfordras. Dokumenteras av bryggare eller annan utbildad personal.

7.3 HACCP-plan

HACCP-planen är utformad efter Livsmedelsverkets riktlinjer (12). Stegen i flödesschemat har analyserats och riskbedömts. Livsmedels säkerheten har beaktats efter eventuella hälsofaror och risker relaterade till hanteringen av råvarorna under tillverkningsprocessen. HACCP-planen skall användas som grund inte bara för de hälsofarliga riskerna utan även i arbetet med att säkra produktkvaliteten.

HACCP-planen medföljer som bilaga 2.

8. Resultatdiskussion

8.1 Slutsatser

Genom utförda mikrobiologiska tester under produktionsflödet konstaterades det att det förekommer en kontamination vid jästhanteringen i jäsnings-/lagringslokalen på bryggeriet. Punkten som visat störst förekomst av mjölksyrabakterier, förutom den redan tappade ölen, är jästbehållaren i denna lokal. Jästbehållaren används för att lagra jästen mellan produktionsstaperna. Den består av en stor skål av rostfritt stål. I väggarna i denna skål finns kylslingor som ser till att temperaturen på jästen är tillräckligt låg. Ett stort problem här är att det inte finns något lock på behållaren som kan göra att jästen hålls helt innesluten, utan vid lagring brukar toppen täckas över med plastfilm. Jästen tvättas inte heller mellan varje batch, utan bryggaren gör detta efter behov. Detta behov styrs av mätning av pH-värdet i den använda jästen. Jästbehållaren har en stor förekomst av mjölksyrabakterier. Denna förekomst är mer eller mindre konstant då det inte förekommer ordentlig rengöring av vare sig jästen eller behållaren den mellanlagras i. Det förekommer dock mjölksyrabakterier i hela lokalen, på alla möjliga ytor, i slangar och på verktyg. Som tidigare nämnts är kraven på hygien extra höga när man tillverkar färsköl.

8.2 Åtgärdsförslag

Det finns två möjliga vägar för bryggeriet att välja i framtiden:

1. Ta till sig HACCP-planen och använd den även för produktionskvaliteten. Börja titta på om den nuvarande produktionslokalen i Ystad verkligen är lämplig för tillverkning av färsköl. Genomföra en ordentlig sanering av jäsnings-/lagringslokalen och undersöka om de exponerade träbalkarna går att täcka över på något sätt för att underlätta städningen i lokalen. Byt ut den nuvarande jästbehållaren mot något som kan förslutas ordentligt. Förkorta bästföretiden från nuvarande två månader till en. Märka flaskorna med att innehållet är en kylvara och bör förvaras därefter. Detta trots att resonemanget på bryggeriet säger att försäljningen då kommer att minska drastiskt, men det är denna punkt som är en av de viktigaste att åtgärda. Ölen måste förvaras i kyltemperatur för att tillverkaren ska kunna garantera kvaliteten. Undersök möjliga tillsatser som minskar mikrobiell tillväxt, se kapitel 7.3.

2. Sluta med tillverkning av färsköl i någon större skala. Färskölen kanske bara är lämplig att säljas på restaurangen som ligger i anslutning till ölproduktionen. Använd bryggeriutrustningen till att framställa en öl som åtminstone är pastöriserad istället. Eftersom färskölen har så många problem måste detta i alla fall övervägas.

8.3 Framtiden

Det finns metoder som kan användas för mikrobiell kontroll vid ölproduktion som kanske kan vara intressant för bryggeriet att titta på:

8.3.1 Lysozym

Lysozym är ett protein som blev upptäckt 1922 av Alexander Fleming. Ryktet säger att under hans arbete i laboratoriet så råkade en droppe från hans näsa under en förkylningsbehandling droppa ner i en petriskål med mikroorganismer. Med en häpnadsväckande reaktion av bakterierna så bestämde han sig för att isolera sitt resultat.

Efter mycket studier lyckades han isolera enzymet från hönsäggvita. Efter 1930 blev det allmänt känt att alla levande organismer producerar lysozym. I naturen finns olika sorters lysozym med olika karaktäristiska egenskaper. Hos människan finns det till exempel i saliv, tårar och modersmjölk. Även växter producerar detta enzym. Man kan dela in det i olika grupper som människo-, djur- eller växtproducerat lysozym. I hönsäggvitan (albumin) finns det stor mängd Lysozym, förmodligen för att skydda äggulan från oönskade kontaminationer (14).

Lysozymaktiviteten har visat sig vara väldigt effektiv mot att attackera cellväggarna hos olika bakteriearter. Enzymet har visat sig vara mest effektivt genom att hydrolysera tetrasackarider som ofta finns hos grampositiva bakterier. Många studier visar att lysozym är effektivt mot bakterier som:

- *Clostridium*
- Mjölksyrabakterier
- *Listeria*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Clostridium tyrobutyricum*

Lysozymet är ett vitt luktfritt mikrokristallint pulver med en söt omärkbar smak. Pulvret är lösligt i vatten. Det klarar väldigt höga temperaturer som till exempel att enzymet kan uthärda flera minuter i 100 °C. Enzymet är aktivt i ett pH-värdesintervall mellan 3,0 – 9,0 men att stabiliteten är högst mellan pH-värdena 3,5 – 7,0. Vid ett pH-värde på 8,0 så förstörs enzymet på 15 minuter i en temperatur på 65 °C. Nackdelen är att lysozym är ett äggprotein och därför måste det märkas ut på produkten för att personer som är känsliga mot ägg ska informeras. Risken för att äggviteproteinet orsakar allergier är låg. Lysozym kallas “en endogen antibiotika” för dess organiska struktur och dess tre välkända karaktäristiska förmågor:

- Antibakteriell
- Antiviruellt
- Immunologiskt

Lysobier är ett utvecklat enzym för ölbrygningsindustrin som förstör grampositiva bakterier och hämmar tillväxt av gramnegativa bakterier. Det tillför ingen smak eller arom och har ett stabiliserande inflytande på skummet. Det är en naturlig lösning som skyddar jäst och ökar hållbarheten vid icke pastörisering (15).

Så här känsliga är vissa ölförstörande bakterier mot Lysobier (15):

Tabell 8: Känsligheten hos vissa ölförstörande bakterier mot Lysobier

Hög känslighet	Väldigt känsligt	Känsligt
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> #1	<i>Lactobacillus plantarum</i> #2
<i>Lactobacillus brevisimilis</i>	<i>Pediococcus inopinatus</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	<i>Lactobacillus lindneri</i>	

Detta är vad livsmedelsverket säger om användning av lysozym som tillsats (16).

Tabell 9: Tillåten användning av lysozym som tillsats

E-nr	Benämning	Livs medel	Maximihalt
E 1105	Lysozym	Vin enligt förordning (EG) nr 1493/1999 och dess tillämpningsförfordning (EG) nr 1622/2000	<i>pro memoria</i> *

**pro memoria* betyder att man ska dokumentera användning

8.3.2 Pastörisering

Vid pastöriseringen hettas ölen snabbt upp till omkring 70 °C för att omedelbart förslutas och kylas ned igen. Detta görs för att avdöda de patogena mikroorganismerna och för att få ett hållbart öl med förutsägbara egenskaper. Många anser att man vid pastöriseringen förstör vissa önskvärda smakämnen, framför allt undviker vissa nya mikrobryggerier att pastörisera sin öl för att få en extra karaktär och komplexitet i sina ölsorter. Huvuddelen av all öl som framställs pastöriseras (17).

8.3.3 Membranfiltrering

Alfa-Laval har lanserat Crossflow-systemet som är baserat på porösa membran, som tillverkas av Sartorius. Systemet garanterar även kontinuerlig och effektiv produktion, mycket hög ölkvalitet och minimerade produktförluster. Kallsterilisering är en membranbaserad filtreringsmetod som steriliserar ölen utan värmebehandling (18).

8.3.4 UV-ljus

UV-ljus är en metod som används för att avdöda mikroorganismer både i lokaler och i bryggingsprocesser, där man med hjälp av kortvågig elektromagnetisk strålning inaktiverar DNA i mikroorganismerna och på så sätt hindrar dem från att föröka sig (19). UVA 400 nm-315 nm refereras ofta till som "black light" och är området med den längsta våglängden och med det lägsta energiinnehållet samt svarar för den största delen av det naturliga UV-ljuset. Vanliga användningsområden är olika former av detektering med hjälp av fluorescerande material: sprickindikering, läckagesökning, brottsplatsundersökningar, rengörings- och hygienkontroll. UVB 315 nm-280 nm är den mest aggressiva delen av naturligt UV-ljus och kan ge negativa följder av solbränna. UVC 280 nm-100 nm används för sterilisering av instrument och vatten. Det är det som är mest effektivt i avdödandet av mikroorganismer eftersom DNA absorberar detta ljus (20).

8.3.5 Provtagning för egenkontroll

Alcontrol är ett företag som erbjuder färdiga provtagningskit för företagare som vill utföra och dokumentera sin provtagning. Det går att ta prover som visar specifika arter mjölsyrabakterier som stör produkt/produktion (21).

Vermicon erbjuder skräddarsydda provtagningar inom bryggerier som detekterar specifika ölförstörande mikroorganismer (22).

Källförteckning

Tryckta källor

1. **Furugren, Bo.** *Dryckernas kemi, sid 45 - 60.* 2007.
2. **Moberg, Anders.** Utvärdering av mikrobiologiska provtagningsmetoder i ölbryggningsprocessen. Uppsala : u.n., 2007. ISSN 1101-8151.
5. **Molin, Göran.** *Livsmedelsmikrobiologi.* Lund : Göran Molin Förlag AB, 1998.
6. **Kunze, Wolfgang.** *Technology brewing and malting, sid 326 – 327,* 1999, ISBN 2-921 690-39-0
13. **Microbiology manual 2000. Merck KGaA.** Darmstadt : u.n., 1996.

Muntliga källor (intervjuer)

3. **Nilsson, Nils-Bo.** Programledare Livsmedelsteknisk Högskoleutbildning. Helsingborg, Maj 2009.
4. **Persson, Mikael.** *Bryggare, Två Bryggare AB.* Ystad, Maj 2009
7. **Olsson, Crister.** Mikrobiologilärare Livsmedelsteknisk Högskoleutbildning. Helsingborg, Maj 2009.

Elektroniska källor (internet)

8. **Mjölksyrabakterier.** *Svenska Hembryggareföreningen.* [Online] Oktober 2008.
<http://www.shbf.se/wiki/index.php/Mj%C3%B6lksyrabakterier>
9. **Lactobacillus brevis.** *MicrobeWiki.* [Online] Juli 2007.
http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus_brevis
10. **Lactococcus lactis.** *Wikipedia.* [Online] Maj 2009.
http://en.wikipedia.org/wiki/Lactococcus_lactis
11. **Lactobacillus casei.** *MicrobeWiki.* [Online] Oktober 2007.
http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus_casei#Classification
12. **Vägledning till införande av HACCP.** Livsmedelsverket, Tillsynsavdelningen, [Online] april 2006.
<http://www.slv.se/upload/dokument/livsmedelskontroll/vagledning/Vagledning%20HACCP.pdf>
14. **Lysozyme.** Fordras S.A. [Online] 2008. <http://www.fordras.com/lysozyme>
15. **Lysobier.** Fordras S.A. [Online] 2008. <http://www.fordras.com/lysofood/lysobier>
16. **Livsmedelsverkets föreskrifter om livsmedelstillsatser, LIVSFS 2007:15.** Livsmedelsverket. [Online] 2007.
http://www.slv.se/upload/dokument/lagstiftning/2007/2007_15.pdf
17. **Öl.** Bryggerier.se. [Online] 2009. <http://www.bryggerier.se/oel.htm>
18. **Alfa Laval och Sartorius tecknar alliansavtal för.** Alfa Laval Group. [Online] 2003. <http://feed.necision.com/wp/yfs/00/00/00/00/00/03/4E/BA/wkr0002.pdf>
19. **What is ultraviolet and germicidal ultraviolet light? What are the beneficial uses and how does it work?,** Ultraviolet.com. [Online] 2008.
<http://www.ultraviolet.com/whatis.htm>
20. **Effektiv kontroll med UV-ljus.** Uvisible.com. [Online] 2009.
http://www.uvisible.com/sverige/uv-ljus/files/page4_2.pdf

21. **Välkommen till Alcontrol AB Sverige.** Alcontrol laboratories [Online] 2009.
<http://www.alcontrol.se/>
22. **Products.** Vermicon.com. [Online] 2009.
<http://www.vermicon.com/products.php?dpt=dr>

Bilaga I – Provtagningar och resultat

Provtag- ningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Substrat	Inkubering	Resultat
16/4 2009	Jästtank 2 nydiskad 2 ggr	Tryckplatta	MRS 1.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 2:	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 1.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 2.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Lagertank 1 nydiskad 1 ggr	Tryckplatta	MRS 3.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 4.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 3.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 4.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Lagertank 5 nydiskad 1 ggr	Tryckplatta	MRS 5.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 6.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 5.	Aerob	33 cfu/28,3 cm²
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 6.	Aerob	20 cfu / 28,3 cm²
16/4 2009	Jästbehållare	Tryckplatta	MRS 7.	Aerob	∞
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 8.	Aerob	1 cfu / 28,3 cm²
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 7.	Aerob	36 cfu / 28,3 cm²
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 8.	Aerob	20 cfu/platta
16/4 2009	Jästtank 1 utsida	Tryckplatta	MRS 9.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 10.	Aerob	3 cfu / 28,3 cm²
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 9.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 10.	Aerob	10 cfu / 28,3 cm²
16/4 2009	Varmvattens. utsida	Tryckplatta	MRS 11.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 12.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 11.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 12.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Jästbehållare utsida	Tryckplatta	MRS 13.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 14.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 13.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 14.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Jästtank 1 lagertank 2,8 % färsköl 12 dagar	Tryckplatta	MRS 15.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 16.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 15.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 16.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Lagertank 2. 4,8 % färsköl 11/2 2009	Tryckplatta	MRS 17.	Aerob	2 x 10³ cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 18.	Aerob	2 x 10³ cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 17.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 18.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Lagertank 4 julöl 5,7 % 23/10 2008	Tryckplatta	MRS 19.	Aerob	190 cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 20.	Aerob	750 cfu/ml
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 19.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 20.	Aerob	< 1 cfu

16/4 2009	Jäst	Tryckplatta	MRS 21.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 22.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 21.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 22.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Bryggpanna	Tryckplatta	MRS 23.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 24.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 23.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 24.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Whirlpool	Tryckplatta	MRS 25.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 26.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 25.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 26.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Efter nedkylning	Tryckplatta	MRS 27.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 28.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 27.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 28.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009	Lagertank 3 2,8 % färsköl 13 dagar	Tryckplatta	MRS 29.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	MRS 30.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 29.	Aerob	< 1 cfu
16/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 30.	Aerob	< 1 cfu

Provtag- ningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Substrat		Inkubering	Resultat
28/4 2009	Jästbehållare utsida	Tryckplatta	TGA 2	Aerob		3 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 1	Aerob		60 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 2	Anaerob		2 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 1	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 2	Anaerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 1	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009	Jästthink insida	Tryckplatta	TGA 4	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 3	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 4	Anaerob		∞
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 3	Aerob		Mögel 3 cfu/28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 4	Anaerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 3	Aerob		1 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009	Jästtank 1 utsida	Tryckplatta	TGA 6	Aerob		1 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 5	Aerob		2 cfu / 28,3 cm²
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 6	Anaerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 5	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 6	Anaerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 5	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009	Trycktank 2 insida odiskad oanvänd	Tryckplatta	TGA 8	Aerob		< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 7	Aerob		∞
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 8	Anaerob		< 1 cfu

28/4 2009		Tryckplatta	MRS 7	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 8	Anaerob	22 cfu / 28,3 cm2
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 7	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästtank 2 insida odiskad	Tryckplatta	TGA 10	Aerob	∞
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 9	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 10	Anaerob	10 cfu / 28,3 cm2
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 9	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 10	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 9	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästbehållare insida med jäst i	Tryckplatta	TGA 12	Aerob	29 cfu / 28,3 cm2
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 11	Aerob	3 cfu / 28,3 cm2
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 12	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 11	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 12	Anaerob	∞
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 11	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009	Vägg i lokal	Tryckplatta	TGA 14	Aerob	∞
28/4 2009		Tryckplatta	TGA 13	Aerob	1 cfu / 28,3 cm2
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 14	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	MRS 13	Aerob	< 1 cfu
28/4 2009		Tryckplatta	ROGOSA 14	Anaerob	< 1 cfu

Provtagningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Resultat		
			Substrat	Inkubering	Resultat
28/4 2009	Slang mellan tankar	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	10 cfu / ml
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	8 cfu / ml
28/4 2009	Jästslang	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästtank 1 utlopp i botten	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästbehållare	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	1 cfu / ml
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Avtappningskran trycktank 2	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Jästslang andra änden	Svabb/ platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Svabb/ platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu

Flytande prover inkuberade i 21 ° C den 16 april 2009

Provtagningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Resultat		
			Substrat	Inkubering	Resultat
28/4 2009	Öl 1. Färsköl 3,5 % Bäst före 180609	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Öl 2 mörk öl 5,0 % Bäst före 180609	Petriskål	MRS	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009	Öl 3. Färsköl 4,8 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞ (PCR)

28/4 2009	Bäst före 180609	Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞ (PCR)
28/4 2009	Jästank 1= lagertank	Petriskål	MRS	Anaerob	1,6 x 10³ cfu/ml
28/4 2009	2,8 % färsköl 4/4 2009	Petriskål	ROGOSA	Anaerob	3,1 x 10³ cfu/ml
28/4 2009	Lagertank 2 4,8 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞
28/4 2009	färsköl 11/2 2009	Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞
28/4 2009	Lagertank 4 julöl	Petriskål	MRS	Anaerob	∞
28/4 2009	5,7 % 23/10 2008	Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞
28/4 2009	Jäst	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	50 cfu/ml
28/4 2009	Bryggpanna	Petriskål	MRS	Anaerob	∞*
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞*
28/4 2009	Whirlpool	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Efter nedkylning	Petriskål	MRS	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009		Petriskål	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
28/4 2009	Lagertank 3 2,8 %	Petriskål	MRS	Anaerob	∞
28/4 2009	färsköl 3/4 2009	Petriskål	ROGOSA	Anaerob	∞

* = trolig kontamination av provet.

28/4 2009	1. Restauranglokal	Nedfall	TGA	Aerobt	48 cfu/153,8 cm²
28/4 2009	2. Jäsnings-/lagringslokal	Nedfall	TGA	Aerobt	62 cfu/153,8 cm²
28/4 2009	3. Jäsnings-/lagringslokal	Nedfall	TGA	Aerobt	42 cfu/153,8 cm²
28/4 2009	4. Jäsnings-/lagringslokal	Nedfall	TGA	Aerobt	23 cfu/153,8 cm²

Provtagningsdatum	Provtyp/ provplats	Plattyp	Resultat		
			Substrat	Inkubering	Resultat
19/5 2009	Tappningsmaskin utsida	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Tomelilla	Tryckplatta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Korkningsmaskin	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Tomelilla	Tryckplatta	MRS	Anaerob	1 cfu/28,3 cm²
19/5 2009	Vägg/lokal Tomelilla	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Tryckplatta	MRS	Anaerob	1 cfu/28,3 cm²
19/5 2009	Dörr/lokal Tomelilla	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Tryckplatta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Jästink Ystad	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Tryckplatta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Jästbehållare insida	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Ystad	Tryckplatta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Jästbehållare utsida	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Ystad	Tryckplatta	MRS	Anaerob	2 cfu/28,3 cm² (PCR)
19/5 2009	Jästank 1. Ystad	Tryckplatta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Tryckplatta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Tomflaska Tomelilla	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009		Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Svabb tomflaska	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu

19/5 2009	nytvättad Tomelilla	Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Svabb fylld flaska innan	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	korkning Tomelilla	Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Svabb tomflaska	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	nytvättad	Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Svabb tomflaska	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	otvättad	Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	< 1 cfu
19/5 2009	Öl nytappad 19/5	Svabb/ Platta	ROGOSA	Anaerob	30 cfu/ml
19/5 2009	Tomelilla	Svabb/ Platta	MRS	Anaerob	70 cfu/ml

∞ = ÖVERVÄXT mer än 300 cfu/platta

Bilaga II – HACCP-plan

Färskölsproduktion

Hanteringssteg	Risk som kan uppstå	Förebyggande åtgärder	Kritisk punkt J/N	Kritiskt gräns värde	Korrigerande åtgärd vid avvikelse	Verifiering
1. Mottagning	Transportskador, mögeltoxiner	Mottagningskontroll, mottagare	J	Kontrollera fraktsedel.	Reklamera leverantör.	Mottagningspersonal
2. Maltkross			N			
3. Mäskpanna	Rengöringsrester	Kontroll av bryggare	N	Provtagning	Upprepad sköljning	Bryggare
4. Silkar	Rengöringsrester	Kontroll av bryggare	N	Provtagning	Upprepad sköljning	Bryggare
5. Vörtpanna	Rengöringsrester	Kontroll av bryggare		Provtagning	Upprepad sköljning	Bryggare
6. Whirlpool/centrifug	Rengöringsrester	Kontroll av bryggare	N	Provtagning	Upprepad sköljning	Bryggare
7. Vörtkylning	Rengöringsrester	Kontroll av bryggare	N	Provtagning	Upprepad sköljning	Bryggare
8. Jästank	Kontamination av mikroorganismer, Rengöringsrester	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	N	Provtagning	Upprepad sköljning, kassering eller ombryggning	Bryggare

9. Lagertank	Kontamination av mikroorganis mer, Rengöringsrester	Renhållning av lokal, verktyg, tankar och slangar	N	Provtagning	Upprepad sköljning, kassering eller ombryggning	Bryggare
10. Transporttank	Kontamination av mikroorganis mer	Kontrollera att sterilsäck är hel, slangar rena.	N	Kontroll	Renhållning av verktyg, kassera säck	Bryggare
11. Tappning	Kontamination, främmande föremål, krossat glas	Kontrollera slangar, flaskor och tappmaskin.	J	Provtagning, kontroll	Upprepad sköljning, Kassering eller ombryggning, stanna maskin och ta bort glas som är sönder.	Bryggare