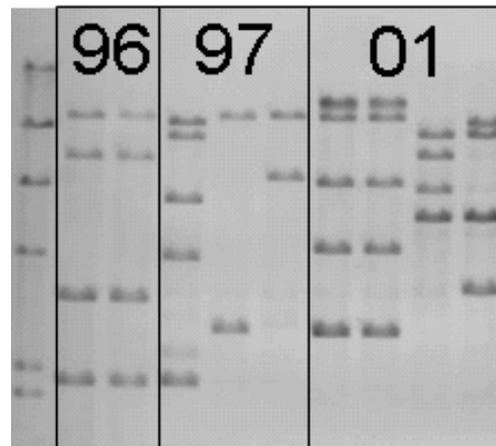


Aktueller Kenntnisstand zur Nachgärung bei Emmentalerkäse

Diskussionsgruppe



Inhalt

1	Einleitung	3
2	Nachgärung heute	4
2.1	Statistik Sortenorganisation Emmentaler	4
2.2	Rückmeldungen des Käsehandels.....	4
3	Bekanntes über die Propionsäuregärung	5
3.1	Stoffwechsel der Propionsäurebakterien	5
3.2	Weitere Faktoren bei der Emmentaler-Herstellung.....	5
3.3	Das CO ₂ -Potential aus der Propionsäuregärung	6
3.4	Interpretation der flüchtigen Carbonsäuren im Emmentalerkäse	6
4	Neue molekularbiologische Identifikationen von Propionsäurebakterien.....	7
5	Neues zur Biodiversität von Propionsäurebakterien in Emmentalerkäse	8
5.1	Versuchsaufbau in Uetligen	8
5.2	Propionsäurebakterien (PSB) in der Kessmilch (ohne PROP Kultur).....	9
5.3	Freie Carbonsäuren im 6- monatigen Emmentaler - Vergleich Prop-Vielfalt.....	10
6	Erkenntnisse aus Emmentaler guter Qualität und Emmentaler mit NG	11
6.1	Ziel der Erhebung.....	11
6.2	Ergebnisse	12
7	Praxisbeispiel „wilde“ Propionsäurebakterienstämme in der Rohmilch	14
8	Nachgärung als Folge einer fehlerhaften Proteolyse	15
9	Zusammenfassung	19

1 Einleitung

Die Qualität des Emmentalers wird im Alter von 4 Monaten als gut bis sehr gut eingestuft. Ganze Käsepartien mit Nachgärungsverdacht und Nachgärung sind die Ausnahme. Einzelne Tagesproduktionen können aber diesen Käsefehler schon deutlich aufweisen oder er kann mindestens ansatzweise für die weitere Ausreifung vorhergesagt werden. Trotz Analyse der Fabrikation erfasst der Käser die genaue Ursa-

che der Nachgärung nicht. Nebst der Verunsicherung entstehen auch betriebswirtschaftliche Verluste.

Im vorliegenden Diskussionsgruppenstoff behandeln wir neue Erkenntnisse über die Nachgärung bei Emmentalerkäse und zeigen Ursachen und Problemlösungsansätze auf.

2 Nachgärung heute

2.1 Statistik Sortenorganisation Emmentaler

Die monatlichen Qualitätsstatistiken der Sortenorganisation Emmentaler Switzerland werden bei ALP ausgewertet. Abb. 1 gibt einen Überblick über Fehler „Nachgärung und Nachgärungsverdacht“ seit Mai 2005, wobei Partien

mit mindestens ½ Punkt Abzug erfasst sind. Der Anteil NG/NGV ist zwischen Mai 05 und Mai 07 bei 2.7%, wobei gewichtmässig der Anteil höher liegen wird (grössere Partien aus Grossbetrieben).

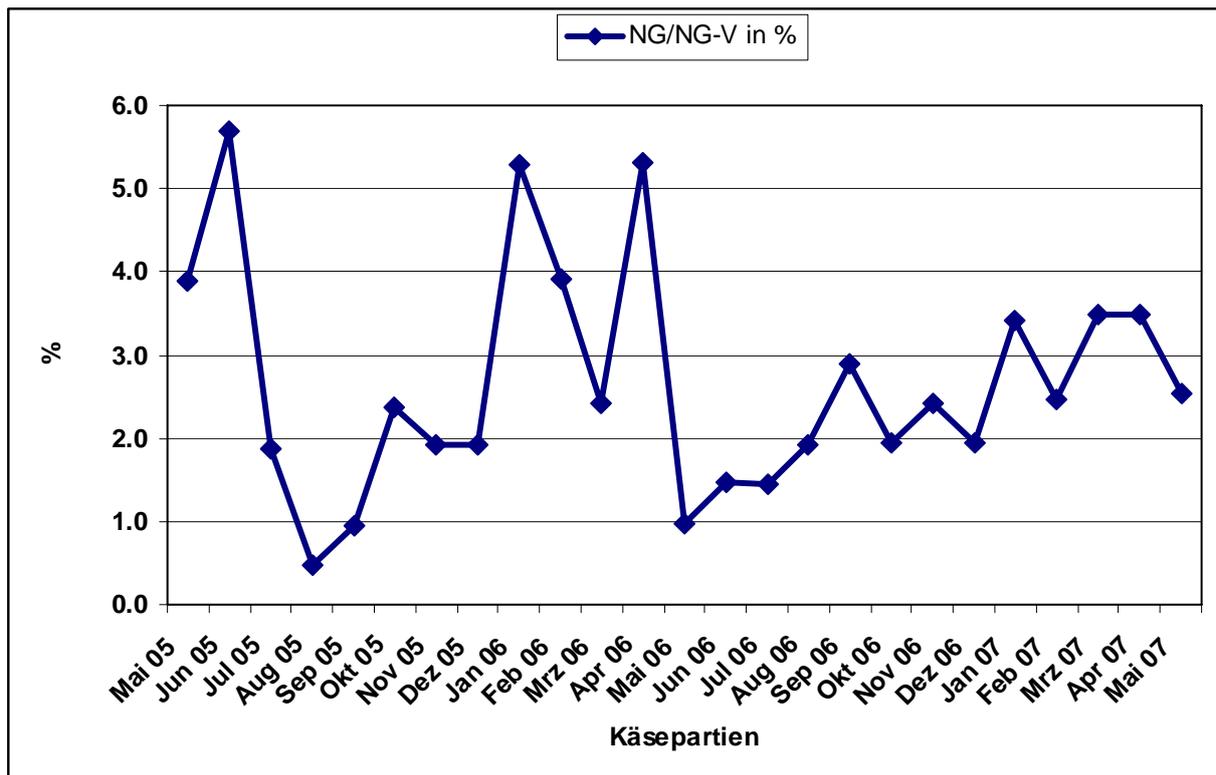


Abb. 1: Häufigkeit des Fehlers „Nachgärungsverdacht und Nachgärung“ bei der Taxation durch Sortenorganisation Emmentaler Switzerland. Die Statistik zeigt Partien mit einem Abzug von einem halben Punkt und mehr.

2.2 Rückmeldungen des Käsehandels

Rückmeldungen erhält ALP durch Meldungen des Käsehandels direkt oder über den Käseerberater. Im Winter/Frühling 2006/07 sensibilisierten wir die Emmentalerbranche, damit wir aus Einzelpartien Käseproben von ausreifbaren

Käsen sowie von Nachgärungskäsen erheben konnten. Wir werden die Ergebnisse unter „Erkenntnisse aus Emmentaler guter Qualität und Emmentaler mit NG“ im Abschnitt Nr. 6 diskutieren.

3 Bekanntes über die Propionsäuregärung

Die Propionsäuregärung ist als zweite typische Gärung des Emmentalers bekannt. Für die Herstellung von Emmentaler werden Kulturen von *Propionibacterium freudenreichii* verwendet. Wenn die Käse bei Temperaturen von 20 –

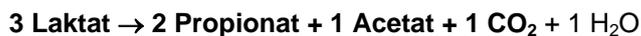
23 °C gereift werden, beginnt die Propionsäuregärung gut 30 Tage nach der Herstellung und dauert 8 - 10 Wochen. Ist der Käse konsumreif, so finden sich im Käse normalerweise etwa 10^8 bis 10^9 Propionsäurebakterien pro g.

3.1 Stoffwechsel der Propionsäurebakterien

Bei der klassischen Propionsäuregärung verstoffwechseln die Propionsäurebakterien Milchsäure zu Propionsäure, Essigsäure und Kohlendioxid. Der Metabolismus im Emmentaler ist aber komplexer. Propionsäurebakterien können nämlich die Milchsäure auf verschiedene Wege abbauen.

In der Gegenwart von Asparaginsäure ist die Fermentation von Milchsäure an diejenige von Asparaginsäure gekoppelt. Dabei entsteht keine Propionsäure, aber Essigsäure, Kohlendioxid und Succinat.

(A) Klassische Milchsäurefermentation:



(B) Succinatbildung während der Milchsäurefermentation über den Aspartat-Metabolismus (Desaminierung von Aspartat):



Abb. 2: Klassischer Stoffwechsel und Aspartat-Stoffwechsel der Propionsäurebakterien

Propionsäurebakterien können in ihrer Fähigkeit, Asparaginsäure abzubauen, stark variieren. Im Gegensatz zur Kultur PROP 96 hat die PROP 01 eine hohe Aspartase-Aktivität. Stämme mit einer hohen Aspartase-Aktivität bewirken im Käse ein intensiveres Aroma und stärkere Lochung. Abhängig von der Fähigkeit der eingesetzten PROP-Kultur Asparaginsäure

zu fermentieren, entstehen folglich recht unterschiedliche Produkte.

Stämme mit einer hohen Aspartase-Aktivität bergen allerdings auch ein höheres Nachgärungsrisiko, besonders bei gleichzeitig starker Proteolyse „in die Tiefe“.

3.2 Weitere Faktoren bei der Emmentaler-Herstellung

Die Propionsäuregärung im Käse ist von vielen Faktoren abhängig. Wesentlich sind vor allem der Gehalt an Propionsäurebakterien in der Milch, der PROP-Kulturenzusatz, die pH-Verhältnisse, das Angebot an löslichen N-Verbin-

dungen und das Vorhandensein von *Lb. casei* oder anderen FH-Laktobazillen.

Normalerweise sind in der Rohmilch Keimzahlen von 0-50, seltener bis 200 Keime/ml zu

erwarten. Solche Keime sind natürlich nicht definiert und können zu Problemen Anlass geben, obwohl in der Milch wegen der langen Generationsdauer und der fehlenden, löslichen N-Verbindungen kaum eine Vermehrung stattfindet.

3.3 Die CO₂-Bildung aus der Propionsäuregärung

Die maximal mögliche Menge an gebildetem CO₂ folgt aus dem Gärschema:



- Der mittlere GMS-Gehalt liegt bei 129 mmol/kg. Daraus ergeben sich beim kompletten Abbau 43 mmol/kg CO₂, wobei 1 mmol CO₂ unter Normalbedingungen (0°C, 1 bar) 22.4 ml Volumen einnimmt.
- In einem 100 kg schweren Käse sind 12.9 mol Laktat vorhanden. Dies ergibt theoretisch 96.3 L CO₂. Typischerweise sind aber nach 3 Monaten noch mindestens 50 mmol Laktat pro kg vorhanden. Im Normalfall werden also bei der Propionsäuregärung rund 60 Liter CO₂ pro 100-kg-Laib gebildet.

Ausser der klassischen Propionsäuregärung gibt es aber noch andere CO₂-Quellen:

3.4 Interpretation der flüchtigen Carbonsäuren im Emmentalerkäse

Ein Gaschromatogramm (GC) ist heute die sinnvollste und zuverlässigste Methode, weil die einzelnen Carbonsäuren ziemlich genau be-

Das Verhältnis Propionsäure zu Essigsäure oder auch die Menge der Ameisensäure sind beim Emmentaler ein gutes Mass, die Aktivität (und Wirkung) der FH-Laktobazillen abzuschätzen: Beispielsweise lässt ein tiefer Ameisensäurewert von ≤ 3 mol% bei gleichzeitig hohem Essigsäurewert (Normbereich 3 Monate: 43-48 mol%) im Vergleich zum Propionsäurewert

Zur Zeit werden drei PROP-Kulturen von ALP angeboten und der Käser hat die Wahl. Die beiden Kulturen **PROP 96** und **PROP 97** gelten als sehr ähnlich, von der **PROP 01** (sie besteht aus 4 Stämmen der Standard-P-Kultur) wird allgemein eine etwas intensivere Propionsäuregärung erwartet.

- **Citratabbau** durch *Lb casei* oder andere fakulativ heterofermentative Laktobazillen (FH). FH hemmen jedoch die Propionsäuregärung, so dass mit FH unter dem Strich ca. 7 mmol CO₂/kg Käse weniger produziert werden als ohne FH.
- **Decarboxylierung von Aminosäuren:** Der Umfang der durch Gärungen von Fremdkeimen möglichen Decarboxylierung der Aminosäuren wurde aufgrund älterer Untersuchungen auf etwa 10 -15 Litern CO₂ pro 100 kg Käse als Maximum geschätzt.
- **Aspartatabbau durch Propionsäurebakterien:** Eine spezielle Möglichkeit der CO₂-Produktion besteht im bereits erwähnten Aspartatabbau durch Propionsäurebakterien. Dieser erfolgt zusammen mit Milchsäure und es entsteht dabei mehr CO₂ als beim Milchsäureabbau durch die klassische Propionsäuregärung.

stimmt werden können. Aus der Menge und dem Verhältnis der flüchtigen Carbonsäuren lässt sich die Gärung sicher ableiten.

(Normbereich 3 Monate: 47-52 mol%) auf eine ungenügende Aktivität der FH-Laktobazillen schliessen.

Die Propionsäurebakterien produzieren im Emmentalerkäse immer Essig- zu Propionsäure im Verhältnis 1:2. Die übrige Essigsäuremenge stammt vom Stoffwechsel der FH-Laktobazillen.

5 Neues zur Biodiversität von Propionsäurebakterien in Emmentalerkäse

Im Dezember 2006 fabrizierte die Versuchskäserei aus gleicher Rohmilch je ein Käse mit PROP 96, PROP 97 und PROP 01. Ziel des Versuches war es die Biovielfalt der Propionsäurebakterien im Emmentalerkäse zu ergründen. Aus früheren Versuchen war bekannt, dass nebst den PROP-Stämmen aus der Kultur auch wilde Stämme aus der Rohmilch und aus der Käserei im Emmentalerkäse vorkommen können. Uns interessierte:

- Der Vergleich der Genotypen der Prop-Wildstämme mit Genotypen der Rohmilch (Überprüfung der Herkunft der Wildstämme)
- Der Einblick in den Anteil an Prop-Wildstämmen und ALP-Kultur-Stämmen während der Reifung von Emmentaler

- Die Überprüfung der Prop-Zusammensetzung in Emmentaler, welche mit mehrstämmigen Kulturen hergestellt wurden (PROP 01 und PROP 97)

Während der 8-monatigen Reifung und Lagerung nahm der Emmentalerkäse mit PROP 97 leicht und diejenige mit PROP 01 etwas an Höhe zu. Der Emmentalerkäse mit PROP 96 blieb ruhig. Zur Steuerung bzw. Hemmung der Propionsäuregärung setzte Uettligen die MK 3008 ein.

5.1 Versuchsaufbau in Uettligen



Propionsäurebakterien-Untersuchung von

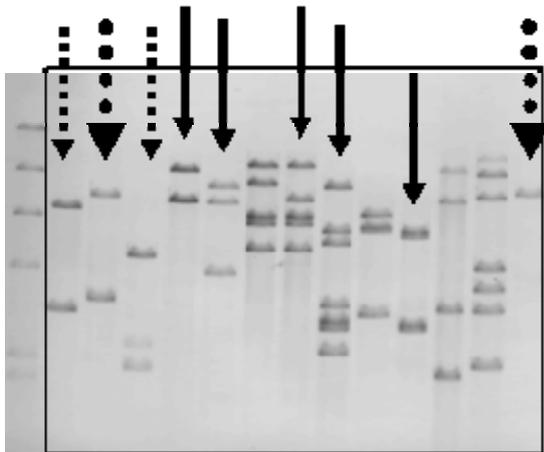
- Kessimilch (vor Beimpfung mit Prop)
- Bruch (nach Schneiden 32°C)
- Bruch (vor Abpumpen 52°C)
- Käse 2, 4, 6, 8 Mt

5.2 Propionsäurebakterien (PSB) in der Kessmilch (ohne PROP Kultur)

Die Untersuchung der Propionsäurebakterienflora der Kessmilch (vor Beimpfung mit der Prop-Kultur) anhand der molekularbiologischen Methoden ergab folgendes Bild:

Total wurden 165 PSB identifiziert, wovon:

- 126 *P. freudenreichii*, und zwar 9 verschiedene Typen
- 3 *P. acidipropionici*: 2 Typen
- 36 *P. jensenii*: 3 Typen
- 34 *P. jensenii*: nicht differenzierbare



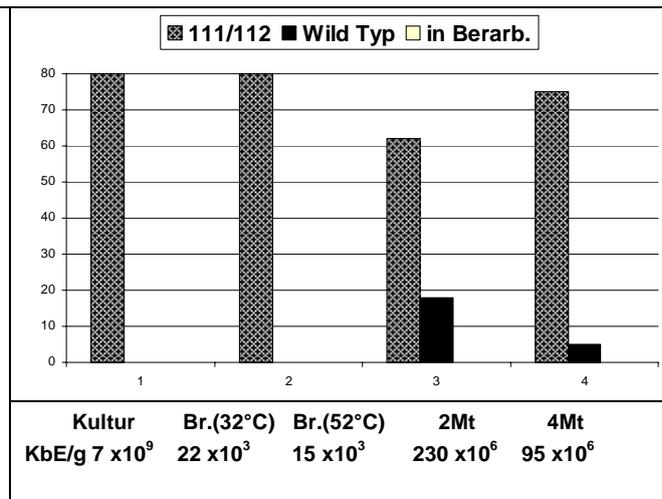
▼ *P. acidipropionici*
↓ *P. jensenii*
↓ *P. freudenreichii* im Käse vorkommend

Abb. 4: Molekularbiologische Identifikation von Propionsäurebakterienstämmen

5.3 Freie Carbonsäuren im 6- monatigen Emmentaler - Vergleich Prop-Vielfalt

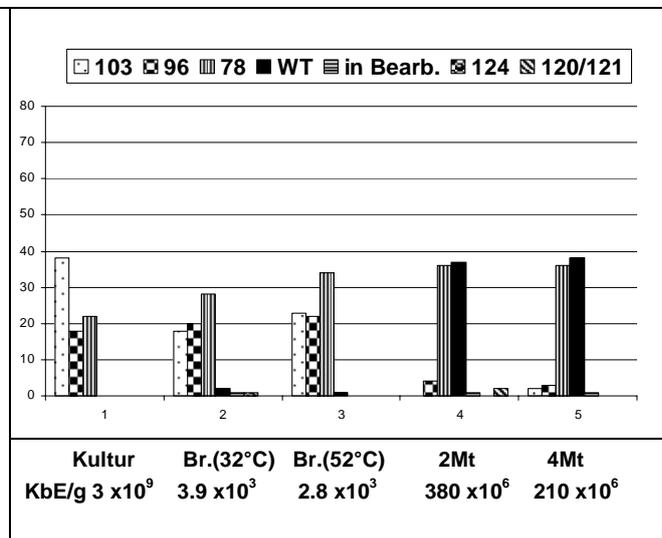
Prop 96 mit Stämmen 111/112	mmol/kg	mol% Anteil
Freie Aminosäuren	196.0	
Tot. fl. Carbonsäuren	102.8	
Ameisensäure	4.7	4.6
Essigsäure	42.0	40.9
Propionsäure	54.0	52.5
iso-Buttersäure	0.0	0.0
Buttersäure	1.9	1.8
iso-Valeriansäure	0.0	0.0
Iso-Caprönsäure	0.0	0.0
Caprönsäure	0.2	0.2

Im Alter von 2 Monaten sind ca. ein Viertel aller PSB aus der Rohmilch.



Prop 97 mit Stämmen 103, 96, 78	mmol/kg	mol% Anteil
Freie Aminosäuren	189.0	
Tot. fl. Carbonsäuren	123.8	
Ameisensäure	4.2	3.4
Essigsäure	49.6	40.0
Propionsäure	69.0	55.7
iso-Buttersäure	0.0	0.0
Buttersäure	0.9	0.7
iso-Valeriansäure	0.0	0.0
Iso-Caprönsäure	0.0	0.0
Caprönsäure	0.1	0.1

Im Alter von 2 Monaten sind ca. die Hälfte aller PSB aus der Rohmilch. Stamm 78 setzt sich durch.



Prop 01 mit Stämmen 120/121, 124, 125	mmol/kg	mol% Anteil
Freie Aminosäuren	170.0	
Tot. fl. Carbonsäuren	125.7	
Ameisensäure	4.1	3.3
Essigsäure	51.9	41.3
Propionsäure	68.6	54.6
iso-Buttersäure	0.0	0.0
Buttersäure	0.9	0.7
iso-Valeriansäure	0.0	0.0
Iso-Caprönsäure	0.0	0.0
Caprönsäure	0.2	0.1

Im Alter von 2 Monaten sind ca. ein Drittel aller PSB aus der Rohmilch. Die Stämme 120/121 dominieren.

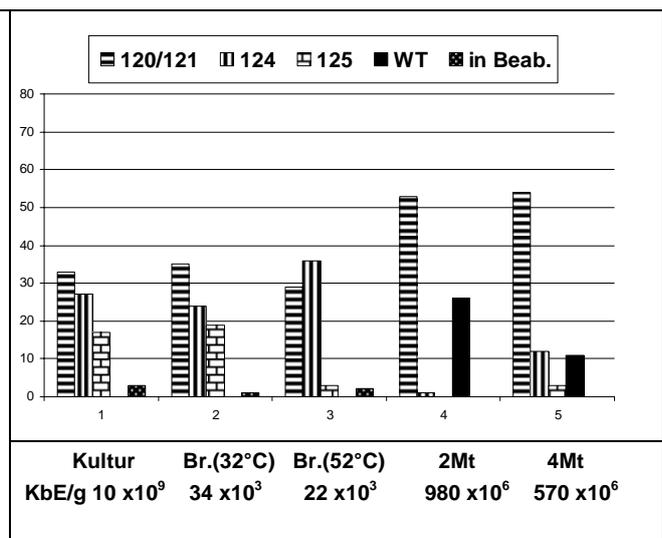


Abb. 5: Flüchtige Carbonsäuren im 6- monatigen Emmentaler im Vergleich mit der PSB-Biodiversität (WT=Wildtyp)

Auf Grund der Anteile der flüchtigen Carbonsäuren zeigte der Emmentalerkäse mit PROP 96 die solidesten Werte, d.h. der Anteil Ameisensäure liegt über 4 mol% Anteil und die Propionsäure unter 53 mol Anteil %. Die Käse mit PROP 97 oder 01 fallen wegen der Propionsäureanteile von über 54% und etwas tieferer Ameisensäurewerte auf. Während der Lagerung „höhten“ beide Käse leicht nach. Beim Käse mit PROP 01 ist bei der Beurteilung die hohe Aspartase-Aktivität zu berücksichtigen. Im Alter von 2 und 4 Monaten sind im Käse mit PROP 96 am we-

nigsten Wildstämme vorhanden, was das Gärgeschehen in diesem Fall positiv beeinflusst. Im Emmentaler mit PROP 97 sind ab 2 Monaten der Kulturstamm Nr. 78 und die Wildtypen dominant vertreten. Beim Käse mit PROP 01 sind die nicht näher differenzierbaren Stämme 120/121 ab 2 Monaten in der Mehrzahl. Mit Ausnahme des Stammes Nr. 120/121 weisen alle ALP-PROP-Stämme eine schwache Aspartase-Aktivität auf. Wie sich die Wildtypen im Käse verhalten, ist nicht untersucht worden.



PROP
96

PROP
97

PROP
01

Abb. 6: Emmentalerkäse hergestellt mit verschiedenen PROP-Kulturen

6 Erkenntnisse aus Emmentaler guter Qualität und Emmentaler mit NG

6.1 Ziel der Erhebung

Als erstes soll der Anteil an PROP-Wildtypen und PROP-Stämmen der ALP-Kulturen während der Reifung von Emmentaler ermittelt werden. Dabei sind Käse mit und ohne NG, hergestellt mit allen drei ALP-PROP-Kulturen und mit gleichem Alter einzubeziehen. Bestätigt wurde die Nachgärung mit dem GC.

Die Erhebung soll für die Beratung Hinweise ergeben, weshalb in Einzelfällen trotz der Verwendung von ALP-PROP-Kulturen eine durch

Propionsäurebakterien verursachte Nachgärung bei Emmentaler vorkommen kann. Es wird vermutet, dass der Anteil von Wildtypen im reifen Käse dominant sein kann.

Die Praxis soll mehr Wissen für die Verbesserung der Ausreifbarkeit von Emmentaler erhalten. Die Untersuchungen der Käse mit PROP 96 und 01 werden anschliessend vorgestellt.

6.2 Ergebnisse

Pro Käseprobe wurden je 40 Kolonien abgeimpft und als reine Stämme gezüchtet. Anschliessend erfolgte die Typisierung der PROP-Stämme. Als Vergleichszahlen dienten die Untersuchungsergebnisse von Uettligen aus der Arbeit „Biodiversität von Propionsäurebakterien in Emmentalerkäse“.

Die molekularbiologischen Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. In dieser Arbeit wurden die Proben aus vier Emmentalerkäsereien mit und ohne Nachgärung untersucht.

Tab. 1: Flüchtige Carbonsäuren im 4 Monate alten Emmentaler mit/ohne Nachgärung, hergestellt mit PROP 96

Emmentaler 4 Mt. mit Prop 96		Käserei O		Käserei A1	
		gQ	NG	gQ	NG
Tot. fl. Carbonsäuren	mmol/kg	98.8	119.2	100.3	129.0
Ameisensäure	mol% Anteil	3.8	1.3	4.1	2.4
Essigsäure	mol% Anteil	40.0	38.9	40.9	35.8
Propionsäure	mol% Anteil	55.6	59.2	54.5	61.5
iso-Buttersäure	mol% Anteil	0.0	0.0	0.1	0.1
Buttersäure	mol% Anteil	0.5	0.4	0.3	0.2
iso-Valeriansäure	mol% Anteil	0.0	0.0	0.0	0.0
Iso-Caprönsäure	mol% Anteil	0.0	0.0	0.0	0.0
Caprönsäure	mol% Anteil	0.2	0.2	0.1	0.1

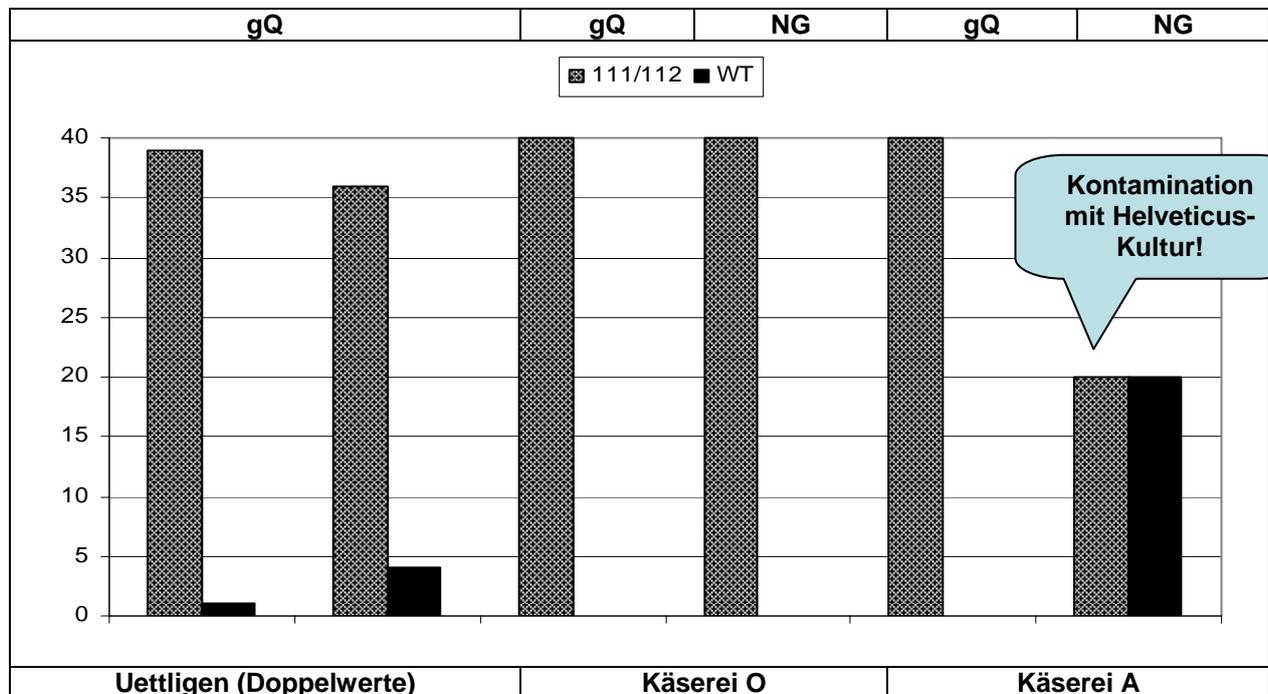


Abb. 7: Vergleich mit der PSB-Biodiversität (WT=Wildtyp, gQ=haltbare Käse, NG=Nachgärung)

Das Beispiel der Käserei O zeigt uns, dass Emmentalerkäse auch ohne PROP-Wildtypen nachgären. Offensichtlich hemmte hier die MK 3010 die PROP-Stämme der PROP 96 zu wenig. Der Einsatz der MK ist molekularbiologisch bestätigt worden.

Zwei Faktoren können für die Nachgärung in der Käserei A1 verantwortlich sein, einerseits die

50% der Wildtypen und andererseits der Nachweis von *Lactobacillus helveticus*. Dieser Betrieb stellt Spezialitätenkäse mit Helveticus-Kultur her.

Wenig Wildtypen weisen die ausreifbaren Uettli-ger Käse auf – mit hohem Anteil an Ameisensäure (4.6 mol % Anteil).

Tab. 2: Flüchtige Carbonsäuren im 4 Monate alten Emmentaler mit/ohne Nachgärung (PROP 01)

Emmentaler 4 Mt. mit Prop 01		Käserei A2	
		gQ	NG
Tot. fl. Carbonsäuren	mmol/kg	99.7	116.5
Ameisensäure	mol% Anteil	3.5	2.8
Essigsäure	mol% Anteil	45.0	43.6
Propionsäure	mol% Anteil	50.9	52.9
iso-Buttersäure	mol% Anteil	0.0	0.0
Buttersäure	mol% Anteil	0.5	0.5
iso-Valeriansäure	mol% Anteil	0.0	0.0
Iso-Caprönsäure	mol% Anteil	0.0	0.0
Caprönsäure	mol% Anteil	0.2	0.2

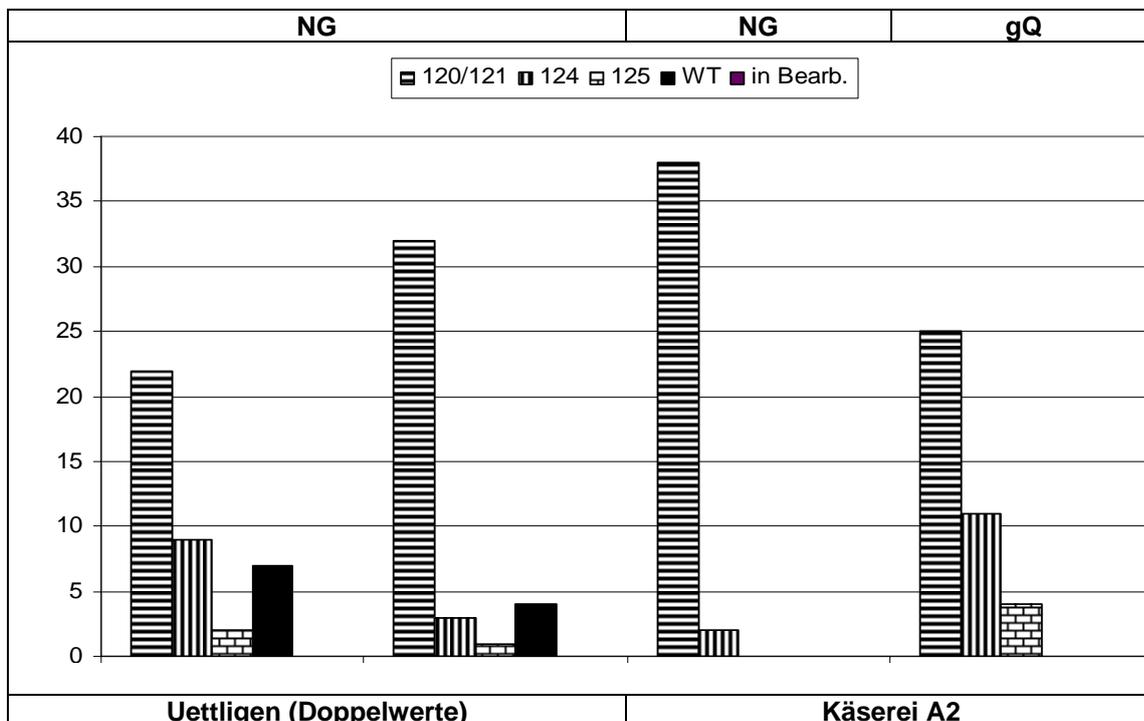


Abb. 8: Vergleich mit der PSB-Biodiversität (WT=Wildtyp, gQ=haltbare Käse, NG=Nachgärung)

Hier ist beim Nachgärungskäse aus Uettligen sowie aus der Käserei A2 ersichtlich, dass insbesondere die Stämme Nr. 120/121 stark dominant sind. Wir wissen, dass die PROP-Stämme Nr. 120/121 eine etwas stärkere Aspartase-Akti-

vität aufweisen und so fähig sind, während der späteren Reifung noch CO₂ zu bilden. Auch bei diesen Nachgärungskäsen hemmte die MK 3010 die PROP-Stämme der PROP 01 zu wenig.

7 Praxisbeispiel „wilde“ Propionsäurebakterienstämme in der Rohmilch

Immer wieder höhten die Käse aus einer Emmentalerkäserei im Handelslager nach. Auffallend war, dass dies tageweise oder mehrere Tage hintereinander auftrat. Bei der Analyse der Gärung im reifen Käse wurde ein tiefer Amei-

sensäure- und ein erhöhter Propionsäuregehalt ermittelt. Eine Überprüfung des Einsatzes der FH-Kultur ergab keine Unregelmässigkeiten. Als weitere Massnahme wurde die Roh- und Kessmilch auf Prop-Wildtypen untersucht.

Tab. 3: Propionsäurebakterien in Milch - Ergebnisse aus einer Praxiskäserei

Analysedatum	Untersuchungsmaterial	Propionsäurebakterien [KbE/ml]
19.10. 2006	Kessmilch	60
20.10.2006	Kessmilch	70
13.11.2006	52 Lieferantenmilchen Lieferant Nr. 26 Lieferant Nr. 28 Lieferant Nr. 50	43x < 10 bzw.10 6x zwischen 20 – 50 1x 80 1x 280 1x 850
7.12.2006	Lieferant Nr. 26 Lieferant Nr. 28 Lieferant Nr. 50	< 10 20 60
29.1.2007	Kessmilch Lieferant Nr. 50	10 240
9.2.2007	Lieferant Nr. 50 Vor Kanne 1 Aus Kanne 1 Vor Kanne 2 Aus Kanne 2 Vor Kanne 3 Aus Kanne 3	40 < 10 < 10 < 10 < 10 30
8.4.2007	Kessmilch 1 Kessmilch 2 Lieferant Nr. 50	20 10 60
23.4.2007	Lieferant Nr. 50	130
4.5.2007	Kessmilch 1 Lieferant Nr. 28 Lieferant Nr. 50	20 40 80
28.6.2007	Kessmilch 1 Lieferant Nr. 50	40 790
30.8.2007	Lieferant Nr. 50	260
5.9.2007	Lieferant Nr. 50 Aggregat 1, ab Milchslauch Aggregat 1, ab Kanne 1, Gesamtmilch Aggregat 2, ab Milchslauch Aggregat 2, ab Kanne 2, Gesamtmilch Aggregat 2, ab Kanne 3, Gesamtmilch	< 10 1040 < 10 140 350
18.9.2007	Lieferant Nr. 50 Abendmilch	< 10
27.9.2007	Lieferant Nr. 50 Morgenmilch	< 10

Laut Aussage des Käasers ist bis heute die Ausreifbarkeit seiner Käse unterschiedlich. Beim Käsewägen sind die Käse qualitativ in Ordnung. Im Alter von ca. 4 Monaten beginnen die Käse „nachzuhöhen“. Erste Anzeichen werden sporadisch anlässlich der Taxation wegen grosser und gezogener Lochung beobachtet. Nach mehrmaliger Beratung des Lieferanten Nr.

50 wurden die Milchkannen als Kontaminationsquelle der Propionsäurebakterien gefunden. Eine intensive Reinigung mit konzentrierter Lauge und starker Säure und ein Ausbrühen mit kochendem Wasser verbesserte die Milchqualität schlagartig.

8 Nachgärung als Folge einer fehlerhaften Proteolyse

Wie in Abschnitt 3.3 bereits erwähnt wurde, wird auch beim Eiweissabbau Kohlensäure (CO₂) gebildet, genauer bei der so genannten Decarboxylierung von Aminosäuren. Bei diesem Vorgang werden Aminosäuren durch Abspaltung von CO₂ zu biogenen Aminen abgebaut (Abb. 9 und 10). Eine starke Proteolyse in die Tiefe, also ein grosses Angebot von freien Aminosäuren wie es im reifen Käse vorliegt, begünstigt diesen Vorgang. Allerdings braucht es dazu immer auch die entsprechenden Enzyme, die Decarboxyla-

sen, bzw. Mikroorganismen, welche solche Enzyme produzieren.

Aus dem Gehalt an biogenen Aminen und Aminobuttersäure im Käse können wir berechnen, wieviel CO₂ durch den Abbau von Aminosäuren gebildet wurde. Und es zeigt sich, dass dabei im Einzelfall deutlich mehr CO₂ anfallen als die früher geschätzte Menge von max. 150 ml CO₂ pro kg Emmentaler.

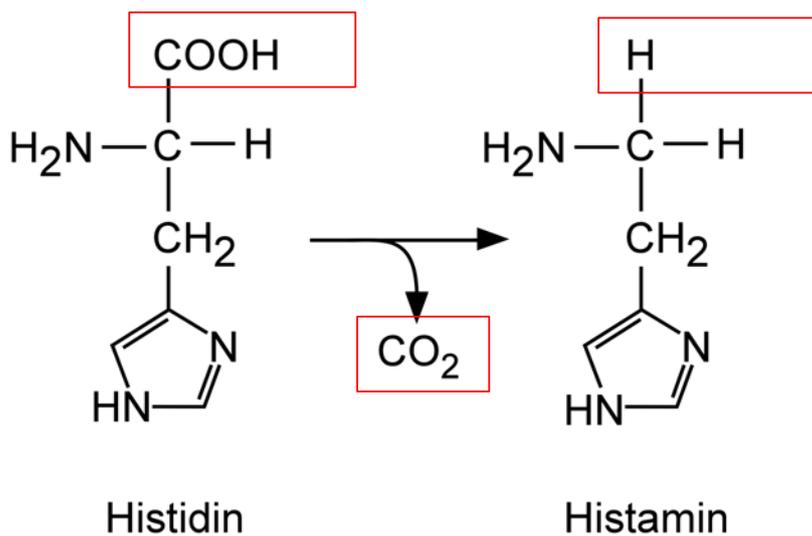


Abb. 9.: Bildung Kohlendioxid und Histamin durch die Decarboxylierung der Aminosäure Histidin

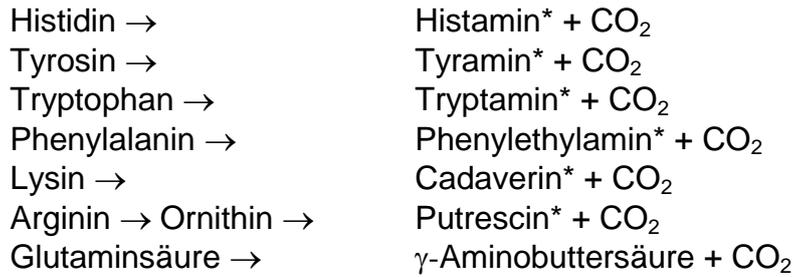


Abb. 10: Einige Reaktionen, die zur Freisetzung von CO₂ aus Aminosäuren führen. (Bei den mit * bezeichneten Produkten handelt es sich um biogene Amine).

Aus der Praxis wissen wir, dass Käse mit einem hohen Gehalt an freien Aminosäuren (OPA-Wert) besonders zu Nachgärung neigt. Manchmal liegt die Erklärung in der verstärkten Aktivi-

tät von aspartasepositiven Propionsäurebakterien, die vom grösseren Angebot an freier Asparaginsäure profitieren. Wie das folgende Praxisbeispiel zeigt, trifft dies nicht immer zu.

Fallbeschreibung:

Einige Tagesproduktionen der Partie vom April 2007 aus dem Betrieb X zeigen mit 4-5 Monaten starke Nachgärung (Abb. 11). Die Käse entwickeln Gläs, reissen teilweise sogar auf. Der Geschmack wird als „beissend“ umschrieben.



Abb. 11: Emmentalerkäse (Alter 5 ½ Monate) mit heftiger Nachgärung aufgrund fehlerhafter Proteolyse

Eine Probe des 5 ½ Monate alten Käses wurde darauf im Labor untersucht – mit erstaunlichen Befunden (siehe Tab. 4).

Tab. 4: Untersuchungsergebnisse von Emmentaler mit Nachgärung (Alter: 5.5 Monate)

Prüfparameter	Einheit	Wert	
pH-Wert		5.85	↑
Wff	g/kg	536	
FiT	g/kg	505	
Gesamtprotein	g/kg	284	
Gesamtmilchsäure	mmol/kg	31	↓
Total flüchtige Carbonsäuren	mmol/kg	106	
Ameisensäure	mmol/kg	3.2	
Essigsäure	mmol/kg	49.6	↑
Propionsäure	mmol/kg	51.9	
Buttersäure	mmol/kg	0.7	
Capronsäure	mmol/kg	0.2	
Bernsteinsäure (Succinat)	mmol/kg	6.9	
Freie Aminosäuren (OPA-Wert)	mmol/kg	266	↑↑
α-Aminobuttersäure	mmol/kg	6.06	
γ-Aminobuttersäure	mmol/kg	0.12	
Ornithin	mmol/kg	5.16	
Summe biogene Amine	mg/kg	1637	↑↑↑
Cadaverin	mg/kg	4	
Histamin	mg/kg	630	↑↑
β-Phenylethylamin	mg/kg	17	
Putrescin	mg/kg	481	↑↑↑↑
Tyramin	mg/kg	505	↑↑
CO ₂ -Produktion aus Aminosäureabbau	ml/kg**	≥ 474	↑↑↑

** Gasvolumen unter Normalbedingungen

Die Untersuchungsergebnisse lassen sich wie folgt interpretieren:

- Die Propionsäuregärung ist normal verlaufen.
- Eine Nachgärung verursacht durch aspartatpositive Propionsäurebakterien hat nicht stattgefunden, denn die Bernsteinsäure ist im Normalbereich
- Die Proteolyse in die Tiefe ist deutlich stärker als normal. Im 5 Monate alten Emmentaler wird ein OPA-Wert nicht über 210 mmol/kg erwartet.
- Der Gehalt an biogenen Aminen ist ausserordentlich hoch und zeugt von einem fehlerhaften Eiweissabbau durch unerwünschte Mikroorganismen (Normalwerte im 6-monatigen Emmentaler: Summe biogene Amine < 150 mg/kg). Die biogenen Amine, insbesondere Histamin, sind bekannt dafür, dass sie in hohen Konzentrationen brennenden Geschmack hervorrufen können, was auch hier festgestellt wurde.
- Die insgesamt aus dem Aminosäureabbau errechnete freigesetzte CO₂-Menge beläuft sich auf mindestens 474 ml pro kg Käse.

336 ml davon stammen allein aus der Bildung biogener Amine. Zum Vergleich: bei der Propionsäuregärung werden normalerweise rund 600 ml CO₂ pro kg Käse gebildet. Der Aminosäureabbau somit muss als Ursache des "Nachhörens" der Käse beurteilt werden.

- Der erhöhte Gehalt an Essigsäure dürfte zumindest teilweise ebenfalls proteolysebedingt sein (Abbau von Alanin). Fremdkeime könnten aber ebenfalls eine Rolle gespielt haben.

Histamin und Tyramin wenig bekömmlich!

Hohe Konzentrationen an Histamin und Tyramin sind nicht nur wegen des Brennens auf der Zunge unerwünscht. Beim Verzehr stark belasteter Lebensmittel können Durchfall, Kreislaufstörungen und pseudoallergische Reaktionen auftreten.

Hinsichtlich der primären, mikrobiologischen Ursachen des Käsefehlers wurde der Käse auch bakteriologisch untersucht (siehe Tab. 5). Salztolerante Keime und Enterokokken, welche als starke Proteolyten mit teilweise ausgeprägter Fähigkeit zu Bildung biogener Amine neigen, konnten keine nachgewiesen werden. In relativ hoher Zahl wurden aber obligat heterofermentative

Laktobazillen (OHL) nachgewiesen. Auch unter diesen gibt es starke Histaminbildner wie z.B. *Lb. buchneri* oder gewisse Stämme von *Lb. fermentum*. Die OHL bilden ausserdem erhebliche Mengen an Essigsäure. Die erhöhten Essigsäuregehalte im Käse könnten also auch mit den nachgewiesenen OHL in Zusammenhang stehen.

Tab. 5: Bakteriologische Untersuchungsergebnisse von Emmentaler mit Nachgärung (Alter: 5.5 Monate)

Prüfparameter	Einheit	Wert
Salztolerante Keime	KBE/g	< 100
Enterokokken	KBE/g	< 100
Obligat heterofermentative Laktobazillen	KBE/g	430'000

Es sei an dieser Stelle betont: Die wahren mikrobiologischen Ursachen anhand einer Untersuchung des ausgereiften Käses zu benennen, ist mit grossen Unsicherheiten verbunden. Die Wachstums- und Absterbedynamik variiert von Keimgruppe zu Keimgruppe. Eine Momentauf-

nahme im 4-5 Monate alten Käse widerspiegelt nicht den Zustand im jungen Käse. Auch dieser ist aber von Bedeutung: Enzyme abgestorbener Keime können sich durchaus auch im Verlauf der weiteren Reifung auswirken.

Im vorliegenden Falle darf man annehmen, dass die nachgewiesenen OHL mit der Nachgärung in Verbindung stehen. Möglicherweise waren aber noch andere Fremdkeime involviert, die nicht untersucht wurden bzw. nach 5.5 Monaten nicht mehr nachweisbar sind. Bei starker Proteolyse kann z.B. auch *Lb. helveticus* im Spiel sein, was nicht einfach zu überprüfen ist!

In jedem Falle ist das Augenmerk auf die Rohmilchqualität zu legen. Grundsätzlich sind aber auch Kontaminationsquellen im Betrieb in Betracht zu ziehen.

Was liefert Hinweise auf Infektionen unerwünschte Keime?

- Gärprobe (auch bei gallertiger Gerinnung auf Gasbildung achten!)
- Hohe Säuregrade in der Luzernerprobe
- Untersuchung auf salztolerante Keime
- Untersuchung von Milchproben auf OHL (Labormethode nach dem MPN-Verfahren)

9 Zusammenfassung

Trotz der allgemein guten Ausreifbarkeit von Emmentalerkäse sind Rückmeldungen vom Käsehandel wegen „Nachhörens“ im letzten Winter wieder vermehrt gemeldet worden. Mit den heute möglichen Analysen können drei Viertel aller Fälle als typische Nachgärung bezeichnet werden. Zu tiefe Ameisensäure- und zu hohe Propionsäureanteile im 4 Monate alten Käse sind typische Merkmale und weisen auf Unstimmigkeiten im Kultureinsatz hin.

In jeder von Nachgärung betroffenen Käserei drängen sich Fragen auf:

- Wird die FH-Kultur eingesetzt, wird sie richtig angewendet und ist sie genügend aktiv?
- Gibt es Kontaminationen durch FH- und PROP-Wildtypen in der Verarbeitungsmilch, welche eine unkontrollierte Propionsäuregärung verursachen?

- Kann die Kontamination der Verarbeitungsmilch durch *Lb. helveticus* die Ursache für eine unkontrollierte Propionsäuregärung sein? Zum Bsp. natürliche Kontamination der Rohmilch, Kreuzkontamination durch Spezialitätenkulturen.
- Ist die Milch mit Fremdkeimen, welche biogene Amine bilden, belastet (obligat heterofermentative *Lb.*, Enterokokken etc.)?

Nebst dem optimalen Einsatz der ALP Kulturen, insbesondere der PROP- und FH-Kulturen sind also Fremdkeimbelastungen (heterofermentative Laktobazillen, wilde PROP-Keime, Proteolyten) in der Rohmilch und die Kontaminationen in der Käserei entscheidend.

Herausgeber Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, CH-3003 Bern, Tel. +41 (0)31 323 84 18, Fax +41 (0)31 323 82 27, www.alp.admin.ch, e-mail: info@alp.admin.ch **Autoren** R. Amrein, M.Turgay, H. Berthoud, E. Jakob **Fotos/Redaktion** Agroscope Liebefeld-Posieux **Layout** E. Jakob
Copyright Nachdruck bei Quellenangabe und Zustellung eines Belegexemplars an die Herausgeberin gestattet.