

Kulturen für intensiveres Käsearoma

Mikroorganismen beeinflussen die Aromabildung während der Käsereifung. Bei Agroscope Liebefeld-Posieux wird daran geforscht, aromabildende Kulturen auf Basis wissenschaftlicher Erkenntnisse zu entwickeln.

STEFAN IRMLER, HEDWIG SCHLICHOTHERLE-CERNY*. Mit Lab hergestellte Käse werden von zwei Wochen (z.B. Mozzarella) bis zwei und mehr Jahre (z.B. Sbrinz) gereift. Während der Reifung finden sehr komplexe mikrobiologische und biochemische Reaktionen statt, welche das Aroma und die Textur für jede Käsesorte bestimmen. Mikrobiologisch lässt sich beobachten, dass die Starterkulturen, welche den in der Milch vorhandenen Milchzucker zu Milchsäure abbauen und somit zur Säuerung der Milch führen, nach kurzer Zeit sterben und lysieren. Zu den mikrobiologischen Vorgängen gehört, dass anschliessend «Nichtstarter-Milchsäurebakterien», bei denen es sich hauptsächlich um Lactobazillen handelt und die aus der Rohmilch und der Käseumgebung kommen, wachsen. Nicht zu vergessen ist, dass sich danach auch Propionsäurebakterien in Emmentaler, Schimmelpilze in Schimmelkäsen

(z.B. Gorgonzola) und komplexe Bakterien- und Hefefloren auf geschmierten Käsesorten entwickeln. Gerade diese sich «sekundär» entwickelnden Mikrofloren beeinflussen die Entwicklung des jeweiligen Käsearomas am stärksten. Mit den Mikroorganismen laufen komplexe, noch unbekannte biochemische Stoffwechselreaktionen ab, die während der Reifung dem Käse seinen typischen Charakter verleihen.

Zusammenspiel der Forschungswege

Bei ALP sind verschiedene Forschergruppen bemüht, die komplexen Vorgänge der Bildung von Käsearomen zu untersuchen. Hauptziel dieser Forschungsaktivität ist es, Kulturen zu entwickeln, welche als Zusatzkulturen für die Käseherstellung eingesetzt werden können. Dies erfordert eine enge Zusammenarbeit der diversen Forschungswege bei ALP und läuft folgendermassen ab:

Mikrobiologie: Isolierung von Milchsäurebakterien => Molekularbiologie: Bestimmung der Bakterienart und genetischen Varianten => Biochemie: Identifizierung aromabildender Bakterienstämme => Pilot Plant: Käseherstellung mit selektionierten Bakterien => Flavour: Aroma-Analytik und sensorische Beurteilung. Für einen Modellkäseversuch wurden aus verschiedenen

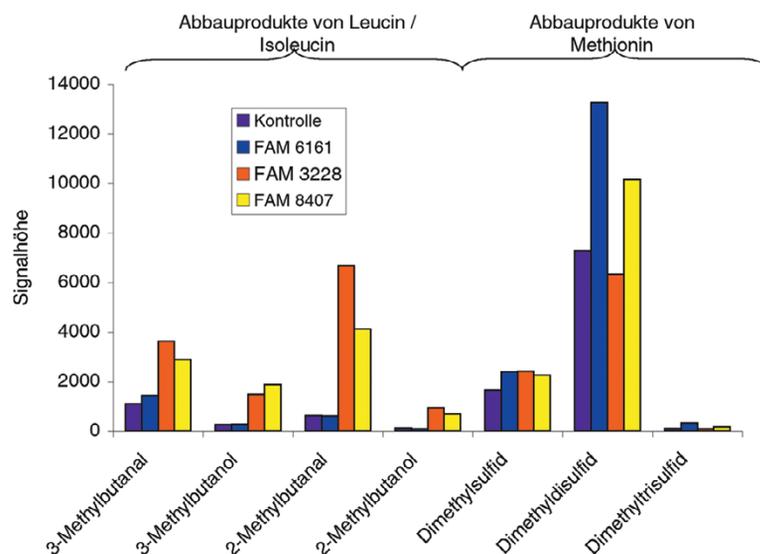


Abbildung 1: Einfluss von Zusatzkulturen auf die Bildung von flüchtigen Verbindungen in schmiergereiften Hartkäsen.

Ill. 1: Influence des cultures supplémentaires sur la formation des composants volatils dans les fromages à pâte dure emmorgés.

Résumé

Des cultures pour un arôme intense

Par un travail interdisciplinaire incluant la biologie moléculaire, la biochimie, la production pilote, les analyses des arômes et sensorielles, l'Agroscope Liebefeld-Posieux a lancé une recherche pour identifier les cultures responsables du développement des arômes du fromage. La première étape a consisté à sélectionner, à l'aide d'un nez électronique, les bactéries libérant des composants volatils. L'avantage de cette méthode est de pouvoir examiner un grand nombre de souches en peu de temps. Par contre, les composants volatils libérés ne peuvent être que partiellement identifiés. 84 souches ont été examinées qui dégagent des composants volatils de l'acide aminé leucine.

Pour les essais dans le fromage, trois souches de *Lactobacillus casei* ont été choisies: FAM 3228 et FAM 8407 qui forment des substances volatiles à partir de la leucine et FAM 6161 où cette propriété n'a pas été observée. Ces souches ont été utilisées comme culture supplémentaire dans la fabrication d'un fromage à pâte dure emmorgé. Ces cultures n'avaient pas d'influence sur l'activité d'acidification du starter, mais après 180 jours d'affinage, les différences au niveau de l'arôme étaient bien marquées (ill. 1).

Les différents composants de l'arôme ont aussi été analysés par chromatographie gazeuse et olfactométrie, alors qu'une personne expérimentée était chargée de décrire les notes aromatiques. Il apparaît que le nez humain est capable de percevoir quelques arômes de façon plus sensible que les instruments, à l'exemple du méthional qui sent la pomme de terre cuite, produit de dégradation d'un acide aminé contenant du soufre. En conclusion, des essais de laboratoire choisis permettent de sélectionner les microorganismes pour leur influence sur la formation des arômes du fromage. (alp)

Käse- und Milchproben thermophile, fakultativ heterofermentative Milchsäurebakterien isoliert. Anschliessend wurde ein Teil der genetischen Information der Bakterien entschlüsselt, um die Bakterienart zu ermitteln und die Arten in Gruppen einzuteilen. Dies ist ein notwendiger Schritt, da sich die Bakterien unter dem Mikroskop nur bedingt unterscheiden lassen. So wurden beispielhaft bei ALP aus etwa tausend Bakterienisolaten 84 genetisch verschiedene *Lactobacillus-casei*-Stämme identifiziert.

Elektronische Nase

Um unter diesen Stämmen aromabildende Bakterien zu finden, wurden die Bakterien in einem anschliessenden Schritt mit einer elektronischen Nase untersucht. Mit dieser Technologie wird festgestellt, ob die Organismen aus in Käse vorhandenen Vorläufern flüchtige Verbindungen freisetzen können. Ein grosser Vorteil dieser Technologie ist, dass eine Vielzahl von Bakterienstämmen in kurzer Zeit untersucht und anhand ihrer Stoffwechselaktivitäten klassifiziert werden können. Allerdings können die flüchtigen Komponenten, welche von den Bakterien freigesetzt werden, nur bedingt identifiziert und quantitativ ermittelt werden. Die 84 Bakterienstämme wurden mit der elektronischen Nase daraufhin untersucht, flüchtige Verbindungen aus der Aminosäure Leucin freizusetzen. Leucin selbst ist ein Endprodukt des in der Käsematrix stattfindenden Proteinabbaus. Typische Abbauprodukte von Leucin sind 3-Methylbutanol, 3-Methylbutanal und Isovaleriansäure. Speziell 3-Methylbutanal und Isovaleriansäure sind neben anderen Verbindungen in der Literatur als aromarelevant für Käse beschrieben worden. Die Untersuchungen mit der elektronischen Nase zeigten, dass sich Bakterien, welche Leucin zu flüchtigen Verbindungen wie 3-Methylbutanal umsetzen, identifizieren lassen.

Käseversuche

Drei *Lactobacillus-casei*-Stämme wurden danach für Käseversuche ausgewählt. Von den drei Bakterienstämmen bildeten zwei (FAM 3228 und FAM 8407) flüchtige Verbindungen aus Leucin, wohingegen bei dem dritten (FAM 6161) diese Eigenschaft nicht beobachtet wurde.

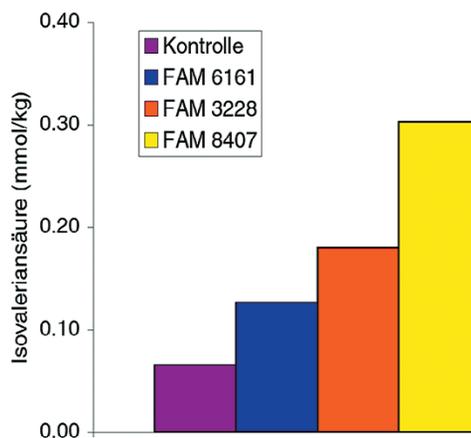


Abbildung 2: Einfluss von Zusatzkulturen auf die Bildung von Isovaleriansäure, einem Abbauprodukt von Leucin, in schmierereiften Hartkäsen.

III. 2: Influence des cultures supplémentaires sur la formation de l'acide isovalérique, un produit de décomposition de la leucine, dans les fromages à pâte dure emmorgés.

In der Versuchskäserei bei ALP wurden diese drei Stämme als Zusatzkultur bei der Herstellung eines schmierereiften Hartkäses aus pasteurisierter Milch eingesetzt. Zusätzlich wurde ein Kontrollkäse ohne Zusatzkultur hergestellt. Es zeigte sich, dass die Zusatzkulturen keinen messbaren Einfluss auf die Säuerungsaktivität der Starterkultur hatten. Nach 180 Tagen Reifung wurden die Käse analytisch untersucht und sensorisch beurteilt.

Bei der Untersuchung der leichtflüchtigen Verbindungen der Käse zeigte sich, dass die drei *Lactobacillus*-Stämme unterschiedlich viel Aromastoffe produzierten. Wie die Abbildungen 1 und 2 zeigen, fanden sich zwei als grün und malzig beschriebene Metaboliten der Aminosäuren Leucin und Isoleucin insbesondere bei den Käsen mit den Kulturen FAM 3228 und FAM 8407.

Weitere wichtige Aromakomponenten von schmierereiften Hartkäsen sind die schwefelhaltigen Verbindungen Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid, die niedrige Geruchsschwellen-Konzentrationen aufweisen und daher bereits in Spuren aromaaktiv sind. Aus Abbildung 1 ist ersichtlich, dass die beiden Käse mit den FAM-Kulturen 6161 und 8407 im Vergleich deutlich höhere Signale für die Sulfide erreichten als die mit FAM 3228 und ohne Zusatz von *Lactobacillus*-Kulturen hergestellten Käse.

Mit menschlicher Nase

Mit einer weiteren Untersuchungstechnik, Gaschromatografie-Olfaktometrie genannt, wird das Gemisch der Aromakomponenten in einer Glaskapillare in einzelne Verbindungen aufgetrennt. Am Ende der Trennsäule riecht ein geschulter Prüfer als menschlicher Detektor die Einzelkomponenten ab und beschreibt die wahrgenommenen Geruchsnoten. Die menschliche Nase nimmt manche Aromastoffe empfindlicher wahr als instrumentelle Detektoren. So konnte das typisch nach gekochten Kartoffeln riechende Methional als Abbauprodukt einer schwefelhaltigen Aminosäure in allen Versuchskäsen durch seinen Geruch identifiziert werden. Diese potente Verbindung zählt ebenfalls zu den Schlüsselaromastoffen, die schon früher in Gruyère identifiziert worden waren. Die Analysen konnten darüber hinaus auch die intensive Bildung von weiteren wichtigen Aromastoffen wie Butter- und Isobuttersäure sowie Isovaleriansäure durch die Kultur FAM 8407 bestätigen. Eine karamellig-süsslich duftende Verbindung wurde in den mit den Kulturen FAM 3228 und FAM 8407 hergestellten Käsen beobachtet, nicht jedoch im Käse mit Kultur FAM 6161. Eine zweite karamellig riechende Aromakomponente fand sich nur im Käse, der mit der Kultur FAM 8407 hergestellt worden war.

Die Käse wurden von einem geschulten Fachpanel sensorisch bezüglich der Attribute Aroma, Geruch, bitter, salzig, sauer und süss beurteilt. Während sich die Käse in den Eigenschaften bitter, salzig, sauer und süss nicht unterschieden, wurden die Käse mit der Kultur FAM 8407 als aroma- und geruchsintensiver als die anderen Käse gewertet. Durch geeignete Laborversuche konnten also Mikroorganismen selektioniert werden, deren Eigenschaften sich auf Käse übertragen liessen. Insbesondere die Kultur FAM 8407 bildete im Käseversuch wichtige Aromastoffe. In weiterfolgenden Versuchen werden Nichtstarter-Kulturen im Labor auf die Bildung von aromarelevanten Verbindungen wie des sahnig-butterig riechenden Diacetyls und von schwefelhaltigen Komponenten untersucht. Käseversuche werden zeigen, ob sich diese Eigenschaften auch auf Käse übertragen lassen.

*Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP), 3003 Bern-Liebefeld