



Fast-Sterilisieren ohne Schnellkochtopf Massive Keimzahlreduktion in Flüssigkeiten und Oberflächen ohne eigentliches Autoklavieren Handlingtipp Nr. 6

BrauLabor

**Keimreduktion
ohne
Schnellkochtopf
Handlingtipp**

Tipps für das Braulabor

Die **Keimfreiheit** im Sinne von **steril** ist die Grundlage für viele Aktivitäten im Braulabor: 1. Erzielung von Einzelkolonien als Grundlage für reine Hefestämme, 2. Anzucht und Vermehrung von reinen nicht kontaminierten Hefestämmen, 3. Optimale Hefeherführung und Hefedosage, 4. Anreicherung und Isolation von Wildhefen, 5. Haltung von Hefereinstämmen auf Schrägagarkulturen, 6. Optimale Gärführung (Primärgärung, Sekundärgärung), u.a.

Hitze und insbesondere **feuchte Hitze** können die meisten vegetativen Mikroorganismen relativ rasch inaktivieren: bei Temperaturen um 80 °C während 5-10 min werden praktisch alle aktiven (= vegetativen) Bakterien, Hefen und Pilze zerstört; Sporen werden allerdings erst über 116 °C.

Die einfachste und sicherste Methode für den Heimbrauer ist die Sterilisation im Schnellkochtopf (Dampfkochtopf). Das setzt einiges an Material (grosser Schnellkochtopf, optimal: hohe Form, grosses Volumen; Sterilisationskontrolle: z.B. Sterilindikatorbänder [[Info](#)], hitzefeste Glaswaren [Laborqualität]) voraus.

Sterilisation ohne den "Ersatz-Autoklaven" Schnellkochtopf kann mit folgenden Verfahren erreicht werden, die sich allerdings nicht für alle Zwecke eignen:

- Sterilisation durch Ausglühen oder Abflammen
- Sterilfiltration von Flüssigkeiten
- Sterilisation durch Bestrahlung
- Sterilisation durch chemische Stoffe
- Sterilisation durch heisse Luft

Alle diese Verfahren sind bereits kurz im "Mikrobiologisches Braulabor I - Braulabor 6: Minimaltechniken - steriles bzw. keimarmes Arbeiten im Heimlabor" in Bezug auf die Möglichkeiten des Heimbrauers evaluiert worden. Daher wird in den folgenden Erläuterungen nur noch auf das Entkeimen von Flüssigkeiten mittels 1. **Kochen**, 2. **Tyndallisieren** und 3. durch den Einsatz eines **Mikrowellenofen** genauer betrachtet.

I. Kochen und strömender Dampf

Die Anwendung feuchter Hitze von ca. 100°C bewirkt nur eine **Teilentkeimung** und stellt damit "nur" ein Desinfektionsverfahren dar.

Definition: Desinfektion ist die selektive Abtötung bzw. irreversible Inaktivierung aller krankheitsbedingter Keime an und in kontaminierten Objekten [Quelle: Bast, E.: Mikrobiologische Methoden, 2014⁴, S. 19].

Damit wird nur eine Keimreduktion erreicht, d.h. Abtötung aller vegetativen Keime, d.h. Mikroorganismen, primär Bakterien, die nicht in einer Dauerform als Endospore* ungünstige Bedingungen überstehen können - aber niemals eine der Sterilisation vergleichbare Effizienz. Zudem dürfen diese Mikroorganismen keine Schmutzhüllen (z.B. Eiweisse, Fette) aufweisen.

* Endospore: Überdauerungsform innerhalb eines Organismus; bakterielle Endosporen sind gegen feuchte Hitze auch bei 100°C weitestgehend unempfindlich und können auch durch stundenlanges Kochen nicht abgetötet werden! Einzige wirksame Massnahme: Autoklavieren.

- Vorgehen 1:** 5 min langes Auskochen von Geräten, optimal in 0.5%iger Sodalösung (Natriumcarbonat $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$: Soda, Kristallsoda, Waschsoda, Abb. 1)
- Vorgehen 2:** Kochen bei $\leq 100^\circ\text{C}$ während 30 - 60 min genügt in vielen Fällen für Würzelösungen, Starterlösungen** und Zuckerzugaben für die Nachgärung (Sekundärgärung, Flaschengärung)
 - **Starterlösungen werden ja beimpft mit einer relativ hohen Zahl an Hefen, sodass andere Fremdkeime eine kleine Chance zur erfolgreichen Vermehrung haben

- Vorgehen 3:** 30 min langes Erhitzen in drucklosem, strömendem Wasserdampf in einem offenen Dampftopf ist gut für schonende Oberflächenentkeimung (Abb. 2).

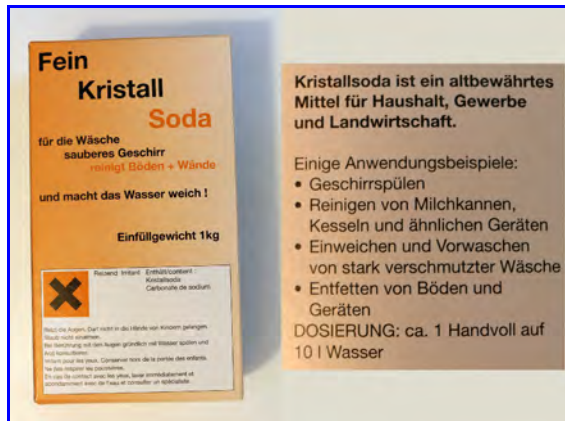


Abb. 1. **Kochen:** Altbewährtes Reinigungsmittel mit desinfizierender Wirkung - Natriumcarbonat $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.



Abb. 2. **Erhitzen im strömendem Wasserdampf.** Oben: Kochtopf mit Wasser und mit Dampfeinsatz aus Edelstahl. Geeignet z.B. für Oberflächenentkeimung, Kunststoffobjekte. Bsp. hier: Abfüllpistole.

Unten: Dampfeinsatz in Kochtopf übereinander gestülpt und auf Kochplatte gestellt der heisse Dampf kann nun auf die Gegenstände einwirken; diese können anschliessend im ebenfalls entkeimten Beutel bis zum Einsatz aufbewahrt werden.

2. Tyndallisieren

Tyndallisieren oder **fraktionierte Sterilisation** ist ein dreimaliges Erhitzen von Flüssigkeiten und Nährlösungen/Nährböden im Wasserbad oder Dampftopf in verschlossenen* Kulturröhrchen, Erlenmeyerkolben und anderen Gefässen bei 80-100°C in mehrfacher Abfolge. Der "Trick" besteht darin, dass hitzeresistente Sporen, welche die erste Erhitzung überlebt haben, zu vegetativen Zellen auskeimen und dann beim nächsten Erhitzen abgetötet werden. Die zu behandelnde Flüssigkeit muss allerdings das Auskeimen der Sporen erlauben. Hinweis "**Verschliessen**": z.B. mit Alufolie, Wattepfropfen, Alukappe, Schraubverschlusskappen u.a. - alles so dicht bzw. lose aufsetzen, dass noch Dampf entweichen kann!

- Vorgehen 4:**
- dreimal Erhitzen, abgedeckt, bei $T = 80-100\text{ }^\circ\text{C}$ während je 30 min an 3 aufeinander folgenden Tagen
 - mit je einem Tag Zwischenzeit bei Raumtemperatur um ca. $20\text{ }^\circ\text{C}$ vor Neuinfektionen geschützt aufbewahren

Bewertung: umständliches, zeitraubendes und trotzdem unsicheres Verfahren. Höchstens geeignet für nährstoffreiche, keimarme Lösungen, die Autoklavieren schlecht ertragen bzw. allgemein für Nährlösungen, Hefestarterkulturen u.ä., sofern wirklich kein Dampfkochtopf verfügbar ist.

3. Mikrowellenherd

Die Mikrowelle kann zur Erhitzung und Entkeimung von Flüssigkeiten eingesetzt werden, z.B. auch für Hefestarterlösungen, Zuckerlösung für die Karbonisierung wie auch für Hopfen vor dem Hopfenstopfen (Kalthopfung). Es darf nur hitzefestes Glas verwendet werden (Glas mit Laborqualität kann ohne Probleme eingesetzt werden).

- Vorgehen 5:** je nach zu entkeimendem Gut muss die Intensität (= Wattleistung) und Dauer der Mikrowellenbehandlung empirisch erprobt werden. Vorzugsweise arbeitet man mit der höchsten Leistungsstufe (z.B. Betriebsart Mikrowelle, Leistung 100% = 900 Watt).

Beispielsrezept:

Starter für 20 Liter:

- 6 dL Wasser in 1 Liter-Glasbehälter (z.B. Becherglas)
- 2 min auf höchster Leistungsstufe
- ca. 80 g Trockenmalzextrakt einrühren
- 2-5 min Mikrowelle Maximalleistung → bis Würze kocht
- dann 15 min bei etwas geringerer Leistung (ca. 30-40%) ohne zu Überkochen
- mit entkeimter Alufolie (z.B. 65% Isopropanol) Gefäss abdecken
- bei Zimmertemperatur mit Hefe beimpfen



Abb. 3. Mikrowelle mit Erlenmeyerkolben.