

## Psychrotolerante Sporenbildner in Roh- und ESL-Milch – Prävalenz, Verderbspotential und Eliminierung durch Mikrofiltration und Baktofugation

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) Abt. Mikrobiologie, Freising Prof. Dr. Siegfried Scherer/Dr. Mareike Wenning
<b>Industriegruppe(n):</b>	Milchindustrie-Verband e. V. (MIV), Berlin
	Projektkoordinator: Michael Rauber Schwarzwaldmilch GmbH, Freiburg
<b>Laufzeit:</b>	2013 - 2017
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 240.800,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Die Qualität von mikrofiltrierter und pasteurisierter ESL-Milch („extended shelf life“) am Ende der Mindesthaltbarkeit unterliegt sehr starken Schwankungen und wird zum überwiegenden Teil durch das Vorhandensein oder die Abwesenheit psychrotoleranter Sporenbildner bestimmt. Diese können zum einen technologisch nicht vollständig eliminiert werden und stellen somit ein inhärentes Problem dar. Zum anderen gibt es jedoch auch Berichte über eine Rekontamination von pasteurisierter Milch mit Sporenbildnern. Sporen aus der Rohmilch ließen sich durch eine Hoherhitzung zum überwiegenden Teil sicher inaktivieren, allerdings lehnen mittlerweile viele Verbraucher intensive Verarbeitungsmaßnahmen, wie hohe Erhitzungstemperaturen, ab und bevorzugen möglichst naturbelassene Lebensmittel; gleichzeitig möchten sie jedoch nicht auf die Vorzüge einer verlängerten Haltbarkeit verzichten. Als Alternative zur Hoherhitzung steht Herstellern von frischer Trinkmilch damit nur die Kombination von klassischer Pasteurisation mit Mikrofiltration oder auch Baktofugation zur Verfügung.

Aktuell erlebt die Baktofugation zur Verringerung des Keim- und Sporengehalts von Rohmilch eine Renaissance und ist gerade aus

Kostengründen eine attraktive Alternative für Hersteller von Trinkmilch. Allerdings sind für diese Art der Keimreduktion keine Angaben zur erreichbaren Haltbarkeitsverlängerung publiziert, was die Unternehmen vor Schwierigkeiten bei der Wahl eines adäquaten Mindesthaltbarkeitsdatums (MHD) stellt. Gerade Konsumenten, die auf traditionelle Verfahrensweisen achten, sind jedoch häufig besonders kritische Kunden, weshalb dem Qualitätsniveau der Produkte gegen Ende der Haltbarkeit eine besondere Bedeutung zukommt. Merkbare Qualitätseinbußen noch innerhalb der Mindesthaltbarkeit sind hier nicht akzeptabel. Für Hersteller von Frischmilch, die die Mikrofiltration oder Baktofugation nutzen, wäre daher eine Verbesserung der Qualitätserhaltung über das gesamte MHD hinweg notwendig, um die an diese Produkte gestellten Erwartungen der Verbraucher erfüllen zu können. Dies kann nur durch eine Verminderung des Sporengehalts erreicht werden; die Wahl geeigneter Maßnahmen ist hingegen aufgrund bestehender Kenntnislücken schwierig.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, eine Datenbasis zu erarbeiten, anhand derer eine ganzheitliche Betrachtung der Problematik psychrotoleranter Sporenbildner möglich

ist. So sollen Faktoren, wie Prävalenz und Verderbspotential, eine zuverlässige Risikoabschätzung in Hinblick auf den Sporeneintrag sowie potentielle Haltbarkeitsverkürzungen ermöglichen. Das Potential von Baktofugation und Mikrofiltration zur Abtrennung von Sporen sollte Aufschluss über die zu erreichende Haltbarkeitsverlängerung durch die jeweilige Technik geben. Anhand der Analyse der Eintragsrouten für Sporenbildner in die Milch sollten Ansatzpunkte für eine gezielte Reduktion des Sporengehalts abgeleitet werden. Unternehmen sollten umfassende Kenntnis über die möglichen Stellschrauben erlangen, durch die sich eine Verbesserung der Endproduktqualität bis zum Ende des MHD erreichen lässt.

#### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Vorhabens wurden zunächst Daten zur Prävalenz psychrotoleranter und mesophiler Sporenbildner in Rohmilch gesammelt, um den Sporeneintrag über die Rohware zu quantifizieren. Insgesamt wurden 356 Rohmilchproben untersucht, deren Gehalt an psychrotoleranten Sporenbildnern bei durchschnittlich 0,5 MPN/mL und an mesophilen Sporenbildnern bei ca. 90 KbE/mL lag. Die Zahlen für die mesophilen Sporenbildner lagen somit fast 200 Mal höher als für die psychrotoleranten. Zwischen den Werten bestand jedoch keine Korrelation, so dass eine Berechnung der psychrotoleranten Sporen über den schneller zu bestimmenden Gehalt an mesophilen Sporen nicht möglich ist. Betrachtet man jahreszeitliche Einflüsse auf die Zahlen psychrotoleranter Sporen in Rohmilch, so zeigte sich, dass die Zahlen in den Sommermonaten Juni bis September sowohl im Mittel als auch in der Streuung deutlich unter den Werten liegen, die für das Frühjahr oder den späten Herbst und Winter ermittelt wurden.

Zur Analyse der Haltbarkeit von baktofugierter und pasteurisierter (BF+PAST) Milch wurden 190 Endprodukte untersucht, von denen ein hoher Anteil von 43 % bei Ablauf des MHD mit Keimzahlen  $\geq 10^6$  KbE/mL mikrobiellen Verderb aufwies. In vier Prozessanalysen wurde das Potential zur Keimreduktion untersucht und lag im Mittel bei 2,9 log-Stufen. Die kombinierte Baktofugation, Separation und Standardisierung trennte dabei 2,2 log-Stufen vor allem GRAM-negativer Keime ab, die Pasteurisierung ermöglichte eine 0,6 log-Reduktion und hatte somit lediglich einen marginalen Effekt. Analysen der Keimzahlent-

wicklung während der Lagerung bei 8°C zeigten, dass Verderb in Abhängigkeit der Milchmikrobiota ab Tag 14 bzw. Tag 17 auftritt. Während viele nicht explizit kältetolerante Organismen, wie beispielsweise *Microbacterium*, nur langsam proliferierten und die Keimzahlen nach 14 Tagen noch unterhalb der Verderbsgrenze lagen, stieg der Gehalt psychrotoleranter Sporenbildner, vor allem von *Bacillus weihenstephanensis*, bereits nach 7 Tagen an und beschränkte so die Haltbarkeit signifikant.

Bei mikrofiltrierter und pasteurisierter (MF+PAST) Milch leistete die Mikrofiltration mit ca. 3 log-Stufen den größten Beitrag zur Sporenabtrennung; die Separation des Fetts führte zu einer Verminderung um 1 log-Stufe. In Summe lag die Abtrennraten bei knapp 4 log-Stufen und damit eine Stufe höher als bei der baktofugierten Milch. Die Haltbarkeit der Endprodukte war mit 24 Tagen dementsprechend länger. Von 287 untersuchten Endprodukten MF+PAST-Milch waren 15 % am Ende des MHD verdorben. Wie auch bei BF+PAST-Milch war über die Hälfte des Verderbs auf psychrotolerante Sporenbildner zurückzuführen.

Für die Ermittlung der Eintragsrouten verderbsrelevanter Mikroorganismen wurde ein Vergleich der Prävalenzen psychrotoleranter Sporenbildner in Rohmilch und in MF+PAST-Milch durchgeführt. Stark abweichende Prävalenzen deuten stark darauf hin, dass es sich in vielen Fällen und vor allem bei *Bacillus weihenstephanensis* um Rekontaminanten der Milchverarbeitung handelt. Transmission von Sporen aus der Rohmilch in das Endprodukt trat bei MF+PAST-Milch selten auf und war mit erhöhten Sporenzahlen in der Rohware assoziiert. In BF+PAST-Milch wurden in den Anlagen aller Hersteller persistierende Stämme von *Microbacterium lacticum* und teilweise auch von *Bacillus cereus/weihenstephanensis* gefunden. Aufgrund des großen Verderbspotentials psychrotoleranter Sporen stellt die sorgfältige Anlagenhygiene deshalb eine wichtige Stellschraube zur Aufrechterhaltung der Milchqualität bis zum Ende des MHD dar. Auch die Überwachung der Sporenzahlen in der Rohmilch ist sinnvoll, um eine Transmission von Sporen in das Endprodukt zu vermeiden.

Frühzeitiger sensorischer Verderb durch von Mikroorganismen gebildete Enzyme wurde weder für BF+PAST- noch MF+PAST-Milch festgestellt. Die Konzentrationen sensorisch

relevanter Bitterpeptide und freier Fettsäuren lagen in fast allen der 163 bzw. 100 untersuchten Endprodukten beider Milchtypen unterhalb der Geschmacksschwelle. Damit spielt der durch bakterielle Enzyme bedingte Fehlgeschmack in BF+PAST- und MF+PAST-Milch eine zu vernachlässigende Rolle.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die deutsche Milchindustrie ist der umsatzstärkste Sektor innerhalb der Ernährungsindustrie (2015: Umsatz 22 Mrd. €, 35.000 Beschäftigte) und verarbeitet jährlich etwa 31 Mio. t Rohmilch; 5 Mio. t entfielen 2015 davon auf die Produktion von Konsummilch. Der Zuwachs in der Menge der angelieferten Milch zwischen 2010 und 2015 lag bei 8,3% und bei Biomilch mit 22,8% nochmals deutlich höher. Der Trend hin zu biologisch erzeugten Produkten wird begleitet von einer zunehmenden Nachfrage der Verbraucher nach traditionell und schonend hergestellter, also nicht hocherhitzter, Milch. Um auch dieser Kundengruppe eine länger haltbare pasteurisierte Milch anbieten zu können, können Hersteller nur auf die Mikrofiltration oder Baktofugation zur Haltbarkeitsverlängerung zurückgreifen.

Die Sicherung und Verbesserung der Milchqualität ist gerade für kleine und mittlere Unternehmen ein wesentlicher Faktor, da für sie der Markt der traditionell hergestellten Produkte eine Möglichkeit der Diversifizierung und damit Abgrenzung gegenüber Mitbewerbern bietet. Während große Unternehmen Lücken in der verfügbaren Datenbasis leichter mit eigenen Versuchsreihen schließen können, fällt dies kleineren Unternehmen eher schwer.

Da der Gehalt an psychrotoleranten Sporenbildnern haltbarkeitslimitierend für nicht hocherhitzte ESL-Milch ist, stellt die Kontrolle und bestmögliche Reduktion der Sporenzahl den

Schlüsselparameter für die maximal zu erreichende Haltbarkeit dar.

Die Ergebnisse werden die Milchindustrie in die Lage versetzen, die erforderlichen Qualitätsstandards einzuhalten und Fehlproduktionen zu vermeiden.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2017.
2. Doll, E. V.; Scherer, S. und Wenning M.: Spoilage of Microfiltered and Pasteurized Extended Shelf Life Milk Is Mainly Induced by Psychrotolerant Spore-Forming Bacteria that often Originate from Recontamination. *Front. Microbiol.* 8. 135, doi: 10.3389/fmicb.2017.00135 (2017).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei der Forschungsstelle abzurufen.

#### Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München  
Zentralinstitut für Ernährungs- und  
Lebensmittelforschung (ZIEL)  
Abt. Mikrobiologie  
Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-3516,  
Fax: +49 8161 71-4512  
E-Mail: siegfried.scherer@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben **AiF 17880 N** der Forschungsvereinigung  
Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI),  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn,  
wurde über die AiF im Rahmen des Programms  
zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)  
vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund  
eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.