

Die mikrobiologische Sicherheit von Rohmilch-Joghurt ist bei guter Säuerung gewährleistet

Jasmin Berger¹, Walter Bisig², Jörg Hummerjohann²

¹Hochschule für Agrar, Forst und Lebensmittelwissenschaften HAFL, 3052 Zollikofen, Schweiz

²Agroscope, 3003 Bern, Schweiz

Auskünfte: Walter Bisig, E-Mail: walter.bisig@agroscope.admin.ch

<https://doi.org/10.34776/afs14-86> Publikationsdatum: 24. Mai 2023



Abb. 1 | Das milde Rohmilch-Joghurt (links) mit einem End pH Wert von 4,4–4,5 und das saure Joghurt (rechts) mit einem End-pH-Wert von 3,9–4,0.

Zusammenfassung

Vom Konsum von Rohmilch, welche vor Allergien und Asthma schützt, wird aus Gründen der Lebensmittelsicherheit abgeraten. Die Forschung sucht Wege, die Vorteile von Rohmilch zu erhalten und die Lebensmittelsicherheit zu gewährleisten. Rohmilch wurde zu Joghurt fermentiert, einerseits zu mildem mit pH 4,4–4,5, andererseits zu saurem mit pH 3,9–4,0 (n = 10). Nach der Fermentation und nach 14 Tagen wurden die Joghurt auf *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. und STEC untersucht. Challenge-Tests mit einem STEC-Modell und mit einem Gemisch von vier *Listeria innocua*-Stämmen erfolgten 3-fach mit je 10^4 – 10^5 KBE/ml im zweiten Experiment. In den milden frischen Joghurt konnten noch *E. coli* und *S. aureus* nachgewiesen werden, in den sauren frischen und in allen 14-tägigen

keine mehr. *Salmonella* spp., und *L. monocytogenes* waren weder in frischen noch in 14-tägigen Joghurt nachweisbar. Gene von STEC wurden je in einer von zehn frischen milden, sowie sauren 14-tägigen Joghurt nachgewiesen. Aus den positiven Proben konnten jedoch keine STEC isoliert werden. In den Challenge-Tests reduzierte sich die Keimzahl sowohl vom STEC-Modellkeim als auch von *L. innocua* über 14 Tage, in milden Joghurt um 10^1 – 10^2 , in sauren um 10^6 bis unter die Nachweisgrenze. Die so hergestellten sauren Rohmilch-Joghurt sind sicher. Die Resultate zeigen jedoch, dass eine periodische Überwachung der Rohmilch auf STEC zusätzlich zu den anderen Parametern sinnvoll ist.

Keywords: raw milk, yogurt, food safety, pathogens, allergy prevention.

Einleitung

Bei Rohmilch handelt es sich um Milch, welche nicht über 40°C erwärmt wurde. Dadurch bleiben hitzeempfindliche Vitamine sowie Molkenproteine bestmöglich erhalten. Dank der ausbleibenden Hitzedenaturierung liegen die Molkenproteine wie beispielsweise das β -Lactoglobulin oder die alkalische Phosphatase weitgehend nativ vor. In nativer Form helfen diese dabei, das Auftreten von Allergien, Heuschnupfen oder Asthma zu reduzieren (Mayerhofer & Pali-Schöll, 2021). Zudem weist Rohmilch im Vergleich zu erhitzter Milch eine hohe Diversität an Mikroorganismen auf, welche sich positiv auf die menschliche Darmflora auswirken kann. Aus diesen Gründen gilt der Konsum von Rohmilch als gesund (Abbring *et al.*, 2021; Bachmann *et al.*, 2020).

Mit dem Konsum von Rohmilchprodukten geht jedoch auch ein gewisses Risiko einher, da Rohmilch mit pathogenen Keimen kontaminiert sein kann. Staphylokokken, pathogene *Escherichia coli*, Salmonellen wie auch>Listerien sind potentielle Kontaminanten der Rohmilch (Farrokhi *et al.*, 2013; N'Guessan *et al.*, 2015).

Verschiedene Forschungsprojekte zielen darauf ab, den Allergieschützenden Effekt von Rohmilch auch in Frischmilchprodukten für die breite Bevölkerung zugänglich zu machen. Ein Weg ist, pasteurisierte Milch möglichst schonend ohne Homogenisation und mit minimaler Hitzebelastung herzustellen (Brick *et al.*, 2020). Ein anderer Weg ist, die Lebensmittelsicherheit durch Fermentation zu gewährleisten. Die Fermentation, welche zur Joghurtherstellung angewendet wird, ist ein jahrhundertaltes bewährtes Haltbarmachungsverfahren. Es entsteht unter anderem Milchsäure, welche den pH-Wert absenkt. Dazu wirken die Milchsäurebakterien als Konkurrenzflora gegenüber pathogenen Keimen, wodurch ein zusätzlicher Schutz entsteht.

Somit ergab sich die Fragestellung, ob sich aus Rohmilch ein mikrobiologisch sicheres Joghurt herstellen lässt, welches nur durch die Fermentation konserviert wird. In einer Bachelorthesis der Hochschule für Agrar-, Forst- und Lebensmittelwissenschaften HAFL in Zusammenarbeit mit Agroscope in Liebefeld wurde dazu eine experimentelle Studie durchgeführt.

Material und Methoden

Zwei verschiedene Joghurtkulturen kamen zur Herstellung der Rohmilch-Joghurt zum Einsatz. Die eine Hälfte der Rohmilch wurde mit einer mild säuernden Kultur auf einen End-pH-Wert von 4,4–4,5 fermentiert, die andere Hälfte mit einer stärker säuernden Kultur auf einen End-pH-Wert von 3,9–4,0 (Abb. 1).

Diese hergestellten Rohmilch-Joghurt wurden anschließend frisch sowie nach 14 Tagen gekühlter Lagerung quantitativ auf *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* sowie qualitativ auf das Vorhandensein von *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. und STEC analysiert. Bei STEC handelt es sich um Shiga-Toxin bildende Stämme von *E. coli*, welche aufgrund ihrer Toxinbildung pathogen sein können und daher besondere Aufmerksamkeit verlangen (N'Guessan *et al.*, 2015). Diese Untersuchungen wurden mit zehn verschiedenen Joghurt aus zehn verschiedenen Rohmilchen durchgeführt. Vier der insgesamt 20 Joghurt enthielten zur Strukturverbesserung 3% zur Rohmilch zugegebenes Magermilchpulver.

In einem zweiten Experiment wurde Rohmilch mit 10^4 KBE/ml für milde bzw. 10^5 KBE/ml für saure Joghurt eines Toxin-negativen Stammes von *E. coli* als Modell für STEC beimpft, andere Rohmilch mit einem Gemisch aus vier Stämmen von *Listeria innocua*, ebenfalls mit 10^4 KBE/ml für milde bzw. 10^5 KBE/ml für saure Joghurt. Die sauren Joghurt wurden mit einer höheren Keimzahl beimpft, da hier eine höhere Sterberate der beimpften Keime vermutet wurde. Auch bei diesen Rohmilch-Joghurt wurden 3% Magermilchpulver dazugegeben. Daraus wurden je wiederum milde und stärker gesäuerte Joghurt hergestellt um sogenannte Challenge-Tests durchzuführen. Diese Joghurt wurden an Tag 0, Tag 1, Tag 7 sowie an Tag 14 sowohl qualitativ wie auch quantitativ auf die jeweils beimpften Keime untersucht. Diese Analysen wurden mit je drei verschiedenen beimpften Rohmilchen und den daraus hergestellten Joghurt durchgeführt.

Resultate

Bei einem pH-Wert $\leq 4,0$ sind die Rohmilch-Joghurt sicher

In Tabelle 1 lässt sich erkennen, dass in den frischen milden Joghurt sowohl Keime von *E. coli* wie auch von *S. aureus* nachweisbar waren, nach 14 Tagen jedoch nicht mehr. Bei den sauren Joghurt waren keine der beide Keime nachweisbar, weder in den frischen noch in den 14 Tage alten Proben. Die Gefahr einer Kontamination mit *E. coli* oder *S. aureus* ist bei manuellem Handling erhöht, da diese Keime natürlicherweise auf dem menschlichen Körper vorkommen.

In keiner der Joghurtproben waren hingegen *Salmonella* spp. oder *L. monocytogenes* nachweisbar (Tab. 2). Diese Werte weisen auf eine gute Rohmilchqualität

Tabelle 1 | Mittelwerte quantitativer Nachweis von *E. coli* und *S. aureus* im milden und sauren Rohmilch-Joghurt. (Probenzahl: Je 10 Joghurtherstellungen)

KBE/ml	Mildes Joghurt pH 4,4 – 4,5		Saures Joghurt pH 3,9 – 4,0	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Tag 0	1,8 * 10 ²	1,3 * 10 ²	<10	<10
Tag 14	<10	<10	<10	<10

sowie auf gute hygienische Bedingungen während der Gewinnung und der Lagerung der Rohmilch hin. Jedoch waren in einer von zehn Proben im frischen milden wie auch im 14 Tage alten sauren Joghurt Gene von STEC nachweisbar. Beim qualitativen Nachweis von STEC lässt sich jedoch nicht nachvollziehen, ob die nachgewiesenen STEC-Gene von lebenden oder toten Keimen stammen. Aus den beiden positiven Proben konnte kein STEC isoliert werden. Die Resultate zeigen jedoch, dass eine Überwachung der Rohmilch auf STEC zusätzlich zu den anderen Parametern sinnvoll ist.

Die Ergebnisse des Challenge-Tests sind in Abbildung 2 zusammengefasst. Es lässt sich erkennen, dass die Säure das Überleben pathogener Keime wie *E. coli* als Modell für STEC oder *L. innocua* hemmt. Trotz höherer Ausgangskeimzahl (10⁵ KBE/ml) war bereits nach der Fermentation (Tag 0) in den sauren Joghurt die Keimzahl tiefer als bei den milden (Ausgangskeimzahl 10⁴ KBE/ml).

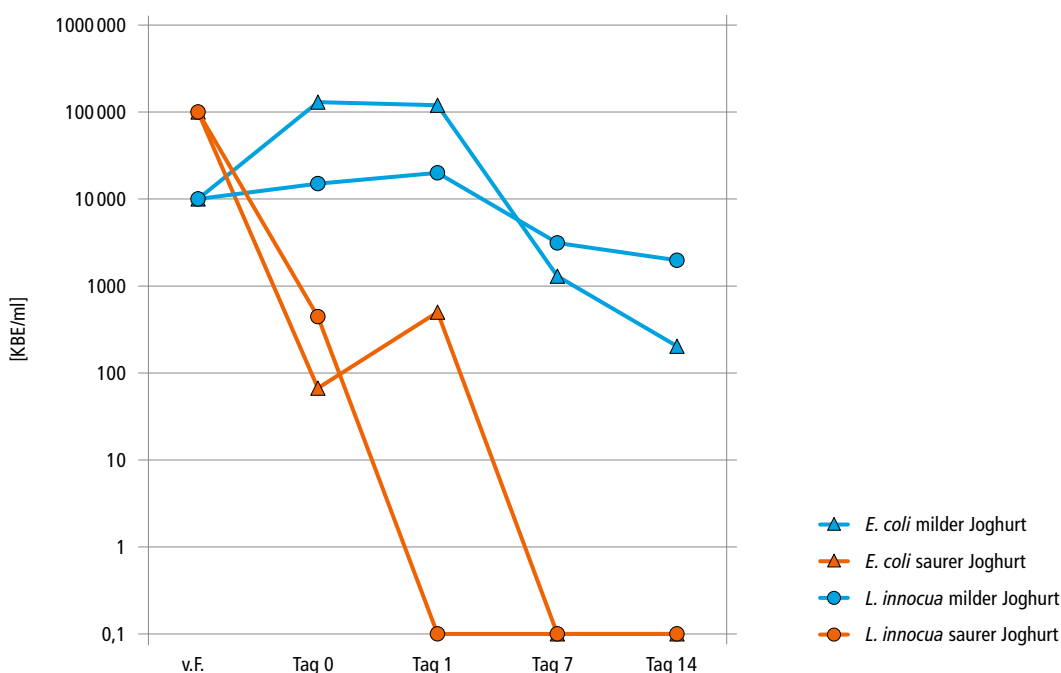


Abb. 2 | Keimzahl von *E. coli* als Modell für STEC und *L. innocua* im milden und sauren Rohmilch-Joghurt vor der Fermentation (v.F.), an Tag 0,1,7 und Tag 14. (Probenzahl: Je 3 Joghurtherstellungen)

Tabelle 2 | Mittelwerte qualitativer Nachweis von *Salmonella* spp., STEC und *L. monocytogenes* im milden und sauren Rohmilch-Joghurt. (Probenzahl: Je 10 Joghurtherstellungen)

% positiv	Mildes Joghurt pH 4,4–4,5			Saures Joghurt pH 3,9–4,0		
	<i>Salmonella</i> spp.	STEC	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	STEC	<i>L. monocytogenes</i>
Tag 0	0%	10%	0%	0%	0%	0%
Tag 14	0%	0%	0%	0%	10%	0%

Während Fermentation und Lagerung nahm im sauren Rohmilch-Joghurt die Keimzahl mit sechs Zehnerpotenzen viel stärker ab als im milden mit einer bis zwei Zehnerpotenzen.

Diskussion

Aus den durchgeführten Analysen lässt sich schliessen, dass bei einem pH-Wert im Bereich von 4,4–4,5 die Fermentation alleine nicht ausreichend ist, um das Rohmilch-Joghurt genügend zu schützen. Bei einem pH-Wert $\leq 4,0$ hingegen genügt die Fermentation und die daraus resultierende pH-Absenkung als Schutz vor den untersuchten Keimgruppen. Unerwünschten Keimen wie pathogenen *E. coli* oder *S. aureus* ist es nicht mehr möglich zu wachsen. Eine hohe Qualität der Rohmilch ist jedoch die Grundvoraussetzung für mikrobiologisch sichere Rohmilch-Joghurt.

Die Milchsäure und der pH-Wert sind vermutlich nicht alleine für den Schutz der Joghurt verantwortlich. Während der Fermentation entstehen auch Substanzen mit antibakterieller Wirkung. Zudem entsteht durch die hohe Keimzahl erwünschter Milchsäurebakterien eine Konkurrenzflora gegenüber pathogenen Keimen, wodurch die Joghurt zusätzlich geschützt werden (Gao *et al.*, 2019). In den sauren Joghurt wirkten all diese Faktoren stark schützend. Pathogenen Keimen war das Wachstum nicht mehr möglich. Auch deren Überleben in den Rohmilch-Joghurt mit einem pH-Wert von 3,9–4,0 ist mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht mehr möglich. Die Joghurt mit einem pH-Wert von 3,9–4,0 wurden sensorisch als stark sauer beurteilt. Auch von der Textur her waren die Rohmilch-Joghurt allgemein sehr weich im Vergleich zu herkömmlichen Joghurt. Durch eine Zugabe von 3 % Magermilchpulver konnte bereits eine Verbesserung der Textur erzielt werden. Somit gilt es, die Rezeptur wie auch die Wahl der Kultur zu optimieren, um ein mikrobiologisch sicheres Rohmilch-Joghurt herzustellen, welches auch vom Geschmack und der Textur her überzeugt. Eine weitere Option wäre das Anbieten

eines Rohmilch-Trinkjoghurts. Bei der Herstellung von Rohmilch-Joghurt im Betrieb ist der pH-Wert $\leq 4,0$ ein CCP (kritischer Kontrollpunkt), Es wird empfohlen, bei den ersten Produktionen die Joghurt zusätzlich auf pathogene Keime zu untersuchen. Wird ein weniger saures Rohmilchjoghurt mit z.B. pH $\leq 4,20$ angestrebt, so sind weitere Untersuchungen nötig.

Schlussfolgerungen und Ausblick

In vielen europäischen Ländern wie Deutschland, Österreich, Frankreich, Grossbritannien, Norwegen und auch in der Schweiz werden bereits diverse fermentierte Roh-Frischmilchprodukte angeboten, u.a. auch Joghurt. Die Vorteile von schonend hergestellten sicheren Frischmilchprodukten mit Rohmilch-Effekt könnten bekannter gemacht und dank nativen Molkenproteinen und mikrobieller Diversität als Beitrag gegen Allergien und für weitere Ernährungsvorteile genutzt werden.

Das Kompetenzzentrum für Rohmilchprodukte, eine Partnerschaft zwischen Agroscope und dem Kanton Freiburg, erforscht diesen Bereich. ■

Literatur

- Abbring, S., Engen, P. A., Naqib, A., Green, S. J., Garssen, J., Keshavarzian, A., & van Esch, B. C. A. M. (2021). Raw Milk-Induced Protection against Food Allergic Symptoms in Mice Is Accompanied by Shifts in Microbial Community Structure. *International Journal of Molecular Sciences* **22**(7), 3417. <https://doi.org/10.3390/ijms22073417>
- Bachmann, H. P., Fröhlich, M. T., & Bisig, W. (2020). Rohmilch und Rohmilchprodukte beeinflussen die menschliche Gesundheit – eine Literaturbesprechung. *Agrarforschung Schweiz* **11**(1), 124–130. <https://doi.org/10.34776/afs11-124>
- Brick, T., Hettinga, K., Kirchner, B., Pfaffl, M. W., & Ege, M. J. (2020). The Beneficial Effect of Farm Milk Consumption on Asthma, Allergies, and Infections: From Meta-Analysis of Evidence to Clinical Trial. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* **8**(3), 878–889.e873. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.11.017>
- Farrokh, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., De Reu, K., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., Lindsay, D., Miszczycza, S., Moussiegt, S., Verstraete, K., & Cerf, O. (2013). Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*, **162**(2), 190–212. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008>
- Gao, Z., Daliri, E. B., Wang, J., Liu, W., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2019). Inhibitory Effect of Lactic Acid Bacteria on Foodborne Pathogens: A Review. *Journal of Food Protection*, **82**(3), 441–453. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-303>
- Mayerhofer, H., & Pali-Schöll I. (2021). The farm effect revisited: from β -lactoglobulin with zinc in cowshed dust to its application. *Allergo Journal International* **30**, 135–140. <https://doi.org/10.1007/s40629-021-00174-6>
- N'Guessan, É., Godrie, T., de Laubier, J., di Tanna, S., Ringuet, M., & Sindic M. (2015). A survey of bacteria found in Belgian dairy farm products. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, **19**(4), 346–354. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=12356>