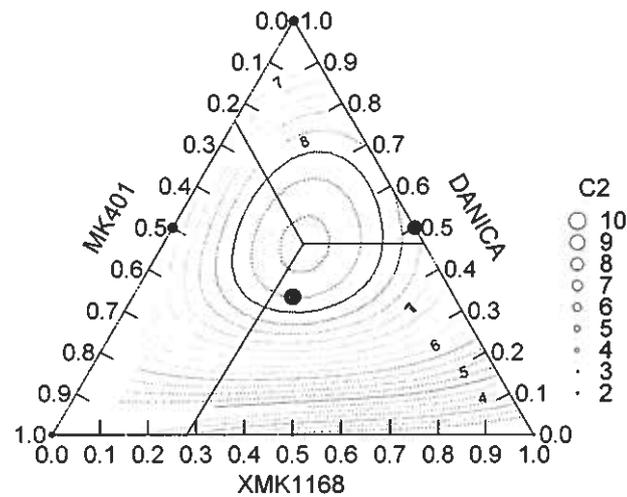


Januar 2001 / 412

Eidg. Forschungsanstalt für
Milchwirtschaft, Liebefeld
CH-3003 Bern

Einsatz von *Lb. helveticus* in der Raclette-Fabrikation



M.T. Wyder

1. Einleitung

Die Proteolyse ist für die Entwicklung der Teigeigenschaften und die Aromabildung von zentraler Bedeutung. Eine intensivere Proteolyse führt zu einer schnelleren Reifung. Dies ist erwünscht, solange keine Nachteile bezüglich der Haltbarkeit und Gläsbildung entstehen. *Lb. helveticus* gilt allgemein als stärkerer Proteolyt als *Lb. delbrückii* ssp. *lactis*. Es werden Möglichkeiten gesucht, mit *Lb. helveticus* die Reifung zu beschleunigen und das Flavour zu beeinflussen.

Lb. helveticus ist ein homofermentatives und thermophiles Milchsäurebakterium. Es setzt DL-Laktat im Verhältnis 1:2 frei und kann bei 45°C wachsen, jedoch nicht bei 15°C. *Lb. helveticus* wird bei verschiedenen Käsesorten (Cheddar, Comté, ...) zur Förderung der Reifung und des Flavours eingesetzt (3-5). Die meisten *Lb. helveticus* Stämme zeigen i.a. eine mehrfach höhere Aminopeptidase- und Dipeptidyl-Aminopeptidase Aktivität als *Lb. casei* Stämme (6). Die autolytischen Eigenschaften können jedoch innerhalb der Spezies von Stamm zu Stamm stark variieren. So findet man bei den beiden oben genannten Arten sowohl stark als auch schwach autolysierende Stämme. Diese Eigenschaft ist von Bedeutung, da mit der Autolyse der Zellen die Enzyme freigesetzt werden. Die Leucin-Aminopeptidase (LAP) von *Lb. helveticus* ist relativ pH- und salzempfindlich. Bei pH 5 und bei 5 % NaCl ist die Aktivität sehr vermindert (5).

In einem Vorversuch mit Modell Tilsiter (2) wurden verschiedene *Lb. helveticus* Isolate auf ihre Säuerungsfähigkeit und ihren Einfluss auf die Reifung hin getestet. Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse wurden 4 Stämme ausgewählt, die sich nun in der XMK1168 wiederfinden; drei wurden aus Sirte einer Rohmilch-Tilsiter Käserei (TG) und der vierte Stamm wurde aus der Sirte einer Appenzeller Käserei (TG) isoliert.

2. Versuchsaufbau

Das gewählte Modell ist eine 3-Komponenten-Mischung, d.h. die Auswertung der Zielgrößen erfolgt mittels einer Wirkungsfläche (Abbildung 1). Die 3 Komponenten entsprechen den 3 gewählten Kulturen XMK1168 (Sc abf, *Lb. helveticus*), MK401 und Flora Danica (Säurewecker, Chr. Hansen).

Versuchsanlage: Parallelfabrikation in 8 Kessi in der Modellkäserei Liebefeld
 Rezeptur: Modell-Raclette past.
 Zeitpunkt Salzbad: am folgenden Morgen
 Brenntemperatur: 38 °C
 Gesamte Schüttmenge MK401: 4 ‰
 Gesamte Schüttmenge XMK1168: 5 ‰
 Gesamte Schüttmenge Flora Danica: 7 ‰

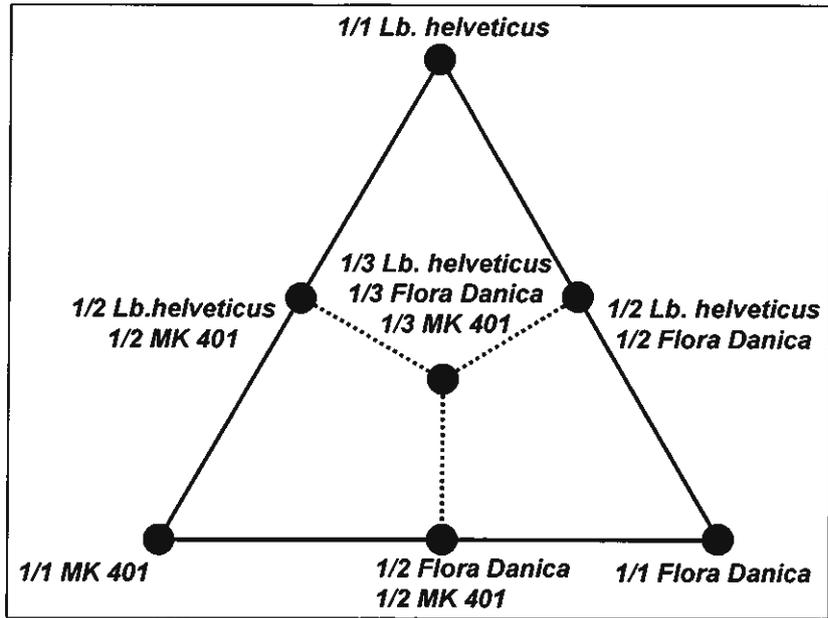


Abbildung 1: Modell einer Drei-Komponenten-Mischung. Die Punkte auf dem Dreieck entsprechen den Versuchsvarianten.

In Tabelle 1 sind die 7 Versuchsvarianten aufgelistet. Der Versuch wurde 2 Mal an 2 verschiedenen Tagen durchgeführt, d.h. für jede Variante ist das N = 2 und für den Zentrumspunkt N = 4.

Tabelle 1: Versuchsvarianten (% Anteile an der gesamten Schüttmenge der einzelnen Kulturen)

Variante	MK 401 (%)	Flora Danica (%)	XMK 1168 (%)
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	50	50	0
5	50	0	50
6	0	50	50
7	33	33	33

3. Resultate und Diskussion

Säuerungs- und Gärungsverlauf

Wie zu erwarten war, wurde der höchste **Milchsäuregehalt** im 24stündigen Käse mit der Flora Danica (Tabelle 2) und der tiefste mit der XMK1168 erreicht. Umgekehrt gilt somit, dass die Variante mit 100 % XMK1168 zum höchsten Gehalt an Rest-Galaktose führte (Abbildung 2).

Der **pH-Verlauf** in den ersten 24 Stunden war mit der XMK1168 verlangsamt, dies beeinflusste den Wassergehalt aber nicht signifikant.

Im 90tägigen Käse wurde der höchste pH-Wert nahe dem Zentrumspunkt gefunden, wo alle 3 Kulturen zu etwa gleichen Teilen vertreten sind (Abbildung 3). Vergleichbar sah die Situation bei den **flüchtigen Fettsäuren** aus, wo der Höchstwert ebenfalls nahe dem Zentrumspunkt erreicht wurde. Am Beispiel von **Essigsäure** zeigt die Abbildung 4, bei welchem Kulturenmischverhältnis das Maximum (die ‚Bergspitze‘) liegt (ca. 25 % MK401; 45 % Flora Danica und 30 % XMK1168).

Tabelle 2: Milchsäure (mmol/kg), Galaktose (mmol/kg) und Wasser (g/kg) im 24stündigen Käse, sowie pH-Verlauf

VAR	DMS	GMS	LMS %	GAL	pH					Wasser	
					2 h	4 h	6 h	24 h	90 d	24 h	90 d
100/0/0	54	135	61	14.1	5.91	5.41	5.24	5.07	5.55	476	415
0/100/0	5	151	97	1.3	6.05	5.47	5.19	5.01	5.40	486	432
0/0/100	19	107	83	32.9	5.94	5.52	5.38	5.22	5.45	485	422
50/50/0	29	138	79	6.6	5.90	5.39	5.23	5.02	5.61	473	423
50/0/50	37	121	70	23.1	5.86	5.39	5.25	5.05	5.51	484	428
0/50/50	22	139	85	11.8	5.88	5.44	5.29	5.08	5.55	488	435
33/33/33	34	138	76	13.3	5.87	5.38	5.25	5.03	5.63	483	426

ANOVA

VAR	***	***	***	**	***	–	**	**	**	–	–
BLOCK	–	–	–	–	–	0.05	*	–	*	–	–
						2					

DMS = D(-)-Milchsäure; LMS = L(+)-Milchsäure; GMS = Gesamt-Milchsäure; GAL = Galaktose; Var = Variante (% Verhältnis MK401/Flora Danica/XMK1168); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; – kein signifikanter Effekt

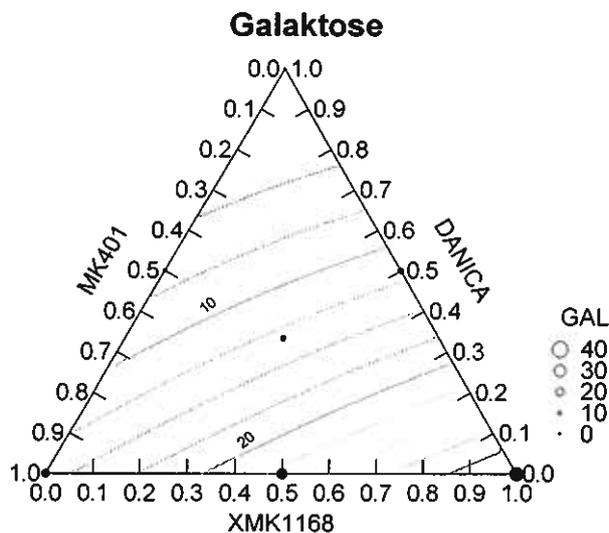


Abbildung 2: Galaktose (mmol/kg) nach 24 h

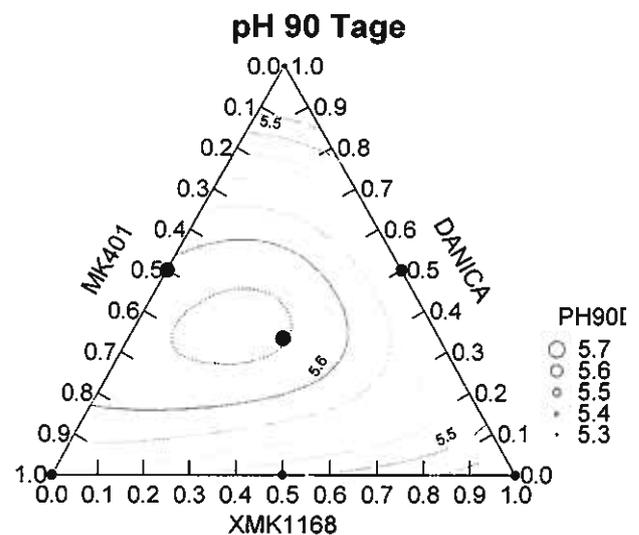


Abbildung 3: pH nach 90 Tagen

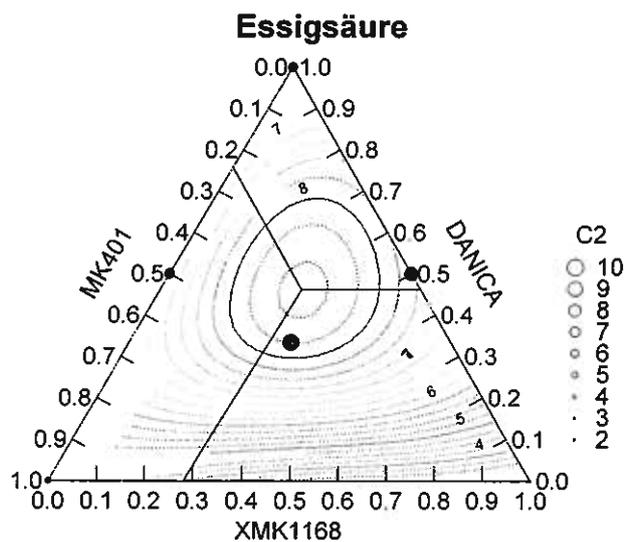


Abbildung 4: Essigsäure (mmol/kg) nach 90 Tagen

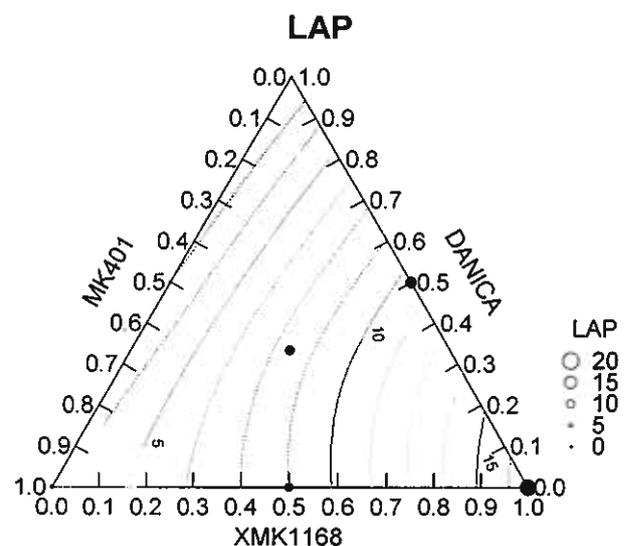


Abbildung 5: LAP nach 24 h

Proteolyse und Schmelzverhalten

Die LAP Werte der Varianten mit XMK1168 Zusatz (Abbildung 5 und Tabelle 4) sind signifikant höher als diejenigen der anderen Varianten. Trotzdem konnte kein Einfluss auf den wasserlöslichen (WLN) und Nicht-Protein (NPN) Stickstoff beobachtet werden.

Die Proteolyse in die Breite, d.h. mehr grosse Peptide bzw. weniger intaktes Kasein, verbessert im allgemeinen die Schmelzbarkeit von Raclette: Der Käse wird weniger fadenziehend und weicher. Wie Abbildung 6 zeigt, wurde die Proteolyse in die Breite stark gefördert hauptsächlich durch einen 100 %igen Einsatz von MK401 und durch eine 1:1-Mischung folgender Kulturen: XMK1168 und MK401 bzw. XMK1168 und Flora Danica. Gute Schmelzbarkeit dieser Varianten wird aus den relativ tiefen Werte zwischen 3.5 und 4.75 für Viskosität, Struktur und Konsistenz ersichtlich (Tabelle 4).

Grosse Peptide (WLN-NPN)

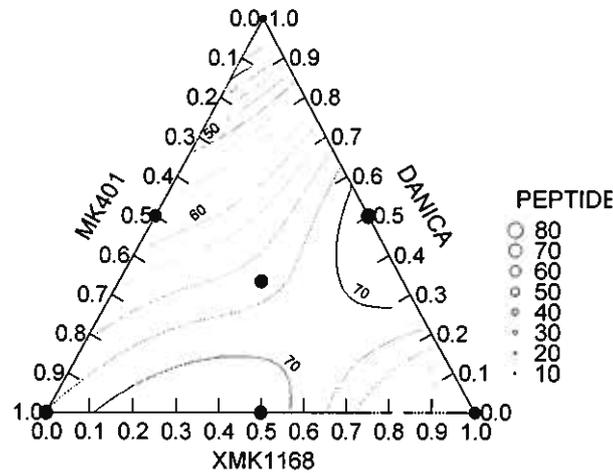


Abbildung 6: Grosse Peptide (WLN-NPN) in % des TN (90 Tage)

Raclette Käse mit 100 % XMK1168 wies eher eine viskose, feste und lange Textur im geschmolzenen Zustand auf. Sehr ausgeprägt war die feste Struktur beim Kauen. Im weiteren fällt auf, dass die alleinige Verwendung von Flora Danica zu einer ausgeprägt kurzen Konsistenz führte. Die ausgeglichensten Schmelzeigenschaften wiesen die Käse mit MK401 auf.

Der Erweichungs- und der Tropfpunkt sind weitere Parameter, die die Schmelzeigenschaften von Raclette Käse beschreiben. In diesem Versuch konnte keine Korrelation zwischen dem Erweichungs- und Tropfpunkt und den Parametern Viskosität, Struktur und Konsistenz gefunden werden (Tabelle 4).

Tabelle 4: Proteolyse-Parameter und Schmelzverhalten von Raclette (90 Tage)

VAR	NPN/TN (%)	WLN/TN (%)	LAP	EP (°C)	TP (°C)	Viskosität	Struktur	Konsistenz
100/0/0	4.99	30.9	3.7	60.4	64.6	3.90	4.35	4.25
0/100/0	4.83	16.1	1.3	57.5	64.3	3.50	4.30	3.90
0/0/100	3.69	23.4	17.0	59.4	63.7	5.05	6.25	5.25
50/50/0	5.42	27.2	2.5	61.8	66.0	4.75	4.65	5.65
50/0/50	5.21	31.7	8.8	59.7	62.8	3.75	3.95	4.75
0/50/50	4.37	31.5	10.5	57.2	62.6	4.25	4.50	5.80
33/33/33	5.35	30.2	8.1	60.7	65.4	4.85	4.73	5.73

ANOVA

VAR	–	–	***	–	*	0.058	0.07	–
BLOCK	–	–	**	–	–	–	–	–

Var = Variante (% Verhältnis MK401/Flora Danica/XMK1168); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; – kein signifikanter Effekt; EP = Erweichungspunkt; TP = Tropfpunkt

Sensorische Eigenschaften

Die Käse mit der alleinigen Verwendung von XMK1168 fielen auf den ersten Blick durch ihre gute Lochung auf, die sehr hoch bewertet wurde (Abbildung 7). Bei der darauffolgenden Kaltdegustation waren es diese Käse, die Höchstnoten bekamen für den Teig, den Gesamteindruck, die Beliebtheit (Tabelle 5). Auch die Lagerfähigkeit wurde als gut bewertet, trotz des hohen Galaktose-Gehaltes.

Die Käse mit 100 % MK401 schnitten in der Beurteilung ebenfalls gut ab, im Gegensatz zu denjenigen mit Flora Danica. Bemerkenswert ist die Variante 5: Eine Kombination der beiden Kulturen MK401 und XMK1168 scheint sich sehr schlecht auf die organoleptischen Eigenschaften von Raclette auszuwirken.

Im weiteren ist der Zentrumspunkt erwähnenswert, die Variante mit allen Kulturen. Er fiel bezüglich des Aromas und Gesamteindruckes positiv auf, was am Beispiel der Bitterkeit deutlich zum Ausdruck kommt (Abbildung 8).

Tabelle 5: Organoleptische Beurteilung nach 90 Tagen

VAR	Lochung (1-6)	Teig (1-6)	Aroma (1-6)	Gesamt (1-6)	Beliebtheit (1-6)	Lager- fähigkeit (1-3)	Gläs (1 = ja; 0 = nein)	Nestig (1 = ja; 0 = nein)
100/0/0	4.33	5.08	4.83	5.00	4.17	2.17	0.42	0.00
0/100/0	3.58	4.67	4.50	4.62	3.25	2.33	0.00	0.58
0/0/100	5.67	5.17	4.83	5.35	5.08	2.92	0.00	0.00
50/50/0	4.00	5.17	5.08	4.99	4.42	2.58	0.00	0.42
50/0/50	3.00	4.58	4.42	4.44	2.92	1.42	0.92	0.08
0/50/50	3.42	5.33	4.58	4.77	4.08	2.67	0.00	0.58
33/33/33	3.96	5.08	4.88	4.91	4.21	2.71	0.04	0.79

ANOVA

VAR	–	**	–	–	–	–	*	*
BLOCK	0.059	***	–	*	*	–	–	–

Var = Variante (% Verhältnis MK401/Flora Danica/XMK1168); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; – kein signifikanter Effekt

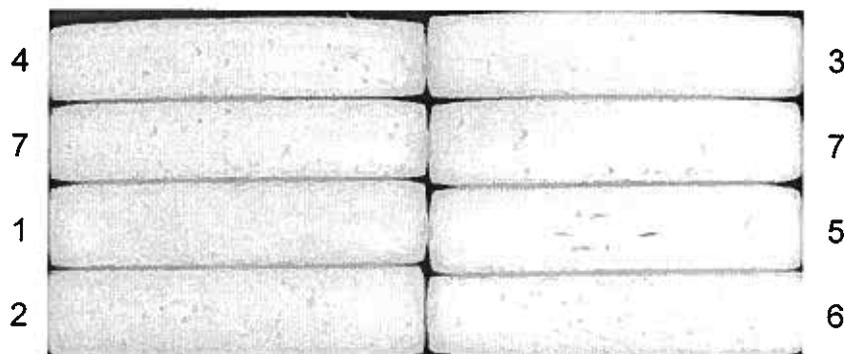


Abbildung 7: Schnittbild der Raclette Käse aus der zweiten Tagesproduktion (Varianten 1-7 siehe Tabelle 1)

Tabelle 6: Organoleptische Beurteilung nach 90 Tagen (Fortsetzung)

VAR	Loch- anzahl (0-5)	Loch- grösse (0-5)	Teig- länge (1-7)	Teig- fest. (1-7)	Aroma- inten. (1-7)	Bitter (0-4)	Sauer (0-4)	Salzig (0-4)	Würzig (0-1)
100/0/0	1.08	2.25	3.17	3.17	4.50	1.17	1.75	1.00	0.17
0/100/0	3.00	1.42	3.17	2.08	4.42	0.83	2.42	1.00	0.08
0/0/100	1.33	2.42	4.33	3.25	3.92	0.67	1.33	0.58	0.00
50/50/0	2.92	2.50	4.00	2.92	4.50	0.75	1.58	0.75	0.08
50/0/50	1.25	2.33	2.83	2.92	5.08	0.67	2.25	0.75	0.25
0/50/50	3.50	2.00	3.83	2.92	4.58	0.75	1.42	0.91	0.17
33/33/33	2.50	2.54	3.67	2.83	4.75	0.42	1.50	0.79	0.13

ANOVA

VAR	**	–	–	–	–	–	–	–	0.081
BLOCK	–	–	***	**	–	–	–	–	*

Var = Variante (% Verhältnis MK401/Flora Danica/XMK1168); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; – kein signifikanter Effekt

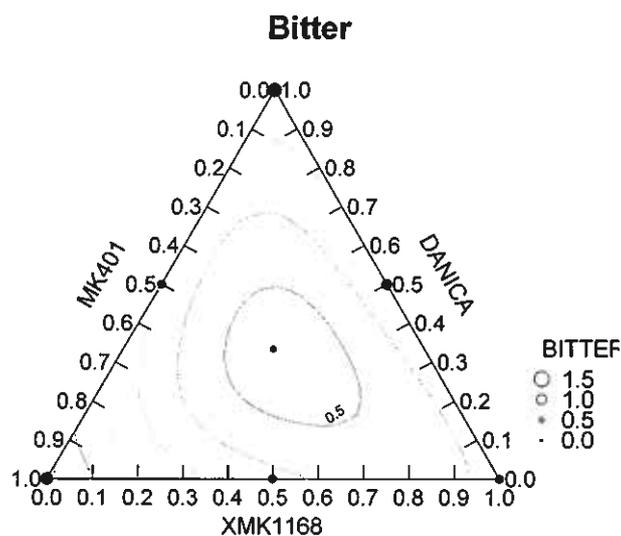


Abbildung 8: Bitterkeit (1-6) von Raclette (90 Tage)

4. Schlussfolgerungen

- ⇒ Über eine Kombination der 3 Kulturen MK401, XMK1168 und Flora Danica lässt sich der Säuerungsverlauf nicht beeinflussen, jedoch das Gärgeschehen während der darauffolgenden Reifung. Die Kombination aller 3 Kulturen zu etwa gleichen Teilen führt zu höherem pH und Gehalt an flüchtigen Fettsäuren nach 90 Tagen.
- ⇒ Sowohl die Proteolyse in die Breite als auch die Schmelzeigenschaft von Raclette wurden im wesentlichen mit Kulturen-Kombinationen verstärkt bzw. verbessert, in welchen die XMK1168 vertreten war.
- ⇒ Die alleinige Anwendung der XMK1168 jedoch führte zu ganz untypischem Schmelzverhalten, nämlich zu einer eher viskoserer, festeren und längeren Textur; dies im Gegensatz zu den beiden anderen Kulturen MK401 und Flora Danica.
- ⇒ Die organoleptische Kaltbeurteilung von Raclette hat gezeigt, dass sich die alleinige Anwendung von MK401 und XMK1168 positiv auf die Gesamt-Qualität auswirken. Dies im Gegensatz zur Flora Danica, die jedoch in Kombination mit den beiden anderen Kulturen ebenfalls zu guten Resultaten führte.
- ⇒ Die Kombination von MK401 und XMK1168 (ohne Flora Danica) hat sich auffallend negativ auf die Beurteilung von Raclette bei der Kaltdegustation ausgewirkt.

Aus diesen Erkenntnissen wird wiederum deutlich, dass je nach zu erreichendem Ziel eine andere Kultur zum Einsatz kommen sollte. Die alleinige Verwendung von XMK1168 eignet sich nur für Käse, die nicht geschmolzen werden. Ansonsten konnte gezeigt werden, dass sie die Eigenschaften von Raclette positiv beeinflusst.

Eine Kombination von allen 3 Kulturen könnte dann empfehlenswert sein, wenn sowohl gute Schmelzeigenschaften erwünscht sind, als auch gute Eigenschaften für die Verwendung des Käse in der kalten Küche.

Um die Schmelzeigenschaften von Raclette zu verbessern, könnte sich eine Zugabe von *Lb. helveticus* zur Betriebskultur positiv auswirken. Die in diesem Modellversuch gewonnene Erkenntnis soll in einem Praxisversuch erhärtet werden. Ziel ist es, die XMK1168 als Zusatzkultur einzusetzen.

5. Dank

An dieser Stelle möchte ich allen FAM-Mitarbeitern danken, die zum Gelingen dieses Versuches beigetragen haben; insbesondere U. Bütikofer, H. Winkler und H.P. Bachmann für die fachliche Unterstützung.

Ganz herzlich möchte ich dem Projekt-Team 33-2-1, J.O. Bosset, M.G. Casey, D. Isolini und H. Sollberger, für das entgegengebrachte Vertrauen und die Ermutigung danken.

6. Literaturverzeichnis

- (1) BACHMANN, H.P. (1997): Kombiniertes Einsatz von *Lb. helveticus* und *Lb. casei* beim Emmentaler Käse: Einfluss auf Proteolyse und Nachgärungsrisiko. IB 54
- (2) WINKLER, H (1999): Einfluss der XMK1160 – 1166 auf die Milchsäuregärung und die Reifungsvorgänge in (Modell)Tilsiter, IB 61/1999
- (3) JOHNSON J.A.C., ETZEL M.R., CHEN C.M., JOHNSON M.E. (1995): Accelerated ripening of reduced-fat cheddar cheese using four attenuated *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 adjuncts. *J.Dairy Sci.* (78) 769-776
- (4) JOHNSON J.A.C., ETZEL M.R. (1995): Properties of *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 attenuated by spray-drying, freeze-drying, or freezing. *J.Dairy Sci.* (78) 761-768
- (5) BOUTON Y., GUYOT P., DASEN A., GRAPPIN R. (1994): Activité protéolytique de souches de lactobacilles thermophiles isolées de levains et de Comté. II. Applications en sites industriels. *Lait* (74) 33-46
- (6) EL SODA M., MADKOR S.A., TONG P.S. (1999): Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening: 1. Enzymatic activities and autolytic properties of freeze-shocked adjuncts in buffer system. *Milchwissenschaft* (54) 85-89