

Eine neue Käserprobe zum Nachweis von anaeroben, gasbildenden Sporenbildnern

von Beat Gerber, Barbara Signist und Hans-Peter Bachmann, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld, Bern

Das periodische Auftreten von Buttersäuregärung ist ein ungelöstes Problem. Da es sich um eine Spätblähung handelt, kann die Ursache für die Sporenbelastung der Milch oftmals nicht mehr ermittelt werden. Der vorbeugende Nachweis der anaeroben, gasbildenden Sporen im mikrobiologischen Labor ist sehr aufwendig. Die FAM schlägt deshalb eine neue Käserprobe vor.

Zu den gasbildenden, anaeroben Sporenbildnern gehört vor allem *Clostridium tyrobutyricum*. Diese Bakterien bilden hitzeresistente Endosporen, die der Thermisierung und Pasteurisierung der Milch überleben, nicht jedoch eine UHT-Behandlung oder Sterilisation. Sie vergären im Käse Milchsäure zu Buttersäure, Kohlendioxid und Wasserstoff. Im Käse führt dies zu einer Buttersäuregärung, die auch Spätblähung genannt wird (Abbildung 1).

Das grosse Problem beim Nachweis der anaeroben, gasbildenden Sporen ist die Tatsache, dass bereits weniger als eine einzige Spore pro Milliliter Milch genügen kann um eine Spätblähung in Hart- und Halbhartkäse auszulösen. Dies bedeutet, dass unter Millionen von Bakterien einige wenige Sporen nachgewiesen werden müssen. Bis heute stehen dazu verschiedene Methoden zur Verfügung. Die mikrobiologischen Methoden (MPN-Methoden, Filtrationsmethoden) sind teuer und die Praxismethoden (Weinzirolprobe) sind zu wenig empfindlich.

Hochgesteckte Ziele

In der Modellkäserei der FAM wurde deshalb eine neue Käserprobe entwickelt. Dabei standen folgende Ziele im Vordergrund:

- einfache Durchführung
- tiefe Nachweisgrenze (silofreie Milch)
- eindeutige Ergebnisse

Als Basis für die neue Käserprobe wurde die Weinzirolprobe gewählt. Um eine grössere Empfindlichkeit zu erreichen wurden verschiedene Anpassungen vorgenommen:

- Erhöhung der Milchmenge von 5 auf 30 ml.

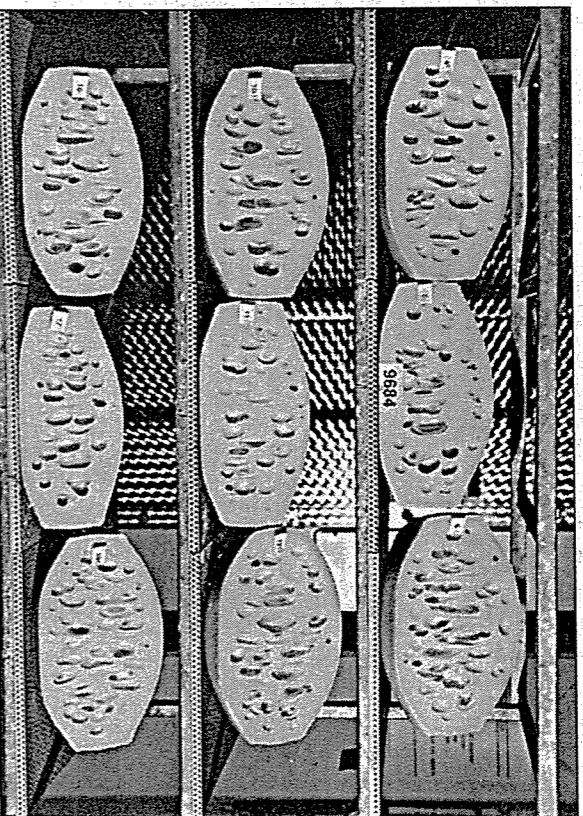


Abb. 1: Käse mit Buttersäuregärung.

Um das Wachstum der Sporen zu beschleunigen wurde in den Versuchen als zu vergärendes Substrat Milchsäure beigegeben und der optimale pH bestimmt. Die Beigabe von Milchsäure bis zu einem pH von 5,8 stellte sich als optimal heraus und wurde für die weiteren Versuche beibehalten.

Verschiedene andere Zusätze wurden ebenfalls geprüft: Lab, Kulturen, Salz, Essigsäure, Cystein (Bindung des Restsauerstoffes) und ein Kartoffelstück. All diese Zusätze verbesserten die Nachweisgrenze nicht wesentlich. Auch bei der Pasteurisation wurden verschiedene Temperatur/Zeit-Kombinationen untersucht.

Einfache Durchführung

Das exakte Vorgehen bei der Durchführung der neu entwickelten Käserprobe ist aus dem Fliessschema ersichtlich (Abbildung 2). Die Pasteurisation dient der Abtötung der vegetativen Zellen und das Paraffin ist notwendig um anaerobe Bedingungen zu gewährleisten. Die Beurteilung der Probe erfolgt gemäss Abbildung 3. Dass in den geblähten Röhren tatsächlich eine Buttersäuregärung stattfand konnte analytisch bestätigt werden (Abbildung 4).

In einem Parallelversuch wurden der Gehalt an anaeroben, gasbildenden Sporen in verschiedenen Milchproben sowohl mikrobiologisch (MPN-Methoden) analysiert als auch über die neue Käserprobe bestimmt. Dabei zeigten bei einem Gehalt von ca. 50 Sporen/L noch 4 von 5 Röhren eine Blähung. Die Nachweisgrenze der Käserprobe darf demnach als sehr gut bezeichnet werden.

Vorsicht ist angebracht

Die neue Käserprobe hat 2 heikle Punkte, auf die speziell geachtet werden muss:

- 1. Mischen von Milch und Milchsäure**
Um ein Ausflocken des Milcheiswes zu verhindern sollte die Beigabe der Milch und Milchsäure gleichzeitig erfolgen. Die aufeinanderfolgende Zugabe von 3 Tropfen Milchsäure, 20 ml Milch, 4 Tropfen Milchsäure und 10 ml Milch stellte sich bei den zuletzt durchgeführten Tests als eine handliche Technik heraus, um trotzdem eine gute Mischung der beiden Stoffe zu gewährleisten.
- 2. Infektionsgefahr**
Da vor allem die Reagenzgläser mit geblähtem Inhalt Tausende von Sporen beinhalten können, ist es sehr wichtig,

eine Infektion im Produktionsbetrieb durch eine klare Trennung auszu-schliessen. Ein separater Bebrütungs-schrank ist sehr empfehlenswert. Auch müssen die Proben immer in einem von der Käserlei komplett getrennten Raum entsorgt werden. Eine Möglichkeit um jegliche Kontamination auszu-schliessen, wäre die bebrüteten Proben analog der Magermilch für die Kulturen im Autoklaven oder Dampfkochofopf zu sterilisieren.

Wird diesen beiden Punkten die notwendige Beachtung geschenkt, ist die neue Käserprobe eine wirksame Hilfe zum Erkennen der Sporenbelastung in den Lieferantennächeln. Aus zwei Gründen empfiehlt es sich die Probe regelmässig durchzuführen:

1. Der Gehalt an Sporen in den Lieferantennächeln kann von Tag zu Tag stark schwanken. Um das Risiko einer sporadisch auftretenden Buttersäuregärung zu reduzieren ist eine regelmässige Durchführung der Käserprobe angezeigt.
2. Der Gehalt an Sporen in silofreier Milch ist derart tief (in der Regel weniger als 1 Spore pro Milliliter), dass es vorkommen kann, dass auch bei einem kritischen Sporengehalt bei der Käserprobe keine Blähung festgestellt werden kann, da die Sporen nicht immer schon gleichmässig in der Milch verteilt sind. Dieser Vorbehalt gilt auch für die mikrobiologischen Methoden.

Erste Ergebnisse aus der Praxis

Die neue Käserprobe wurde bereits in der Praxis geprüft. In 3 Käsereien, die sporadisch mit dem Auftreten von Buttersäuregärung zu kämpfen haben, wurden von einem Tag die Lieferantennächeln untersucht. Dabei konnten in 2 Käsereien bei 3 und in 1 Käserlei bei 4 Lieferantennächeln eine Blähung bei der Käserprobe festgestellt werden. In der Mehrzahl wiesen diese Milchproben auch bei der mikrobiologischen Methode erhöhte Werte (zwischen 33 und mehr als 500 Sporen/L) auf.

Folgerungen

Die Qualität der neuen Käserprobe kann erst schlüssig beurteilt werden, wenn sie sich während längerer Zeit

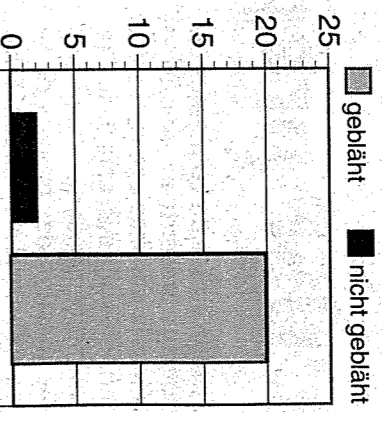


Abb. 4: Gehalt an n-Buttersäure [mmol/kg] in den geblähten und nicht geblähten Röhren.

In der Praxis bewährt hat. Für Betriebe die mit Buttersäuregärungsproblemen kämpfen, ist es empfehlenswert, sich diese Methode genauer anzuschauen und sie versuchsweise zur Qualitätskontrolle der Milch einzusetzen. Dabei ist den beiden erwähnten heiklen Punkten grösste Beachtung zu schenken.

Bezugsadresse von Paraffin wax:
Dr. Grogg Chemie AG, Glimligentalstrasse 83, 3066 Steintal-Deisswil, Tel. (031) 932 11 66, Fax (031) 932 11 68.
Marker, Fulka, Erstarrungspunkt: 44-46°C, oder jeder andere Vertreter von Paraffin wax mit einem Erstarrungspunkt von 44-46°C.

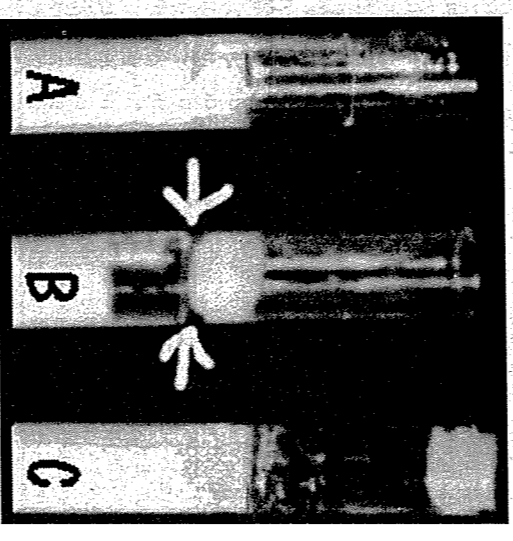


Abb. 3: Beurteilung der Probe nach der Bebrütung:

- A) Keine Blähung feststellbar.
- B) Eine geringe Gasbildung zwischen dem Paraffin und Molkenserum, d.h. Buttersäure ist bereits nachweisbar.
- C) Deutlich gebläht. Die Milchproben B und C sind zu beanstanden.

Für Sie gelesen

Die Flora von Vorarlberger Bergkäse

141 Proben von Vorarlberger Bergkäse, einem aus Rohmilch hergestellten österreichischen Hartkäse, wurden mikrobiologisch untersucht. Grundsätzlich zeigten die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen einen breiten Streubereich. So dominiert die Gruppe der fakultativ heterofermentativen Laktobazillen (Streubereich $3,0 \times 10^5$ - $5,8 \times 10^7$ KBE/g) mit >99% über die obligat heterofermentativen Vertreter (geometrischer Mittelwert: $4,1 \times 10^5$ KBE/g). Auch Enterokokken und Propionibakterien sind als wichtige Komponenten der Käseflora zu berücksichtigen; die entsprechenden Streubereiche dieser Vertreter betragen 10^5 bis $\sim 6 \times 10^7$ KBE/g sowie 2×10^5 bis 6×10^8 KBE/g.

Synärase von Joghurt

Die Synärase wurde bei aus UF-konzentrierter Magermilch hergestellten und auf 100-130°C erhitztem Joghurt im Vergleich zur Erhitzung bis 140°C oder zur Warmenherhitzung bei 82°C für 20 Minuten signifikant reduziert. Die Synäreserduktion trat ohne Verwendung von Stabilisatoren zu dem auf. Die Molkenprotein-Denaturierung nahm bei erhöhter Wärmebehandlung bis zu einem Maximum in den wärmeren hitzen Proben zu, jedoch korrelierte der Prozentsatz der Molkenprotein-Denaturierung nicht mit dem Grad der Synärase. Die Fähigkeit, Flüssigkeit zu halten, veränderte sich bei dem UF-konzentrierten Joghurt bei keiner der angewandten Wärmebehandlungsvorfahren.

Milchwissenschaftl. 10/199

Anzeige

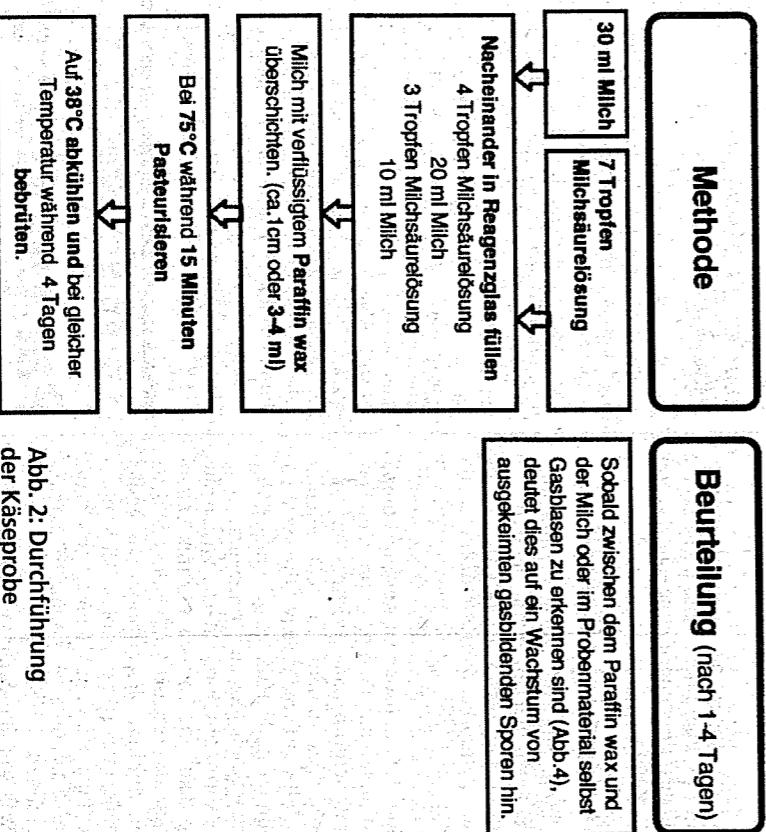
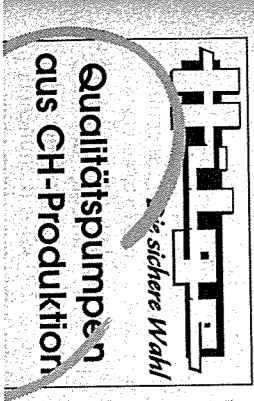


Abb. 2: Durchführung der Käserprobe

Scheidl zwischen dem Paraffin wax und der Milch oder im Probenmaterial selbst Gasblasen zu erkennen sind (Abb. 4), deutet dies auf ein Wachstum von ausgekeimten gasbildenden Sporen hin.



Hier könnte Ihr Inserat sein!
Die Spezialseite «Forschung + Technik» erscheint übrigens alle 14 Tage.
Preis pro Feld: Grossaufgabe nur Fr. 185.- / Normalaufgabe nur Fr. 172.25
Wiederholungsrabatte: 12 x 12% / 25 x 20%
Falls Sie Interesse haben, rufen Sie einfach an. Ein Versuch lohnt sich bestimmt.

GVO-Analysen
für Soja und Mais
weitere Analysen und Beratung
Biosmart GmbH
Weilergergasse 11
3005 Bern