



Reifungsverlauf von in Folien Emmentaler Käse mit ohne Zusatz von *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. II. Gaschromatographische untersuchung einiger flüchtiger, neutraler Verbindungen mit Hilfe einer dynamischen Dampfmanalyse

J.O. Bosset*, U. Bütikofer, R. Gauch und R. Sieber

Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld CH-3003 Bern (Schweiz)
(Received August 30, 1996; accepted September 28, 1996)

Ripening of Emmental Cheese Wrapped in Foil with and without Addition of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. II. Gas Chromatographic Investigation of some Volatile Neutral Compounds using Dynamic Headspace Analysis

The present work describes the ripening of eight raw milk Swiss Emmental cheese loaves, quarters of which were packaged at 3 months in a plastic sheet. The loaves were manufactured with and without addition of *L. casei* subsp. *casei* to the usual starter cultures. Samples were taken at 3, 6, 9 and 12 months of ripening. The changes in content of 38 volatile neutral components (primary and secondary alcohols, mono- and diketones, aldehydes, esters, aliphatic and aromatic hydrocarbons and sulfur compounds) were measured using dynamic GC-headspace analysis. Except for all aldehydes produced from a β -oxidation of unsaturated fatty acids and hydrocarbons whose concentration significantly decreased, most volatile components showed an increase in content during ripening. Addition of *L. casei* subsp. *casei* to the usual starter culture used for Swiss Emmental cheese showed statistically significant differences for production of ethanol, propanol-1, 2- and 3-methylbutanol-1, 2,3-pentandione, 2- and 3-methylbutanal, as well as propionic acid propylester. Of the volatiles established as flavour compounds of Swiss Emmental cheese the analytical procedure used here was sufficient to detect heptanone-2, 2,3-butandione, 2- and 3-methylbutanal, ethyl butyrate and ethyl caproate.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Reifung von 8 Schweizer Emmentaler Käsen aus Rohmilch, die nach 3 Monaten in Folien und unter Vakuum verpackt wurden. Vier Käse wurden mit und vier ohne einen Zusatz von *Lactobacillus casei* subsp. *casei* hergestellt und nach 3, 6, 9 und 12 Monaten untersucht. Die Gehaltsänderungen von 38 neutralen, flüchtigen Komponenten (primäre und sekundäre Alkohole, Mono- und Diketone, Aldehyde, Ester, aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe sowie schwefelhaltige Verbindungen) wurden mit Hilfe einer dynamischen Dampfmanalyse mittels GC-FID/MS bestimmt. Ausser den Aldehyden, die aus der β -Oxidation der ungesättigten Fettsäuren stammen, und den Kohlenwasserstoffen, die signifikant abnahmen, erhöhte sich die Konzentration der meisten Komponenten während der Reifung. Der Zusatz von *L. casei* subsp. *casei* verursachte signifikante Unterschiede bei der Bildung von Ethanol, Propanol-1, 2- und 3-Methylbutanol-1, 2,3-Pentandion, 2- und 3-Methylbutanal sowie Propionsäurepropylester. Von den flüchtigen geschmacksaktiven Komponenten in Schweizer Emmentaler Käse konnten Heptanon-2, 2,3-Butandion, 2- und 3-Methylbutanal, Buttersäure- und Capronsäure-ethyl ester mit dieser Methode erfasst werden.

©1997 Academic Press Limited

Keywords: volatile compound; Swiss cheese; Emmental; *Lactobacillus casei* subsp. *casei*; ripening; dynamic headspace analysis; flavour

Einleitung

Der Zusatz von *Lactobacillus* (*L.*) *casei* subsp. *casei* führt beim Emmentaler Käse aus Rohmilch zu zahlreichen Auswirkungen in bezug auf mikrobiologische, chemische, biochemische, rheologische und sensorische Parameter. Dies hat sich im ersten Teil dieser Arbeiten

gezeigt, in dem über die Resultate einer Untersuchung von 4 Käsen ohne und 4 mit einem Zusatz von solchen Laktobazillen berichtet wurde. Dabei wurden diese Käse nach 3 Monaten in Folien verpackt und bis zum Alter von einem Jahr gereift (1). *Lactobacillus casei* subsp. *casei* wird den schweizerischen Rohmischkulturen immer häufiger als Zusatzkultur zugesetzt, da er sich als Hemmfaktor der Nachgärung erwiesen hat (2). So ist zu erwarten, dass *L. casei* subsp. *casei* über die

*Korrespondenzautor.

Bildung verschiedener flüchtiger (Aroma)Komponenten einen Beitrag zum Käsearoma leisten kann.

Im folgenden werden die Ergebnisse einiger flüchtiger, neutraler Komponenten derselben Käse und in einer weiteren Arbeit diejenigen von geruchs- und geschmacksaktiven Substanzen mitgeteilt (3). In der vorliegenden Arbeit wurden die Veränderungen der relativen Konzentrationen der flüchtigen neutralen Komponenten im Laufe derselben Zeitspanne verfolgt, und die Resultate der mit unterschiedlichen Kulturen (d.h. mit und ohne *L. casei* subsp. *casei*) hergestellten Käse miteinander verglichen. Dabei waren die Herstellungsverfahren für sämtliche Käse ähnlich oder gleich. Die Ergebnisse dieser Studie werden mit denjenigen von früheren Arbeiten (4–7) verglichen, und es wird gezeigt, welche Schlüsselaromastoffe des Emmentaler Käses (3, 7–11) mit Hilfe einer schnell und einfach durchzuführenden dynamischen Dampfdruckanalyse erfasst werden können.

Experimenteller Teil

Käseproben

Die Auswahl und Behandlung der Käseproben wurden ausführlich in Teil I beschrieben (1).

Chemikalien

Frisches Milli-Q-Wasser (Millipore, Cork, Ireland) wurde 30 min gekocht und unter Stickstoffspülung im Eisbad bis auf 10 °C gekühlt, um sämtliche flüchtige Komponenten zu eliminieren.

Vorbereitung der Käseproben

Zwanzig g geriebener Käse wurde in 80 g Wasser mit einem Homogenisator (Polytron PT 2000 auf Stufe 3) während 1 min fein suspendiert.

Untersuchungsmethoden

Die flüchtigen Verbindungen wurden mit Hilfe einer dynamischen Dampfdruckanalyse unter den folgenden Bedingungen bestimmt: 20 g der oben erwähnten Käsesuspension wurde in ein 25-mL 'Sparger' ohne Fritte (Art. Nr. 14-2333-4SL, Schmidlin und Co, CH-6345 Neuheim) eingeführt. Das Purge & Trap System LSC 2000 (Tekmar, Cincinnati, OH, USA) wurde mit einer Adsorptionspatrone (Nr. 8) aus einem Gemisch von Carbosieve SIII (0.05 g) und Carbopack B60/80 (0.2 g) sowie einer 'cryofocusing' Einheit ausgerüstet. Das 'moisture control modul' (MCM) wurde überbrückt. Die Arbeitsbedingungen waren die folgenden: 'purge gas' Stickstoff; 'purge flow' (vent): 30 mL/min; 'prepurge': 1 min; Wasserbad (statt Sparger-Heizmantel): 45 °C; 'purge': 10 min; 'drypurge': 10 min; 'cap cool-down': -125 °C; 'desorb preheat': 210 °C; 'desorb': 4 min bei 220 °C; 'inject': innerhalb 1,5 min von -125 bis +200 °C; 'bake': 5 min bei 260 °C; '6-port valve': 150 °C; 'line': 150 °C; 'capillary union heater' (= Trans-

fer-Linie vom Purge & Trap-Gerät bis zum Gaschromatographen): 150 °C.

Beim Gaschromatographen (GC) handelte es sich um das Gerät 5890, Series II der Firma Hewlett-Packard (HP Company, Avondale, PA, USA). Die Arbeitsbedingungen waren die folgenden: Trägergas: Helium; Einlassdruck 40 kPa; Fluss: ca. 1.6 mL/min bei 45 °C; Temperatur der Transferlinie (vom GC zum MS): 280 °C; Temperaturprogramm: 13 min bei 45 °C, dann 5 °C/min bis 240 °C und 5 min bei 240 °C; kapillare Trennsäule: SPB1 (Supelco Inc. Bellefonte, PA, USA), 30 m × 0.32 mm i.d., Filmdicke: 4 µm.

Zwei Detektoren wurden nach der Trennsäule parallel mit einem T-Stück und den notwendigen Kapillarrestriktoren montiert: ein Hewlett-Packard Flammenionisationsdetektor (FID) und ein massenspezifischer Detektor (MSD Modell HP 5972) mit Direkteinlass in 'scan mode' (TIC) von 19 bis 250 amu bei 2.9 scan/s, mit einer elektronischen Ionisation von 70 eV und 'auto-tuning'; MS-Scan nach 3.5 min. Die Peaks wurden mit dem MSD und der Wiley-Datenbank identifiziert (12) und mit FID anhand der Peakhöhe quantifiziert. Es wurde keine absolute Quantifizierung vorgenommen.

Statistische Auswertung

Die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen wurden für alle Messgrößen berechnet. Die Unterschiedsprüfungen der Mittelwerte wurden im Programm SYSTAT (13) mit einer einfachen Varianzanalyse durchgeführt. In den Tabellen wurden die Werte, die keine signifikanten Unterschiede zwischen den Käsen mit und ohne *L. casei* subsp. *casei* aufwiesen, für alle 8 Proben zusammengefasst.

Resultate und Diskussion

Aus den zahlreichen flüchtigen Komponenten, die in diesen Käseproben vorhanden waren, wurden insgesamt 38 nach folgenden Kriterien ausgewählt: (i) diejenigen, deren Konzentration während der Reifung signifikant zu- oder abnahm; (ii) diejenigen, die vom *L. casei* subsp. *casei*-Zusatz abhängig waren; (iii) diejenigen, die als Schlüsselaromastoffe (3–6) betrachtet werden können sowie (iv) diejenigen, die in einem reifen Emmentaler Käse, der mit verschiedenen Extraktionsmethoden untersucht wurde (4), nachgewiesen wurden. Diese Komponenten wurden identifiziert und anhand von reinen Referenzsubstanzen sowie aufgrund ihrer Retentionszeiten und Massenspektren bestätigt.

Die erhaltenen Resultate werden in den Tabellen 1 bis 5 nach den chemischen Stoffklassen eingeordnet. **Abbildung 1** zeigt als Beispiel die GC-FID- und MS-Chromatogramme einer 12-monatigen Käseprobe.

Alkohole

Tabelle 1 zeigt die relativen Gehalte einiger primärer und sekundärer Alkohole und deren Veränderungen im

Tabelle 1 Flüchtige primäre und sekundäre Alkohole im Laufe der Reifung von in Folien verpacktem Emmentaler Käse (Peakhöhe gemessen nach einer GC-FID-Analyse)

Peak No.	Komponente	Alter in Monaten								Ref. Nr.	
		3		6		9		12			
		ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc		
3	Ethanol	\bar{x}	62833	116958	75652	110619	78371	64006	107452	(4)	
		s_x	16919	16190	11961	11367	25095	12482	9506		
6	Propanol-1	\bar{x}	12101	5114	13208	6419	10185	10897	3236	(4, 7)	
		s_x	4555	2119	3272	1784	3721	497	2231		
11	2-Methylpropanol-1	\bar{x}	2231		2155		2427	2231		(4)	
		s_x	459		292		405	497			
14	Butanol-1	\bar{x}	1518		1237		1169	1089		(4, 7)	
		s_x	2423		2025		1565	1260			
22	3-Methylbutanol-1	\bar{x}	3513	14456	4615	14556	5557	14294	5697	16480	(4)
		s_x	1220	2702	1710	1553	2424	2191	3009	5081	
23	2-Methylbutanol-1	\bar{x}	12939	10535	13155	10424	12257	13474		(4)	
		s_x	1570	658	679	1389	1709	2504			
30	Hexanol-1	\bar{x}	nn		nn		nn	451		(4)	
		s_x						2			
5	Propanol-2	\bar{x}	2607		5745		9276	10038		(4)	
		s_x	1178		1737		4954	2858			
9	Butanol-2	\bar{x}	591		717		1149	1271		(4)	
		s_x	398		714		1402	1610			
19	Pentanol-2	\bar{x}	974		2282		5538	6825		(4, 7)	
		s_x	419		931		2649	2514			
34	Heptanol-2	\bar{x}	nn		nn		nn	483		(4)	
		s_x						94			

Anzahl Messung 8 (4 mit Lc und 4 ohne Lc). Lc=*Lactobacillus casei* subsp. *casei*. \bar{x} =Mittelwert; s_x =Standardabweichung; nn=nicht nachweisbar.

Peakhöhe in willkürlichen Einheiten

Tabelle 2 Flüchtige Mono- und Diketone im Laufe der Reifung von in Folien verpacktem Emmentaler Käse (Peakhöhe gemessen nach einer GC-FID-Analyse)

Peak No.	Komponente	Alter in Monaten								Ref. Nr.
		3		6		9		12		
		ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	
4	Propanon-2	\bar{x}	17652		32074		59790		74591	(4, 7)
		s_x	5477		10476		16368		32025	
8	Butanon-2	\bar{x}	1970		2497		3514		3979	(4, 7)
		s_x	327		841		956		1319	
16	Pentanon-2	\bar{x}	13659		32889		97911		108303	(4, 7)
		s_x	4961		11886		30382		45733	
24	3-Methylpentanon-2	\bar{x}	nn		492	1143	nn	941		(4)
		s_x			119	494		833		
26	Hexanon-2	\bar{x}	476		556		1236		1347	(4, 7)
		s_x	73		157		503		642	
32	Heptanon-2*	\bar{x}	8418		9580		19390		22024	(4, 7)
		s_x	1799		2082		6482		10135	
38	Nonanon-2*	\bar{x}	529		561		772		837	(4, 7)
		s_x	88		89		163		245	
7	2,3-Butandion* (=Diacyl)	\bar{x}	1503		1032		793		765	(4, 7)
		s_x	870		531		349		331	
17	2,3-Pentandion	\bar{x}	1262	562	1148	564	848	1237	632	(4)
		s_x	338	123	181	170	295	396	230	

Legende: siehe Tabelle 1.

*Aromastoff (3, 8–11).

Laufe der Reifung von 3–12 Monaten. Mit Ausnahme des Butanol-1, dessen Gehalt signifikant sank, nahmen fast sämtliche Alkohole zu. Bei den primären Alkoholen konnte in mehreren Fällen signifikant nach der Zusatzkultur unterschieden werden. Besonders ausgeprägt ist diese Diskriminierung bei Ethanol sowie bei 2- und 3-Methylbutanol-1. Als Ausnahmen sind jedoch folgende Verbindungen zu erwähnen: 2-Methylpropanol-1, Butanol-1 und Hexanol-1, wobei letztere Verbindung in Spuren vorhanden war. Bei den sekundären Alkoholen zeigte der *L. casei*-Zusatz keine Unterschiede auf.

nol-1, Butanol-1 und Hexanol-1, wobei letztere Verbindung in Spuren vorhanden war. Bei den sekundären Alkoholen zeigte der *L. casei*-Zusatz keine Unterschiede auf.

Ketone

Die Methyl(mono)ketone nahmen während der Käse-

Tabelle 3 Flüchtige Aldehyde im Laufe der Reifung von in Folien verpacktem Emmentaler Käse (Peakhöhe gemessen nach einer GC-FID-Analyse)

Peak No.	Komponente	Alter in Monaten								Ref. Nr.
		3		6		9		12		
		ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	
1	Acetaldehyd	\bar{x}	968		950		1343		4751	(4, 7)
		s_x	340		241		1244		9944	
12	3-Methylbutanal*	\bar{x}	1342	2050	1737	2174	1824	1731		(4, 7)
		s_x	277	470	143	195	363	527		
13	2-Methylbutanal*	\bar{x}	2438	4500	6231		7895	8425		(4, 7)
		s_x	473	746	1253		1476	1299		
18	Pentanal	\bar{x}	943		889		667	620	435	(4)
		s_x	367		354		193	121	70	
27	Hexanal	\bar{x}	3219		2260		937		626	(4)
		s_x	1964		1400		292		260	

Legende: siehe **Tabelle 1**.

*Aromastoffe (3, 8–11).

Tabelle 4 Flüchtige Ester im Laufe der Reifung von in Folien verpacktem Emmentaler Käse (Peakhöhe gemessen nach einer GC-FID-Analyse)

Peak No.	Komponente	Alter in Monaten								Ref. Nr.
		3		6		9		12		
		ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	
2	Ameisensäure-methylester	\bar{x}	2615		2322		2243		2011	(4)
		s_x	374		318		455		435	
10	Essigsäureethylester	\bar{x}	8710		7527		11227		11031	(4)
		s_x	1887		1524		3162		2948	
20	Summe von 2 Estern†	\bar{x}	19820		41691		114544		117024	(4, 7)
		s_x	9998		18600		39425		49100	
28	Buttersäureethylester*	\bar{x}	1822		2760	2913		5343	4579	(4, 7)
		s_x	1111		1368	629		1258	2041	
29	Propionsäure-propylester	\bar{x}	4459	868	8359	2142	11024	3559	12567	3946 (4)
		s_x	1056	370	1555	830	2459	846	2871	1254
33	Buttersäurepropylester	\bar{x}	nn		493		575		688	(4)
		s_x			123		217		289	
36	Capronsäure-ethylester*	\bar{x}	632		1001	918		1550	1431	(4, 7)
		s_x	280		581	229		317	559	

Legende: siehe **Tabelle 1**.

*Aromastoffe (3, 8–11).

†Summe von Propionsäureethylester und Essigsäurepropylester.

Tabelle 5 Flüchtige aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe im Laufe der Reifung von in Folien verpacktem Emmentaler Käse (Peakhöhe gemessen nach einer GC-FID-Analyse)

Peak No.	Komponente	Alter in Monaten								Ref. Nr.
		3		6		9		12		
		ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	ohne Lc	mit Lc	
21	Heptan	\bar{x}	51735		2106		1303		1034	(4)
		s_x	18539		529		282		214	
15	Benzol	\bar{x}	502		469		473		456	(4)
		s_x	147		99		62		11	
25	Toluol	\bar{x}	34715		26186		23643		17456	(4, 7)
		s_x	7981		5883		6673		5721	
31	1,3 (und/oder 1,4)-Dimethylbenzol	\bar{x}	33907		21355		13603		10790	(4)
		s_x	14744		6254		7284		6977	
35	1,2-Dimethylbenzol	\bar{x}	50112		32076		20205		16396	(4, 7)
		s_x	21866		9842		10887		10993	
37	1,2,4-Trimethylbenzol	\bar{x}	16677		9915		4516		4551	(4)
		s_x	10224		4619		2415		4490	

Legende: siehe **Tabelle 1**.

reifung gleichmässig zu, die verwendete Zusatzkultur hatte darauf keinen Einfluss (Tabelle 2). Sie entstehen ausschliesslich durch die β -Oxidation der ungesättigten Fettsäuren (14). Das 2,3-Butandion nahm hingegen während der untersuchten Zeitspanne ab, was schon bei der Reifung von Gruyère Käse beobachtet wurde (5). Zu den Ketonen, deren Konzentrationsveränderungen gemessen werden konnten, gehören die aroma-relevanten Verbindungen 2,3-Butandion (3, 7, 8) und Heptanon-2 (3, 8).

Aldehyde

Im Käseteig wurden Acetaldehyd* sowie 2-Methylbutanal deutlich angereichert, während die Gehalte von Pentanal und Hexanal abnahmen (Tabelle 3). Wie bei der Reifung von Gruyère Käse (5) scheinen diese zwei letzteren Substanzen, die wahrscheinlich ebenfalls aus einer β -Oxidation der ungesättigten Fettsäuren entstanden sind, in weitere Produkte umgewandelt zu werden. Sehr interessant ist die klare Diskriminierung nach den Kulturen (mit und ohne *L. casei* subsp. *casei*) bei der Bildung des aromarelevanten 3-Methylbutanals (6–9), das sich ähnlich wie das oben erwähnte 3-Methyl-

*Für Acetaldehyd ist die Temperatur des Cryofocus ($-125\text{ }^{\circ}\text{C}$) nicht tief genug, um diese Verbindung quantitativ zurückzuhalten.

butanol mindestens bis zum Alter von 6 Monaten verhielt (Tabelle 1).

Lees und Jago (15) erörtern in ihrem Übersichtsartikel die Rolle des Acetaldehyds im Stoffwechsel der Milchsäurebakterien. Mögliche Metaboliten aus diesem Produkt sind Essigsäure, Acetyl-CoA, Diacetyl, Acetoin, Butanon und vor allem Ethanol. Am Stoffwechselweg von Acetaldehyd zu Ethanol ist die Alkoholdehydrogenase beteiligt. Keenan und Lindsay (16) untersuchten die Alkoholdehydrogenaseaktivität verschiedener *Lactobacillus*-Species. *L. casei* wie auch andere Laktobazillen konnten Acetaldehyd und Propionaldehyd zu den entsprechenden Alkoholen reduzieren. Raya *et al.* (17) zeigten auch, dass bei den Milchsäurebakterien *L. bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus* Acetaldehyd nicht unbedingt aus dem Hexosemonophosphat-Weg stammen muss. Diese Verbindung könnte auch beim Abbau von Threonin zu Glycin durch die Threoninaldolase gebildet werden. Keine signifikante Korrelation konnte jedoch mit diesen freien Aminosäuren gefunden werden (1).

Ester

Mit Ausnahme des Ameisensäuremethylesters, der geringfügig abnahm, stieg der Gehalt sämtlicher anderer Esterverbindungen im Laufe der Emmentaler

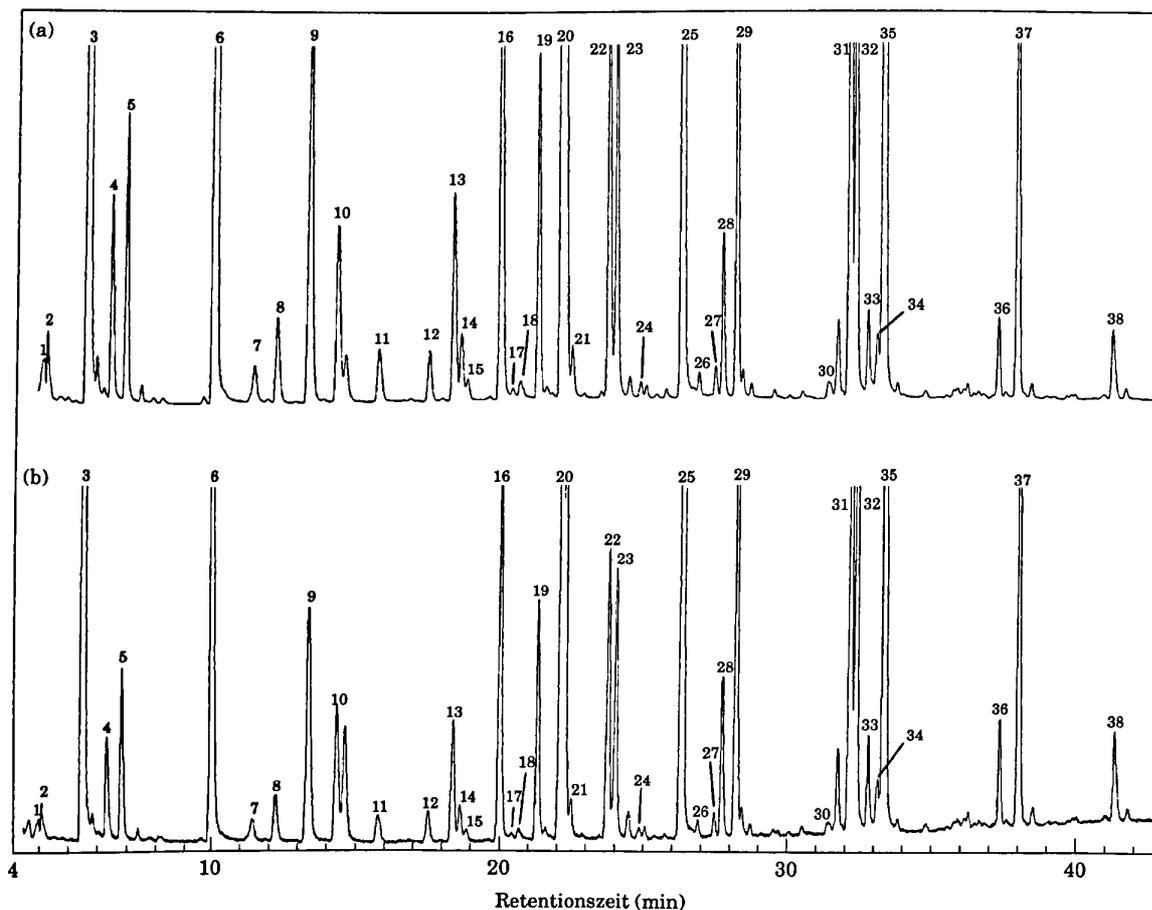


Abb. 1 (a) GC-FID- und (b) GC-MS-Chromatogramme desselben in Folien verpackten Emmentaler Käses im Alter von 12 Monaten

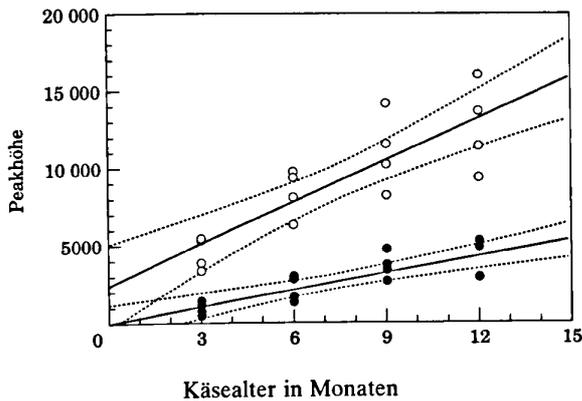


Abb. 2 Zunahme von Propionsäurepropylester während der Käsereifung mit (●) und ohne (○) *L. casei* subsp. *casei*

Käsereifung an (Tabelle 4; Abb. 2). Dasselbe wurde auch bei der Reifung von Gruyère Käse beobachtet (5). Infolge einer ungenügenden chromatographischen Auflösung von Essigsäurepropyl- und Propionsäureethylester wurden diese beiden verwandten Ester summiert. Ihre ausgeprägte Bildung ist selbstverständlich auf die ebenfalls massive Bildung von Essig- und Propionsäure sowie von Ethanol und Propanol zurückzuführen (siehe Teil I [1]), unabhängig jedoch von den Kulturen. Obschon die Konzentration der entsprechenden ursprünglichen Ameisensäure signifikant unterschiedlich war (siehe Teil I [1]), konnte beim Gehalt des Ameisensäuremethylesters kein Unterschied durch den *L. casei*-Zusatz beobachtet werden. Die Konzentrationsabnahme der Ameisensäure könnte teilweise mit der fortlaufenden Bildung weiterer Esterverbindungen während der Reifung erklärt werden. In Cheddarkäse begünstigen hohe Ethanolgehalte die Bildung von Carbonsäureestern (15). Dumont und Adda (14) wiesen daraufhin, dass in Milchprodukten oftmals grössere Mengen an freien Fettsäuren und kurzkettigen primären Alkoholen vorhanden sind (siehe auch Teil I [1]), welche die Grundsubstanzen zur Esterbildung darstellen. Ob die Ester jedoch chemisch oder enzymatisch gebildet werden, ist noch nicht abgeklärt.

Kohlenwasserstoffe

Wie bei der Reifung von Gruyère Käsen (5) zeigte sich auch im Laufe der Reifung von in Folien verpackten Emmentaler Käsen eine generelle Abnahme von Heptan und der aromatischen Kohlenwasserstoffe (Tabelle 5). Heptan könnte aus der Decarboxylierung der Fettsäuren stammen.

Weitere Verbindungen

Die in Spuren vorhandenen schwefelhaltigen Verbindungen Dimethylsulfid und Dimethyldisulfid wiesen keine signifikanten Konzentrationsänderungen auf. Der aromarelevante Methionolgehalt (6–10) lag unter der Nachweisgrenze der angewandten Analysenmethode (dreimal kleiner als der Rauschpegel). Bei der Reifung

von Cheddarkäsen konnte hingegen Manning (18) eine deutliche Bildung von schwefelhaltigen Komponenten feststellen. Die schwerflüchtigen Aromastoffe δ -Decalacton, 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3 (2H)-furanon (HMF) und 2-Ethyl-4-hydroxy-5-methyl-3 (2H)-furanon (EHMF) konnten trotz Einspritzen von Referenzsubstanzen mit der angewandten Methode nicht nachgewiesen werden. Die Konzentrationen dieser und anderer Schlüsselaromastoffe wurden deshalb mit Isotopenverdünnungsanalysen in vier Käseproben gemessen. Die Ergebnisse werden gesondert berichtet (3).

Korrelationen zwischen einigen flüchtigen Verbindungen

Obschon es keine gemeinsamen Stoffwechselwege zwischen den folgenden Verbindungen gibt, sind die positive Korrelation zwischen 3-Methylbutanol-1 und Ameisensäure sowie die negativen Korrelationen zwischen 3-Methylbutanol-1 und Propionsäure sowie zwischen Ethanol und Propionsäure wahrscheinlich auf den Hemmungseffekt von *L. casei* subsp. *casei* auf das Wachstum von Propionsäurebakterien zurückzuführen (Tabelle 6). Die beiden sekundären Alkohole Propanol-2 und Pentanol-2 waren miteinander positiv korreliert, was einen Hinweis für einen ähnlichen Stoffwechselweg dieser Komponenten sein könnte. Die positiven Korrelationen zwischen den zwei Estern (Propionsäure- und Buttersäurepropylester) mit ihren Ausgangsprodukten (Propion- und Buttersäure einerseits und Propanol-1 andererseits) bestätigen die Herkunft dieser Verbindungen.

Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit zeigt allgemein eine Zunahme der meisten flüchtigen Komponenten während der zwölfmonatigen Reifungsperiode von 8 Schweizer Emmentaler Käsen. Unter den 38 Komponenten, die identifiziert und mit Hilfe von Reinkomponenten bestätigt wurden, nahm die Konzentration der primären und sekundären Alkohole, der Methylketone sowie der Ester zu. Ausnahmen bildeten dabei Butanol-1, 2,3-Butandion und Ameisensäuremethylester. Die Konzentration von Heptan und der aromatischen Kohlenwasserstoffe nahm hingegen signifikant ab. Generell wiesen die untersuchten Komponenten ein ähnliches Verhalten auf, wie dies in Gruyère Käse während derselben Reifungsperiode festgestellt wurde.

Der Zusatz von *L. casei* subsp. *casei* führte zu einer hochsignifikanten Diskriminierung der folgenden Komponenten: Ethanol, 2,3-Pentandion, 3-Methylbutanol-1 und Propionsäurepropylester über nahezu die gesamte Reifungsdauer sowie Propanol-1, 2-Methylbutanol-1 sowie 2- und 3-Methylbutanal über die 6 ersten Monate.

Die folgenden flüchtigen Verbindungen sind im Schweizer Emmentaler Käse als Aromastoffe zu betrachten (8–11): 2- und 3-Methylbutanal, Buttersäure- und

Tablelle 6 Hochsignifikante Korrelationskoeffizienten zwischen einigen flüchtigen Komponenten ($n=32$ Käse verschiedenen Alters)

Komponente	Ameisensäure	Propionsäure	Buttersäure	Propanol-1	Propanol-2
Ethanol	+0.82	-0.82			
Pentanol-2					+0.85
3-Methylbutanol-1	+0.85	-0.74			
Propionsäurepropylester		+0.87		+0.80	
Buttersäurepropylester			+0.68	+0.86	

Capronsäureethylester, Heptanon-2, Nonanon-2 und 2,3-Butandion. Weitere Aromakomponenten wie Essig-, Propion-, Milch- und Glutaminsäure sowie Ammonium wurden schon in Teil I (1) behandelt. Methanthiol, Skatol, δ -Decalacton, HMF und EHMf wurden jedoch in diesen Käsen mit der angewandten Methode nicht nachgewiesen.

Literatur

- BACHMANN, H.-P., BÜTIKOFER, U., BADERTSCHER, R., DALLA TORRE, M., LAVANCHY, P., BÜHLER-MOOR, U., NICK, B., JIMENO, J., WARMKE, M., GROSCH, W.I., SIEBER, R. UND BOSSET, J.O. Reifungsverlauf von in Folien verpacktem Emmentaler Käse mit und ohne Zusatz von *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. I. Mikrobiologische, chemische, rheologische und sensorische Untersuchungen. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **30**, 417–428 (1997)
- JIMENO, J., LAZARO, M.J. AND SOLLBERGER, H. Antagonistic interactions between propionic acid bacteria and non-starter lactic acid bacteria. *Lait*, **75**, 401–413 (1995)
- RYCHLIK, M., WARMKE, R. AND GROSCH, W. Ripening of Emmentaler cheese wrapped in foil with and without addition of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. III. Analysis of character impact flavour compounds. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **30**, 471–478 (1997)
- BOSSET, J.O., GAUCH, R., MARIACA, R. AND KLEIN, B. Comparison of various sample treatments for the analysis of volatile compounds by GC-MS: Application to the Swiss Emmentaler Cheese. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittelchemie und Hygiene*, **86**, 672–698 (1995)
- BOSSET, J.O. AND LIARDON, R. The aroma composition of Swiss Gruyère cheese. III. Relative changes in the content of alkaline and neutral volatile components during ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **18**, 178–185 (1985)
- BOSSET, J.O., COLLOMB, M. AND SIEBER, R. The aroma composition of Swiss Gruyère cheese. IV. The acidic volatile components and their changes in content during ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **26**, 581–592 (1993)
- LANGLER, J.E., LIBBEY, L.M. AND DAY, E.A. Identification and evaluation of selected compounds in Swiss cheese flavor. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **15**, 386–391 (1967)
- PREININGER, M., RYCHLIK, M. AND GROSCH, W. Potent odorants of the neutral volatile fraction of Swiss cheese (Emmentaler). In: MAARSE, H. AND VAN DER HEIJ, D.G. (Eds), *Trends in Flavour Research*. Amsterdam: Elsevier, pp. 267–270 (1994)
- PREININGER, M. AND GROSCH, W. Evaluation of key odorants of the neutral volatiles of Emmentaler cheese by the calculation of odour activity values. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **27**, 237–244 (1994)
- GROSCH, W., PREININGER, M., WARMKE, R. AND BELITZ, H.-D. Studies on the flavour of Swiss cheese (Emmentaler). In: ROTHE, M. AND KRUSE, H.-P. (Eds), *Aroma — Perception, Formation, Evaluation*. Potsdam-Rehbrücke: Deutsches Institut für Ernährungsforschung, pp. 425–439 (1995)
- PREININGER, M., WARMKE, R. AND GROSCH, W. Identification of the character impact flavour compounds of Swiss cheese by sensory studies of models. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **202**, 30–34 (1996)
- McLAFFERTY, F. AND STAUFFER, D. (Eds). *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 4th Edn. New York: Wiley and Sons (1988)
- SYSTAT. *Systat for Windows: Statistics*, Version 5.0 Edition. Evanston, IL: Systat Inc. (1992)
- DUMONT, J.P. AND ADDA, J. Flavour formation in dairy products. In: LAND, D.G. AND NURSTEN, H.E. (Eds), *Progress in Flavour Research*. London: Applied Science Publishers Ltd, pp. 245–262 (1979)
- LEES, G.J. AND JAGO, G.R. Role of acetaldehyde in metabolism. A review. 2. The metabolism of acetaldehyde in cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, **61**, 1216–1224 (1978)
- KEENAN, T.W. AND LINDSAY, R. C. Dehydrogenase activity of *Lactobacillus* species. *Journal of Dairy Science*, **50**, 1585–1588 (1967)
- RAYA, R.R., MANCA DE NADRA, M.C., PESCE DE RUIZ HOLGADO, A. AND OLIVER, G. Acetaldehyde metabolism in lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, **41**, 397–399 (1986)
- MANNING, D.J. Sulphur compounds in relation to Cheddar cheese flavour. *Journal of Dairy Research*, **41**, 81–87 (1974)