



Doctoral Thesis

## Die Bedeutung der Essigsäurebakterien im Kefir

**Author(s):**

Häfliger, Moritz Johann

**Publication Date:**

1990

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000578196> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 9270

# Die Bedeutung der Essigsäurebakterien im Kefir

Abhandlung  
zur Erlangung des Titels  
DOKTOR DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
Zürich

vorgelegt von  
MORITZ JOHANN HÄFLIGER  
Dipl. Lm.-Ing. ETH  
geboren am 12. März 1959  
von Sursee / LU

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. Z. Puhán, Referent  
Dr. H. Spillmann, Korreferent

Zürich 1990

Zürich, dem 4. Januar 1991

Z. Puhán

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Mikroflora des Kefirkornes und Kefirs setzt sich aus Milchsäurebakterien (Streptokokken, *Leuconostoc* und Laktobazillen), Hefen und eventuell Essigsäurebakterien zusammen. In der vorliegenden Arbeit wird die Isolierung und Bestimmung von Essigsäurebakterien aus Kefirkörnern beschrieben. Im weiteren wurde das Verhalten der Essigsäurebakterien während der Kefirherstellung und -lagerung untersucht und Massnahmen zur Förderung der Vermehrung der Essigsäurebakterien erarbeitet.

In 12 von 25 Kefirkörnern wurden Essigsäurebakterien in der Grössenordnung von  $3,3 \cdot 10^3 - 2,7 \cdot 10^6$  KBE/g gefunden. Die Isolate aus Kefirkörnern zeigten in Milch ein deutlich besseres Wachstum als die nicht aus Kefir stammende Referenzstämme. Bei der Identifikation erwiesen sich alle Isolate als Vertreter eines speziellen, milchadaptierten Biotypen der Species *Acetobacter pasteurianus*. Im Gegensatz zu den Referenzstämmen konnten sich die Kefir-Isolate auch auf essigsäurebakterienfreien Kefirkörnern ansiedeln und sich vermehren. Durch Bebrüten bei höheren Temperaturen ( $26^{\circ}\text{C}$ ), tägliches Überimpfen der Kefirkörner und längeres Bebrüten konnte das Wachstum der Essigsäurebakterien gefördert werden.

Während die Zahl der Essigsäurebakterien bei der Lagerung von Kefirkörnern bei  $4^{\circ}\text{C}$  abnahm, blieb sie bei der Lagerung von Kefir bei  $4$  und  $8^{\circ}\text{C}$  konstant. Bei der Herstellung von Körnerkefir (Kefir ab Kefirkorn) vermehrten sich die Essigsäurebakterien um ein bis zwei Zehnerpotenzen und erreichten maximal zirka  $10^7$  KBE/g. Durch Rühren während der Herstellung von Körnerkefir konnte das Wachstum gefördert werden. Mit jeder weiteren Überimpfung, ausgehend vom Körnerkefir, nahm der Gehalt der Essigsäurebakterien im Produkt ab. Einzig bei Modellversuchen mit einer Beimpfung von  $10^6 - 10^7$  Essigsäurebakterien/g konnte ein geringfügig höherer Gehalt an Acetat und flüchtigen Säuren erzielt werden, die sensorisch aber nicht wahrzunehmen waren.

Kefirkorn und Kefir sind zwei grundsätzlich verschiedene Fermentationssysteme. Die Mikroflora der Kefirkörner besteht vorwiegend aus Laktobazillen und Hefen. Die im Kefirkorn in der Minderheit vorkommenden kokkenförmigen Milchsäurebakterien dominieren hingegen im Kefir.

## II

Durch Rühren konnte bei der Herstellung von Körnerkefir die Zahl der Laktobazillen und Hefen zum Teil stark erhöht werden. Dabei wurde diese Zunahme nicht nur mit Wachstum, sondern vor allem durch vermehrtes Herauslösen dieser Mikroorganismen aus der Kefirkornmatrix erreicht. Wie bei den Essigsäurebakterien nahm mit jeder weiteren Überimpfung auch der Gehalt der Laktobazillen und Hefen um zirka eine Zehnerpotenz ab.

Während der Lagerung von Kefir kam es zu einer Abnahme der Zahl der kokkenförmigen Milchsäurebakterien. Die Laktobazillen hingegen konnten sich bei den Lagertemperaturen von 4 und insbesondere bei 8 °C bis um zwei Zehnerpotenzen vermehren und waren somit auch für den erhöhten D(-)-Lactatgehalt in den gelagerten Produkten verantwortlich.

Nur im Körnerkefir wurden bedeutende Mengen an Ethanol (0,2 – 2 g/kg) und D(-)-Lactat (10 – 40% des Gesamtlactatgehaltes) bestimmt. Ausgehend vom Körnerkefir nahm mit jeder weiteren Passage der Ethanolgehalt und der D(-)-Lactatanteil ab. Während der Lagerung stieg bei konstanter Hefezahl der Ethanolgehalt jedoch zum Teil bis auf das 20fache des ursprünglichen Gehaltes an.

Die Versuche zeigten, dass Essigsäurebakterien in Kefirkörnern verschiedenster Herkunft feststellbar sind und dass sie über Eigenschaften verfügen um im komplexen Ökosystem Kefirkorn zu überleben. Der milchadaptierte Biotyp der Species *Acetobacter pasteurianus* ist demzufolge als charakteristischer Mikroorganismus der Kefirkornflora zu betrachten. Für messbare und sensorisch erkennbare Stoffwechselleistungen sind aber mindestens  $10^7 - 10^8$  Essigsäurebakterien/g erforderlich, ein Keimzahlniveau, das in heutigen Handelsprodukten kaum erreicht wird. Für den Produktcharakter des industriell hergestellten Kefirs sind andere Mikroorganismen, vor allem kokkenförmige Milchsäurebakterien und Hefen, von viel grösserer Bedeutung.

## The role of acetic acid bacteria in kefir

### Summary

The microflora of kefir grains consists of lactic acid bacteria (streptococci, *Leuconostoc* and lactobacilli), yeasts and not seldom of acetic acid bacteria. The isolation and characterization of acetic acid bacteria from kefir grains were of primary interest for the present investigations. Furthermore, the behaviour of acetic acid bacteria during manufacture and storage of kefir were studied and procedures for improved propagation of acetic acid bacteria have been developed.

Acetic acid bacteria amounting to  $3,3 \cdot 10^3 - 2,7 \cdot 10^6$  cfu/g were found in 12 out of the 25 investigated kefir grains. The isolated strains of acetic acid bacteria showed a much better growth in milk than the reference strains not originating from kefir. All isolates from kefir were identified as a specific milkadapted biotype of the species *Acetobacter pasteurianus*. In contrary to the reference strains, the isolates from kefir grains were able to colonize and propagate on kefir grains originally free of acetic acid bacteria. It was possible to improve the growth of the acetic acid bacteria by incubation at 26 °C, daily sub-cultivation of the kefir grains and longer incubation time.

The number of acetic acid bacteria decreased when kefir grains were stored at 4 °C, but remained constant in kefir stored at 4 °C and 8 °C. When manufacturing kefir directly from grains (direct-kefir), the number of acetic acid bacteria increased by one to two log units and reached a maximum of around  $10^7$  cfu/g. Their growth could be improved by stirring during the fermentation. The content of acetic acid bacteria decreased with each further sub-cultivation of the direct-kefir.

In model experiments with inoculation of a high number of acetic acid bacteria ( $10^6 - 10^7$  cfu/g), a slightly higher content of acetate and of volatile organic acids was analytically, not however, sensorially detected.

Kefir grains and kefir represent completely different fermentation systems. The microflora of kefir grains consists predominantly of lactobacilli and yeasts, whereas the lactic acid streptococci, a minority in kefir grains, dominate in direct-kefir.

#### IV

The number of lactobacilli and yeasts could substantially be increased in direct-kefir by stirring during the fermentation. The reason being not only the multiplication but to a greater extent the dissociation of these microorganisms from the kefir grain matrix. As observed earlier with acetic acid bacteria, each further subcultivation resulted in a decrease of the lactobacilli and of yeasts by approximately one log unit.

The number of lactic acid streptococci decreased during storage of kefir. The number of lactobacilli, however, increased at 4 °C and particularly at 8 °C by two log units. Thus, they were responsible for the increased content of D(-)-lactate in the stored product.

Considerable amounts of ethanol (0,2 – 2 g/kg) and D(-)-lactate (10 – 40% of the total lactate) were found in direct-kefir only. With each further sub-culturing the ethanol content and the part of D(-)-lactate decreased and became almost negligible. With the number of yeasts remaining constant during the storage at the above conditions, the ethanol content increased very much and in some cases reached the 20-fold of the initial concentration.

From the experiments it was concluded, that acetic acid bacteria are present in kefir grains of different origin. Acetic acid bacteria are able to exist in the complex ecosystem of the kefir grains. Therefore, the milk adapted biotype of the species *Acetobacter pasteurianus* is to be regarded as a characteristic microorganism of the microflora of kefir grains. More than  $10^7 - 10^8$  cfu/g acetic acid bacteria are necessary for a measurable and sensorially detectable metabolic activity. That level of bacterial count is hardly reached in presently marketed products. Other microorganisms, above all lactic acid streptococci and yeasts, are more important for the characteristics of industrially manufactured kefir.