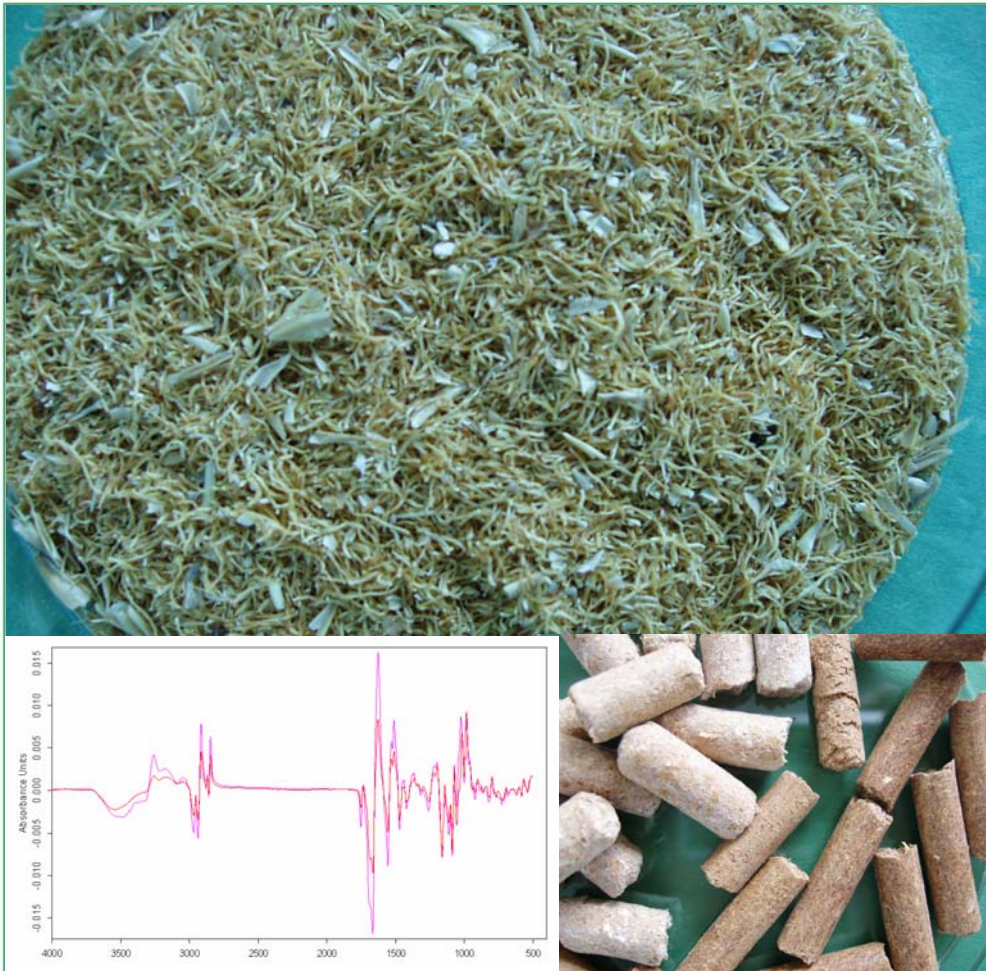




Das Lebensministerium



## Mikrobiologie von Malzkeimen

Schriftenreihe des Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

Heft 31/2008

Freistaat  Sachsen

Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

## **Mikrobiologische Charakterisierung von Malzkeimen**

Henriette Mietke-Hofmann

Anke Kretschmar, Manfred Gareis, Erwin Bucher

## **Inhalt**

<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
Henriette Mietke-Hofmann <sup>1)</sup>	
<i><sup>1)</sup> Staatliche Betriebsgesellschaft für Umwelt und Landwirtschaft (BfUL)</i>	
<b>Malzkeime – ein Nebenprodukt der Malzherstellung</b>	<b>2</b>
Anke Kretzschmar <sup>2)</sup> , Henriette Mietke-Hofmann	
<i><sup>2)</sup> TU Dresden, Institut für Lebensmittelchemie</i>	
<b>Mikrobiologische Untersuchungen von Malzkeimen und Erfassung von Begleitparametern</b>	<b>7</b>
Henriette Mietke-Hofmann, Erwin Bucher <sup>3)</sup> , Anke Kretzschmar	
<i><sup>3)</sup> Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim</i>	
<b>Lagerungsversuch</b>	<b>20</b>
Henriette Mietke-Hofmann, Anke Kretzschmar	
<b>Bestimmung der Zytotoxizität von Malzkeimen</b>	<b>22</b>
Manfred Gareis <sup>4)</sup> , Henriette Mietke-Hofmann	
<i><sup>4)</sup> Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Kulmbach</i>	
<b>Differenzierung der Hefeflora von Malzkeimen mittels FT-IR-Spektroskopie</b>	<b>25</b>
Henriette Mietke-Hofmann, Anke Kretzschmar	
<b>Festlegung von Orientierungswerten loser und pelletierter Malzkeime zur Auswertung der Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen zwecks Beurteilung von Futtermitteln nach § 24 LFGB</b>	<b>30</b>
Henriette Mietke-Hofmann, Erwin Bucher	
<b>Zusammenfassung</b>	<b>34</b>

## Inhaltsverzeichnis

<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1 Malzkeime – ein Nebenprodukt der Malzherstellung</b> .....	<b>2</b>
1.1 Definition .....	2
1.2 Technologie der Malzherstellung .....	2
1.2.1 Das Lagern .....	2
1.2.2 Das Weichen .....	4
1.2.3 Die Keimung .....	4
1.2.4 Das Darren .....	4
1.2.5 Das Entkeimen .....	5
1.3 Auswirkungen des Mälzungsprozesses auf die mikrobiologische Beschaffenheit von Malzkeimen .....	5
<b>2 Mikrobiologische Untersuchungen von Malzkeimen und Erfassung von     Begleitparametern</b> .....	<b>7</b>
2.1 Herkunft des Probenmaterials und Erfassung technologischer Parameter .....	7
2.2 Bestimmung von pH-Wert, $a_w$ -Wert und TS-Gehalt .....	8
2.3 Mikrobiologische Untersuchungen .....	9
2.3.1 Bestimmung der Milchsäurebakterien.....	10
2.3.2 Bestimmung der Keimgehalte an Bakterien, Hefen, Schimmel- und Schwärzepilzen	10
2.3.2.1 Bestimmung der Keimgehalte aerober mesophiler Bakterien.....	11
2.3.2.2 Bestimmung der Keimgehalte von Schimmel- und Schwärzepilzen .....	13
2.3.2.3 Bestimmung der Keimgehalte an Hefen .....	16
2.3.2.4 Mikrobiologische Beurteilung des Getreide- und Malzabriebes .....	18
<b>3 Lagerungsversuch</b> .....	<b>20</b>
<b>4 Bestimmung der Zytotoxizität von Malzkeimen</b> .....	<b>22</b>
<b>5 Differenzierung der Hefeflora von Malzkeimen mittels FT-IR-Spektroskopie</b> .....	<b>25</b>
<b>6 Festlegung von Orientierungswerten loser und pelletierter Malzkeime zur     Auswertung der Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen zwecks Beurteilung     von Futtermitteln nach § 24 LFGB</b> .....	<b>30</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>34</b>

## Einleitung

Malzkeime sind ein Nebenprodukt der Malzherstellung und werden in loser oder pelletierter Form als Bestandteile von Mischfuttermitteln in der Tierfütterung eingesetzt. Sie sind zumeist prozessbedingt mikrobiologisch hoch belastet und fallen bei der amtlichen Futtermitteluntersuchung negativ auf.

Infolge der Prozessbedingungen während des Mälzens können sich epiphytische Bakterien (produkttypische Bakterien) sowie Hefen stark vermehren. Durch ideale Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen während der sogenannten „Schwelke“, dem ersten Darreabschnitt, kommt es zu einer weiteren Vermehrung dieser beiden Keimgruppen. In der anschließenden Trockendarre sterben die meisten Keime nicht ab, sondern werden „trockenkonserviert“.

Im Rahmen der Pilotstudie „Mikrobiologische Beschaffenheit von Futtermitteln in Deutschland“ (Januar 1994 - Februar 1996) sind seinerzeit keine Orientierungswerte für lose und pelletierte Malzkeime definiert worden. Es stehen auch keine vergleichbaren Orientierungswerte zur Verfügung, die behelfsmäßig herangezogen werden könnten.

Durch umfassende mikrobiologische Untersuchung und Erfassung verschiedenster Parameter sollte ein Überblick über die Qualität loser und pelletierter Malzkeimprodukte deutscher Mälzereien gewonnen werden. Die Studie erstreckte sich von September 2003 bis Januar 2005. Somit gingen Produkte von Braugetreide der Erntejahre 2002, 2003 und 2004 in die Auswertung ein. Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines Forschungsprojektes zum Thema „Mikrobiologische Untersuchungen von Malzkeimen“ an der ehemaligen Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft und an drei weiteren Untersuchungsanstalten im Sinne einer Gegenuntersuchung durchgeführt.

Im Vordergrund standen folgende Gesichtspunkte:

- Erfassung mikrobiologischer Parameter von Malzkeimen verschiedener Provenienzen (siehe 2.3)
- Malzkeime gelten auf Grund ihrer Hygroskopizität als leicht verderblich. Um die mikrobiologischen Vorgänge und Floraveränderungen zu studieren, wurden im Labormaßstab extrem schlechte Lagerungsbedingungen (18 °C bei 80 % relativer Luftfeuchtigkeit), wie sie in einem Landwirtschaftsbetrieb in Stallnähe denkbar sind, simuliert (siehe 3).
- Die Hefegehalte der Malzkeime sind gegenüber Getreide und Getreideprodukten stark erhöht. Da Hefen in der amtlichen Futtermittelkontrolle generell als Verderbanzeiger gelten, bestehen somit Bedenken bei der Verfütterung aus veterinärmedizinischer Sicht. Daher sollte versucht werden, die vorherrschende Hefeflora der Malzkeime zu identifizieren, sie in Bezug auf ihre fermentativen Leistungen und ihre Rolle als fakultativ pathogene Erreger zu beurteilen (siehe 5). Zur Identifizierung wurde die FT-IR-Spektroskopie genutzt.

Die Erkenntnisse mündeten letztlich in einer Empfehlung für Orientierungswerte zur mikrobiologischen Beurteilung von Malzkeimen als Futtermittel für die amtliche Futtermittelkontrolle nach § 24 LFGB, d.h. zur Beurteilung der „handelsüblichen Reinheit und Unverdorbenheit“. Die Werte wurden vom BMELV und den Länderreferenten für Futtermittelrecht angenommen und bilden nunmehr die Grundlage für amtliche Futtermittelüberwachung.

## **1 Malzkeime – ein Nebenprodukt der Malzherstellung**

*Anke Kretzschmar, Henriette Mietke-Hofmann*

### **1.1 Definition**

Malzkeime sind getrocknete, 1 - 1,5 cm große Wurzelkeime des Getreides, die als Nebenprodukt bei der Vermälzung anfallen. Gerstenmalzkeime bestehen ausschließlich aus Keimwurzeln, Malzkeime aus Weizen enthalten auch Blattkeime. Sie werden nach dem Darrvorgang mit geeigneten Entkeimungsvorrichtungen „abgeschlagen“ und in Mischfuttermittel weiterverwertet. Unter trockenen Bedingungen sind sie gut lagerfähig, haben eine goldgelbe Farbe und schmecken leicht bitter.

### **1.2 Technologie der Malzherstellung**

Unter Mälzen ist ein Keimvorgang von Getreidearten unter künstlich geschaffenen bzw. gesteuerten Bedingungen zu verstehen. Hierbei entsteht Grünmalz, durch Trocknen und Darren das lagerfähige Endprodukt Darrmalz.

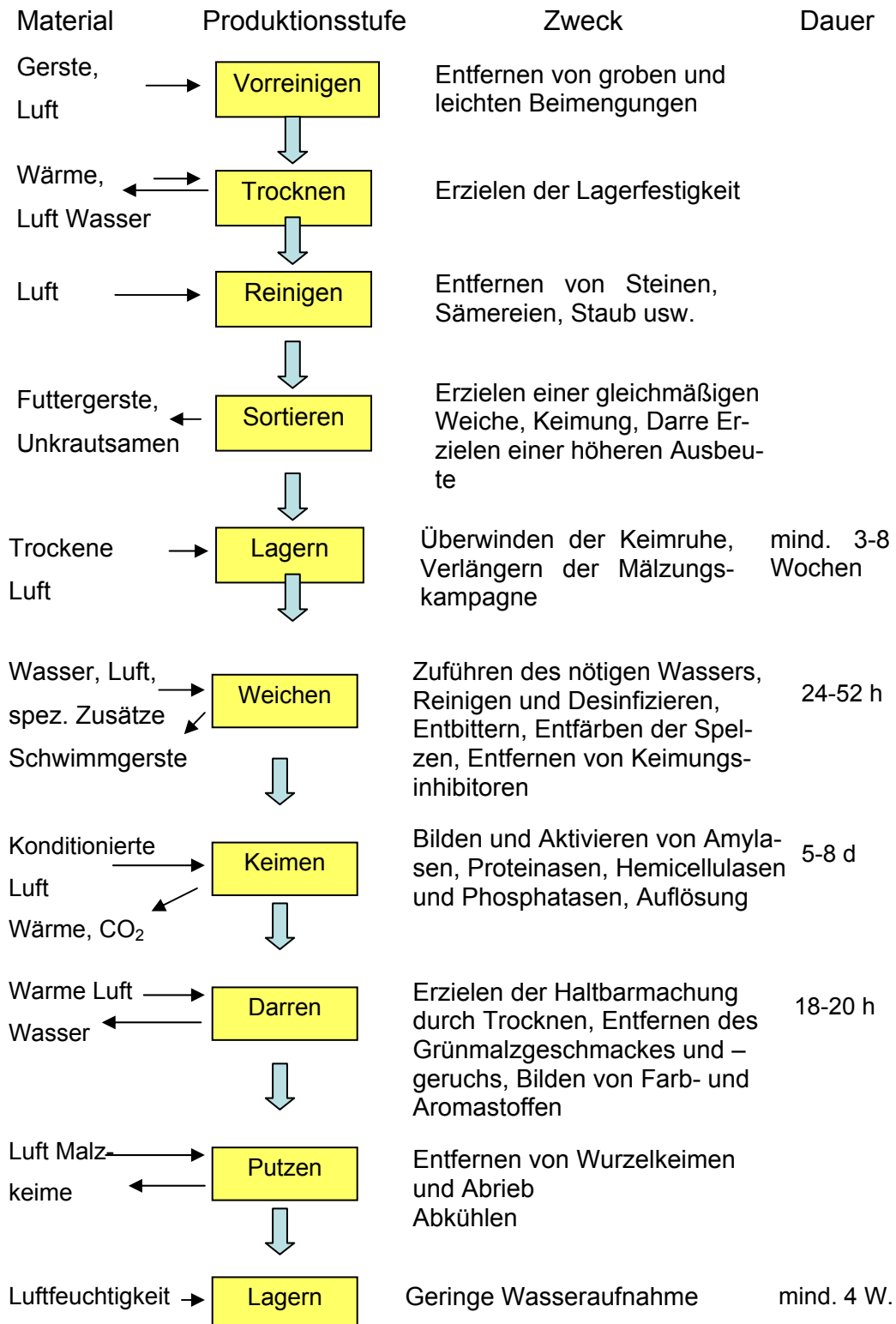
Die Braugerste bzw. der -weizen müssen zuerst von den unvermälzbaren Bestandteilen getrennt und nach ihrer Korngröße sortiert werden, denn nur gleichmäßig großes Gut zeigt eine gleichmäßige Wasseraufnahme in der Weiche und sodann gleichmäßige Keimung. Durch den Keimvorgang werden im Korn verschiedene Enzyme gebildet, welche die gewünschten Umwandlungen der im Getreidekorn aufgespeicherten Reservestoffe herbeiführen.

#### **1.2.1 Das Lagern**

Frisch geerntete Gerste keimt fast immer schlecht aus. Ihre für die Vermälzung notwendige höchste Keimenergie gewinnt sie erst im Laufe einer sachgemäßen Lagerung. Die Vorgänge der Nachreife sind äußerlich mit einer Verminderung des Wassergehaltes der Gerste und mit CO<sub>2</sub>-Entwicklung verbunden. Dabei werden im Korninneren Gerüststoffe enzymatisch abgebaut und in lösliche Substanzen übergeführt, die vom Keimling verwertbar sind.

Durch Herauslösen der Gerüststoffe entstehen feine Hohlräume, die das Quellvermögen des Gerstenkornes beeinflussen. Während einer sachgemäßen Lagerung gleicht sich die Keimenergie der absoluten Keimfähigkeit mehr und mehr an. Nach einer wertsteigernden Lagerung muss die Gerste bis zur Verarbeitung werterhaltend aufbewahrt werden [3].

## Prozess der Malzherstellung



### **1.2.2 Das Weichen**

Lagernde Gerste hat einen Wassergehalt von mindestens 12 % (Konstitutionswasser). Er soll niedrig sein, um die Stoffwechselforgänge der Gerste auf ein Minimum zu beschränken und mikrobiologische Verderbprozesse zu unterbinden. Durch Wasseraufnahme in der Weiche wird die Keimruhe aufgehoben. Temperaturen von 12 - 15 °C und die Gegenwart von ausreichend Sauerstoff bewirken in der Weiche die Aktivierung und Bildung von Enzymen, die Entwicklung der Gewebe des Keimlings und den Beginn der Bildung von Wurzel und Blattkeim. Das Weichen dient auch einer Reinigung der Gerste. Das Erreichen der Maximalfeuchte, die zur Erzielung der gewünschten Auflösung des Mehlkörpers benötigt wird, erfolgt zweckmäßig erst bei der Keimung [1; 3].

### **1.2.3 Die Keimung**

Bei der Keimung von Getreide entwickeln sich die im Keimling angelegten Organe. Die in der Mälzerei durchgeführte künstliche Keimung unterscheidet sich – zumindest in den ersten Stufen – nicht von der natürlichen. Jedoch muss die Technologie der Gerstenkeimung so geleitet werden, dass das Wachstum des Keimlings hauptsächlich der Bildung von wichtigen Enzymen und einer bestimmten Umwandlung des Mehlkörpers dient. Die Keimung verläuft nur unter bestimmten Bedingungen. So müssen genügend Feuchtigkeit, günstige Temperaturen und Luft bzw. Sauerstoff gegeben sein, um die Keimung einzuleiten.

So erfahren die Lebenserscheinungen im Korn bereits bei einem Wassergehalt von ca. 30 % eine deutliche Steigerung, bei ca. 38 % keimt die Gerste am raschesten und gleichmäßigsten an, während zur Entwicklung der Enzyme und zur Erzielung der gewünschten Auflösung des Mehlkörpers eine Feuchte von 44 - 48 %, z.T. sogar darüber, erforderlich ist.

Die Keimung soll bei 15 - 17 °C erfolgen. Es genügt nicht, die Gerste beim Keimen sich selbst zu überlassen. Bei den verschiedenen Mälzungssystemen (Tennen-, Kasten-, Trommelmälzereien) wird die keimende Gerste in wechselnden Abständen gewendet. Durch das ständige Wenden wird die bei der Atmung entstehende Kohlensäure abgeführt, damit das Keimgut nicht erstickt und zu faulen beginnt.

### **1.2.4 Das Darren**

Das wasserhaltige Grünmalz ist leicht verderblich und muss deshalb durch einen entsprechenden Wasserentzug in einen lagerfesten Zustand überführt werden. Außerdem sollen die chemisch-biologischen Umsetzungen zum Abschluss gebracht und die Zusammensetzung des Malzes festgelegt werden. Daneben ist es der Zweck des Darrens, den rohfruchtartigen Geruch und Geschmack des Grünmalzes zum Verschwinden zu bringen und dem Malz ein je nach Typ charakteristisches Aroma und eine bestimmte Farbe zu verleihen. Beim Darren ist viel Fingerspitzengefühl notwendig, damit die Enzyme nicht inaktiviert werden. Sie widerstehen der Hitze umso besser, je trockner das Malz ist. Das Malz muss also erst getrocknet und dann geröstet werden.



Durch die Steuerung dieser beiden Phasen lassen sich sehr unterschiedliche Malzqualitäten herstellen, wobei prinzipiell zwischen hellem und dunklem Malz unterschieden wird. Zuerst erfolgt das Schwelken, d.h. die Entwässerung des Grünmalzes bei niedrigen Temperaturen bis auf einen Wassergehalt von 10 %. Danach beginnt der eigentliche Trockenvorgang. Bei hellem Malz muss die Trocknung schnell, bei niedrigen Temperaturen (ca. 35 °C) und starkem Luftzug geschehen, um die Bildung von zu vielen Aromastoffen zu vermeiden. Will man Dunkelmalz, beginnt man eine langsame Vortrocknung bei bereits verhältnismäßig hoher Temperatur, wodurch mehr zufärbende Stoffe gebildet werden. Hierzu wird das Grünmalz auf einer Darre mit heißer Luft auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 3 - 4 % getrocknet. Zum Entwässern und Darren des Grünmalzes werden Malzdarren verwendet. Die verschiedenen Konstruktionen werden entweder auf direktem oder indirektem Weg beheizt durch Heißluft oder Heizgasgemische. Die wesentlichen Darrkonstruktionen sind nach Anordnung der Horden unterteilt und sind heute überwiegend Einhordenhochleistungsdarren. Wie lange die „Röstung“ dauert, hängt davon ab, für welches Bier das Malz verwendet werden soll. Die Abdarrtemperatur beträgt für hellem Malz 75 - 80 °C, die des dunklen Malzes 105 - 120 °C [1; 3].

#### **1.2.5 Das Entkeimen**

Nach dem Abkühlen wird das Darrgut in rotierenden Siebbehältern von den Wurzelkeimen getrennt. Das Entkeimen muss bald im Anschluss an das Abräumen der Darre erfolgen, da die hygroscopischen Malzkeime sehr rasch Wasser anziehen und dann nicht mehr restlos entfernt werden können. Eine unzulängliche Entkeimung ist zu beanstanden, da die Keime zufärbend wirken, einen bitteren Geschmack vermitteln und zu einer raschen Wasseraufnahme des Malzes Anlass geben. Die abgeschlagenen Wurzelkeime fallen durch enge Schlitze und werden als sehr begehrtes, eiweißreiches Futtermittel verkauft.

Der Mälzungsschwund beträgt etwa 20 - 25 %. Aus 100 kg Gerste werden daher rund 80 kg Malz gewonnen [1; 3]. Der Anteil von Malzkeimen beträgt – bezogen auf das Gesamtgewicht des Malzes - zwischen 3 bis 4 %. Vor der Abgabe des Malzes wird dieses noch „poliert“. Hierunter sind das Abreiben etwa noch anhaftender Malzkeime und abstehender Spelzenteile sowie eine gründliche Entstaubung zu verstehen. Auch wird der bei Entleerung von Silos, auf den Transportwegen usw. anfallende Abrieb entfernt.

### **1.3 Auswirkungen des Mälzungsprozesses auf die mikrobiologische Beschaffenheit von Malzkeimen**

Die wichtigsten beeinflussenden Stationen auf die mikrobiologische Beschaffenheit sind das Weichen, Keimen und Darren.

Zu Beginn des Mälzens wird der Wassergehalt der Körner durch Einweichen auf 44 - 48 % angehoben. Nach dem Weichen folgt die Keimung, wobei es innerhalb von ca. 7 Tagen bei Temperaturen von 12 - 18 °C und einer intensiven Belüftung und Wendung des Keimgutes aufgrund der En-

zymaktivierung zu ersten Stoffumsetzungen kommt. Dabei erwärmt sich das Keimgut in den verschiedenen Mälzungssystemen. Neben Keimverfahren mit konstanten Keimtemperaturen werden auch steigende oder fallende Keimtemperaturen angewendet. Bei Anwendung von fallenden Keimtemperaturen wird mit relativ hohen Temperaturen in der „biologischen“ Phase (16 bis 20 °C) gearbeitet und nach etwa drei Keimtagen eine rasche Abkühlung des Keimgutes auf 11 bis 14 °C vorgenommen. Die Methode der fallenden Temperaturen begünstigt ein rasches Wachstum der Keimlinge und eine gute Enzyymbildung, aber auch die Vermehrung von vorrangig epiphytären Mikroorganismen, die im psychophilen bis mesophilen Temperaturbereich ihr Wachstumsoptimum haben.

Die günstigsten Temperaturen für die Entwicklung der Mikroflora sind Temperaturen zwischen 20 °C und 35 °C. Aber auch im psychophilen Bereich ab 5 °C als auch im thermophilen Temperaturbereich bis 50 °C ist ein Wachstum von Mikroorganismen möglich.

Das Darren führt zu einem mikrobiologisch stabilen Darrmalz. Bei Ansteigen der Temperatur von 50 °C auf 65 °C innerhalb von 12 Stunden reduziert sich der Wassergehalt der gekeimten Körner (= Grünmalz) auf 10 - 12 %. Zumindest im ersten Darrabschnitt, solange der Wassergehalt noch ausreichend hoch ist und die Temperaturen unter 45 °C liegen, herrschen ideale Entwicklungsbedingungen, die zu einer weiteren Vermehrung einiger Mikroorganismengattungen führen.

Anschließend erfolgt das eigentliche Trocknen des Malzes bei Temperaturen von 80 - 105 °C für 4 - 5 Stunden, wodurch der Wassergehalt bis auf 1,5 - 4 % gesenkt wird. In dieser Periode stellen die Mikroorganismen ihr Wachstum ein, einige sterben ab, die meisten Zellen aber stellen ihre Stoffwechsellätigkeit durch Verlust von Zellflüssigkeit nahezu ein und werden konserviert.

Vom Darrmalz ließen sich laut WEIDENBÖRNER [6] verschiedene Schimmelpilze isolieren, wie z.B. *Mucor* (98 % der Körner) und *Penicillium* (42 %). Andere Autoren beobachteten eine starke Vermehrung von *Aspergillus flavus* und *Rhizopus* während des Darrens. Dominierende Hefe-Spezies waren *Rhodotorula* und *Candida*, wie auch *Pichia* und *Hansenula*. [2;4;5]

## Literatur

- [1] Aus Gerste wird Malz – Der Malzvorgang. [www.bierundwir.de](http://www.bierundwir.de)
- [2] BAUMGART, J. (1999): Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag.
- [3] NARZISS, LUDWIG (2001): Abriß der Bierbrauerei. 6. Auflage; Wiley-Verlag, Weinheim
- [4] SPICHER, G. (1968): Die Mikroflora des Getreides und ihre Wirkung auf die Qualität des Getreides und der Getreideprodukte. Veröffentlichungen der Bundesforschungsanstalt für Getreideverarbeitung Berlin und Detmold, Nr. 3612
- [5] VILGALYS, R., HESTER, M. (1990): Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. J. Bacteriol. 172: 4238-4246.
- [6] WEIDENBÖRNER, M. (1999): Lebensmittel-Mykologie. Behr's Verlag, Hamburg.

## 2 Mikrobiologische Untersuchungen von Malzkeimen und Erfassung von Begleitparametern

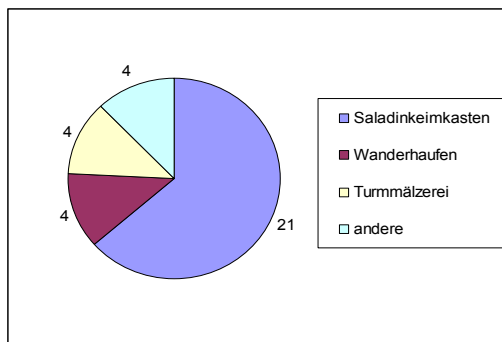
Henriette Mietke-Hofmann, Anke Kretzschmar

### 2.1 Herkunft des Probenmaterials und Erfassung technologischer Parameter

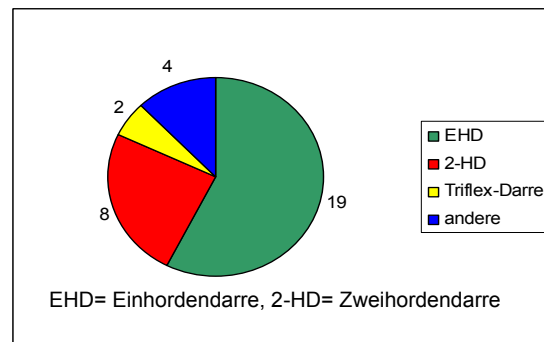
Die Malzkeime, lose und in pelletierter Form, wurden freundlicherweise aus insgesamt 35 Mälzereien des Deutschen Mälzerbundes zur Verfügung gestellt. Der Untersuchungsbeginn lag im September 2003. Zu dieser Zeit wurde in den Mälzereien noch Getreide der Ernte 2002 verarbeitet. Um mögliche Unterschiede zwischen den Erntejahren zu erfassen, wurden die Betriebe von September 2003 bis Januar 2005 beprobt. Somit gingen insgesamt 28 pelletierte und 74 lose Malzkeimproben aus den Erntejahren 2002, 2003 und 2004 in die Untersuchung ein. In einem technologischen Datenblatt wurden folgende mälzereitechnische Spezifika in den Betrieben abgefragt, die eventuell einen Einfluss auf die mikrobiologische Beschaffenheit der Malzkeimprodukte haben könnten:

- Produktbezeichnung (Malzkeime lose/pelletiert)
- Herstellungswoche
- Getreideart (Gerste/Weizen)
- Getreideaufbereitung
- Mälzungssystem
- Darrsystem
- Abdarrtemperatur/-zeit
- Zusatz von Getreide-/Malzabrieb
- Pelletiertemperatur
- Entkeimungssystem

**Mälzungssystem**



**Darrsystem**



**Abbildung 1: Technologische Parameter der untersuchten Mälzereien**

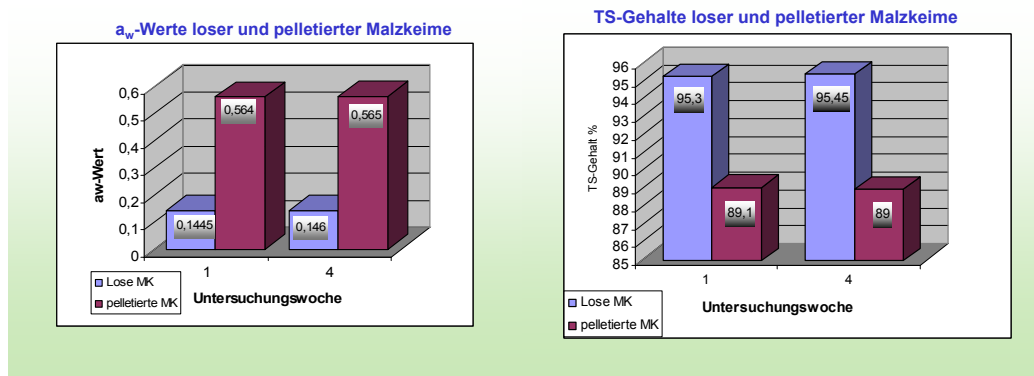
Dazu ist anzumerken, dass alle Malzkeimproben von vermälzter Gerste (hauptsächlich Sommergerste) stammen. 25 Betriebe (76 %) setzten Getreide- und Malzabrieb zu. Bei der Mälzung fand vorrangig der Keimkasten Anwendung, das hauptsächlich verwendete Darresystem bestand in der Einhordendarre (Abb. 1). Die verwendeten Abdarrtemperaturen bewegten sich zwischen 80 °C und 86 °C.

Bei der Verpressung (Pelletierung) loser Malzkeime schwankte die Prozesstemperatur in den einzelnen Betrieben zwischen 40 °C und 70 °C.

## 2.2 Bestimmung von pH-Wert, $a_w$ -Wert und TS-Gehalt

Diese Parameter wurden in der Woche des Probeneinganges sowie nach vierwöchiger trockener Lagerung (in verschlossenen Plastikbehältern) im Labor erhoben.

- Die pH-Wertmessung diente im Zusammenhang mit der Quantifizierung von Milchsäurebakterien dem Nachweis von Gärprozessen während des Mälzvorganges, die mit einer pH-Werterniedrigung und erhöhten Milchsäurebakteriengehalten verbunden sind. TS-Gehalt und  $a_w$ -Werte sind entscheidende Parameter zur Beurteilung der mikrobiologischen Stabilität von organischen Materialien. Von ihrer Größe hängt entscheidend ab, ob ein mikrobielles Wachstum im Substrat überhaupt möglich ist.
- Die Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert) ist für die Einschätzung der mikrobiologischen Stabilität sehr viel aussagekräftiger als der in Prozent ausgedrückte Gesamtwassergehalt eines Produktes, da sie den Gehalt des frei verfügbaren Wassers im Substrat angibt. Nur dieser Wasseranteil ist für Stoffwechselaktivitäten von Mikroorganismen nutzbar, chemisch gebundenes Wasser hingegen nicht. Wird der Mindest- $a_w$ -Wert einer Mikroorganismengruppe unterschritten, so sterben die Zellen entweder ab oder stellen ihre Stoffwechselaktivitäten ein. Bakteriell Wachstum ist zumeist ab einem  $a_w$ -Wert > 0,91 möglich, der minimale  $a_w$ -Wert der meisten Hefen liegt bei 0,88, der der Schimmelpilze bei 0,80. Einige osmophile oder xerophile („trockenliebende“) Hefe- und Schimmelpilzspezialisten können noch bis zu einem  $a_w$ -Wert von 0,62 wachsen.
- Die  $a_w$ -Werte aller losen Malzkeime lagen im Mittel bei 0,1445 (TS-Gehalt 95,3 %), die der pelletierten Produkte bei 0,564 (TS-Gehalt 89,1 %). Somit liegen alle Werte in einem Bereich, der Stoffwechselaktivitäten von Mikroorganismen und somit einen mikrobiologischen Verderb ausschließt. Der höhere Wassergehalt der pelletierten Produkte erklärt sich daraus, dass zur Pelletherstellung den losen Malzkeimen Wasser zugegeben wird. Dies erhöht die Bindungsfähigkeit und ein Pelletieren wird dadurch erst möglich.  
Die Wiederholungsmessungen nach 4-wöchiger trockener Lagerung erbrachte leicht gestiegene  $a_w$ -Werte, da Malzkeime stark hygroskopisch sind (Abb. 2). In der Praxis müssen Malzkeime deshalb unbedingt sorgfältig und trocken gelagert werden.



**Abbildung 2:  $a_w$ -Wert und TS-Gehalte loser und pelletierter Malzkeime im Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt**

- Die pH-Werte loser und pelletierter Malzkeime wurden aus einer Suspension mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 20, die 20 Minuten im Stomacher homogenisiert wurde, bestimmt. Die pH-Werte lagen für beide Produktgruppen mehrheitlich um 5,62. (von 4,73 bis 6,35). Eine gequetschte Gerstenprobe wies vergleichsweise einen pH-Wert von 5,8 auf. Das verdeutlicht, dass mikrobielle Stoffwechselprozesse mit der Bildung saurer Verbindungen während des Mälzprozesses von untergeordneter Bedeutung sind.

### 2.3 Mikrobiologische Untersuchungen

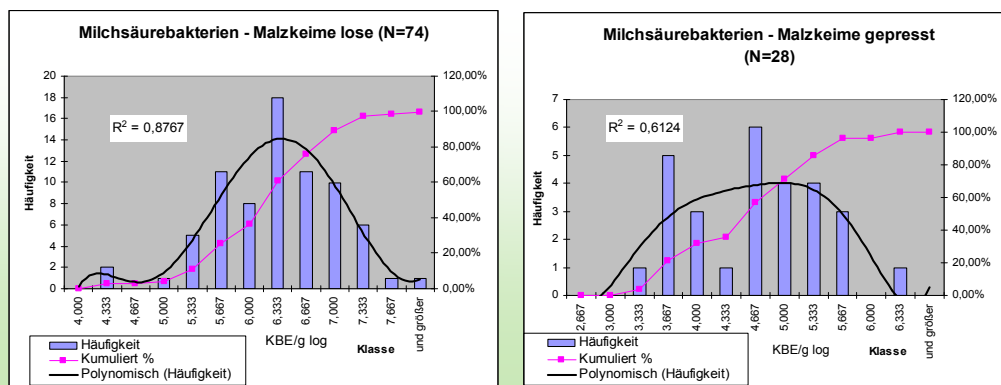
Die Studie erstreckte sich von September 2003 bis Januar 2005. Somit gingen Produkte von Braugetreide der Erntejahre 2002, 2003 und 2004 in die Auswertung ein. Dieser lange Zeitraum war nötig, da während der Untersuchungen die Erkenntnis reifte, dass der Besatz an epiphytischen Mikroorganismen des Getreides einen großen Einfluss auf die Keimgehaltsentwicklung der Malzkeime hat. Die klimatischen Bedingungen zum Zeitpunkt der Ernte sind wiederum ausschlaggebend für die Besatzdichte an epiphytischen Mikroorganismen auf dem Getreide.

Während das Erntejahr 2002 extrem feucht war, erwies sich die Witterung zum Zeitpunkt der Ernte im Jahre 2003 als sehr trocken. Daher wurde der bis dahin gewonnene Datenpool mit weiteren Proben aus dem Erntejahr 2004 ergänzt. Sowohl die klimatischen Einflüsse als auch prinzipielle Unterschiede in der Prozessführung der einzelnen Betriebe bedingten sehr hohe Streuungen bei der Keimzahlbestimmung der einzelnen Keimgruppen. Daher wird in der folgenden Ergebnisdarstellung für die Beschreibung mittlerer Keimgehalte stets der Medianwert verwendet. Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden in der Woche des Probeneingangs sowie wiederholend nach vier Wochen durchgeführt.

### 2.3.1 Bestimmung der Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien gehören in geringem Umfang zur normalen epiphytären Pflanzenflora und können sich im feuchten Milieu bei entsprechendem Nährstoffangebot unter mikroaerophilen bis anaeroben Bedingungen massiv vermehren. Als Milchsäurebakterien wurden alle katalase-negativen Kolonien angesprochen, die auf Rogosa-Agar bei 30 °C nach 48 h im anaeroben Milieu wuchsen. Der durchschnittliche Gehalt an Milchsäurebakterien (Medianwert) über alle Untersuchungsjahre lag bei  $1,69 \times 10^6$  KBE/g für lose Produkte. Der Pelletiervorgang führte zu einer starken Reduzierung dieser Keimgruppe, der Medianwert für diese Produkte lag bei  $0,04 \times 10^6$  KBE/g (siehe Abb. 3).

Die relativ geringfügige pH-Wertabsenkung im Substrat (siehe 2.2 letzter Absatz) ist ein Hinweis dafür, dass während des Mälzvorganges nur geringgradige fermentative Aktivitäten von Milchsäurebakterien ausgingen. Trotz des relativ massiven Auftretens spielt diese Mikroorganismengruppe für die Produktqualität und -stabilität bei den Malzkeimen keine Rolle.



**Abbildung 3: Häufigkeitsverteilung der Milchsäurebakteriengehalte loser und pelletierter Malzkeime**

### 2.3.2 Bestimmung der Keimgehalte an Bakterien, Hefen, Schimmel- und Schwärzepilzen

Die Bestimmung an aeroben mesophilen Bakterien, Hefen, Schimmel- und Schwärzepilzen erfolgte nach der VDLUFA-Verbandsmethode Methodenbuch III 28.1.2. Mit ihr werden 19 sogenannte Indikatorkeime erfasst, die in 7 produkttypische bzw. verderbanzeigende Keimgruppen eingeordnet sind (siehe Tabelle 1). Diese Methodik findet generell Anwendung, wenn Futtermittel mikrobiologisch auf ihre handelsübliche Reinheit und Unverdorbenheit gemäß §24 LFGB untersucht werden. Die gewonnenen Keimzahlen sind somit direkt mit bereits bestehenden Orientierungswerten für Einzel- und Mischfuttermittel vergleichbar und in das vorhandene Orientierungswertschema integrierbar.

### 2.3.2.1 Bestimmung der Keimgehalte aerober mesophiler Bakterien

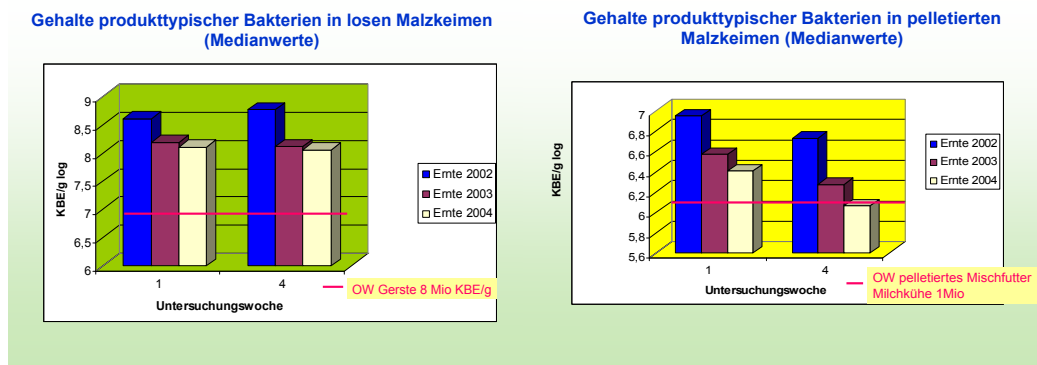
Als aerobe mesophile Bakterien werden sowohl produkttypische (feldbürtige) Bakterien (Gelbkeime, Pseudomonas/Enterobakterien, Sonstige) als auch verderbanzeigende Bakterien (Bacillus, Staphylococcus/Micrococcus) sowie Streptomyceten erfasst (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1: Indikatorkeime und deren Eingruppierung in die 7 Keimgruppen**

Gruppe	Bedeutung	Keimgruppe	Indikatorkeime innerhalb der Keimgruppe (Nr.)
aerobe mesophile Bakterien	produkttypisch	KG 1	Gelbkeime (1)
			Pseudomonas/Enterobacteriaceae (2)
			sonstige produkttypische Bakterien (3)
	verderbanzeigend	KG 2	Bacillus (4)
			Staphylococcus/Micrococcus (5)
		KG 3	Streptomyceten (6)
Schimmel- und Schwärzepilze	produkttypisch	KG 4	Schwärzepilze (7)
			Verticillium (8)
			Acremonium (9)
			Fusarium (10)
			Aureobasidium (11)
			sonstige produkttypische Pilze (12)
	verderbanzeigend	KG 5	Aspergillus (13)
			Penicillium (14)
			Scopulariopsis (15)
			Wallemia (16)
			sonstige verderbanzeigende Pilze (17)
	KG 6	Mucorales (Mucoraceen) (18)	
Hefen	verderbanzeigend	KG 7	alle Gattungen (19)

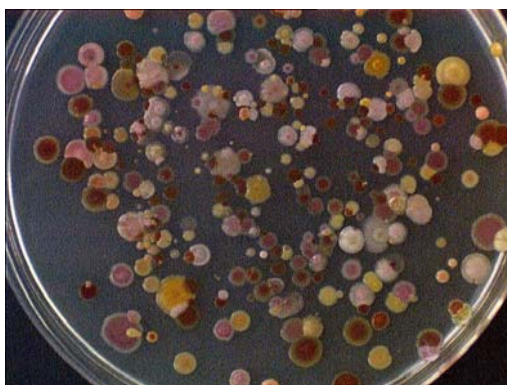
Die entscheidende Besonderheit der mikrobiologischen Beurteilung der Malzkeime bestand in der starken Vermehrung **produkttypischer Bakterien** (KG 1). Der Medianwert für lose Produkte über alle drei Erntejahre lag bei  $183 \times 10^6$  KBE/g, der Orientierungswert (OW) für Gerste liegt vergleichsweise bei  $8 \times 10^6$  KBE/g. Der Pelletierungsprozess reduziert diese Mikroorganismengruppe auf  $2,67 \times 10^6$  KBE/g. Im Vergleich hierzu besteht für pelletierte Mischfuttermittel ein OW von  $1 \times 10^6$  KBE/g (siehe Abb. 4 rechts).

Sowohl bei den losen, besonders aber bei den pelletierten Proben trat der Unterschied zwischen den Erntejahren 2002 und 2003/04 deutlich zutage. Bei unveränderter Brauereitechnologie spielt der epiphytäre Ausgangskeimbesatz eine entscheidende Rolle für die Vermehrungsmöglichkeit dieser Mikroorganismen während des Mälzprozesses.



**Abbildung 4: Keimgehalte produkttypischer Bakterien loser und pelletierter Malzkeime in Abhängigkeit vom Erntejahr der Braugerste**

Neben Gelbkeimen und anderen gramnegativen Stäbchen traten vor allem die coryneformen Bakterien innerhalb der KG 1 massiv auf. Differenziert werden konnten vor allem *Arthrobacter*-Arten. Diese Mikroorganismen kommen zumeist in geringer Zahl epiphytär auf Getreide vor und können offensichtlich die besondere Situation in der Mälzerei, die hohe Feuchtigkeit während der Weiche, zur starken Vermehrung der bestehenden Population nutzen. Die Gattung *Arthrobacter* umfasst obligat aerobe, katalase-positive asporogene grampositive kokkoide Stäbchen, die vorwiegend im Boden, auf Pflanzen und im Wasser vorkommen. Als pathogene Erreger spielen sie keine Rolle. Im Zuge dieser Arbeiten konnte eine neue *Arthrobacter*-Spezies gefunden werden, deren partielle 16S rRNA Gensequenz die höchste Ähnlichkeit zu *Arthrobacter nicotianae* aufwies. Der Stamm wurde bisher bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen Braunschweig (DSMZ 16024) sowie der Czech Collection of Microorganisms (CCM 7210) in Brno hinterlegt.



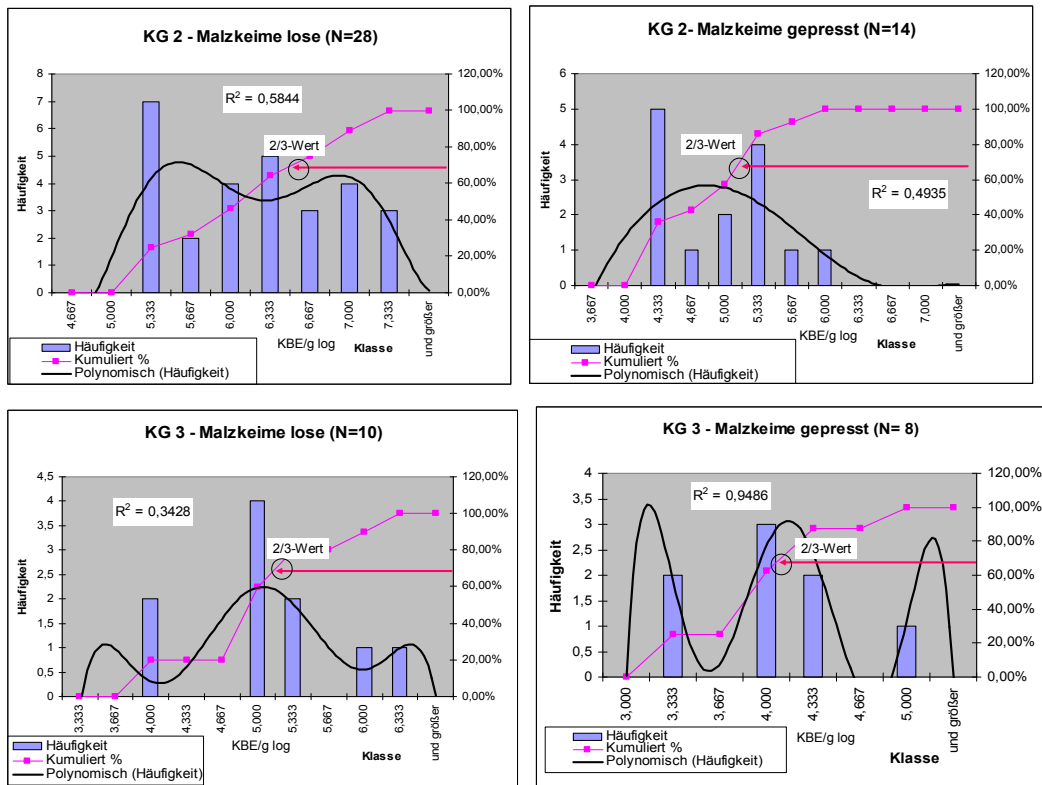
**Abb. 5: Mischflora produkttypischer Bakterien mit gramnegativen Stäbchen und Coryneformen**



**Abb. 6: Massives Auftreten coryneformer Bakterien als dominierende produkttypische Malzkeimflora**



**Verderbanzeigende Bakterien** der KG2 und KG3 traten weder bei losen noch bei pelletierten Malzkeimen besonders in Erscheinung. Eine Darstellung als Mittelwert oder Median ist bei diesen Keimgruppen wenig sinnvoll, da bei zahlreichen Proben die Keimgehalte der verderbanzeigenden Bakterien unterhalb der Nachweisgrenze lagen und die Streuung extrem groß war. Die folgenden Abbildungen veranschaulichen deshalb die Häufigkeitsverteilung der ermittelten Keimgehalte für die Proben mit nachweisbaren Befunden. Diese Darstellungen dienten der Ableitung des 2/3-Wertes für die weitere Definition von Orientierungswerten für die jeweilige Keimgruppe (siehe Abb. 7).



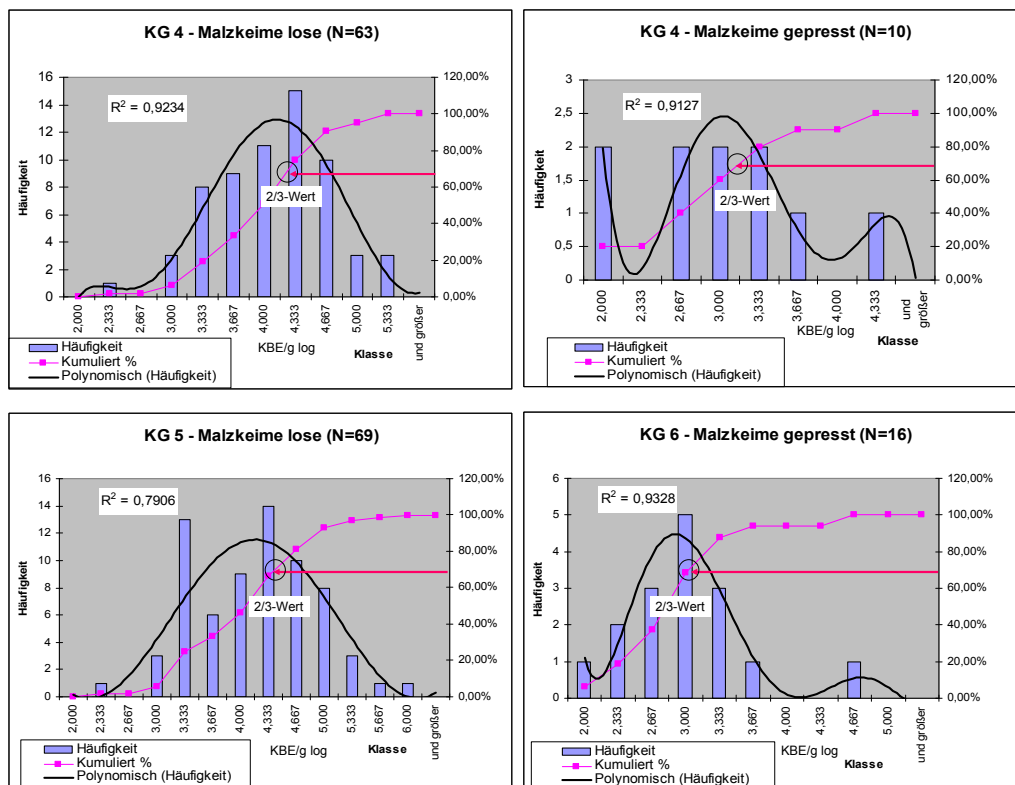
**Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung der verderbanzeigenden Bakterien (KG2 und 3) für Proben mit nachweisbaren Bakteriengehalten**

### 2.3.2.2 Bestimmung der Keimgehalte von Schimmel- und Schwärzepilzen

Produkttypische Schimmelpilze (KG4) wie Schwärzepilze, Fusarien, Verticillium, Acremonium u.a. wurden sowohl bei losen als auch pelletierten Malzkeimen in ähnlicher Häufigkeit detektiert, wie vergleichsweise bei Getreide bzw. pelletierten Futtermitteln. Der Mälzereiprozess führt zu keiner Anreicherung dieser Teilflora. Die Abbildungen 8 verdeutlichen wiederum die Häufigkeitsverteilung der Keimgehalte all jener Proben, die produkttypische Schimmelpilze oberhalb der Nachweisgrenze aufwiesen.

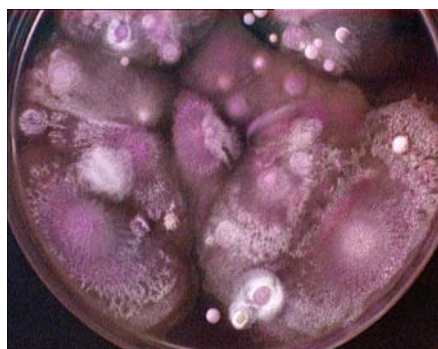
Potenziell mykotoxinbildende Fusarien konnten nachgewiesen werden, allerdings nicht in größerem Umfang als bei Gerste und anderem Getreide.

Die typische verderbanzeigende Lagerpilzflora der KG5 (z.B. *Aspergillus*, *Penicillium* und *Wallemia sebi*), kann die Bedingungen des Mälzereiprozesses auch nicht für ihre Vermehrung nutzen. Diese Schimmelpilze sind zum Zeitpunkt der Ernte normalerweise nur in geringem Umfang auf Getreide nachweisbar, folglich erfuhren sie auch während des Mälzprozesses keine wesentliche Vermehrung. Die extrem niedrigen  $a_w$ -Werte im Endprodukt Malzkeime lassen auch das Wachstum xerophiler Spezialisten wie *Aspergillus glaucus* und *Wallemia sebi* nicht zu.



**Abbildung 8:** Häufigkeitsverteilung der produkttypischen (KG4) und verderbanzeigenden (KG5) Schimmelpilze für Proben mit nachweisbaren Gehalten

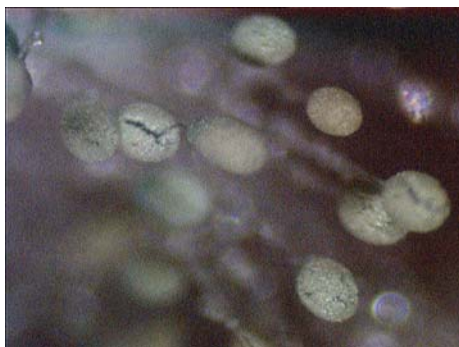
Lediglich der Deuteromycet *Galactomyces geotrichum* (anamorph: *Geotrichum candidum*), der auf Grund seiner Hyphenbildung und der fehlenden Sprossungsfähigkeit den Schimmelpilzen zuzuordnen ist, konnte in einigen losen Malzkeimproben verstärkt isoliert werden. Die Keimzahlen schwankten bei losen Malzkeimen zwischen 0 und  $400 \times 10^3$  KBE/g, die Pelletierung überlebt der Mikroorganismus kaum. *Galactomyces geotrichum*, auch „Milchsimmel“ genannt,



**Abbildung 9:** *Galactomyces geotrichum* auf Malzextraktagar

gilt als verderbanzeigender Schimmelpilz der KG 5, hat pektinolytische und lipolytische Eigenschaften und kann u.a. Milchsäure abbauen [4]. Er ist weltweit in Böden, auf Pflanzenresten, in Silagen, Brot, Milchprodukten, Früchten und fermentierten oder flüssigen Futtermitteln zu finden. Mit seinem pH-Optimum von 5 - 5,5 und seiner Fähigkeit, anaerob zu wachsen, wird er häufig bei feuchten Verderbprozessen, in Silagen und in Gärung übergegangenen Produkten isoliert. Der Erreger findet während des ersten Mälzabschnittes optimale Wachstumsbedingungen.

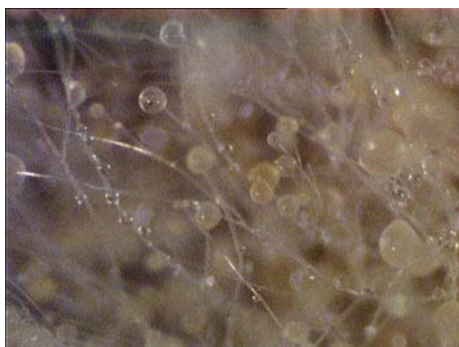
*Galactomyces geotrichum* gilt als Kontaminant in klinischen Materialien. Nach seiner Aufnahme passiert der Keim den Verdauungstrakt nahezu unverdaut, bedingt durch seine hohe Säureresistenz (pH Bereich 2,5 - 8,1) und der Fähigkeit des anaeroben Wachstums. Deshalb wird der Keim oft aus Fäces isoliert. Nachweise von mehr als  $10^3$  KBE/g gelten als unnormal. *Galactomyces geotrichum* ist generell nicht in der Lage, in Gewebe einzudringen, klinische Erkrankungen sind selten. Da der Erreger im Zusammenhang mit Mastitiden des Rindes genannt wird, sollte er bei der mikrobiologischen Beurteilung der Malzkeime besondere Beachtung finden.



**Abb. 10: *Aspergillus clavatus*-Kultur aus Malzkeimen (50-fache Vergrößerung)**

Eine Besonderheit stellte das wiederholte Vorkommen des sonst auf Getreide sehr seltenen Lagerpilzes *Aspergillus clavatus* dar. Mit einem optimalen  $a_w$ -Wert von 0,98 - 1,0 für die Sporenbildung bei einem Temperaturoptimum von 20 - 25 °C [2] gehört dieser Schimmelpilz zu den feuchteliebendsten Aspergillen, der sich während der Weiche wahrscheinlich optimal entwickeln kann und deshalb quantitativ in Erscheinung tritt. Sein Auftreten ist insofern bedeutsam, als der Schimmelpilz in der Lage ist, das Mykotoxin Patulin zu bilden. Bekannt unter dem Fachbegriff

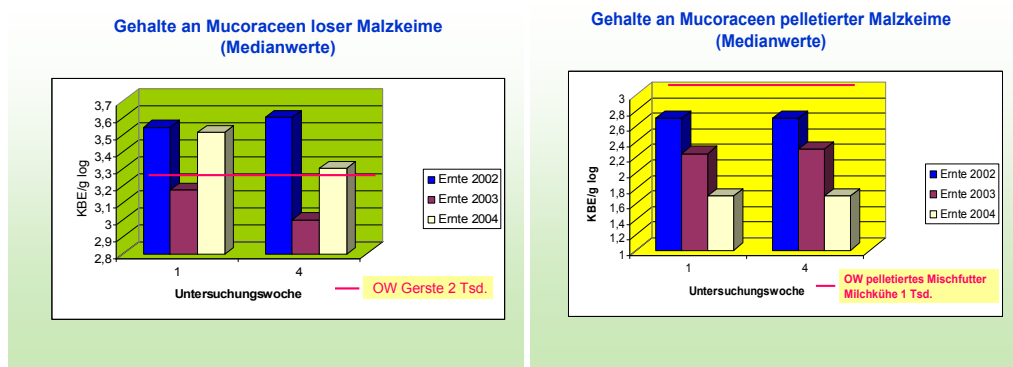
„Malzkeimvergiftung“ wurden in den letzten Jahrzehnten in verschiedenen europäischen Ländern Vergiftungen bei Rindern mit einheitlichem klinischen Bild nach Verfütterung von Malzkeimen und anderen Futtermitteln mit *Aspergillus clavatus* beschrieben [1; 3; 4]. Weiterhin wird der Schimmelpilz im Zusammenhang mit der berufsbedingten Schimmelpilzallergie „Malzarbeiter-Krankheit“ genannt, die durch die Sporen von *Aspergillus clavatus* und anderen Spezies verursacht wird [2].



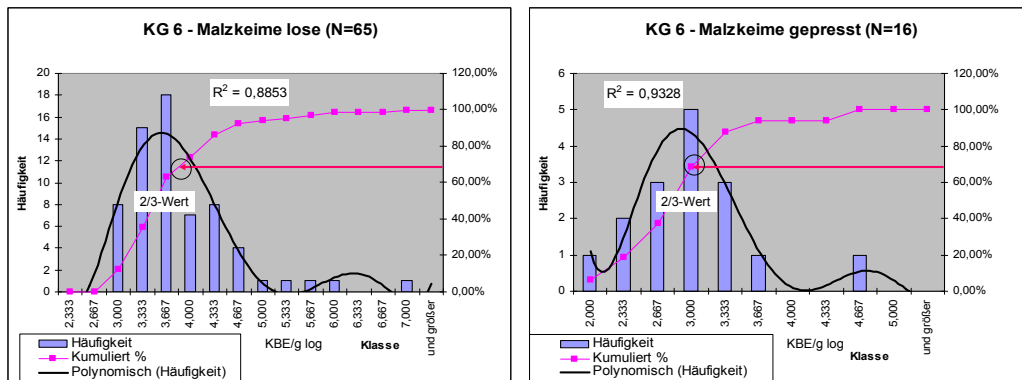
**Abb. 11: *Mucor* aus Malzkeimen (50-fache Vergrößerung)**

Die in der Futtermittelmikrobiologie gesondert erfassten Mucorales (KG 6), die auch als verderbanzeigende Schimmelpilze gewertet werden, traten besonders in losen Malzkeimen der Gerste aus dem feuchten Erntejahr 2002 deutlich in Erscheinung. Mucorales sind eigentlich untypisch auf frischem Getreide, aber durch die starke Feuchtigkeit waren im Jahre 2002 optimale Wachstumsbedingungen für

diesen Schimmelpilz schon auf dem Feld gegeben. Bei der anschließenden Weiche konnte sich das Mycel wahrscheinlich weiter optimal entwickeln. In den folgenden Erntejahren 2003/2004 hingegen spielten Mucorales auf dem Feld keine Rolle, folglich konnte eine wesentliche Vermehrung in der Mälzerei nicht stattfinden. Der Medianwert für lose Produkte über alle drei Erntejahre lag bei  $3,0 \times 10^3$  KBE/g, der Orientierungswert für Gerste liegt vergleichsweise bei  $2 \times 10^3$  KBE/g. Der Pelletierungsprozess reduziert auch diese Mikroorganismengruppe, der Medianwert aller untersuchter pelletierter Produkte lag bei  $0,175 \times 10^3$  KBE/g verglichen mit dem OW von  $1 \times 10^3$  KBE/g für ein pelletiertes Mischfuttermittel. Mykotoxikologisch spielen Mucoraceen keine Rolle und es ist davon auszugehen, dass die Verfütterung von Malzkeimen auch mit höheren Mucoraceen-Gehalten aus veterinärmedizinischer Sicht unbedenklich ist.



**Abbildung 12: Keimgehalte an Mucorales loser und pelletierter Malzkeime in Abhängigkeit vom Erntejahr der Braugerste**



**Abbildung 13: Häufigkeitsverteilung der Mucorales (KG6) für Proben mit Gehalten oberhalb der Nachweisgrenze**

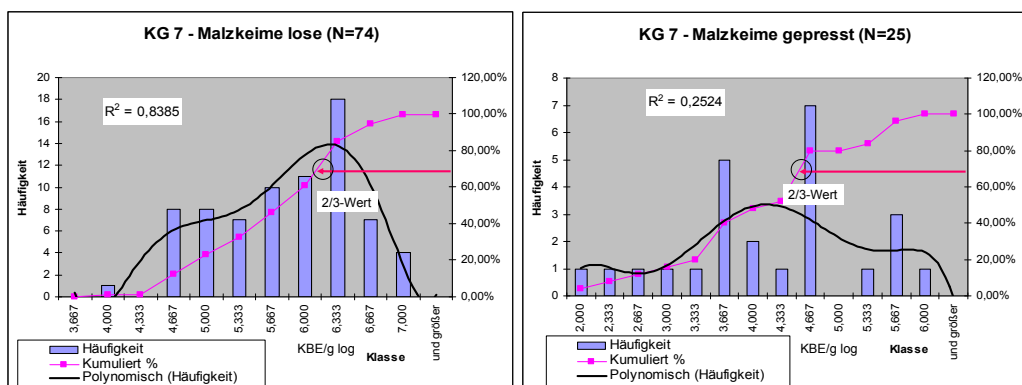
### 2.3.2.3 Bestimmung der Keimgehalte an Hefen

Hefen – unabhängig von ihrer Spezieszugehörigkeit – werden in der amtlichen Futtermittelkontrolle als Verderbanzeiger gewertet. Die Hefegehalte sowohl der losen als auch der pelletierten Malzkeime lagen z.T. bis zu einer Zehnerpotenz über den verwendeten Vergleichsorientierungswerten

(Tabelle 6). Die Bedingungen des ersten Mälzabschnittes erwiesen sich als ideale Vermehrungsmöglichkeit der epiphytären Hefeflora. Der Medianwert für lose Malzkeime über alle drei Erntejahre lag bei  $595 \times 10^3$  KBE/g, der Medianwert für pelletierte Produkte (in diesem Falle nicht anschaulich für die Gesamtstichprobe) bei  $6,0 \times 10^3$  KBE/g.

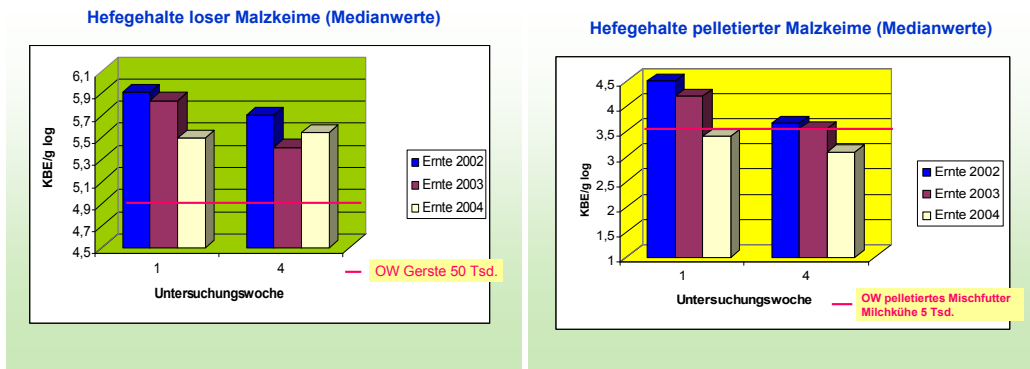
Die Häufigkeitsverteilung der Gehalte an Hefen pelletierter Produkte belegt die Diversität der Stichprobe (Abb. 14). Bei ähnlich hohem Ausgangskeimgehalt im losen Produkt spielen die Pelletierungsbedingungen eine entscheidende Rolle für das Überleben der Hefen.

Während sich bei den losen Produkten tendenziell eine Normalverteilung andeutet ( $R^2$  0,839) liegt bei den gepresst Malzkeimen eine ungerichtete Klassenverteilung vor.



**Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Gehalte an Hefen (KG7) für Proben mit Gehalten oberhalb der Nachweisgrenze**

Weiterhin ist festzustellen, dass sowohl das Erntejahr der Braugerste als auch die vierwöchige trockene Lagerung im Labor einen Einfluss auf die ermittelten Keimgehalte hatten. Was den Einfluss der drei Erntejahre betrifft, so liegen bei den Hefen vergleichbare Stufungen für den Median vor wie bei den produkttypischen Bakterien (Abb. 15; vergleiche Abb. 4). Für einen Verderb der Malzkeime im Lauf ihrer Lagerung spielen Hefen auf Grund des zu niedrigen  $a_w$ -Wertes keine Rolle, die hohen Keimzahlen sind ausschließlich aus veterinärhygienischer Sicht bedeutsam. Deshalb wurde im Weiteren versucht, die Zusammensetzung der Hefeflora zu differenzieren.



**Abbildung 15: Keimgehalte an Hefen loser und pelletierter Malzkeime in Abhängigkeit vom Erntejahr der Braugerste**

#### 2.3.2.4 Mikrobiologische Beurteilung des Getreide- und Malzabriebes

Getreideabrieb entsteht durch Transport, Reinigungs- und Sortierprozesse von der Anlieferung bis zur Verarbeitung (Weiche) und enthält vorrangig kleine Körner, Spelzen, sogenannte Halbkörner und Unkrautsamen nebst deren Bestandteilen.

Unter Malzabrieb werden alle Partikel zusammengefasst, die im Laufe des Mälzprozesses durch Reibung oder Bruch am Getreidekorn entstehen und die im System gesammelt werden. Beide Fraktionen werden je nach Technologie in der Mälzerei den Malzkeimen zugegeben oder gesondert erfasst und den Getreideabfällen beigegeben. Ihr Anteil in den Malzkeimen beträgt ca. 15 %. Für Mikrobiologen und Tierernährer birgt dieser Begriff die Assoziation zu Schmutz, Staub, dem „Zusammengekehrten“ mit hohen Gehalten an verderbanzeigenden Mikroorganismen, erhöhtem Schwermetall- und Rohaschegehalt. Daher wurde der „Zusatz von Malzabrieb“ als technischer Parameter in dem Forschungsprojekt mit erfasst und der gesamte Datenpool an mikrobiologischen Befunden statistisch in Abhängigkeit von diesem Parameter bearbeitet. Die mikrobiologischen Ergebnisse in den 7 Keimgruppen bei den losen Malzkeimen wurden in Abhängigkeit vom Malzabrieb gegenübergestellt und in einer Varianzanalyse statistisch verglichen. Eine statistische Auswertung der pelletierten Produkte war auf Grund der Stichprobengröße und des geringen Anteils an Proben ohne Abriebszusatz nicht sinnvoll.

**Tabelle 2: Statistischer Vergleich der Keimgehalte loser Malzkeime im Hinblick auf den Zusatz von Getreide- und Malzabrieb (kritischer F-Wert: 3,9933)**

KG	Mittelwert		Varianz		F-Wert	P-Wert	F/krit.F	Sign.
	Ohne Abrieb n=26	Mit Abrieb n=39	Ohne Abrieb	Mit Abrieb				
1	4179 $\times 10^6$ KBE/g	398	7804491	379333	5,479	0,0224	F > F krit.	***
2	0,765 $\times 10^6$ KBE/g	1,105	4,00	6,09	0,341	0,5607	F < F krit.	∅
3	0,005 $\times 10^6$ KBE/g	0,020	0,0004	0,0069	0,7903	0,3774	F < F krit.	∅
4	14,057 $\times 10^3$ KBE/g	15,166	527,83	394,07	0,0429	0,8365	F < F krit.	∅
5	34,788 $\times 10^3$ KBE/g	36,051	8841,86	5074,58	0,0037	0,9511	F < F krit.	∅
6	296,173 $\times 10^3$ KBE/g	24,718	1875897	14328	1,5265	0,2212	F < F krit.	∅
7	1321,44 $\times 10^3$ KBE/g	987,089	2475904	2222470	0,7507	0,3895	F < F krit.	∅

Das Datenmaterial belegt, dass Malzkeime mit dem Zusatz der Abriebe nicht höher mikrobiologisch belastet sind. Die Stichproben mit und ohne Abriebzusätze unterschieden sich im Hinblick auf die Keimgehalte der KG 2 bis 7 statistisch nicht, bei den Keimgehalten der KG 1 ergibt sich sogar ein signifikant höherer Keimgehalt in der Gruppe der Produkte ohne Abriebzusatz. Dies ist extrem hohen Keimgehalten der KG 1 eines Betriebes geschuldet, der keine Abriebe zusetzt. Bei Eliminierung dieses Betriebes aus der statistischen Berechnung ergeben sich keine signifikanten Unterschiede mehr.

Mikrobiologische Vergleichsuntersuchungen zwischen Malzkeimen (frisch von der Darre) und dem dazugehörigen Malzabrieb eines Betriebes erbrachte qualitativ und quantitativ das gleiche Bild. Der dazugehörige Getreideabrieb hatte Keimgehalte, die mit Gerste vergleichbar ist.



**Abbildung 16: Malzkeime von der Darre sowie die dazugehörigen Abriebe eines Betriebes**

## Literatur

- [1] ABADJIEFF, W. et al. (1966): Intoxikationen bei Rindern durch Verfütterung pilzhaltiger Malzkeime. Mh.Vet.-Med. 12, 452
- [2] REIß, J. (1986): Schimmelpilze: Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung. Springer Berlin; Heidelberg; New York; Tokyo
- [3] SCHULTZ, J.; R. MOTZ, M. SCHÄFER, W. BAUMGART (1969): Experimentelle Untersuchungen zur Aspergillus-clavatus-Vergiftung beim Rind. Mh. Vet.-Med. 24, 14-17
- [4] SCHMIDT, H.L. (2003): Eine Mykothek. Zum Schimmelpilzvorkommen in Futtermitteln und Nahrungsgrundstoffen. LUFA Speyer

### 3 Lagerungsversuch

*Henriette Mietke-Hofmann, Anke Kretzschmar*

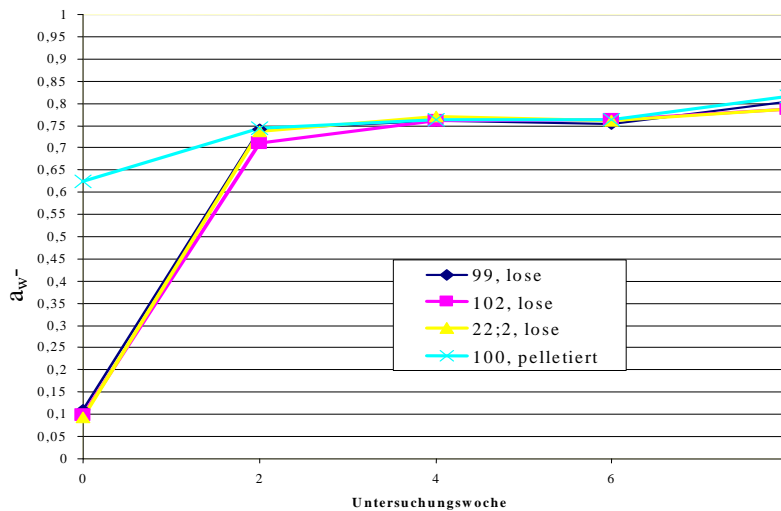
Malzkeime gelten als ein leicht verderbliches Produkt, da sie stark hygroskopisch sind und somit leicht verschimmeln können. In einem Lagerungsversuch sollte anhand von vier Malzkeimproben (drei lose und ein Pellet) aus unterschiedlichen Mälzereien untersucht werden, inwieweit die im Produkt nachgewiesene Mikroorganismenflora am Verderb des Produktes beteiligt ist.

Ca. 1 kg von jedem Produkt wurden in einem Klimaschrank bei 18 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % über sechs Wochen gelagert. Diese Klimaparameter entsprechen einer schlechten Lagerung wie sie z.B. in einem Landwirtschaftsbetrieb in Stallnähe möglich wäre. Vierzehntägig wurden pH-Wert und  $a_w$ -Wert, TS-Gehalt sowie die Gehalte an aeroben mesophilen Bakterien, Hefen, Schimmel- und Schwärzepilzen sowie an Milchsäurebakterien bestimmt.

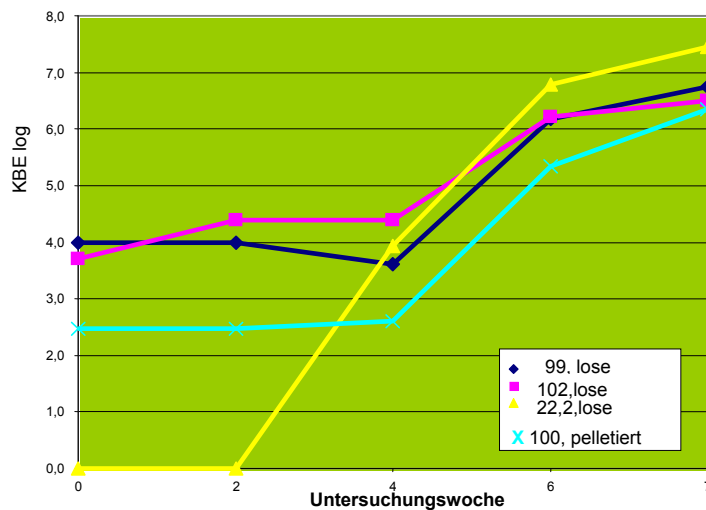
Lose und pelletierte Malzkeime besitzen einen sehr unterschiedlichen, aber dennoch niedrigen  $a_w$ -Wert (siehe 2.2). Erst ab einem  $a_w$ -Wert über 0,7 entwickelt sich ein Großteil der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze. Dieser Wert wird auch als „Alarmwasserwert“ bezeichnet, da bei dessen Überschreitung mit einem möglichen Verderb durch Mikroorganismen gerechnet werden muss.

Nach 14-tägiger Lagerung lagen die  $a_w$ -Werte über 0,7, die losen Proben hatten sich dem  $a_w$ -Wert der mitgeführten pelletierten Probe angeglichen. In der weiteren Lagerzeit stieg der  $a_w$ -Wert nur noch wenig bis auf 0,8 (Abb. 17).





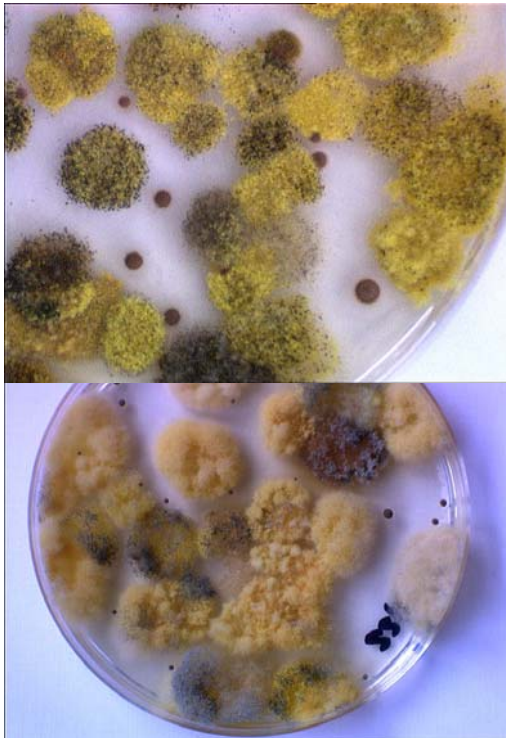
**Abbildung 17:** a<sub>w</sub>-Wertentwicklung der Malzkeime während des Lagerversuches



**Abbildung 18:** Entwicklung der verderbanzeigenden Schimmelpilze während des Lagerversuchs

Während diese Milieuveränderungen zu einem insgesamt geringen Abfall der produkttypischen Bakterien führten, ergab sich bei Hefen und Schimmelpilzen eine grundlegende Floraveränderung ab der 4. Woche. Die Gehalte der eigentlich dominierenden Hefen und Mucoraceen gingen nach vierwöchiger Lagerung rapide zurück. Dafür konnten sich verderbanzeigende xerophile Schimmelpilze (ausnahmslos Vertreter der *Aspergillus glaucus*-Gruppe und *Wallemia sebi*) ab der 4. Woche bis zum Ende der Versuchsdurchführung um mehr als drei Zehnerpotenzen vermehren (Abb. 17).

Sie sind alleinige Verursacher des sichtbaren völligen Verderbes der Lagerproben (kompletter blaugrauer Schimmelpilzrasen) ab der 6. Woche.



Dieses Ergebnis zeigt eindrucksvoll, dass die hohen Mikroorganismengehalte der Ursprungsflora bei schlechten Lagerungsbedingungen nicht zu einem Verderb der Malzkeime führen. Weder die epiphytären Bakterien und Hefen noch die Mucoraceen sind bei  $a_w$ -Werten von ca. 0,8 in der Lage sich zu vermehren und zum Verderb des Produktes beizutragen. Sporen der xerophilen Schimmelpilzflora (*Aspergillus glaucus* und *Wallemia sebi*) hingegen sind ubiquitär, befallen lagernde Substrate und können bei entsprechenden Bedingungen den Verderb einleiten. Das mikrobiologische Bild der verdorbenen Malzkeime zeigt eine typische Verderbmonoflora, wie sie auch häufig bei verdorbenem Lagergetreide vorgefunden wird.

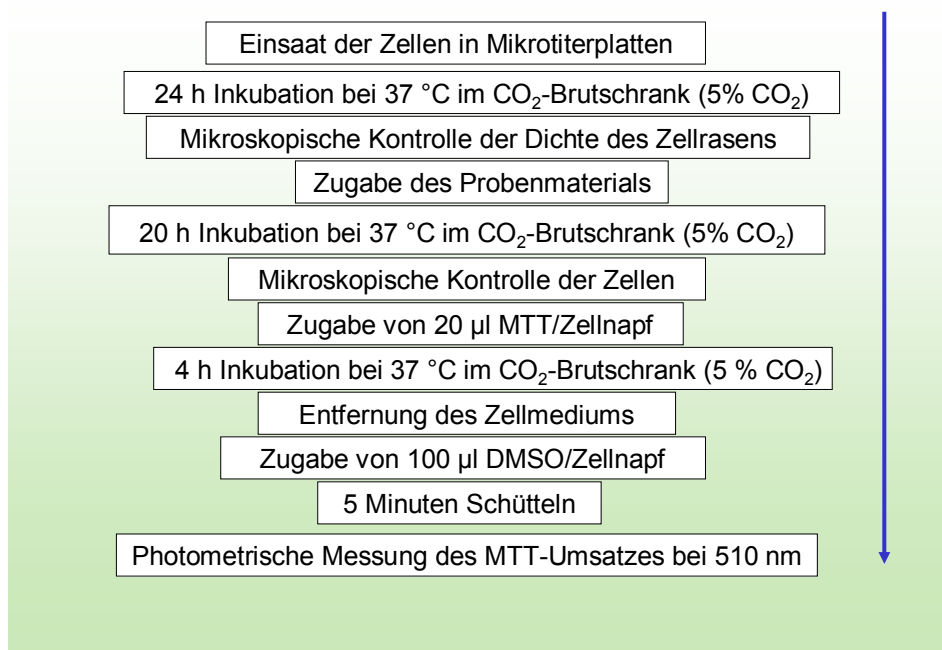
**Abbildung 19: *Aspergillus glaucus* und *Wallemia sebi* als alleinige Verderbnisflora der gelagerten Malzkeime**

#### 4 Bestimmung der Zytotoxizität von Malzkeimen

Manfred Gareis, Henriette Mietke-Hofmann

Der MTT-Test ist ein Zellkulturtest, der die zytotoxische Wirkung von Substraten auf bestimmte Zielzellen nachweist. Als zytotoxische Inhaltsstoffe bei den Malzkeimen können Zellbestandteile von Mikroorganismen (z.B. Lipopolysaccharide), mikrobiologische Stoffwechselprodukte (Antibiotika, Mykotoxine), Metabolite aus mikrobiologischer und enzymatischer Aktivität im Substrat sowie eventuelle toxische Fremdstoffe (Schwermetalle, Pflanzenschutzmittel) angesehen werden. MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium-bromid) ist eine wasserlösliche gelbe Verbindung. Durch Reduktion entsteht aus MTT ein stark gefärbtes Formazan. Der MTT-Test ist ein quantitativer colorimetrischer Test, der die Reduktion des MTT durch Dehydrogenasen vitaler Zellen mittels Messung der optischen Dichte der gebildeten Formazane bestimmt.

Die Messergebnisse geben die  $IC_{50}$  (Inhibitory concentration 50%) an, d.h. die niedrigste Konzentration, die die MTT-Spaltungsaktivität auf 50 % reduziert



**Abbildung 20: Prinzipieller Ablauf des MTT-Tests**

Zur Untersuchung gelangten 36 lose und 13 pelletierte Produkte aller drei Erntejahre. Eine lose Malzkeimprobe bewegte sich mit einer  $IC_{50}$  von 200 mg/ml in einem Bereich, der der Qualität eines hochwertigen Weizenextraktes entspricht. 32 lose Produkte (89 %) sowie 10 Pellets (76 %) wiesen ein mittleres Zytotoxizitätsniveau ( $IC_{50}$  zwischen 25 und 50 mg/ml) auf, jeweils drei lose (8,3 %) und drei pelletierte Produkte (23 %) erwiesen sich mit einer  $IC_{50}$  von 12,5 mg/ml als relativ toxisch. Pelletierte Produkte scheinen eine leicht höhere Zytotoxizität aufzuweisen als lose Produkte. Ein sehr schwacher Zusammenhang zwischen Keimgehalten der verschiedenen Keimgruppen und der Zytotoxizität konnten nur bei einigen Keimgruppen mit Korrelationskoeffizienten zwischen -0,069 und -0,23 nachgewiesen werden.

Das Datenmaterial verdeutlicht zum einen, dass es erhebliche Unterschiede in der Zytotoxizität zwischen einzelnen Malzkeimproben gibt, die absolute Keimzahlhöhe sowohl an produkttypischen als auch an verderbanzeigenden Mikroorganismen allerdings diese Zytotoxizitätsunterschiede nicht verursachen.

Dies zeigt einmal mehr, dass prozessbedingte extrem hohe Gehalte an produkttypischen Bakterien und Hefen aus Sicht der Veterinärmedizin nicht zwangsweise zu Gesundheitsproblemen bei der sachgerechten Verfütterung derartiger Malzkeimprodukte führen müssen.

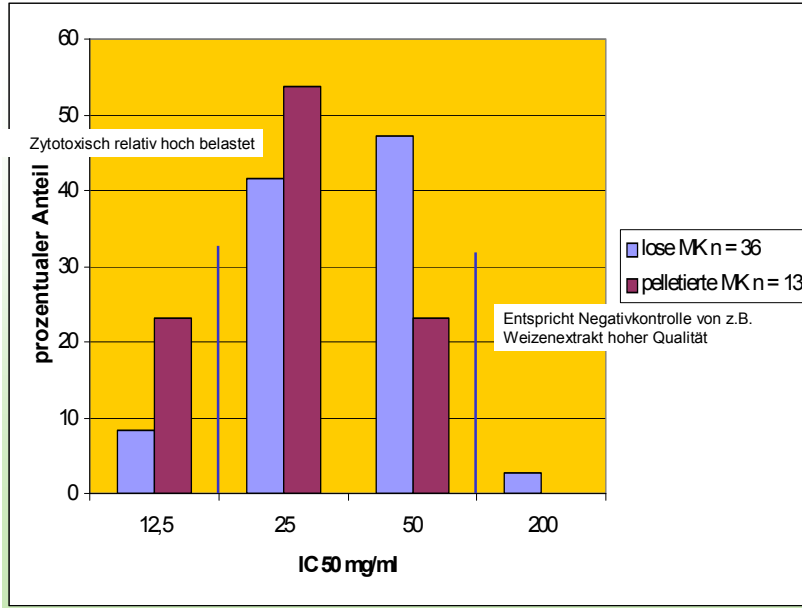


Abbildung 21: Zytotoxizität im MTT-Test loser und pelletierter Malzkeime

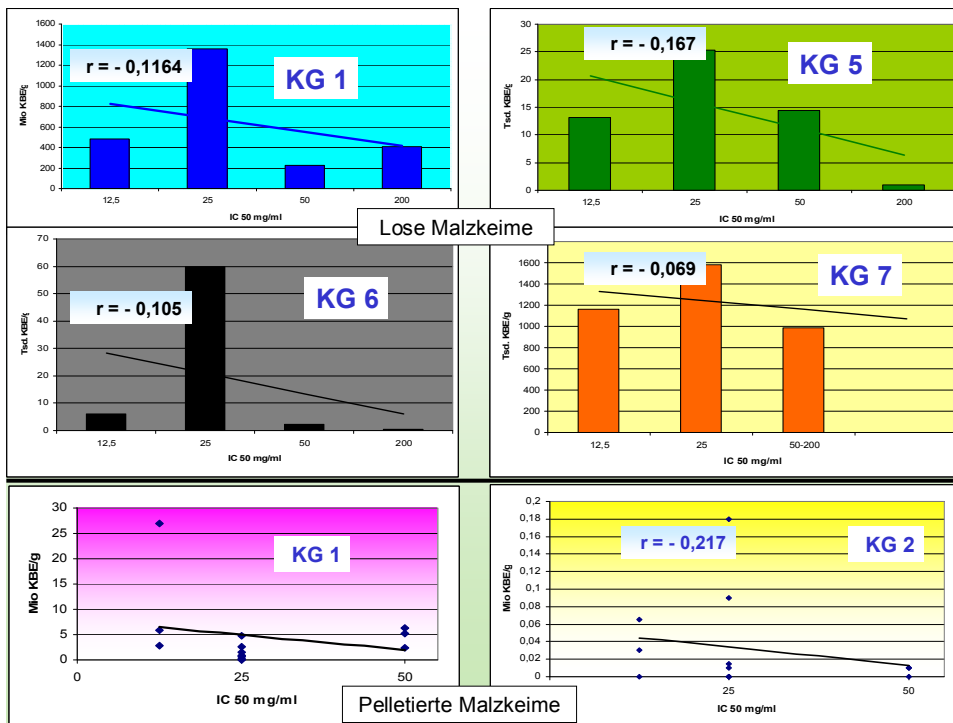


Abbildung 22: Zusammenhang zwischen Zytotoxizität und Keimgehalten ausgewählter Keimgruppen bei losen und pelletierten Malzkeimen

## **5 Differenzierung der Hefeflora von Malzkeimen mittels FT-IR-Spektroskopie**

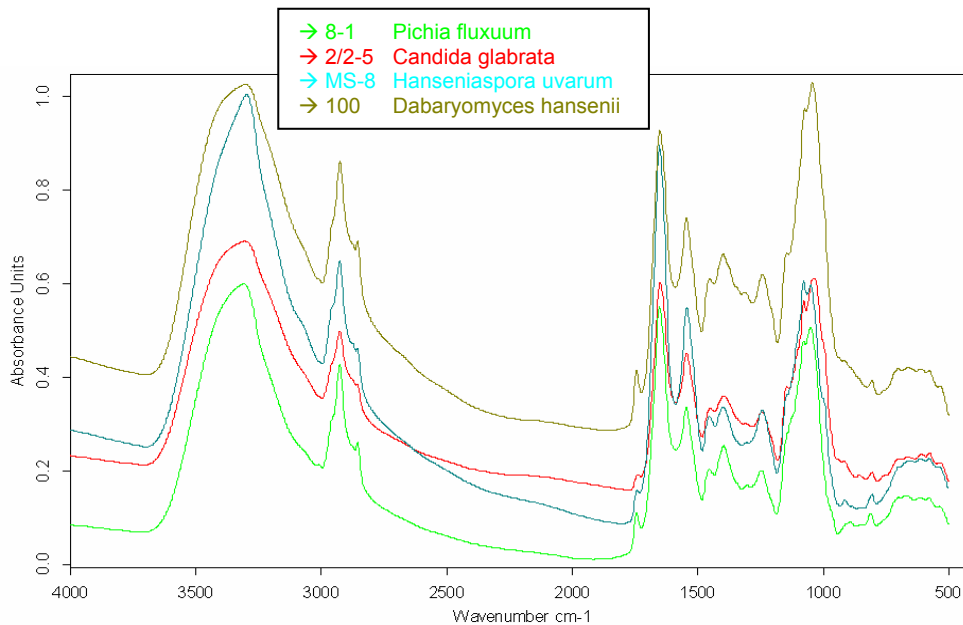
*Henriette Mietke-Hofmann, Anke Kretzschmar*

Die Hefegehalte der Malzkeime sind gegenüber Getreide und Getreideprodukten stark erhöht. Da Hefen in der amtlichen Futtermittelkontrolle generell als Verderbanzeiger gelten, bestehen somit Bedenken bei der Verfütterung aus veterinärmedizinischer Sicht. Daher sollte versucht werden, die vorherrschende Hefeflora der Malzkeime (im Querschnitt) zu identifizieren, sie in Bezug auf ihre fermentativen Leistungen und ihre Rolle als fakultativ pathogene Erreger zu beurteilen. Da Malzkeime in größerer Menge an Rinder verfüttert werden, ist die Rolle von Hefen im Verdauungstrakt des Rindes sowie einiger fakultativ pathogener Hefen als Mastitis- und Aborterreger bei Milchkühen veterinärmedizinisch bedeutsam.

Die Differenzierung sollte weiterhin Aufschluss geben, inwieweit technologische Prozessparameter einen Einfluss auf die Entwicklung der Hefeflora haben. Dabei sollte ermittelt werden, ob bestimmte Hefegattungen prozessbedingt bessere Wachstumsmöglichkeiten haben.

Die Identifizierung erfolgte über die Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie. Dieses Verfahren ist seit einigen Jahren an der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft etabliert. Mit Hilfe der FT-IR-Spektroskopie lassen sich Biomoleküle, wie z.B. Proteine, Lipide, Kohlenhydrate und DNA/RNA, sehr sensitiv identifizieren und quantifizieren. Werden Mikroorganismen unter standardisierten Bedingungen kultiviert, so erhält man ein charakteristisches Muster dieser Biomoleküle, das eine sichere Identifizierung des Keimes in vielen Fällen bis zur Stammebene ermöglicht.

FT-IR Spektren von intakten Mikroorganismen weisen ein fingerabdruckartiges Bandmuster auf, das in hohem Maße charakteristisch für die chemische Zusammensetzung des untersuchten Stammes ist.

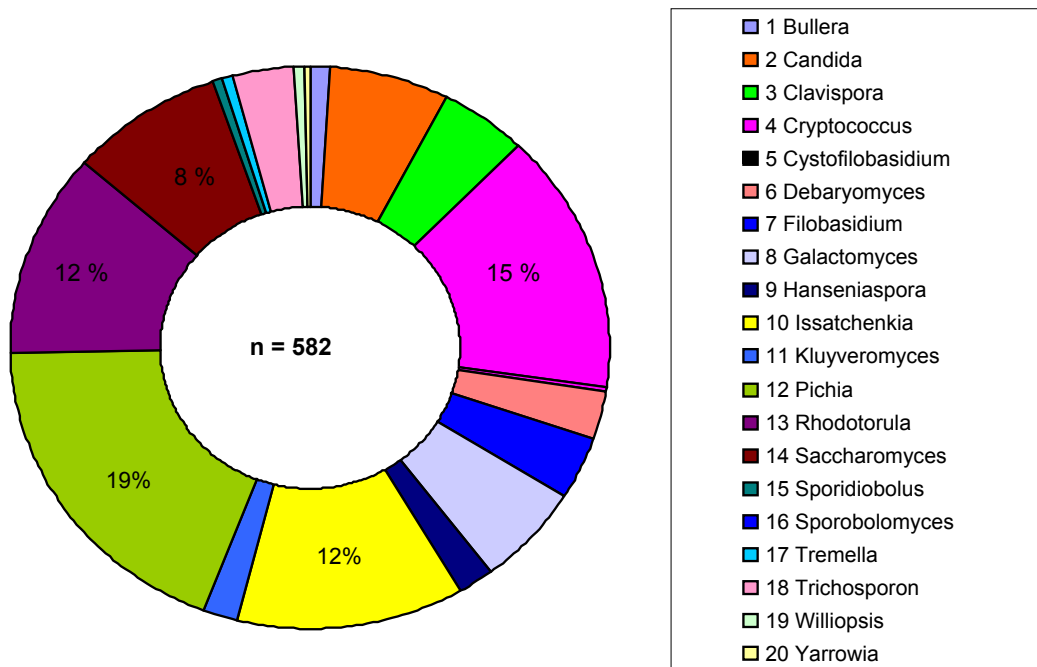


**Abbildung 23: Absorptionsspektren der FT-IR Spektroskopie verschiedener gemessener Hefearten**

Insgesamt wurden 618 Hefeisolate aus losen und pelletierten Malzkeimen spektrometrisch untersucht und mit einer Hefebibliothek verglichen, die am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung der TU München erstellt wurde. Von diesen Isolaten konnten 78 % eindeutig auf Speziesebene und weitere 100 Isolate auf Gattungsebene identifiziert werden. Die Hefen konnten 20 Gattungen zugeordnet werden. Die häufigsten Vertreter gehörten den Gattungen *Pichia/Issatschenkia*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, und *Saccharomyces* an.

Insgesamt konnten 38 Hefespezies mittels FT-IR in den Malzkeimen identifiziert werden. Es muss betont werden, dass die prozentuale Verteilung der Spezies der identifizierten Proben nicht absolut die quantitative Florazusammensetzung der Malzkeime widerspiegelt. Dazu hätte jede Kolonie, nicht die kulturmorphologisch häufigsten und typischsten Kolonien, isoliert werden müssen. Im Hinblick auf die Größe des Stichprobenumfangs kann aber geschlussfolgert werden, dass die Florazusammensetzung der Malzkeime der aus Literatur und eigenen Erfahrungen bekannten Getreideflora entspricht. Es konnte auch keine technologisch bedingte Verschiebung der quantitativen Florazusammensetzung in Richtung „Monoflora“ einzelner Gattungen beobachtet werden, die prozessbedingt eventuell bessere Entwicklungsmöglichkeiten gehabt hätten.

Das Hefespektrum blieb so „bunt“, wie es bei frischem Getreide üblich ist.



**Abbildung 24: Häufigkeitsverteilung der identifizierten Hefegattungen der Malzkeimproben**

Der größte Teil gehört zu den Ascomyceten. Die Ascomyceten sind nahezu alle in der Lage, durch Fermentation Glucose umzusetzen. Einige wenige, wie z.B. *Pichia anomala* oder *Candida angusta*, können noch Saccharose fermentieren, wohingegen nur *Saccharomyces cerevisiae* auch Stärke fermentativ umsetzen kann. *Saccharomyces cerevisiae* zählt entsprechend ihrer Gärfähigkeit in der Lebensmittelmikrobiologie zu den gärkräftigen Hefen und verursacht sensorische Veränderungen, hat pektinolytische Eigenschaften und bildet Ethanol. Dieser Fakt ist für den 1. Abschnitt des Mälzprozesses, der Weiche und Schwelke bedeutsam, da in dieser Phase sowohl die Kohlenhydrate als auch genügend Wasser und optimale Temperaturen vorhanden sind, die die fermentative Umsetzung möglich machen. In den getrockneten Malzkeimprodukten spielen diese Fähigkeiten keine Rolle.

**Tabelle 3: Identifizierte Spezies aus Malzkeimen, ihre wichtigsten fermentativen Leistungen sowie Aussagen zu ihrer möglichen Pathogenität**

Teleomorph	Anamorph	Anzahl Ident.	A/B	Ferm. Glucose	Ferm. Sacch.	Ferm. Stärke	Potenziell Pathogen
<i>Bullera variabilis</i>		7	B	K	K	K	
<i>Candida catenulata</i>		1	A	+	-	-	
<i>Candida glabrata</i>		15	A	+	-	-	H/V +
<i>Candida intermedia</i>		3	A	+	+	-	
<i>Candida tropicalis</i>		4	A	+	+/-	+/-	H/V+
<i>Candida zeylanoides</i>		6	A	-/D	-	-	H (+/-)
<i>Clavispora lusitanae</i>	<i>Candida lusitanae</i>	27	A	+	-/D	-/D	
<i>Cryptococcus albidus</i>		63	B	K	K	K	
<i>Cryptococcus humicolus</i>		1	B	K	K	K	
<i>Cryptococcus laurentii</i>		6	B	K	K	K	
<i>Cystofilobasidium infirmo miniatum</i>	<i>Cryptococcus infirmominiatum</i>	1	B	K	K	K	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Candida famata</i>	12	A	+/-	+/-	-	V +/-
<i>Debaryomyces vanriijiae</i>		1	A	-/D	-/D	-	
<i>Filobasidium floriforme</i>		18	B	K	K	K	
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Kloeckera opiculata</i>	11	A	+	-	-	
<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Candida krusei</i>	70	A	+	-	-	V/H +
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida keyfir</i>	9	A	+	+	-	V/H (+/-)
<i>Pichia angusta</i>		1	A	+	-/D	-	
<i>Pichia anomala</i>	<i>Candida pelliculosa</i>	72	A	+	+	-/D	
<i>Pichia fabianii</i>	<i>Candida fabianii</i>	8	A	+	+	-	
<i>Pichia farinosa</i>		1	A	+/D	-	-	
<i>Pichia fluxuum</i>		9	A	-/D	-	-	
<i>Pichia guilliermondi</i>	<i>Candida guilliermondi</i>	1	A	+/D	+/D	-	V/H (+/-)
<i>Pichia kluyverii</i>	<i>Candida eremophila</i>	2	A	+	-	-	
<i>Pichia pseudocactophila</i>		1	A	-/D	-	-	
<i>Rhodotorula glutinis</i>		16	B	K	K	K	V/H (+/-)
<i>Rhodotorula graminis</i>		16	B	K	K	K	V(+/-)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>		22	B	K	K	K	V (+/-)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida robusta</i>	48	A	+	+/-	+/-	H (+/-)
<i>Saccharomyces unisporus</i>		1	A	+	-	-	
<i>Sporidiobolus johnsonii</i>		2	B	K	K	K	
<i>Sporobolomyces roseus</i>		1	B	K	K	K	
<i>Tremella encephala</i>		3	B	K	K	K	
<i>Trichosporon cutaneum</i>		4	B	K	K	K	H/V +
<i>Trichosporon ovoides</i>		15	B	K	K	K	
<i>Williopsis californica</i>		3	A	+	-	-	
<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida lipolytica</i>	2	A	K	K	K	H (+/-)

**Legende:**

A	Ascomycet	K	Keine Fermentation	H	humanpathogen
B	Basidiomycet	W	Wenig Umsetzung	V	tierpathogen
		D	Nach mehr als 7 Tagen		

Andere identifizierte Ascomyceten besitzen auch diese Gärfähigkeit, allerdings in schwächerem Ausmaß, so dass die Auswirkungen meist nicht so gravierend sind. Zu den gärschwachen Hefen zählen z.B. *Candida intermedia* und *Pichia anomala*.

Die Basidiomyceten, zu denen u.a. *Cryptococcus albidus* und *Rhodotorula glutinis* zählen, sind rein oxidative Hefen oder sogenannte Atmungshefen. Aber auch einige Ascomyceten, wie z.B. *Debary-*



*omyces hansenii* und die meisten Kahlhefen, sind typische und häufig auftretende Atmungshefen. Diese können keine Kohlenhydrate fermentieren oder nur sehr langsam und spielen somit für den Zuckerabbau in der Mälzerei keine Rolle, wenngleich sie in der Lage sind, zahlreiche Zucker, Zuckerkalkaloide u.a. Substrate zu assimilieren, d.h. oxidativ zu verwerten.

Die Tabelle 3 nennt die 14 der insgesamt 38 identifizierten Hefespezies, die mit einem gewissen pathogenen Potenzial ausgerüstet sind.

Fakultative Pathogenität bedeutet in diesem Fall, dass bestimmte Bedingungen beim Wirt gegeben sein müssen, damit die Hefe als Infektionserreger eine Rolle spielen kann. Selbst die auf vielen Substraten beheimatete Spezies *Saccharomyces cerevisiae*, Bier- Bäcker- und Weinhefe, in der Tierfütterung als Probiotikum, in der Humanmedizin als Darmtherapeutikum eingesetzt, wird in klinischem Material als opportunistischer Keim gefunden. Hefeinfektionen beim Menschen sind häufig bei immungeschwächten Patienten zu finden. In der Veterinärmedizin sind häufiger Jungtiere, Kleintiere und Vögel von Hefeinfektionen betroffen. Sowohl bei Mensch als auch beim Tier spielen verschiedene *Candida*-Spezies die entscheidende Rolle. *C. albicans*, die wesentliche fakultativ pathogene *Candida*-Spezies, konnten aus den Malzkeimen nicht isoliert werden. Die nachgewiesenen *Candida*-Spezies *C. glabrata*, *C. tropicalis* und *C. zeylanoides* entsprechen 4,7 % des gesamten differenzierten Hefepools und sind damit nur gering vertreten. *C. glabrata* kann bei Kälbern zu schweren haemorrhagischen Entzündungen der Vormägenschleimhaut und zu Durchfällen führen. Bei Kühen sind *C. tropicalis* und *C. glabrata* am Abortgeschehen mit nekrotisierender Plazentitis sowie bei Hefemastitiden beteiligt.

*Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) zeigt Wachstum bei 37 °C und zumeist auch bei 40 °C und wird in der Human- und Veterinärmedizin häufig im Zusammenhang von unterschiedlichen Erkrankungen und Infektionen genannt. Die Spezies ist ebenso ubiquitär und sehr häufig in verschiedenen Futtermitteln, vor allem auch in Silagen isolierbar. Es ist davon auszugehen, dass ein großer Teil der insgesamt 70 *Issatchenkia*-Isolate zur Spezies *Candida krusei* gehörten. Zur Rolle dieses Erregers bei der Aufnahme größerer Mengen für das gesunde Rind ist wenig bekannt. Entscheidend für das Entstehen all dieser *Candida*-Infektionen sind letztlich bestimmte Voraussetzungen, wie schlechte Stall-, Melk- und Euterhygiene, Verletzungen oder schwere Erkrankungen. Unter den basidiomycetalen Hefen besitzen *Cryptococcus*, *Trichosporon* und *Rhodotorula*-Spezies eine fakultative Pathogenität. Von den 19 Spezies der Gattung *Cryptococcus*, die in der Umwelt, auf Pflanzen und Früchten weit verbreitet sind, ist allein *C. neoformans* pathogen für Mensch und Tier. Diese Spezies konnte in den Probenmaterialien nicht identifiziert werden. Die in geringem Umfang nachgewiesene Spezies *Trichosporon cutaneum* sowie die häufiger isolierbaren *Rhodotorula*-Spezies werden im Zusammenhang mit Hefemastitiden des Rindes genannt. Das Risiko ist aber gering.

Zusammenfassend kann eingeschätzt werden, dass das Gesundheitsrisiko von Rindern auch bei der Aufnahme größerer Hefemengen aus Malzkeimen gering ist, sofern die Tiere gesund sind, gute

Haltungs- und Hygienebedingungen vorfinden und die Malzkeime sachgerecht verfüttert werden. Der Anteil an Malzkeimen in der Gesamtration beträgt zudem nur höchstens bis zu ca. 10 %. Bei einem massiven Auftreten von *Candida*-Spezies gleicher kulturmorphologischer Prägung, die auf eine starke Vermehrung von *Candida krusei*, *Candida tropicalis* oder *Candida glabrata* schließen lassen, sollte eine Identifizierung vorgenommen werden und der Einsatz der Malzkeime aus veterinärmedizinischer Sicht eher restriktiv erfolgen.

## **6 Festlegung von Orientierungswerten loser und pelletierter Malzkeime zur Auswertung der Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen zwecks Beurteilung von Futtermitteln nach § 24 LFGB**

*Henriette Mietke-Hofmann, Erwin Bucher*

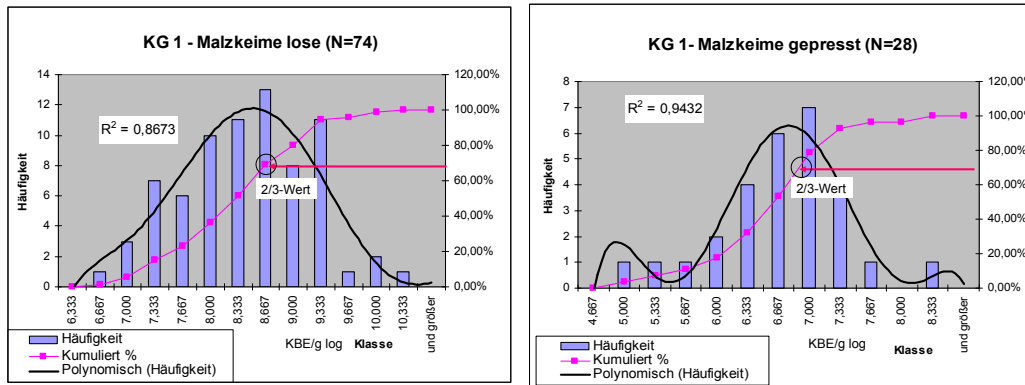
Im Rahmen der Pilotstudie „Mikrobiologische Beschaffenheit von Futtermitteln in Deutschland“ (Januar 1994 - Februar 1996) wurden seinerzeit zahlreiche mikrobiologische Orientierungswerte für Einzel- und Mischfuttermittel definiert, die es erlauben, Futtermittel nach § 24 LFGB auf ihre handelsübliche Reinheit und Unverdorbenheit aus mikrobiologischer Sicht zu beurteilen. Malzkeime wurden damals mangels hinreichender Daten nicht berücksichtigt. Die prozessbedingte starke Vermehrung produkttypischer Bakterien und Hefen führt bei dem Malzkeimen zumeist zu so hohen Keimzahlen in den beiden Keimgruppen, die Orientierungswerte anderer Einzelfuttermittel deutlich übersteigen. Häufig wurden die Produkte dann mit der Qualitätsstufe IV beurteilt, was zur Folge hatte, dass eine Unverdorbenheit der Produkte als nicht mehr gegeben bescheinigt wurde. Daher war es dringend erforderlich, lose und pelletierte Malzkeime in das Orientierungswertschema zu integrieren und eine fachlich fundierte Lösung für dieses spezielle Problem zu finden.

Die Proben wurden alle in der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft untersucht, eine mikrobiologische Gegenuntersuchung aller Proben erfolgte in den Einrichtungen

- Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim
- Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern
- LUFA Augustenberg
- LUFA Bonn

Die ermittelten Keimgehalte beider Untersuchungen wurden gemittelt und bildeten die Basis für die Orientierungswertberechnung. Es wurden die Untersuchungsergebnisse genutzt, die unmittelbar nach Eingang der Probe ermittelt wurden.

Eine annähernd logarithmische Normalverteilung konnte – im Gegensatz zur Pilotstudie (1992 - 1994) –, nicht zuletzt wegen der relativ geringen Probenzahlen und teilweise geringer Nachweisraten, nur bei der Keimgruppe 1 (produkttypische Bakterien) und 7 (Hefen, siehe 2.3.2.3) erkannt werden. Daher wurde zur Ermittlung der Orientierungswerte der 2/3-Wert herangezogen. d.h. des Wertes, der von zwei Dritteln der Gesamtstichprobe nicht überschritten wird.



**Abbildung 25: Häufigkeitsverteilung der Keimgehalte produkttypischer Bakterien (KG 1)**

Der **Orientierungswert** (OW) dient der Festlegung der Keimzahlstufe (KZS I-IV) für die jeweilige Keimgruppe:

- KZS I            wenn Keimgehalt  $\leq$  OW
- KZS II           wenn Keimgehalt  $>$  OW bis  $\leq$  5facher OW
- KZS III          wenn Keimgehalt  $>$  5facher OW bis  $\leq$  10facher OW
- KZS IV          wenn Keimgehalt  $>$  10facher OW

Die **Qualitätsstufen** I bis IV (QS I bis QS IV) ergeben sich zwangsläufig aus den Keimzahlstufen (KZS I bis KZS IV):

Vorliegen von	in Keimgruppen	Mikrobiologische Qualitätsbeurteilung		§ 24 LFGB *)
		Stufe	Kurzbeschreibung der Qualitätsminderungen	
KZS I	allen 7	→ QS I	keine	+++
KZS II	wenigstes einer von 7	→ QS II	geringgradige bzw. mäßige	+++
KZS III		→ QS III	herabgesetzt bzw. deutlich herabgesetzt	+
KZS IV		→ QS IV	fortgeschrittener Verderbnisprozess erkennbar	-

\*) Unverdorbenheit: +++ erfüllt; + noch gegeben; - nicht gegeben

Im Einzelnen ergaben sich folgende Orientierungswerte und Qualitätsstufen:

**a) lose Malzkeime**

- Für die KG3 bis KG6 konnte der 2/3-Wert (gerundet) als Orientierungswert (OW) genutzt werden.
- Für die KG1 und 7 wurden auf Grund der extrem hohen 2/3-Werte diese für die Festlegung der Orientierungswerte auf mehr als die Hälfte herabgesetzt.
- Auch für die KG2 (verderbanzeigende Bakterien) wurde der OW nicht am 2/3-Wert ( $2,5 \times 10^6$  KBE/g) festgemacht, sondern wie bei anderen mehlartigen Einzel- und Mischfuttermitteln auf  $1 \times 10^6$  KBE/g limitiert. (Tab. 4)

Als Ergebnis fielen je 18,9 % aller losen Malzkeimproben in die beanstandungsfähigen Qualitätsstufen III und IV. Die hauptsächlichsten Überschreitungen der OW um das mehr als 5- bis 10-fache (QS III) bzw. um mehr als das 10-fache (QS IV) lagen bei den produkttypischen Bakterien (KG1) und den verderbanzeigenden Mucorales (KG6) und Hefen (KG7)

**Tabelle 4: Ermittlung der Orientierungswerte für die 7 Keimgruppen loser Malzkeime anhand der 2/3-Werte für die Gesamtstichprobe (n = 74) sowie deren Eingruppierung in Qualitätsstufen**

2/3 Wert	450	2,5	0,10	16,6	21,6	5,0	1100
<b>OW</b>	<b>200</b>	<b>1</b>	<b>0,1</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>5</b>	<b>500</b>
	x10 <sup>6</sup> KBE/g			x10 <sup>3</sup> KBE/g			

Keimgruppe	KG 1	KG 2	KG 3	KG 4	KG 5	KG 6	KG 7	Qualitätsstufen		
								n=	Anteil	QS
Keimzahlstufen ↓	Proben - Anteile									
<b>KZS I</b>	51,4%	82,4%	95,9%	66,2%	66,2%	73,0%	47,3%	<b>14</b>	<b>18,9%</b>	<b>QS I</b>
<b>KZS II</b>	28,4%	10,8%	2,7%	29,7%	27,0%	16,2%	39,2%	<b>32</b>	<b>43,2%</b>	<b>QS II</b>
<b>KZS III</b>	13,5%	5,4%	0,0%	4,1%	4,1%	4,1%	9,5%	<b>14</b>	<b>18,9%</b>	<b>QS III</b>
<b>KZS IV</b>	6,8%	1,4%	1,4%	0,0%	2,7%	6,8%	4,0%	<b>14</b>	<b>18,9%</b>	<b>QS IV</b>

Zur Berechnung der Orientierungswerte pelletierter Malzkeime konnten durchgängig die ermittelten gerundeten 2/3-Werte genutzt werden (Tab. 5).

7,1 % aller Proben fielen dabei in die Qualitätsstufe IV und 10,7 % auf die Qualitätsstufe III. Überwiegend für die herabgesetzte Qualität bzw. für verdorbene Produkte verantwortlich waren die Hefen (KG7).

b) pelletierte Malzkeime

**Tabelle 5: Ermittlung der Orientierungswerte für die 7 Keimgruppen pelletierter Malzkeime anhand der 2/3-Werte für die Gesamtstichprobe (n = 28) sowie deren Eingruppierung in Qualitätsstufen**

2/3 Wert	5,59	0,13	0,016	1,00	2,33	0,70	27,0
<b>OW</b>	<b>6</b>	<b>0,1</b>	<b>0,02</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>30</b>
	x10 <sup>6</sup> KBE/g			x10 <sup>3</sup> KBE/g			

Keimgruppe	KG 1	KG 2	KG 3	KG 4	KG 5	KG 6	KG 7	Qualitätsstufen		
	Proben - Anteile							N=	Anteil	QS
Keimzahlstufen ↓										
<b>KZS I</b>	71,4%	82,1%	96,4%	89,3%	75,0%	92,9%	71,4%	<b>9</b>	<b>32,1%</b>	<b>QS I</b>
<b>KZS II</b>	25,0%	14,3%	3,6%	7,1%	21,4%	3,6%	10,7%	<b>14</b>	<b>50,0%</b>	<b>QS II</b>
<b>KZS III</b>	0,0%	3,6%	0,0%	3,6%	3,6%	0,0%	10,7%	<b>3</b>	<b>10,7%</b>	<b>QS III</b>
<b>KZS IV</b>	3,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,6%	7,1%	<b>2</b>	<b>7,1%</b>	<b>QS IV</b>

c) Orientierungswerte und Ergebnisbericht

Hinsichtlich der für die Qualität von Malzkeimen relevanten Keimgruppen 1 und 7 bestehen folgende Unterschiede zum Ausgangsprodukt Gerste bzw. für die pelletierten Malzkeime zu gepressten Mischfuttermitteln für Rinder, Milchkühe und Schweinen:

Bei losen Malzkeimen liegt der festgelegte Orientierungswert für produkttypische Bakterien (KG 1) um das 25-Fache, der für Hefen (KG 7) um das 10-Fache höher als bei dem Ausgangsprodukt Gerste.

Pelletierte Malzkeime weisen 6-fach höhere Orientierungswerte für die KG 1 und KG 7 auf als ein pelletiertes Mischfuttermittel.

Diese höheren Keimzahlen sind nur deshalb vertretbar, weil bei einer sachgerechten Verfütterung dieser Produkte nur ein Anteil (bis ca. 15 %) in der Gesamtration enthalten ist.

Dem jeweiligen Text des Ergebnisberichtes nach VDLUFA-Methode 28.1.4 [1] sollte der Satz ... **„Die Keimgehalte an produkttypischen Bakterien (KG 1) sowie an Hefen (KG 7) liegen bei Malzkeimen prozessbedingt wesentlich höher als bei Getreide.“**...vorangestellt werden.

Bei einer Überschreitung des Orientierungswertes für produkttypische Bakterien und/oder Hefen um mehr als das Zehnfache sollte die textliche Formulierung keinen Hinweis auf einen fortgeschrittenen Verderbnisprozess enthalten, da diese Tatsache in diesem Falle nicht gegeben ist.

## Literatur

[1] Verfahrensanweisung zur mikrobiologischen Qualitätsbeurteilung; VDLUFA-Verbandsmethode  
Methodenbuch III 28.1.2 - Stand: 18.09.2003,

## Zusammenfassung

Aus dem Forschungsprojekt ergeben sich folgende wesentlichen Erkenntnisse:

- Die  $a_w$ -Werte loser Malzkeime liegen im Mittel bei 0,1445 (TS-Gehalt 95,3%), die  $a_w$ -Werte pelletierter Produkte bei 0,564 (TS-Gehalt 89,1 %). Damit ist ein mikrobiologischer Verderb beider Produkttypen bei einer ordnungsgemäßen trockenen Lagerung ausgeschlossen.
- Durch das Mälzen sowie den ersten Darreabschnitt (Schwelke) kommt es prozessbedingt zu einer starken Vermehrung der epiphytären Bakterien sowie der Hefen. Verderbanzeigende Bakterien sowie Schimmelpilze vermehren sich dabei nicht. Somit bedürfen nur die Orientierungswerte der Keimgruppen 1 (produkttypische Bakterien) und 7 (Hefen) einer Angleichung an die bestehenden Gegebenheiten. Die Orientierungswerte der Keimgruppen 2 bis 6 können in Anlehnung an bestehende Werte für Getreide bzw. pelletiertes Mischfuttermittel abgeleitet werden.
- Die hohen Keimgehalte an produkttypischen Bakterien (KG 1) basieren vorrangig auf einer starken Vermehrung der coryneformen Bakterien. Probleme bei der massiven Aufnahme dieser Mikroorganismen durch Wiederkäuer sind nicht bekannt.
- Der Zusatz von Malz- und Getreideabriebe zu den Malzkeimen hat keine negativen Auswirkungen auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Mikroorganismenflora.
- Bei einer feuchten Lagerung verderben die Produkte nach ca. 4 Wochen durch eine massive Vermehrung von verderbanzeigenden xerophilen Schimmelpilzen. Die epiphytäre reichhaltige Ursprungsflora ist an dem Vorgang nicht beteiligt, sie nimmt sogar im Laufe des Verderbprozesses drastisch ab.
- Die Differenzierung der Hefeflora mittels FT-IR-Spektroskopie mit 38 verschiedenen Spezies aus 20 verschiedenen Hefegattungen widerspiegelt die Vielfalt der epiphytären Flora des Ausgangsproduktes Gerste. Während des Mälzens kommt es zu keiner Verschiebung der Hefeflora in Richtung einer prozessbedingten Monoflora. Etwa 40 % der identifizierten Hefespezies erwiesen sich als Hefen mit ausschließlich aerobem Stoffwechsel (oxidative Hefen), die im Gastrointestinaltrakt von Wiederkäuern nicht lebensfähig sind.
- Das gesundheitliche Risiko für Rinder bei der Aufnahme auch größerer Mengen lebender Hefen aus Malzkeimen ist auf Grund der ermittelten Florazusammensetzung als gering einzustufen. Ein Restrisiko besteht jedoch infolge einer möglichen Anwesenheit einer von 14 Spezies die als potentiell pathogen für Mensch und Tier gelten.
- Es besteht kein Zusammenhang zwischen den absoluten Keimgehalten und der ermittelten Zytotoxizität der Malzkeimprodukte.
- In Anwendung der aus den  $2/3$ -Werten abgeleiteten Orientierungswerten erfüllten die Anforderungen des § 24 LFGB (d.h. QS I und QS II) 62,1 % der losen Malzkeime und ca. 82,1 % der pelletierten Produkte. Noch den Anforderungen entsprachen (d.h. QS III) 18,9 % der losen Malzkei-

me und 10,7 % der pelletierten Produkte. In die Qualitätsstufe IV waren 18,9 % der losen Malzkeime und 7,1 % der pelletierten Produkte einzustufen.

**Tabelle 6: Auszug aus dem Orientierungswertschema für ausgewählte Einzelfuttermittel einschließlich der Malzkeime**

**Orientierungswerte (Keimzahlstufe I) und Keimzahlstufen II bis IV für EINZELFUTTERMITTEL**

EINZELFUTTERMITTEL	Mesophile aerobe Bakterien x10 <sup>6</sup> KBE/g												Schimmel- und Schwärzepilze x10 <sup>3</sup> KBE/g												Hefen x10 <sup>3</sup> KBE/g							
	Gelbkeime, Pseudomonas/ Enterobacteriaceae, Sonstige Bakterien				Bacillus, Staphylococcus Micrococcus				Streptomyceten				Schwärzepilze, Acremonium, Verti- cillium, Fusarium, Aureobasidium, Sonstige Pilze				Aspergillus, Penicillium, Scopulariopsis, Wallemia, Sonstige Pilze				Mucorales				Hefen (alle Gattungen)							
Keimgruppe (KG)	produkttypisch				verderbanzeigend				Verderbanzeigend				produkttypisch				verderbanzeigend				verderbanzeigend				verderbanzeigend							
	KG 1				KG 2				KG 3				KG 4				KG 5				KG 6				KG 7							
Keimzahlstufe (KZS)	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<b>KEIMGEHALTE</b>																																
Legende:	x10 <sup>6</sup> KBE/g				x10 <sup>6</sup> KBE/g				x10 <sup>6</sup> KBE/g				x10 <sup>3</sup> KBE/g				x10 <sup>3</sup> KBE/g				x10 <sup>3</sup> KBE/g				x10 <sup>3</sup> KBE/g							
≤ kleiner gleich; > größer als	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>	≤	>	>	>
<b>Tierische Einzelfuttermittel:</b>																																
Milchnebenprodukte, getrocknet	0,1	0,1	0,5	1	0,01	0,01	0,05	0,1	0,01	0,01	0,05	0,1	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10
Blutmehle	0,2	0,2	1	2	0,01	0,01	0,05	0,1	0,01	0,01	0,05	0,1	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10	1	1	5	10
Tiermehle	x				x				x				x				x				x				x				x			
Fischmehle	1	1	5	10	1	1	5	10	0,01	0,01	0,05	0,1	5	5	25	50	5	5	25	50	1	1	5	10	30	30	150	300				
<b>Getreidenachprodukte:</b>																																
Nachmehle, Grieskleien	5	5	25	50	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	50	50	250	500	30	30	150	300	2	2	10	20	50	50	250	500				
Kleien (Weizen, Roggen)	8	8	25	80	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	50	50	250	500	50	50	250	500	2	2	10	20	80	80	250	800				
<b>Getreide Körner und Schrote:</b>																																
Mais	5	5	25	50	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	40	40	200	400	30	30	150	300	2	2	10	20	50	50	250	500				
Weizen, Roggen	5	5	25	50	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	50	50	250	500	30	30	150	300	2	2	10	20	50	50	250	500				
Gerste	8	8	40	80	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	60	60	250	600	30	30	150	300	2	2	10	20	50	50	250	500				
Hafer	15	15	50	150	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	70	70	250	700	30	30	150	300	2	2	10	20	50	50	250	500				
<b>Brauereinebenprodukte</b>																																
Malzkeime, lose	200	200	1000	2000	1	1	5	10	0,1	0,1	0,5	1	15	15	75	150	20	20	100	200	5	5	25	50	500	500	2500	5000				
Malzkeime, pelletiert	6	6	30	60	0,1	0,1	0,5	1	0,02	0,02	0,1	0,2	1	1	5	10	2	2	10	20	1	1	5	10	30	30	150	300				



## **Impressum**

**Herausgeber:** Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie  
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden  
Internet: <http://www.smul.sachsen.de/lfulg>

**Autoren:** Henriette Mietke-Hofmann, BfUL  
Anke Kretzschmar, TU Dresden  
Manfred Gareis, Bundesforschungsanstalt für Ernährung und  
Lebensmittel  
Erwin Bucher, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und  
Lebensmittelsicherheit

**Redaktion:** Staatliche Betriebsgesellschaft für Umwelt und Landwirtschaft  
Geschäftsbereich Labore Landwirtschaft  
Gustav-Kühn-Str. 8  
04159 Leipzig  
Henriette Mietke-Hofmann  
Telefon: 0341 9174-248  
Telefax: 0341 9174-211  
E-Mail: [henriette.mietke@smul.sachsen.de](mailto:henriette.mietke@smul.sachsen.de)

**Endredaktion:** Öffentlichkeitsarbeit  
Präsidialabteilung

**ISSN:** 1867-2868

**Redaktionsschluss:** November 2008

Für alle angegebenen E-Mail-Adressen gilt:

Kein Zugang für elektronisch signierte sowie für verschlüsselte elektronische Dokumente

### **Verteilerhinweis**

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von Wahlhelfern zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.