



# Mikrobiologische Untersuchung von Rohmilch und Trinkmilch

Dr. Gudrun Nagl und DI Erich Ziegelwanger

# Gesetzlichen Anforderungen zur Bewertung von Rohmilch

## Laut Milchquoten-Verordnung 2007 geregelt:

Beurteilungskriterium:	Grenzwert:	Bewertungsstufen:
Keimzahl	bis 50.000/ml	S-Qualität
	bis 100.000/ml	1
	über 100.000/ml	2
Zellzahl	bis 250.000/ml	S-Qualität
	bis 400.000/ml	1
	über 400.000/ml	2
Antibiotika (Hemmstoffe):	nicht nachweisbar	

## Laut

### LEITLINIE ÜBER MIKROBIOLOGISCHE KRITERIEN FÜR MILCH UND MILCHPRODUKTE (November 2007: Gutachten des ständigen Hygieneausschusses)

	Grenzwert	Häufigkeit	Untersuchungszeitpunkt
Keimzahl 30°C	≤ 100.000	mind. 2x/Monat	bei Abholung
Somatische Zellen	≤ 400.000	mind. 1x/Monat	bei Abholung

# Gesetzlichen Anforderungen zur Bewertung von Trinkmilch

Laut

## LEITLINIE ÜBER MIKROBIOLOGISCHE KRITERIEN FÜR MILCH UND MILCHPRODUKTE (November 2007: Gutachten des ständigen Hygieneausschusses)

	Grenzwert	Häufigkeit	Untersuchungszeitpunkt
Prozesshygienekriterium laut Verordnung (EG) Nr. 2073/2005			
Enterobacteriaceae	< 1 max. 5	4 (2)	Ende Herstellungsprozess
Lebensmittelsicherheitskriterium laut Verordnung (EG) Nr. 2073/2005			
<i>Listeria monocytogenes</i> n.n. in 25 g			beim Verlassen des Betriebes

### Kundenspezifikationen von Firmen Beispiel:

*pasteurisierte Versandmilch (Vollmilch):*

Gesamtkeimzahl:	unter 100.000/ml
Coliforme:	unter 10/ml
Hemmstoffe:	negativ

# Gesamtkeimzahl in Rohmilch und Trinkmilch



Zu erwartende Gesamtkeimzahl:

⌘ Rohmilch : max. 100.000K/ml

⌘ Trinkmilch: bis ca. 10.000K/ml

Auswertung: 10-300/Platte; alle Kolonien

# Gesamtkeimzahl in Rohmilch (RM) und Trinkmilch (TM)

Aufgaben-Parameter	Verfahren	Medium	Bebrütung	Verdünnung	Auswertung
1. GKZ	Koch	PCA-MM	30°C, 72±2h aerob	V2-4 RM V1-3 TM	10-300/Platte alle Kolonien
GKZ alternativ	Koch	CBL (Chinablau- laktoseagar)	30°C, 72±2h aerob		blaue Kolonien – SB beige Kolonien – NSB
2. GKZ	Spatel	PCA-MM	30°C, 72±2h aerob		10-300/Platte alle Kolonien
3. GKZ	MPN	St I Bouillon	30°C, 72±2h aerob		Trübung, MPN

# Weitere Untersuchungen in Rohmilch



Zu erwartende Gesamtkeimzahl:

⌘ GKZ ~ **100.000K/ml**

⌘ Thermoresistente Keime ~ 2.000K/ml

⌘ Psychrotrophe Keime ~ 10.000K/ml

⌘ Hefen und Schimmel ~ 2.000K/ml

⌘ Coliforme ~ 2.000/ml

# Rohmilch

Aufgaben-Parameter	Verfahren	Medium	Bebrütung	Verdünnung	Auswertung
1. GKZ	Koch	PCA-MM	30°C, 72±2h aerob		10-300/Platte alle Kolonien
2. Thermo	Koch 10ml RM bei 64°C 35min erhitzen	PCA-MM	30°C, 72±2h aerob		10-300/Platte alle Kolonien
3. Psychro- trophe Schnell	Koch	PCA-MM	21±1°C, 25±1h aerob		10-300/Platte alle Kolonien
Psychro alternativ			6,5±0,5°C 10T aerob		10-300/Platte alle Kolonien
4. H+ S	Koch	YGC	25±1°C 3-5T aerob		10-150/Platte Hefen u. SchiPi

# Methoden

- ⌘ Gesamtkeimzahl GKZ - FIL-IDF 100B:1991
- ⌘ Säurebildner SB und Nichtsäurebildner NSB – VDLUVA Methodenbuch VI M.16.2. (1985)
- ⌘ Psychrotrophe Keime –
  - ⊞ 6,5 C - ISO 6730:2005 / IDF 101:2005
  - ⊞ 21 C – ISO 8552:2004 / FIL-IDF 132:2004
- ⌘ Thermoresistente Keime - VDLUVA Methodenbuch VI M.7.13. (1996)
- ⌘ Hefen und Schimmelpilze H+S - FIL-IDF 94:2004 / ISO 6611:2004

# Auswertung – Koch/Spatel

## ⌘ Gusskultur und Spatelverfahren

Anzahl der Mikroorganismen pro g oder ml

$$\Sigma c$$

$$\frac{\Sigma c}{(1 \times n_1 + 0,1 \times n_2)} \times d = \text{KBE/ml bzw. g}$$

- ⌘ KBE = Kolonie bildende Einheiten
- ⌘  $\Sigma c$  = Summe aller ausgezählten Kolonien
- ⌘  $n_1$  = Zahl der Platten der 1. Verdünnungsstufe
- ⌘  $n_2$  = Zahl der Platten der 2. Verdünnungsstufe
- ⌘  $d$  = Verdünnungsstufe der ersten ausgezählten Platte(n)

# Auswertung - MPN



- ⌘ Röhrrchen werden hinsichtlich des Auftretens eines positiven Ergebnisses beurteilt
- ⌘ Ermittlung der Indexziffer (Stichzahl)
- ⌘ Berechnung der Keimzahl: MPN-Tabelle

# Gesamtkeimzahl



⌘ Es werden alle Mikroorganismen (Bakterien, Hefen und Schimmelpilze) gezählt, die unter den Bebrütungsbedingungen anwachsen. Es werden in erster Linie aerobe und fakultative anaerobe mesophile Keime erfasst.

# Säurebildner/Nichtsäure- bildner



- ⌘ Zur Unterscheidung von Säurebildnern und Nichtsäurebildnern wird Chinablau-Laktose-Agar herangezogen. Das Chinablau dient als pH-Indikator um laktosevergärende von nicht-laktosevergärenden Mikroorganismen zu unterscheiden.
- ⌘ **Säurebildner: blaue Kolonien oder Kolonien mit blauem Rand**
- ⌘ **Nicht-Säurebildner: weiße Kolonien**

# Säurebildner/Nichtsäure- bildner



**SB:**

⌘ *Lactobacillen*

⌘ *Milchsäurestreptokokken*

⌘ Coliforme Keime, *E. coli*

⌘ manche *Aeromonaden*

⌘ manche *Staphylokokken*

# Säurebildner/Nichtsäure- bildner



## **NSB:**

- ⌘ Aerobe Sporenbildner
- ⌘ *Salmonellen*
- ⌘ *Serratia*
- ⌘ *Proteus*

# PSYCHROTROPHE MIKROORGANISMEN

- ⌘ Durch Bebrütung der gegossenen Platten bei niedrigen Temperaturen können nur die kältetoleranten Keime zu sichtbaren Kolonien anwachsen:
- ⌘ *Pseudomonaden*,
- ⌘ *Aeromonaden*,
- ⌘ einige Stämme coliformer Keime,
- ⌘ *Achromobacter*,
- ⌘ *Flavobacterium*
- ⌘ aber auch einige Hefen und SchiPi
- ⌘ Psychrotrophe Keime gehören zur Gruppe der mesophilen Keime (Optimum bei 20 ° - 30 °C), bilden in dieser Gruppe aber eine Ausnahme, da sie auch bei Temperaturen unter 6 °C noch leben können (=Kühlschranktemperatur). Psychrotrophe Keime sind stark proteolytisch und lipolytisch.

# THERMORESISTENTE MIKROORGANISMEN

- ⌘ Die Anzahl aerober thermoresistenter Mikroorganismen ist immer in Bezug zur GKZ zu sehen, um zu erfassen, wieviele Keime die Pasteurisierung überleben. Der Pasteurisierungseffekt spiegelt die Verminderung der Keimzahl um 2-3 Zehnerpotenzen wieder. Als Grenzwerte sind 2.000 Keime/ml anzunehmen. Vertreter dieser Gruppe sind:
  - ⌘ *Alcaligenes tolerans*,
  - ⌘ *Enterococcus faecalis*, *-durans*,
  - ⌘ *Streptococcus thermophilus*,
  - ⌘ *Micrococcus varians*, *-luteus*,
  - ⌘ *Bacillus cereus*, *-circulans*, *-macerans*
- ⌘ Die Sporenbildner treten bei der Winterfütterung im Stall aufgrund höherer Staubentwicklung vermehrt auf.

# HEFEN UND SCHIMMELPILZE

- ⌘ Für die Milchwirtschaft sind sie von besonderer Wichtigkeit, da sie durch Milchsäuregärung haltbar gemachte fermentierte Milchprodukte (Joghurt, Sauermilch, Käse) verderben können. Unerwünschte organoleptische Veränderungen (Geruch, Geschmack, Aussehen und Konsistenz), Bombagen, sowie die Bildung von Mycotoxinen können auftreten.
- ⌘ In Milchwirtschaft eingesetzte Pilze: *Candida kefir*, *Penicillium camemberti*, *caseicolum*, *roqueforti*,...
- ⌘ Für die **selektive Züchtung** von Hefen und Schimmelpilzen werden Nährböden eingesetzt, die das Wachstum von Bakterien hemmen (Absenken des pH-Wertes auf 3,5 und durch Zugabe von selektiven Antibiotika - Chloramphenicol).