

Februar 1988/164 P/W

Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld

**Mikrobiologische Qualität der Rohmilch in
verschiedenen Regionen der Schweiz**

Inge Forster, M. Grand und H. Glättli

Mikrobiologische Qualität der Rohmilch in verschiedenen Regionen der Schweiz

INGE FORSTER, M. GRAND und H. GLÄTTLI
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
3097 Liebefeld-Bern

Eingereicht am 16. September 1987

Verschiedene physiologische Gruppen von Mikroorganismen wurden quantitativ in Lieferantenmilchen, im Käsebruch und im 24stündigen Käse untersucht, um einen Überblick über die Qualität der zu Käse verarbeiteten Rohmilch zu erhalten. Die durchschnittliche Keimbelastung liegt auf einem erfreulichen Niveau. Während der Käsefabrikation nimmt die Keimzahl vorerst zu (Käsebruch). Mit fortschreitender Säuerung wird anschliessend eine starke Reduktion der Keimzahlen erreicht. Im 24ständigen Käse liegen diese in einem annehmbaren Bereich.

1. Einleitung

Einwandfreie Rohmilchqualität ist eine der unabdingbaren Voraussetzungen zur Herstellung qualitativ hochstehender Milchprodukte. Die mikrobiologische Zusammensetzung der Rohmilchflora ist ein wichtiges Qualitätskriterium. Das Verhalten der Mikroorganismen während der Fabrikation der Produkte kann deren Eigenschaften massgeblich beeinflussen. Eine besondere Bedeutung kommt den Rohmilchkäsen zu. Rund 40 % der in der Schweiz in den Verkehr gebrachten Milch werden zu Rohmilchkäsen verarbeitet. Davon gelangt ein wesentlicher Anteil in den Export.

In der vorliegenden Arbeit wurde die bakteriologische Qualität der Rohmilch, welche zu Emmentalerkäse verarbeitet wird, näher untersucht. Die Ermittlungen konzentrierten sich auf 6 Käsereien aus verschiedenen Regionen der Schweiz sowohl während der Dürr- als auch Grünfütterung. Drei der Betriebe verwerten die anfallende Molke selbst, während die anderen 3 die Molke an die Milchlieferanten zurückgeben.

Bei der Verarbeitung zu Käse kommen den verschiedenen Mikroorganismen unterschiedliche käseereitechnologische Bedeutungen zu:

- **Aerobe mesophile Keime**
- Aerobe mesophile Fremdkeime**
- Salztolerante Keime**
- Psychrotrophe (kältetolerante) Keime**

→ hohe Keimzahlen beeinträchtigen den gewünschten Gärverlauf im Käse und führen zu Teig- und Geschmacksfehlern.

- **Enterobacteriaceae** (inklusive Coliforme)
→ Frühblähung durch Bildung von CO₂ und H₂.
- **Anaerobe Sporenbildner** (Buttersäurebakterien, *Cl. sporogenes*)
→ Frühblähung und Spätblähung durch Bildung von CO₂ und H₂ bzw. Bildung von Fäulnisstellen (Putrifikus).
- **Anaerobe Gasbildner**
→ Frühblähung, Spätblähung, beeinträchtigte Lagerfähigkeit, unerwünschte Geschmacksbildung.
- **Propionsäurebakterien**
→ Gefahr für unkontrollierten Gärungsverlauf, ausgenommen kontrollierte FAM-Kulturen für Emmentalerkäse.
- **Milchsäurebakterien**
→ Gefahr für unkontrollierten Gärungsverlauf.
- **Proteolyten** (Eiweisszersetzer)
→ unkontrollierter Eiweissabbau, schnellere Reifung, Bildung von Gärsubstraten für Propionsäurebakterien, unerwünschte Geschmacksbildung (scharf, beissend).
- **Lipolyten** (Fettsplätner)
→ Fettabbau, Bildung von Gärsubstraten für Propionsäurebakterien, unerwünschte Geschmacksbildung.
- **Säuerungsaktivität** (Δ pH)
→ die Aktivität der Säuerungsorganismen, welche nicht von den zugegebenen Kulturen stammen, kann zu unkontrolliertem Gärungsverlauf führen.
- **Enterokokken**
→ unerwünschter Gärungsverlauf und Eiweissabbau, Dekarboxylierung von Aminosäuren (CO₂-Bildung).
- **Staphylokokken**, *Staphylococcus aureus*
→ Flora, die pathogene Eigenschaften aufweisen kann.

2. Material und Methoden

Probematerial:

- Morgenmilchen der Lieferanten
- Käsebruch
- 24ständiger Käse

Durchgeführte Analysen und Methodik: Zusammengefasst in Tabelle 1.

1. Prov. IMV-Standard 132: 1985 (Schnellmethode).
2. Die Aktivität der in der Rohmilch vorhandenen Säurebildner wurde folgendermassen ermittelt:
Bebrütung der Rohmilch bei 38°C während 20 Stunden, Ermittlung der pH-Absenkung während der Bebrütung.
Resultatangabe: Δ pH-Wert.
3. Die Untersuchungen von Staphylokokken im Winter und Frühjahr wurden mit Baird Parker Agar, im Sommer und Herbst mit dem neuen Baird Parker Agar mit dem RPF-Supplement (Rinderfibrinogen, Kaninchenplasma, Trypsin-Inhibitor, Kalium-Tellurit) vorgenommen. Anschliessend erfolgte bei beiden Methoden zur Kontrolle ein Überimpfen der tiefschwarzen Kolonien mit trübem Hof auf Blutagar. Die Kolonien, die hier eine Hämolyse zeigten, wurden weiter auf DNase-Agar subkultiviert und die Kolonien mit 1 N HCl übergossen. *Staph. aureus*-

Kolonien zeigten dabei einen deutlich klaren Hof.

4. Zusätzlich wurde nach der Bebrütung der Katalase-Test durchgeführt und mikroskopisch auf Stäbchen (typische Formen) überprüft.

Darstellung der Resultate

Die wichtigsten Resultate und Gegenüberstellungen werden in diesem Bericht tabellarisch zusammengestellt. Die Tabellen enthalten folgende Werte:
 \bar{x} geom. = geometrischer Mittelwert

Maximum = höchste gefundene Keimzahl
 Minimum = tiefste ermittelte Keimzahl
 N = Anzahl Untersuchungen
 kbE = koloniebildende Einheiten
 Die Keimzahl 5 bei den tiefsten Keimzahlwerten bedeutet, dass pro 0,1 ml bzw.

Tabelle 1 Durchgeführte Analysen und angewandte Methoden

Keimgruppe	Medium	Bebrütung Temp./Tage/Std.	Verfahren	Auswertung
Aerobe, mesophile Keime ("Gesamtkeimzahl")	Plate count Agar	30°C, 3 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Alle Kolonien
Aerobe, mesophile Keime (Fremdkeime)	Sugar free Agar	30°C, 3 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Alle Kolonien, jedoch ohne pin-points
Aerobe, psychrotrophe Keime ¹⁾	Plate count Agar	21°C, 25 Std.	Koch'sches Platten- gussverfahren	Alle Kolonien
Anaerobe, mesophile Keime	Plate count Agar	30°C, 3 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren, anaerob	Alle Kolonien
Anaerobe, mesophile Gasbildner	Plate count Agar	30°C, 3 Tage	Hohe Schicht / Reagenzglas	Nur Potenzangabe (Gasbildung)
Anaerobe Sporenbildner	Dextrose-Kartoffel-Agar	30°C, 10 Tage	Hohe Schicht / Reagenzglas	Gasbildung, mikrosko- pisches Bild (Sporen)
Enterobacteriaceen	Violet Red Bile Glucose Agar	38°C, 1 Tag	Koch'sches Platten- gussverfahren	Rote Kolonien mit rötlichem Präzipi- tationshof
Salztolerante Keime	Mannitol Salt Agar	38°C, 2 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Alle Kolonien
Enterokokken	Kanamycin-Azid-Aesculin Agar	38°C, 1 Tag	Koch'sches Platten- gussverfahren	Kolonien mit schwarzem Hof
Milchsäurebildner ²⁾	rekonst. Pulvermager- milch	38°C, 2 Tage	Reagenzglas	Nur Potenzangabe
Proteolyten	Calcium-Caseinat Agar	30°C, 3 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Mit 20 %iger CH ₃ COOH überschichtete Kolo- nien, Höfe auszählen
Lipolyten	Crossley Agar	30°C, 3 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Blaugefärbte Kolonien
Staphylokokken	Baird Parker Agar + RPF	38°C, 1 Tag	Koch'sches Platten- gussverfahren	Alle Kolonien
<u>Staph. aureus</u> ³⁾	Baird Parker Agar + RPF	38°C, 1 Tag	Koch'sches Platten- gussverfahren	Schwarze Kolonien mit Hof
Propionsäurebakterien ⁴⁾	Laktat Agar	30°C, 10 Tage	Koch'sches Platten- gussverfahren	Fleischfarbene Kolonien linsenförmig, z. T. ge- flügelt

0,1 g keine Keime nachgewiesen werden konnten. (Ausnahme: Bei den anaeroben Sporenbildnern wurde nach einem internen Beurteilungsschema interpretiert.)

Anmerkung: Um einen möglichst umfassenden Überblick über die Rohmilchqualität zu erhalten, wurde auch die somatische Zellzahl (Fossomatic 90) mitbestimmt und hier aufgeführt.

Generelle Bemerkungen zu den Resultaten

Verschiedene Keimarten können auch verschiedenen physiologischen Gruppen von Mikroorganismen zugeordnet werden. So ist zu erwarten, dass die folgenden Organismen mindestens zum Teil auch in den Keimzahlen der aeroben mesophilen Flora enthalten sind:

- Psychrotrophe
- Salztolerante
- Enterobacteriaceae
- Proteolyten
- Lipolyten
- Enterokokken

- Staphylokokken
- fakultativ anaerobe Keime innerhalb der Anaerobier

Auch die salztolerante Flora kann enthalten:

- Psychrotrophe
- Proteolyten
- Lipolyten
- Enterokokken
- Staphylokokken

Weitere Beispiele könnten aufgezeigt werden.

3. Resultate und Diskussion

Die durchschnittlichen Keimzahlen der Lieferantenmilchen aller Genossenschaften sind in *Tab. 2* dargestellt. Die Keimbelastung liegt fast durchwegs im erwarteten Bereich. Bei den Milchsäurebildnern erstaunt hingegen der geringe Gehalt. Der durchschnittliche Anteil der salztoleranten Keime an der aeroben mesophilen Flora («Gesamtkeimzahl») beträgt rund 32 %.

Tab. 3 enthält die Keimzahlen in Lieferantenmilchen, getrennt nach Genossenschaften mit und ohne Molkenrückgabe. Daraus ist ersichtlich, dass die Keimzahlen fast durchwegs leicht höher in Lieferantenmilchen von Genossenschaften mit Molkenrückgabe sind als in solchen ohne Molkenrückgabe. Ein Kreislauf kann deshalb nicht ausgeschlossen werden. Die Anzahl Milchsäurebildner ist in beiden Fällen praktisch gleich und erstaunlich gering. Dasselbe gilt auch für die Säuerungsaktivität der in der Rohmilch vorhandenen Milchsäurebakterien.

Aus *Tab. 4* kommt zum Ausdruck, dass sich die durchschnittlichen Keimzahlen der Lieferantenmilchen während der beiden Fütterungsperioden (Dürr- bzw. Grünfütterung) nicht wesentlich unterscheiden.

Wie erwartet nehmen die Keimzahlen zu Beginn der Käsefabrikation zu. Der Grund dafür liegt im physiologischen Temperaturbereich während der Fabrikation. Zudem reicht die anfängliche Säureproduktion noch nicht aus, um die Fremdorganismen in ihrer Aktivität zu hemmen. Somit erstaunen die Keimzahlen im Bruch nicht (*Tab. 5*).

Mit zunehmender Säurebildung findet hingegen eine massive Reduktion der Keimbelastung statt. Im 24stündigen Käse (*Tab. 5*) liegen die Keimzahlen in einem Bereich, der eine gute Käsequalität erwarten lässt – vorausgesetzt auch die anderen, die Käsequalität beeinflussenden Faktoren stimmen.

Sowohl im Bruch als auch im 24stündigen Käse fallen die hohen Zahlen für die anaeroben mesophilen Keime auf. Dies erstaunt nicht, da ein Teil der zur Kultur gehörenden Milchsäurebakterien auf diesem Nährboden ebenfalls gut sichtbare Kolonien bilden können.

Weitere Beobachtungen: Zusätzliche statistische Auswertungen zeigten, dass die Keimzahlen folgender physiologischer Gruppen zwar eine hohe Korrelation zueinander zeigten, jedoch eine rein rechnerische Ermittlung der einen Gruppe aus der anderen Gruppe der zu hohen Streuung wegen nicht statthaft ist:

- aerobe mesophile Keime (Plate Count Agar) und aerobe mesophile Fremdkeime (Sugar Free Agar)
- aerobe mesophile Keime und salztolerante Organismen
- aerobe mesophile Keime und psychrotrophe Organismen.

Obwohl Enterobacteriaceae und Enterokokken dieselbe Herkunft haben können, konnte keine gegenseitige Abhängigkeit der Keimzahlen dieser beiden Gruppen von Bakterien aufgezeigt werden.

Tabelle 2 Keimzahlen (und somatische Zellzahl) der Lieferantenmilchen aller Genossenschaften (kbE/ml; ausser wo angegeben)

	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N
Aerobe, mesophile Keimzahl	10 064	2 020 000	400	331
Aerobe, mesophile Fremdkeimzahl	8 022	390 000	400	331
Salztolerante Keime	3 213	64 000	5	331
Psychrotrophe Keime	1 597	4 000 000	5	330
Enterobacteriaceae	12	30 400	5	330
Anaerobe Sporenbildner (Keime/ml)	0.4	0.5	0.1	320
Anaerobe, mesophile Keimzahl	2 040	1 820 000	5	331
Anaerobe Gasbildner (Keime/ml)	53	100	50	331
Propionsäurebakterien	10	1 600	5	331
Milchsäurebildner (Keime/ml)	136	10 000	10	316
Proteolyten	745	130 000	5	331
Lipolyten	1 047	176 000	5	331
Säuerungsaktivität (Δ pH)	1.68	2.56	0.44	331
Enterokokken	32	27 500	5	330
Staphylokokken	3 113	176 000	40	316
<u>Staph. aureus</u>	38	62 600	5	331
Somatische Zellzahl/ml	112 900	980 000	8 000	316

Tabelle 3 Keimzahlen (und somatische Zellzahl) in Lieferantenmilchen, getrennt nach Genossenschaften mit oder ohne Molkenrückgabe (kbE/ml; ausser wo angegeben)

	m i t Molkenrückgabe				o h n e Molkenrückgabe			
	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N
Aerobe, mesophile Keimzahl	11 857	2 020 000	600	168	8 703	1 200 000	400	148
Aerobe, mesophile Fremdkeimzahl	9 113	237 000	500	168	7 198	390 000	400	148
Salztolerante Keime	4 066	36 800	200	168	2 682	64 000	100	148
Psychrotrophe Keime	2 096	400 000	5	167	1 349	4 000 000	5	148
Enterobacteriaceae	12	30 400	5	167	13	3 400	5	148
Anaerobe Sporenbildner (Keime/ml)	0.4	0.5	0.1	168	0.4	0.5	0.1	137
Anaerobe, mesophile Keimzahl	2 941	1 820 000	5	168	1 435	1 160 000	5	148
Anaerobe Gasbildner (Keime/ml)	51	100	50	168	56	100	50	148
Propionsäurebakterien	10	1 600	5	168	11	700	5	148
Milchsäurebildner (Keime/ml)	162	10 000	10	168	112	10 000	10	148
Proteolyten	1 079	130 000	5	168	624	80 000	5	148
Lipolyten	929	176 000	1	168	1 252	100 000	5	148
Säuerungsaktivität (Δ pH)	1.79	2.56	0.53	168	1.59	2.28	0.44	148
Enterokokken	31	27 500	5	167	36	12 200	5	148
Staphylokokken	3 347	101 000	210	168	2 868	176 000	40	148
<u>Staph. aureus</u>	26	26 600	5	168	65	62 600	5	148
Somatische Zellzahl/ml	101 000	973 000	8 000	168	128 000	980 000	15 900	148

Tabelle 4 Keimzahlen (und somatische Zellzahl) in Lieferantenmilchen während der Grün- bzw. Dürrfütterung (kbE/ml; ausser wo angegeben)

	Grünfütterung				Dürrfütterung			
	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N
Aerobe, mesophile Keimzahl	11 399	2 020 000	600	159	9 267	230 000	400	158
Salztolerante Keime	3 677	64 000	300	159	3 042	48 200	100	158
Psychrotrophe Keime	1 826	4 000 000	5	159	1 578	40 000	5	158
Enterobacteriaceae	13	30 400	5	159	11	1 300	5	158
Anaerobe Sporenbildner (Keime/ml)	0.4	0.5	0.1	159	0.4	0.5	0.1	158
Anaerobe, mesophile Keimzahl	1 819	1 820 000	5	159	2 427	115 000	5	158
Anaerobe Gasbildner (Keime/ml)	53	100	50	159	53	100	50	158
Propionsäurebakterien	11	1 600	5	159	10	400	5	158
Milchsäurebildner (Keime/ml)	138	10 000	10	159	132	10 000	10	158
Proteolyten	1 106	80 000	30	159	623	130 000	5	158
Lipolyten	1 295	176 000	5	159	881	30 000	5	158
Enterokokken	38	21 000	5	159	29	27 500	5	158
Staphylokokken	4 681	176 000	44	159	2 067	24 400	40	158
<u>Staph. aureus</u>	60	62 600	5	159	26	5 300	5	158
Säuerungsaktivität (Δ pH)	1.67	2.29	0.53	159	1.73	2.56	0.44	158
Somatische Zellzahl/ml	119 500	980 000	11 000	159	106 000	899 000	8 000	158

Tabelle 5 Keimzahlen in Bruch und Käse, alle Betriebe zusammen (kbE/g; ausser wo angegeben)

	B r u c h				24-stündiger Käse			
	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N	\bar{x} geom.	Maximum	Minimum	N
Aerobe, mesophile Keimzahl	862 211	16 500 000	20 000	25	53 008	1 600 000	1 400	25
Aerobe, mesophile Fremdkeimzahl	583 140	12 300 000	8 000	25	29 971	1 670 000	1 300	25
Salztolerante Keim	141 812	2 500 000	4 200	25	3 161	256 000	5	25
Psychrotrophe Keime	194 976	8 500 000	4 000	24	586	3 500 000	5	25
Enterobacteriaceae	1 578	1 920 000	5	25	5	5	5	25
Anaerobe Sporenbildner (Keime/g)	1	10	1	25	0.5	3.0	0.1	25
Anaerobe, mesophile Keimzahl	825 000	118 000 000	7 000	25	247 215	17 300 000	8 000	25
Anaerobe Gasbildner (Keime/g)	58	100	50	24	50	50	50	24
Propionsäurebakterien	61	4 000	5	25	9	7 000	5	25
Proteolyten	64 075	2 500 000	3 000	23	36	80 000	5	25
Lipolyten	8 075	218 000	5	25	222	10 000	5	25
Enterokokken	26 848	2 440 000	100	25	9 989	720 000	200	25
Staphylokokken	43 476	1 190 000	1 200	24	77	5 400	5	24
<u>Staph. aureus</u>	7 709	323 000	200	25	5	5	5	25

4. Schlussfolgerungen

Die durchschnittliche Keimbelastung der untersuchten Milchen entspricht grösstenteils den Anforderungen, die man an ein Ausgangsmaterial zur Herstellung einwandfreier Produkte stellen muss. Vereinzelt sind aber auch zu hohe Werte feststellbar. Es muss daher alles unternommen werden, um die zu hohen Werte zu senken und die Keimzahlen, die nicht zu beanstanden sind, zu erhalten. Eine möglichst geringe Keimbelastung hilft mit, Käse höchster Qualität herstellen zu können, um auf dem ausländischen Markt konkurrenzfähig zu bleiben.

Dank: Wir danken für gute Zusammenarbeit, den Herren Käsern für das Probematerial, den Herren Konsulenten für die Überbringung der Proben sowie allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Sektion Mikrobiologie und Milchproduktion,

die sich an den Experimenten beteiligten. Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Rüst für statistische Beratung und Auswertung.

Résumé

INGE FORSTER, M. GRAND et H. GLÄTTLI:

Qualité microbiologique du lait cru de diverses régions de Suisse

Schweiz. Milchw. Forschung, 16 (4), 79–83 (1987)

Pour apprécier la qualité du lait cru utilisé pour la fabrication de fromage, différents groupes physiologiques de micro-organismes ont été déterminés quantitativement dans des échantillons de lait de producteur, dans du caillé et du fromage de 24 heures. Les nombres de germes trouvés sont en moyenne assez bas. Ils augmentent d'abord pendant la fabrication du fromage (caillé). Au cours de l'aci-

dification, ils diminuent considérablement et se situent à un niveau acceptable dans le fromage de 24 heures.

Summary

INGE FORSTER, M. GRAND and H. GLÄTTLI:

Microbiological quality of raw milk in different regions of Switzerland

Schweiz. Milchw. Forschung, 16 (4), 79–83 (1987)

To evaluate the quality of raw milk used for cheese manufacture, different physiological groups of microorganisms were determined quantitatively in bulk milk samples, curd and 24 hours old cheese. The average microbial count is rather low. It increases first during cheese making (curd) and decreases considerably in the course of acidification to attain an acceptable level in 24 hours old cheese.