



## Impressum

|             |  |
|-------------|--|
| Herausgeber | Agroscope<br>Schwarzenburgstrasse 161<br>3003 Bern<br><a href="http://www.agroscope.ch">www.agroscope.ch</a> |
| Auskünfte   | Daniel Wechsler, <a href="mailto:daniel.wechsler@agroscope.admin.ch">daniel.wechsler@agroscope.admin.ch</a>  |
| Redaktion   | Daniel Wechsler  |
| Gestaltung  | Daniel Wechsler, Petra Asare   |
| Titelbild   | Walliser Raclette GUB  |
| Copyright   | © Agroscope 2021   |
| ISSN        | 2296-729X  |
| DOI         | <a href="https://doi.org/10.34776/as115g">https://doi.org/10.34776/as115g</a>                                |

Die in dieser Publikation enthaltenen Angaben dienen allein zur Information der Leser/innen. Agroscope ist bemüht, korrekte, aktuelle und vollständige Informationen zur Verfügung zu stellen – übernimmt dafür jedoch keine Gewähr. Wir schliessen jede Haftung für eventuelle Schäden im Zusammenhang mit der Umsetzung der darin enthaltenen Informationen aus. Für die Leser/innen gelten die in der Schweiz gültigen Gesetze und Vorschriften, die aktuelle Rechtsprechung ist anwendbar.

# Inhalt

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Zusammenfassung</b> .....  | <b>4</b>  |
| <b>1 Eigenschaften von Walliser Raclette</b> .....                                  | <b>4</b>  |
| 1.1 Herstellung von Walliser Raclette .....   | 5         |
| <b>2 Angaben zur Durchführung der Erhebung</b> .....                                | <b>5</b>  |
| 2.1 Auswahl der Käse.....   | 5         |
| <b>3 Chemische und biochemische Charakterisierung</b> .....                         | <b>7</b>  |
| 3.1 Methodische Angaben.....  | 7         |
| 3.2 Zusammensetzung der Käse .....  | 7         |
| 3.2.1 Vergleich der Zusammensetzung von Walliser Raclette und Raclette Suisse ..... | 8         |
| 3.3 Gärungsparameter .....  | 9         |
| 3.4 Reifungsparameter .....   | 9         |
| 3.4.1 Stickstofffraktionen .....  | 9         |
| 3.4.2 Freie Aminosäuren .....   | 10        |
| 3.4.3 pH-Wert .....   | 12        |
| 3.5 Biogene Amine .....   | 12        |
| 3.6 Flüchtige Carbonsäuren .....  | 13        |
| 3.7 Fettsäuremuster .....   | 15        |
| <b>4 Physikalische Charakterisierung</b> .....                                      | <b>17</b> |
| 4.1 Methodische Angaben.....  | 17        |
| 4.1.1 Erklärungen zu den verwendeten Methoden .....                                 | 17        |
| 4.2 Teig- und Schmelzeigenschaften .....  | 18        |
| <b>5 Aromaprofil</b> .....  | <b>20</b> |
| 5.1 Methodische Angaben.....  | 20        |
| 5.2 Aromaprofil von Walliser Raclette .....   | 23        |
| <b>6 Sensorische Charakterisierung</b> .....  | <b>24</b> |
| 6.1 Methodische Angaben.....  | 24        |
| 6.1.1 Sensorische Charakterisierung der kalten Käse .....                           | 24        |
| 6.1.2 Sensorische Charakterisierung der geschmolzenen Käse .....                    | 25        |
| 6.2 Sensorische Eigenschaften von Walliser Raclette.....                            | 25        |
| <b>7 Mikrobiologische Charakterisierung</b> .....                                   | <b>27</b> |
| 7.1 Analyse des Mikrobioms.....   | 27        |
| 7.1.1 Extraktion der DNA.....   | 27        |
| 7.1.2 PCR-Amplifikation und Sequenzierung.....                                      | 27        |
| 7.1.3 Bioinformatische Auswertung der Sequenzierungsdaten .....                     | 27        |
| 7.2 Zusammensetzung des Mikrobioms von Walliser Raclette GUB.....                   | 28        |
| 7.2.1 Mikrobiom im Käseteig .....   | 28        |
| 7.2.2 Rindenmikrobiom.....  | 32        |
| 7.2.3 Betriebsspezifische Unterschiede im Teig- und Rindenmikrobiom.....            | 34        |
| <b>8 Literaturverzeichnis</b> .....   | <b>37</b> |

## Zusammenfassung

Walliser Raclette GUB (bzw. Raclette du Valais AOP) ist ein traditioneller aus Rohmilch hergestellter Halbhartkäse und seit 2007 ist die Käsesorte als geschützte Ursprungsbezeichnung (GUB) eingetragen. Für die vorliegende Charakterisierung wurde je ein ganzer Laib Käse von 21 verschiedenen Käsereien beschafft. Im Rahmen der chemischen und biochemischen der Untersuchungen wurden die Zusammensetzung, verschiedene Gärungsparameter, Reifungsparameter, biogene Amine, flüchtige Carbonsäuren und das Fettsäuremuster bestimmt. Die physikalische Charakterisierung erfolgte anhand der Bestimmung der Teig- und Schmelzeigenschaften. Weiter wurden das Aromaprofil sowie die sensorischen Eigenschaften der Käse in kaltem und geschmolzenen Zustand erfasst. Dank den in den letzten Jahren erzielten methodischen Fortschritten konnte erstmals auch das Mikrobiom dieser Käsesorte umfassend charakterisiert werden, wobei sowohl das Mikrobiom im Käseteig als auch das Rindenmikrobiom analysiert wurde. Das vorliegende Agroscope Science enthält eine Vielzahl von sortenspezifischen Referenzwerten und ist damit auch eine wertvolle Grundlage für die Käsereiberatung.

## 1 Eigenschaften von Walliser Raclette

Walliser Raclette GUB (bzw. Raclette du Valais AOP) ist ein schmieregereifter, vollfetter Halbhartkäse, der aus Rohmilch hergestellt wird und hauptsächlich in geschmolzenem Zustand konsumiert wird. Seit 2007 ist die Käsesorte als geschützte Ursprungsbezeichnung (GUB) eingetragen. Der grössere Teil der jährlichen Produktion von ca. 2300 Tonnen wird in etwa 20 gewerblichen Käsereien produziert, die insbesondere im absatzstarken Winterhalbjahr die Nachfrage abdecken. Während der Sömmerungszeit wird Walliser Raclette GUB auch auf über 100 Alpbetrieben fabriziert. Teile der Produktion werden in kalter Form als halbharter Schnittkäse konsumiert oder über eine Dauer von mindestens 9 Monaten zu extra-hartem Hobelkäse trockengereift. Walliser Raclette Schnittkäse und Walliser Raclette Hobelkäse stellen zwei Varianten von Walliser Raclette GUB dar, auf die im Rahmen der vorliegenden Charakterisierung nicht eingegangen wird. Der Absatz und Konsum von Walliser Raclette erfolgt hauptsächlich im Ursprungsgebiet, nur bescheidene Mengen gelangen in den Export. Der erste schriftliche Nachweis im Wallis auf die Praxis, Käse vor einem Feuer zu schmelzen, stammt aus dem Jahr 1574 vom Arzt und Apotheker Gaspard Ambuel aus Sitten. Die Bezeichnung Raclette (von französisch "racler"="schaben, kratzen") wurde ab 1874 verwendet. Im Jahr 1909 wurde das Raclette-Gericht anlässlich der "Exposition cantonale valaisanne" in Sion über die Kantonsgrenzen hinaus bekannt. Bis ca. 1920 wurde Raclette ausschliesslich auf Alpbetrieben hergestellt.

Das Aufkommen des Tourismus und der Elektroöfen trugen dazu bei, dass das Gericht Raclette in der gesamten Schweiz und im Ausland immer bekannter wurde und dass Raclette Käse auch ausserhalb des Kantons Wallis hergestellt wurde. Der Verein Raclette Suisse vereinigt die Hersteller der Marke Raclette Suisse. Im Gegensatz zu Walliser Raclette wird Raclette Suisse hauptsächlich in industriellen Betrieben aus pasteurisierter Milch hergestellt. Zudem weisen die Laibe von Raclette Suisse meist eine rechteckige Form auf. Die Menge der unter der Marke Raclette Suisse abgesetzten Raclette Käse ist mit etwa 15'000 Tonnen um ein Vielfaches grösser als jene von Walliser Raclette GUB.

Das Pflichtenheft von Walliser Raclette GUB enthält verbindliche Vorgaben bezüglich dem Aussehen, der Zusammensetzung den organoleptischen Eigenschaften und der Herstellung des Käses. Die Laibe von Walliser Raclette GUB sind rund, weisen einen Durchmesser von 29-32 cm und eine Höhe von 6-7 cm auf. Auf der Järbseite tragen die Käse den Namen, entweder als Relief oder als Einprägung. Der Käse hat eine gleichmässige, natürlich braun-orange Farbe und eine leicht feuchte Schmiere-Rinde. Die wenigen Löcher (2-3 Löcher pro Böhrling) sind erbsengross und gleichmässig verteilt. Der Wassergehalt im fettfreien Käse (Wff) liegt bei Walliser Raclette im Bereich von 600 – 640 g/kg. Der Fettgehalt in der Trockenmasse (FIT) liegt im Bereich von 500 – 549 g/kg und der Salzgehalt im Bereich von 1.2 – 2.2 g/kg. Walliser Raclette verfügt über einen glatten, geschmeidigen und feinen Teig. Der Geruch ist milchig frisch (frische Butter, frischer Rahm) und blumig. Der Geschmack ist milchig frisch und wird durch eine saure Note unterstützt und weist eine dominierende pflanzliche und fruchtige Note auf.

## 1.1 Herstellung von Walliser Raclette

Für die Herstellung von Walliser Raclette darf ausschliesslich Rohmilch aus silofreier Milchproduktion verwendet werden. Bei der Fütterung der Milchkühe müssen 75 % der Trockensubstanz aus Rauffutter aus dem geographischen Gebiet bestehen. Die Milch wird nach dem Melken innerhalb von 2h auf unter 8°C gekühlt und ein- oder zweimal täglich abgeliefert. Das älteste Gemelk darf beim Einlaben nicht älter als 24h sein. Wasser, Salz, vom Kälbermagen stammendes Lab, Milchsäurebakterienkulturen und Schmierekulturen sind die einzigen zulässigen Zutaten und Hilfsmittel. Die Milch muss in einem Kupferkessi verarbeitet werden. Die maximale Verarbeitungsmenge beträgt 5'000 Liter pro Charge. Nach dem Zusatz der Säuerungskulturen wird die Milch auf 32°C erwärmt und während 30 – 60 Minuten vorgereift. Die Labzugabe erfolgt bei einer Temperatur zwischen 30°C und 33°C. Die Gallerte wird in Maiskörner grosse Bruchkörner geschnitten. Die Verdünnung des Milchzuckers erfolgt durch Zugabe von Trinkwasser zwischen 10 und 15% der verarbeiteten Milchmenge. Das Bruch-Molkengemisch wird während 30 min bei einer Temperatur zwischen von 36 - 45°C gerührt. Der Käsebruch wird vorgepresst und danach in die runden Formen abgefüllt. Die Käselaike werden während des Pressens und Abtropfens mindestens zweimal gewendet (Dauer:  $\geq 4$  Stunden). Am Ende des Pressvorgangs liegt der pH-Wert des Käses im Bereich von 4.8-5.2. Das Salzen erfolgt entweder von Hand oder im Salzbad (18° – 22° Bé, 8° – 15° C, 22 – 24h).

Die Käse werden für mindestens drei Monate bei einer Temperatur von 7-14°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 88-96% auf rohen Rottannen-Brettern gereift. Die Bildung der Rinde wird durch das Schmieren der Käse mit der natürlichen in der Käserei vorkommenden Rindenflora (*Brevibacterium linens*) hervorgerufen. Die Käse werden regelmässig gewendet (täglich vom 1. bis zum 10. Tag; 3 mal pro Woche vom 11.-30. Tag; danach 2 mal pro Woche).

## 2 Angaben zur Durchführung der Erhebung

### 2.1 Auswahl der Käse

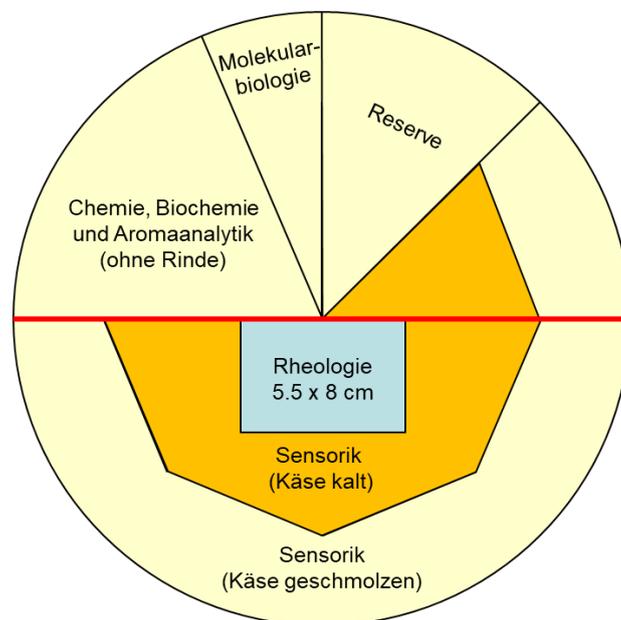
Für diese Charakterisierung wurde je ein ganzer Laib Käse von 21 verschiedenen Käsereien beschafft (**Tabelle 1**). Da der Anteil von Walliser Raclette aus Alpkäsereien an der jährlichen Produktionsmenge eher gering ist und der grössere Teil der Jahresproduktion auf das Winterhalbjahr entfällt, wurden für die vorliegende Charakterisierung nur Käse aus Talbetrieben gesammelt. Als Produktionsdatum wurde der 29.11.17 vorgegeben, was von 20 der 21 Betriebe eingehalten werden konnte. Dank dieser Vorgabe konnten altersbedingte Unterschiede zwischen den Käsen der verschiedenen Herstellbetriebe vermieden werden. Die Käse wurden wie üblich in den Praxisbetrieben ausgereift, im Alter von 120 Tagen eingesammelt und in den Reifungskeller der Versuchskäserei von Agroscope Liebefeld überführt.

Nach der Ankunft wurden die Laibe für die verschiedenen Analysen nach dem in Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. dargestellten Schema zerlegt und von jedem Laib ein Schnittbild angefertigt. Das Käsestück für die Bestimmung des Aromaprofils sowie der chemischen und biochemischen Parameter wurde entrindet. Darauf wurde das Käsestück in kleine Würfel geschnitten, mit flüssigem Stickstoff in einem Homogenisator mit Schneidmessereinsatz schockgefroren und darauf pulverisiert. Das homogenisierte Käsepulver wurde in gefrorenem Zustand in Plastikbeutel aufgeteilt, vakuumiert und die an die beteiligten Laboratorien zur Analyse weitergeleitet. Das Probenmaterial wurde bis zur Durchführung der Analysen bei -20°C gelagert.

Für die molekularbiologischen Analysen wurden 10 g Probenmaterial steril aus den frischen Käseproben zur Extraktion der DNA / RNA entnommen. Für die Durchführung der rheologischen Analysen wurde aus einem halben Laib eine Zentrumsprobe (5.5 x 8 cm) entnommen. Für die Durchführung der sensorischen Analysen (kalt und warm) wurden die Käsestücke in Plastikbeutel verpackt und für kurze Zeit zwischengelagert. Von jedem Käse wurde eine Rückstellprobe bei -20°C eingefroren.

**Tabelle 1:** Angaben zur Herkunft und dem Alter der untersuchten Walliser Raclette GUB

| BZN      | Name          | Käserei               | Prod.-Datum | Alter |
|----------|---------------|-----------------------|-------------|-------|
| 61769547 | Anniviers     | Anniviers à Vissoie   | 29.11.2017  | 120   |
| 84964150 | Ayent         | Ayent-Arbaz-Grimisuat | 29.11.2017  | 120   |
| 40607242 | Bagnes 1      | Verbier               | 29.11.2017  | 120   |
| 65197703 | Bagnes 4      | Liddes                | 29.11.2017  | 120   |
| 64175127 | Bagnes 5      | Orsières / Somlaproz  | 29.11.2017  | 120   |
| 64510087 | Bagnes 25     | Champsec-Bruson       | 29.11.2017  | 120   |
| 64019062 | Bagnes 30     | Lourtier              | 29.11.2017  | 120   |
| 65407261 | Bagnes 98     | Etièz à Vollèges      | 29.11.2017  | 120   |
| 66102074 | Dixence       | Hérémenche            | 29.11.2017  | 120   |
| 40633195 | Gomser 1      | Aletsch-Goms, Bitsch  | 29.11.2017  | 120   |
| 66147583 | Gomser 11 bio | Gluringen             | 29.11.2017  | 120   |
| 65462283 | Gomser 15     | Obergesteln           | 29.11.2017  | 120   |
| -        | Gomser 32     | Reckingen             | 29.11.2017  | 120   |
| 62062971 | Gomser 55     | Grengiols             | 29.11.2017  | 120   |
| 63411197 | Hauderes      | Haudères              | 29.11.2017  | 120   |
| 46810117 | Heida         | Visperterminen        | 29.11.2017  | 120   |
| 63805522 | Iserables     | Isérables             | 10.12.2017  | 109   |
| 61769547 | Nendaz        | Haute-Nendaz          | 29.11.2017  | 120   |
| 84964150 | Savièse       | Savièse               | 29.11.2017  | 120   |
| 40607242 | Simplon       | Simplon-Dorf          | 29.11.2017  | 120   |
| 65197703 | Wallis 65     | Turtmann              | 29.11.2017  | 120   |



**Abbildung 1:** Schema für das Aufteilen der Käselaiibe

## 3 Chemische und biochemische Charakterisierung

### 3.1 Methodische Angaben

Der Wassergehalt der Käse wurde nach der IDF-Methode bestimmt (IDF, 2004). Die Fettbestimmung erfolgte butyrometrisch nach Gerber van Gulik (ISO, 1975). Der Wassergehalt im fettfreien Käse (Wff) und der Fettgehalt in der Trockenmasse (FiT) wurden gemäss Beschreibung des Schweizerischen Lebensmittelbuchs berechnet. Der Stickstoffgehalt (TN) wurde nach Kjeldahl-Methode bestimmt (ISO, 2007a). Der Gesamtproteingehalt wurde aus dem Kjeldahl-Stickstoffgehalt ( $TN \cdot 6,38$ ) errechnet. Der Nichtprotein-Stickstoff und wurde anhand der in Trichloressigsäure (120 g TCA/kg) löslichen Stickstofffraktion bestimmt (Collomb et al., 1990). Der bei pH 4.6 lösliche Stickstoff (LN 4.6) wurde nach der Methode von Collomb et al. (1990) bestimmt. Der Kochsalzgehalt wurde indirekt durch argentometrische Chlorid-Titration bestimmt (IDF, 2006). Kalzium und Kupfer wurden mittels Flammen-Atomabsorptions-Spektrometrie bestimmt (ISO, 2007b). Die Quantifizierung der flüchtigen Carbonsäuren (C1 – C6) erfolgte nach Veresterung der Carbonsäuren mit Ethanol mittels GC-FID und Headspace-Technology, wie von Fröhlich-Wyder et al. (2013) beschrieben. Als Mass für den Gehalt der Käse an freien Aminosäuren wurde der OPA-Wert bestimmt nach der Methode von Egger et al. (2021). Die Bestimmung der freien Aminosäuren mittels HPLC und Fluoreszenz-Detektion erfolgte nach der von Wenzel et al. (2018) beschriebenen Methode. Die Bestimmung des Fettsäuremusters erfolgte durch die Bestimmung der Methylester mittels GC-FID gemäss ISO-Methode (ISO, 2002a und ISO, 2002b). Die Bestimmung der biogenen Amine erfolgte mit einem UPLC System (UltiMate 3000 RS; Thermo Fisher Scientific, Reinach, Schweiz) wie von Ascione et al. (2017) beschrieben. Die Gehalte an D- und L-Milchsäure und Citronensäure wurden enzymatisch gemäss Anleitung des Kit-Herstellers (Boehringer, Mannheim, Deutschland) bestimmt unter Verwendung eines automatisierten Spektrophotometers (Gallery, Thermo, Schweiz).

### 3.2 Zusammensetzung der Käse

Die Angaben zur Zusammensetzung der 21 untersuchten Käse sind in **Tabelle 2** enthalten. Die häufigsten Abweichungen vom Pflichtenheft wurden beim Wff festgestellt (Norm 600 – 640 g/kg). Sieben der untersuchten Käse wiesen einen Wff zwischen 574 und 597 g/kg auf, ein Käse lag mit 646 g/kg über dem spezifizierten Wert. Beim Fettgehalt in der Trockenmasse (FiT) lagen vier der untersuchten Käse mit Werten von 552 – 564 über der Norm des Pflichtenheftes (500 – 549 g/kg). Der im Pflichtenheft vorgegebene Salzgehalt von 1.2 – 2.2 % wurde in einem Käse (2.43 %) überschritten. Acht Käse, welche die Vorgaben des Pflichtenheftes vollumfänglich erfüllten, wiesen folgende durchschnittlichen Gehalte auf: Wasser  $432 \pm 16$  g/kg, Gesamtprotein  $232.3 \pm 7.4$  g/kg, Fett  $302 \pm 13$  g/kg, FiT  $531 \pm 14$  g/kg, Wff von  $619 \pm 14$  g/kg, Salzgehalt  $19.6 \pm 1.2$  g/kg.

Der durchschnittliche Salzgehalt lag mit 19.7 g/kg im oberen Bereich des im Pflichtenheft spezifizierten Bereichs von 1.2 – 2.2 %. Dies erstaunt nicht, da Salz verschiedene Funktionen im Käse ausübt. Salz ist sehr wichtig für die Geschmacksgebung von Käse. Es trägt nicht nur zum salzigen Geschmack bei, sondern ist auch für den harmonischen Gesamteindruck des Käses von grosser Bedeutung. Käse mit tiefem Salzgehalt werden oft als «unrein» wahrgenommen, da Geschmacksattribute wie bitter oder metallisch bei tiefen Salzgehalten besser wahrgenommen werden. Der Salzgehalt in der wässrigen Phase beeinflusst in erheblichem Ausmass das Wachstum der Reifungsflora. Beim vorgefundenen Mittelwert von 4.7 % wird beispielsweise das Wachstum von salzsensitiven Propionsäurebakterien erheblich gehemmt.

Salz hat auch die Funktion eines Ionenaustauschers. Der Austausch von Kalziumionen im Kaseingerüst durch Natriumionen wirkt sich positiv auf die Schmelzeigenschaften aus. Tiefe Kalziumgehalte werden mit guten Schmelzeigenschaften assoziiert. Der Kalziumgehalt im konsumreifen Käse hängt von verschiedenen Faktoren ab (z.B. Bruchwaschen, Säuerungsverlauf, Synärese während dem Pressvorgang, Abbau der Milchsäure durch die Schmiereflora), weshalb eine direkte Beeinflussung dieses Parameters schwierig ist. Bei der Herstellung von Walliser Raclette muss die Milch gemäss Pflichtenheft in einem Kupferkessi verarbeitet werden. Die 21 untersuchten Käse zeigten beim Kupfergehalt sehr grosse Unterschiede (Minimum 1.3 mg/kg, Maximum 13 mg/kg).

Zum Vergleich werden nachfolgend die Kupfergehalte von einigen anderen Käsesorten aufgeführt, die ebenfalls im Kupferkessi hergestellt werden. In L'Etivaz wurde ein mittlerer Kupfergehalt von  $9.8 \pm 3.3$  mg/kg bestimmt, in Berner Alpkäse wurden Werte zwischen 11.9 und 19.0 mg/kg gefunden (Mittelwert 15.3 mg/kg), in Appenzeller  $13.3 \pm 4.4$  mg/kg und in einem Praxisversuch mit 6 Emmentaler Käseereien wurden je nach Charge grosse Unterschiede beobachtet (durchschnittlich 6.9 mg/kg in Charge 1 und 2.6 mg/kg in Charge 2). Der Kupfergehalt in Käse wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst wie z.B. die Grösse des Kupferkessis (Verhältnis Oberfläche/Volumen), die Verweildauer der Milch im Kupferkessi, die Reinigung des Kupferkessis, etc. Die Kupferkonzentration in Käse beeinflusst auch das Wachstum der Reifungsflora im Käse. Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass die Fabrikation von Käse im Kupferkessi einen positiven Effekt auf die Käsequalität ausübt, da Kupfer einen hemmenden Effekt auf das Wachstum von unerwünschten Bakterien wie Propionsäurebakterien oder *Clostridium tyrobutyricum* ausübt.

**Tabelle 2:** Zusammensetzung von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB (n = 21)

| Merkmal        | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min.  | Max.  |
|----------------|---------|--------|------------|----------------|-------|-------|
| Wasser         | g/kg    | 414    | 415        | 21             | 377   | 457   |
| Fett           | g/kg    | 317    | 315        | 16             | 276   | 344   |
| Gesamtprotein  | g/kg    | 234.9  | 233.3      | 8.3            | 213.9 | 246.0 |
| Wff            | g/kg    | 608    | 606        | 19             | 574   | 646   |
| FiT            | g/kg    | 539    | 540        | 14             | 508   | 564   |
| Salz (NaCl)    | g/kg    | 19.6   | 19.7       | 1.8            | 16.4  | 24.3  |
| NaCl im Wasser | %       | 4.7    | 4.7        | 0.4            | 4.0   | 5.8   |
| Kalzium        | g/kg    | 4.9    | 4.9        | 0.4            | 4.2   | 6.0   |
| Kupfer         | mg/kg   | 6.3    | 6.8        | 3.1            | 1.3   | 13.0  |

Abkürzungen: Wff = Wasser in fettfreier Käsemasse; FiT = Fett in Trockenmasse, s<sub>x</sub> = Standardabweichung

### 3.2.1 Vergleich der Zusammensetzung von Walliser Raclette und Raclette Suisse

**Tabelle 3** enthält eine Zusammenstellung von Analysenergebnissen von 33 Raclette Suisse Käsen, die im Rahmen einer Qualitätsstudie im Frühjahr 2018 untersucht wurden. Der Vergleich von Walliser Raclette mit Raclette Suisse zeigt, dass der Wassergehalt in den beiden Käsesorten sehr ähnlich ist. Bezüglich der Zusammensetzung der Trockenmasse unterscheiden sich die beiden Käsesorten jedoch erheblich. Der durchschnittliche Fettgehalt von Walliser Raclette ist mit  $315 \pm 16$  g/kg deutlich höher als derjenige von Raclette Suisse ( $288 \pm 17$  g/kg). Entsprechend verfügt Walliser Raclette über einen deutlich höheren FiT als Raclette Suisse ( $540 \pm 14$  g/kg versus  $488 \pm 19$  g/kg). Als Folge des tieferen Proteingehaltes weist Walliser Raclette einen höheren Wff als Raclette Suisse auf ( $606 \pm 19$  g/kg versus  $574 \pm 25$  g/kg). Der tiefere Proteingehalt in Walliser Raclette ist auch der Hauptgrund für den tieferen Kalziumgehalt ( $4.9 \pm 0.4$  g/kg versus  $5.7 \pm 0.6$  g/kg). Der Salzgehalt von Walliser Raclette liegt mit  $19.7 \pm 1.8$  g/kg unter jenem von Raclette Suisse (21.9 g/kg). Dieser Unterschied lässt sich damit erklären, dass für Walliser Raclette ein maximaler Salzgehalt von 22 g/kg im Pflichtenheft definiert ist.

**Tabelle 3:** Richtwerte für die Zusammensetzung von Raclette Suisse (n = 33)

| Merkmal        | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min. | Max. |
|----------------|---------|--------|------------|----------------|------|------|
| Wasser         | g/kg    | 411    | 409        | 24             | 361  | 461  |
| Fett           | g/kg    | 286    | 288        | 17             | 258  | 335  |
| Wff            | g/kg    | 576    | 574        | 25             | 532  | 648  |
| FiT            | g/kg    | 483    | 488        | 19             | 467  | 554  |
| NaCl           | g/kg    | 22.4   | 21.9       | 3.6            | 14.7 | 30.4 |
| NaCl im Wasser | %       | 5.5    | 5.4        | 1.0            | 3.6  | 8.4  |
| Kalzium        | g/kg    | 5.7    | 5.7        | 0.6            | 3.7  | 6.4  |

### 3.3 Gärungsparameter

Nach Abschluss der Milchsäuregärung liegt der Gesamtmilchsäuregehalt in Halbhartkäse je nach Wassergehalt und Zugabe von Bruchwaschwasser im Bereich von 130 – 150 mmol/kg. Der Gehalt an Milchsäure nimmt im Verlauf der Reifung kontinuierlich ab, da die im Käse vorhandene Milchsäure durch die Schmiereflora abgebaut wird. In Käsen mit Fehlgärungen wird die Milchsäure zusätzlich durch die Kontaminationsflora abgebaut (Propionsäuregärung, Buttersäuregärung). Die 21 untersuchten Walliser Raclette wiesen im Alter von 120 Tagen durchschnittlich einen Milchsäuregehalt von 80 mmol/kg auf (**Tabelle 4**). Als Vergleich dienen die Werte von Appenzeller, der je nach Reifegrad von 3, 4, und 6 Monate einen Milchsäuregehalt von  $85.9 \pm 12.0$  mmol/kg,  $74.6 \pm 8.6$  mmol/kg und  $61.6 \pm 9.5$  mmol/kg aufweist (Fröhlich, 2003). Der leicht tiefere Gehalt an Milchsäure im 120 Tage alten Appenzeller kann mit dem tieferen Wassergehalt ( $373.2 \pm 11.9$  g/kg) dieser Sorte erklärt werden.

Citrat kommt natürlicherweise in Milch in einer Konzentration von ca. 2 g/kg (10.4 mmol/kg) vor. Der Citratgehalt im 24h alten Käse liegt typischerweise im Bereich von 6-8 mmol/kg. Stämme verschiedener Spezies wie z.B. *Lactobacillus (para)casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis* und *Leuconostoc mesenteroides* können Citrat als Kohlenhydratquelle nutzen bzw. vergären. Der Citratmetabolismus trägt einerseits zur Aromabildung im Käse bei (Bildung von Diacetyl, Essigsäure), er führt aber auch zur Freisetzung von CO<sub>2</sub>. Durch den Einsatz von Citrat abbauenden Kulturen kann die Loch- und Aromabildung in Käsen wie Walliser Raclette gezielt beeinflusst werden. In den 21 untersuchten Käse schwankte der Citratgehalt zwischen 0.0 und 6.1 mmol/kg (Mittelwert 2.2 mmol/kg). Diese grosse Spannbreite deutet darauf hin, dass in einem Teil der Käse Kulturen verwendet wurden, die nicht in der Lage sind, Citrat zu verstoffwechseln.

**Tabelle 4:** Gärungsparameter von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB

| Merkmal                 | Einheit | Median | Mittelwert | S <sub>x</sub> | Min. | Max. |
|-------------------------|---------|--------|------------|----------------|------|------|
| Gesamtmilchsäure        | mmol/kg | 79     | 80         | 14             | 56   | 106  |
| L-Milchsäure            | mmol/kg | 48     | 49         | 10             | 30   | 68   |
| D-Milchsäure            | mmol/kg | 29     | 31         | 11             | 12   | 53   |
| Anteil L-Lactat von GMS | %       | 60.4   | 61.4       | 10.0           | 50.5 | 80.1 |
| Citronensäure           | mmol/kg | 1.9    | 2.2        | 1.9            | 0.0  | 6.1  |

### 3.4 Reifungsparameter

Die Entwicklung von Geschmack und Aroma sowie der Teigeigenschaften wird massgebend durch den Abbau des Kaseins beeinflusst. Durch die Wirkung der Proteasen aus der Milch, dem Lab, der Starterkulturen, den Oberflächenkulturen und der Nicht-Starter-Milchsäurebakterien (NSLAB) wird das Kasein in einem ersten Schritt in Polypeptide und Oligopeptide abgebaut. Durch die Proteolyse in die Breite werden Teile des Kaseins wasserlöslich. Bei der nachfolgenden Proteolyse in die Tiefe werden die Abbauprodukte der primären Proteolyse durch die Aktivität verschiedener Peptidasen zu Tri-, Dipeptiden und freien Aminosäuren abgebaut. Freie Aminosäuren haben mit ihren geschmacksbildenden und geschmacksverstärkenden Eigenschaften einen wichtigen Einfluss auf die sensorische Wahrnehmung von Käse.

#### 3.4.1 Stickstofffraktionen

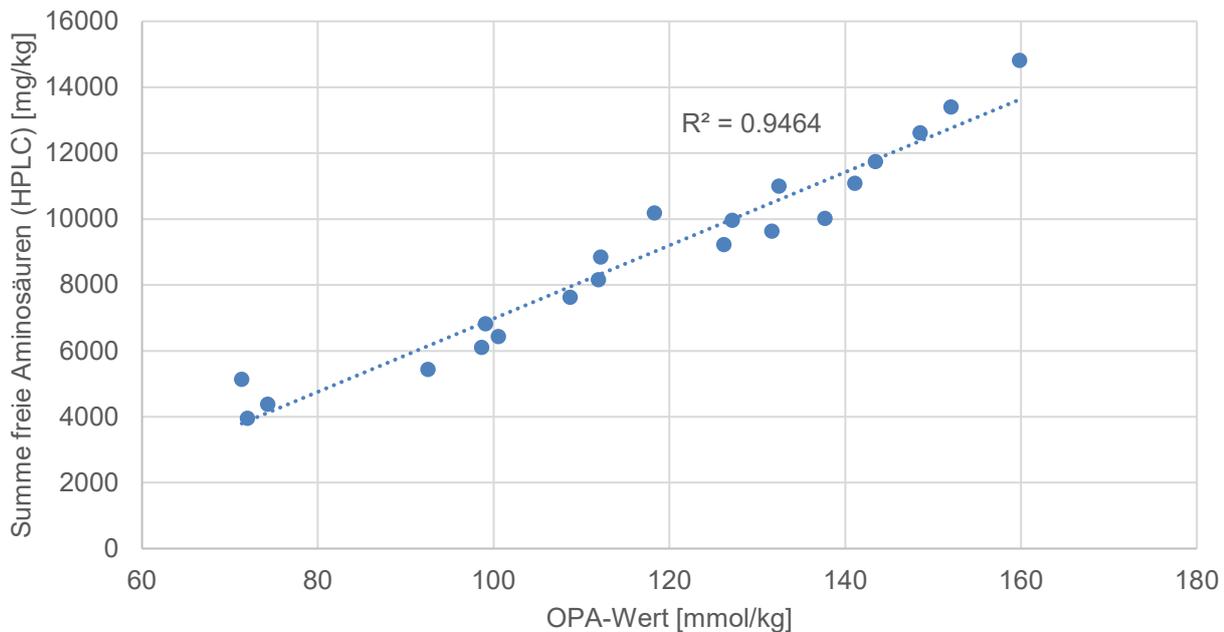
Der enzymatische Abbau des Kaseins im Verlauf der Käsereifung zeigt sich in der Zunahme des Anteils an wasserlöslichem Stickstoff (LN 4.6) und des Nicht-Protein-Stickstoffs. In den untersuchten 21 Walliser Raclette betrug der Anteil des Nicht-Protein-Stickstoffs am Gesamtstickstoff nach einer Reifungsdauer von 120 Tagen durchschnittlich 13.4 %, der durchschnittliche Anteil des bei pH 4.6 löslichen Stickstoffs betrug 18.6 % (**Tabelle 5**). Zwischen den Käsen der 21 verschiedenen Käsereien wurden trotz gleichem Alter grosse Unterschiede im Reifegrad festgestellt, was vermutlich auf betriebsspezifische Unterschiede bei den Reifungsbedingungen zurückgeführt werden kann. In früheren Untersuchungen zum Reifungsverlauf Walliser Raclette, Appenzeller und Tilsiter wurde für 130 Tage gereifte Käse ein NPN-Anteil am Gesamtstickstoff von 16.54%, 20.07% und 20.69% ausgewiesen. Der erhaltene Mittelwert von 13.4% deutet darauf hin, dass der durchschnittliche Reifegrad der in der vorliegenden Studie untersuchten Käse etwas geringer war.

**Tabelle 5:** Reifungsparameter von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB

| Merkmal                                  | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min.  | Max.  |
|--|---------|--------|------------|----------------|-------|-------|
| Total-Stickstoff (TN)                    | g/kg    | 36.82  | 36.57      | 1.30           | 33.53 | 38.56 |
| Nichtprotein-Stickstoff (NPN)            | g/kg    | 4.9    | 4.9        | 0.6            | 3.3   | 5.7   |
| NPN / TN                                 | %       | 13.3   | 13.4       | 1.9            | 8.7   | 16.0  |
| Löslicher Stickstoff bei pH 4.6 (LN 4.6) | g/kg    | 6.9    | 6.8        | 0.6            | 5.1   | 8.2   |
| LN / TN                                  | %       | 18.6   | 18.6       | 2.0            | 13.4  | 23.1  |
| Freie Aminosäuren (OPA)                  | mmol/kg | 118    | 117        | 26             | 71    | 160   |
| Freie Aminosäuren (HPLC)                 | mg/kg   | 9222   | 8882       | 3020           | 3949  | 14808 |
| pH-Wert                                  | [-]     | 5.51   | 5.50       | 0.11           | 5.33  | 5.78  |

### 3.4.2 Freie Aminosäuren

Die Bestimmung des Gehaltes an freien Aminosäuren gibt Auskunft über das Ausmass der Proteolyse in die Tiefe. Aus Kostengründen wird zur Bestimmung der Proteolyse in die Tiefe meist nur der OPA-Wert ermittelt. Bei dieser Analyse werden die freien Aminogruppen von Peptiden und Aminosäuren quantitativ erfasst. Im Gegensatz dazu erfolgt die quantitative Bestimmung der einzelnen freien Aminosäuren mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Wie aus **Abbildung 2** ersichtlich ist, korreliert der OPA-Wert sehr gut mit dem Gehalt an freien Aminosäuren.



**Abbildung 2:** Korrelation zwischen OPA-Wert und der Summe der freien Aminosäuren (HPLC) in Walliser Raclette.

In gereiften Hartkäsen wie Gruyère, Sbrinz oder L’Etivaz liegt der Gehalt an freien Aminosäuren typischerweise im Bereich von etwa 40 g/kg. Im Gegensatz dazu weisen Halbhartkäse deutlich tiefere Gehalte an freien Aminosäuren auf. Aus Studien zum Reifungsverlauf von Walliser Raclette, Appenzeller und Tilsiter ist bekannt, dass der Gehalt an freien Aminosäuren zwischen 60 und 130 Tagen stark ansteigt. Im Alter von 60 Tagen wiesen diese Sorten Gehalte an freien Aminosäuren zwischen 10.03 und 13.35 g/kg auf, im Alter von 130 Tagen lagen die Werte im Bereich von 21.87 – 26.83 g/kg (Lavanchy und Sieber, 1993). Der Gehalt an freien Aminosäuren in Käse wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Die Art der im Käse vorhandenen Proteasen und Peptidasen hängt von der Zusammensetzung der Käseflora (Starter, NSLAB, Kontaminationsflora) ab, die Aktivität der Enzyme wird massgeblich durch die Milieubedingungen (pH-Verlauf, Temperatur, Wassergehalt) beeinflusst. Die Gehalte an freien Aminosäuren in Käsen verschiedener Hersteller schwanken daher beträchtlich. Die 21 untersuchten Walliser Raclette wiesen im Alter von 120 Tagen durchschnittlich einen Gehalt an freien Aminosäure von 8.88 g/kg auf (Minimum 3.95 g/kg, Maximum 14.81 g/kg). Der vorgefundene Gehalt in Walliser Raclette ist nur etwa halb so hoch wie die von Lavanchy und Sieber für 130 Tage gereifte Halbhartkäse ausgewiesenen Werte. Mit der in dieser Studie

angewendeten HPLC-Methode wurden die beiden Aminosäure Prolin und Cystein nicht erfasst. Das Fehlen dieser beiden Aminosäuren und die um 10 Tage kürzere Reifungsdauer erklären den grossen Unterschied im Vergleich zu vorangehenden Studien nur teilweise. Veränderungen bei den Reifungsbedingungen (kontrolliertes Kellerklima, tiefere Reifungstemperaturen), die bessere Rohmilchqualität (siehe auch Abschnitt biogene Amine), sowie Anpassungen bei der Auswahl der Starterkulturen (Einsatz von mesophilen Kulturen, Weglassen der MK 401) sind wichtige Faktoren, welche die geringere bzw. langsamere Proteolyse in die Tiefe der heutigen Fabrikation von Walliser Raclette erklären.

Der Gehalt der einzelnen freien Aminosäuren in Käse hängt von der Aktivität und Spezifität der beteiligten Enzyme ab. Zudem werden gewisse freie Aminosäuren wie z.B. Asparagin und Arginin bevorzugt durch einzelne Spezies der Reifungsflora verstoffwechselt (Aspartatstoffwechsel von Propionsäurebakterien, Arginin-Deiminase Stoffwechsel), während die meisten anderen Aminosäuren akkumuliert werden. Die Zusammensetzung der freien Aminosäure in Käse entspricht daher nur in groben Zügen der Aminosäurezusammensetzung des Kaseins. In den untersuchten Käsen waren Glutaminsäure (Mittelwert 1807 mg/kg), Leucin (1500 mg/kg), Phenylalanin (1006 mg/kg) und Lysin (691 mg/kg) die dominierenden freien Aminosäuren (**Tabelle 6**).

Das Spektrum der gemessenen freien Aminosäuren enthält mit  $\alpha$ -Aminobuttersäure (AABA),  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA), Citrullin und Ornithin vier nicht proteinogene Aminosäuren. Alpha-Aminobuttersäure wird durch Transaminierung von Oxobutyrat, einem Metaboliten der Isoleucin-Biosynthese, gebildet. GABA wird durch Decarboxylierung aus Glutaminsäure gebildet, während Citrullin und Ornithin aus dem Arginin-Deiminase (ADI) Stoffwechsel hervorgehen. Bei der Bildung von GABA und Ornithin wird CO<sub>2</sub> freigesetzt weshalb deren Konzentration für die Lochbildung und Lagerstabilität von Bedeutung ist.

**Tabelle 6:** Gehalte an freien Aminosäuren (ohne Prolin und Cystin) 120 Tage alten Walliser Raclette GUB (Angaben in mg/kg)

| Aminosäure              | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min. | Max.  |
|-------------------------|--------|------------|----------------|------|-------|
| Alanin                  | 190    | 169        | 57             | 86   | 273   |
| alpha-Aminobuttersäure  | 12     | 12         | 5              | 4    | 22    |
| Arginin                 | 42     | 48         | 19             | 28   | 107   |
| Asparagin               | 609    | 551        | 193            | 239  | 826   |
| Asparaginsäure          | 206    | 213        | 84             | 64   | 409   |
| Citrullin               | 201    | 222        | 140            | 52   | 602   |
| gamma-Aminobuttersäure  | 100    | 182        | 224            | 21   | 854   |
| Glutamin                | 244    | 251        | 129            | 71   | 486   |
| Glutaminsäure           | 1829   | 1807       | 812            | 346  | 3496  |
| Glycin                  | 143    | 155        | 66             | 41   | 279   |
| Histidin                | 141    | 167        | 93             | 40   | 396   |
| Isoleucin               | 291    | 305        | 148            | 71   | 674   |
| Leucin                  | 1561   | 1500       | 453            | 621  | 2218  |
| Lysin                   | 701    | 691        | 274            | 294  | 1300  |
| Methionin               | 220    | 218        | 86             | 89   | 395   |
| Ornithin                | 388    | 371        | 121            | 199  | 589   |
| Phenylalanin            | 1029   | 1006       | 234            | 627  | 1378  |
| Phosphoserin            | 9      | 9          | 4              | 2    | 16    |
| Serin                   | 30     | 59         | 58             | 13   | 211   |
| Threonin                | 159    | 165        | 85             | 23   | 348   |
| Tryptophan              | 48     | 49         | 15             | 26   | 85    |
| Tyrosin                 | 196    | 200        | 120            | 36   | 413   |
| Valin                   | 573    | 531        | 200            | 179  | 923   |
| Summe freie Aminosäuren | 9222   | 8882       | 3020           | 3949 | 14808 |

### 3.4.3 pH-Wert

Gemäss Pflichtenheft muss Walliser Raclette am Ende des Pressvorgangs einen pH-Wert im Bereich von 4.8-5.2 aufweisen. Im Verlauf der Reifung steigt der pH-Wert in Käse kontinuierlich an. Dies ist einerseits darauf zurückzuführen, dass die Schmiereflora kontinuierlich Milchsäure abbaut und der Käse dadurch entsäuert wird. Beim Abbau von freien Aminosäuren entstehen alkalische Abbauprodukte wie biogene Amine und Ammoniak, die ebenfalls zum Anstieg des pH-Wertes im Verlauf der Reifung beitragen. Der durchschnittliche pH-Wert in den untersuchten 21 Walliser Raclette lag nach 120 Tagen bei  $5.50 \pm 0.11$  (Minimum 5.33, Maximum 5.78). Im Vergleich dazu liegt der pH-Wert in 4 Monate gereiftem Appenzeller bei  $5.91 \pm 0.09$ .

## 3.5 Biogene Amine

Der Begriff biogene Amine (BGA) umfasst eine Gruppe von ca. 20-30 Verbindungen biologischen Ursprungs, die in Geweben von Mensch, Tieren und Pflanzen gebildet werden, aber auch in diversen eiweisshaltigen Lebensmitteln enthalten sein können. Einige dieser Amine sind an biologischen Funktionen beteiligt und lösen teils physiologische Reaktionen aus. In Käse entstehen biogene Amine durch den mikrobiellen Abbau von Aminosäuren, den Bausteinen des Kaseins. Die mit der Nahrung aufgenommenen biogenen Amine verursachen im Normalfall keine Probleme, da sie bereits in der Dünndarmschleimhaut durch entsprechende Enzyme (Monoaminoxidase, Diaminoxidase) abgebaut werden. Negative Auswirkungen sind daher nur in speziellen Situationen zu erwarten: Sehr hohe Zufuhr über Nahrungsmittel, individuelle Überempfindlichkeit sowie Einnahme von Medikamenten, die den Abbau von Aminen verlangsamen. In Rohmilchkäse sind in der Regel Histamin, Tyramin, Cadaverin und Putrescin nachweisbar, andere biogenen Amine wie  $\beta$ -Phenylethylamin oder Spermidin sind meist nur in Spuren enthalten. Von diesen biogenen Aminen sind bezüglich Lebensmittelsicherheit vor allem Histamin und Tyramin relevant. Die Aufnahme von mehr als 50 mg Histamin pro Mahlzeit kann bei gesunden Individuen zu gesundheitlichen Beschwerden (Durchfall, Blähungen, Hautausschläge etc.) führen, bei histaminsensitiven Konsumenten können bereits bei tieferen Aufnahmen Probleme auftreten. Tyramin verursacht bei gesunden Personen erst ab einer Dosis von 600 mg pro Mahlzeit negative gesundheitliche Effekte. Bei einer gleichzeitigen Einnahme von Monoaminoxidase-hemmenden Medikamenten können Bluthochdruckkrisen auch bei einer geringeren Zufuhr von Tyramin auftreten. Über die toxikologische Bedeutung der anderen biogenen Amine ist wenig bekannt. Qualitativ gute Rohmilchkäse sind selbst nach längerer Ausreifung nahezu frei von biogenen Aminen (Summe BGA < 100 mg/kg). In fehlerhaften Käsen kann Histamin oder Tyramin in einer Konzentration von bis zu 1000 – 1500 mg/kg enthalten sein, die Summe an biogenen Aminen beträgt in seltenen Ausnahmefällen bis zu 2000 – 3000 mg/kg. Bei der Bildung von biogenen Aminen wird stets auch CO<sub>2</sub> freigesetzt. Käse mit stark erhöhten Gehalten an biogenen Aminen weisen daher oft Pick und Gläs auf.

Histamin reizt die Mundschleimhäute und löst auf der Zunge und im Gaumen bei Konzentrationen über 200 mg/kg einen brennenden, beissenden Reiz aus. Käse mit höheren Gehalten an Histamin werden daher von den meisten Konsumenten als unangenehm wahrgenommen und gemieden. Beim Konsum von Raclette oder Fondue werden typischerweise Käseportionen von ca. 100 – 150g Käse konsumiert. In Raclette oder Fonduekäse sollte der Histamingehalt aufgrund der grösseren Verzehrsmenge unter 500 mg/kg liegen. Die Bildung von Histamin in Käse ist hauptsächlich auf Kontaminationen der Rohmilch mit *Lactobacillus parabuchneri* zurückzuführen. Die Spezies zeichnet sich durch eine gute Hitzetoleranz aus und kann sich, ähnlich wie *Propionibacterium freudenreichii* oder Enterokokken in Melkanlagen einnisten und so zu chronischen Kontaminationen in der Rohmilch führen. Dies kann dazu führen, dass die gesamte Produktion einer Käserei über einen längeren Zeitraum einen erhöhten Histamingehalt aufweist. Über die praktische Bedeutung von anderen Histamin bildenden Milchsäurebakterien (z.B. *Lactobacillus coryniformis*) ist wenig bekannt. Die Bildung von Tyramin und  $\beta$ -Phenylethylamin in Käse ist meist mit Kontaminationen von Enterokokken (z.B. *E. faecium* und *E. faecalis*) assoziiert. Die Präsenz von Cadaverin und Putrescin deutet auf Kontaminationen in verarbeiteten Milch mit Enterobacteriaceen.

In den 21 untersuchten Walliser Raclette wurden mit durchschnittlich 213 mg/kg nur moderate Gehalte an BGA gefunden (**Tabelle 7**). Erfreulicherweise enthielt keiner der untersuchten Käse Histamin in bedeutenden Mengen. Tyramin war mit durchschnittlich 133 mg/kg mengenmässig das wichtigste biogene Amin. Der Käse mit dem höchsten Gehalt an biogenen Aminen (426 mg/kg) enthielt hauptsächlich Tyramin (351 mg/kg). Die durchschnittlichen Gehalte an Cadaverin und Putrescin lagen, wie für Rohmilchkäse typisch, unter den Werten von Tyramin und Histamin. Die vorliegende Studie zeigt, dass aus einwandfreier Milch hergestellte Rohmilchkäse tiefe Gehalte an biogenen Aminen aufweisen. Die konsumreifen Raclette waren mit 4 Monaten noch relativ jung. Käse, die bei Erreichen der Konsumreife tiefe Gehalte an biogenen Aminen aufweisen, können länger ausgereift werden, ohne dass im weiteren Verlauf der Reifung eine starke Bildung von biogenen Aminen befürchtet werden muss. Im Vergleich zu einer früheren Studie (Schär et al. 1992), wiesen die im Rahmen dieser Studie untersuchten Käse deutlich tiefere Gehalte an biogenen Aminen auf. Im Jahr 1992 lag der Medianwert von biogenen Aminen in Walliser Raclette (6 Laibe) bei 478 mg/kg (unteres Quartil 191 mg/kg, oberes Quartil 942 mg/kg). Dieser Vergleich macht deutlich, dass die mikrobiologische Qualität der verarbeiteten Milch im Verlauf der Zeit deutlich besser geworden ist.

**Tabelle 7:** Gehalte an biogenen Aminen in 120 Tage alten Walliser Raclette GUB (Angaben in mg/kg)

| Biogenes Amin       | Median | Mittelwert | S <sub>x</sub> | Min. | Max. |
|---------------------|--------|------------|----------------|------|------|
| Cadaverin           | 10     | 20         | 20             | 3    | 79   |
| Histamin            | 10     | 27         | 36             | 0    | 141  |
| Putrescin           | 7      | 13         | 14             | 0    | 43   |
| Spermidin           | 7      | 8          | 4              | 3    | 16   |
| β-Phenylethylamin   | 8      | 10         | 7              | 3    | 24   |
| Tyramin             | 127    | 133        | 80             | 36   | 351  |
| Summe biogene Amine | 227    | 213        | 98             | 79   | 426  |

### 3.6 Flüchtige Carbonsäuren

Die flüchtigen Carbonsäuren in Käse gehen aus verschiedenen Stoffwechseln hervor, wie dem Abbau von Milchzucker, Milchsäure, Citrat und Aminosäuren sowie aus der Lipolyse des Milchfettes. Die Summe flüchtiger Carbonsäuren nimmt im Verlauf der Reifung kontinuierlich zu.

Die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren mittels Gaschromatographie erlaubt eine zuverlässige Erkennung verschiedener Käsefehler, wie z.B. den unerwünschten Abbau von Milchsäure zu Buttersäure durch *Clostridium tyrobutyricum* (Buttersäuregärung) oder den Abbau von Milchsäure zu Propionsäure durch Propionsäurebakterien (Propionsäuregärung). Die Freisetzung von Capronsäure ist ein zuverlässiger Indikator für die Spaltung des Milchfettes (Lipolyse) durch bakterielle Lipasen oder die milcheigene Lipase, die zu einem ranzigen Aroma führt. Die Präsenz von iso-Carbonsäuren weist auf eine fehlerhafte Entwicklung der Schmiereflora hin, die einen übermässigen Abbau von freien Aminosäuren in der Rinde zur Folge hat. Die Bildung von iso-Buttersäure und iso-Capronsäure aus Valin sowie die Bildung von iso-Valeriansäure aus Leucin sind typische Indikatoren für die Bildung von flüchtigen Carbonsäuren durch die Schmiereflora. Praxiserfahrungen zeigen, dass eine fehlerhafte Entwicklung der Schmiereflora auch zur Bildung von Buttersäure oder Propionsäure führen kann (atypische Buttersäuregärung bzw. Propionsäuregärung). Flüchtige Carbonsäuren, die in der Rinde von Käsen freigesetzt werden, migrieren in Abhängigkeit ihrer Löslichkeit in den Käseteig. Eine solche Migration ist anhand von zonalen Gradienten (Rinde, unter Rinde, Zentrum) gut erkennbar.

Die in den 21 Walliser Raclette ermittelten Gehalte an flüchtigen Carbonsäuren sind in **Tabelle 8** zusammengestellt. Die Essigsäure war mit durchschnittlich  $16.17 \pm 5.36$  mmol/kg die bedeutendste Carbonsäure in Walliser Raclette. In den einzelnen Käsen schwankte der Gehalt an Essigsäure zwischen 6.56 und 26.11 mmol/kg. Hauptursache für diese grosse Streuung ist die Verwendung verschiedener Säuerungskulturen, die sich bezüglich der Fähigkeit des Abbaus von Citrat unterschieden. In 5 Käsen in denen kein Citrat mehr nachgewiesen werden konnte, wurden durchschnittlich 19.71 mol Essigsäure pro kg gemessen. 5 Käse mit Citratgehalten zwischen 4.1 und 6.1 enthielten im Durchschnitt lediglich 10.12 mmol Essigsäure pro kg, was den grossen Einfluss des Citratmetabolismus auf die Bildung von flüchtigen Carbonsäuren in Walliser Raclette verdeutlicht. Neben Essigsäure werden durch den

Citratmetabolismus auch Ameisensäure, CO<sub>2</sub> und weitere Abbauprodukte (Diacetyl, 2,3-Butandiol, Ethanol) gebildet. Die Interpretation von erhöhten Gehalten an Essigsäure ist oft schwierig, da neben dem Citratmetabolismus verschiedene andere Stoffwechsel zur Bildung von Essigsäure führen:

- Die heterofermentative Milchsäuregärung (z.B. durch *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. parabuchneri*, *L. plantarum*, *L. fermentum* und *Leuconostoc* spp.) führt neben der Bildung von Laktat zur Bildung von Essigsäure, Ameisensäure, Ethanol und CO<sub>2</sub>.
- Die Gemischtsäuregärung durch *E. coli* und andere coliforme Keime führt zur Bildung von Essigsäure, Ameisensäure und Ethanol sowie zur Freisetzung von CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>
- *Lactobacillus parabuchneri* und *Lactobacillus buchneri* sind in der Lage, Laktat unter anaeroben Bedingungen zu Essigsäure, 1,3-Propandiol und CO<sub>2</sub> abzubauen.
- Das Wachstum von Pediokokken (*P. pentosaceus*, *P. acidilactici*) in Käse führt zu erhöhten Gehalten an Essigsäure, was durch den aeroben Abbau von Laktat erklärt werden kann. Die dabei gebildete Essigsäure migriert von der Rinde in den Käse.
- Die Bildung von Essigsäure kann auch aus dem Abbau der Aminosäuren Alanin, Glycin und Serin hervorgehen.

Ein erhöhter Gehalt an Essigsäure ist oft ein Indikator für das Wachstum einer unerwünschten Begleitflora, die zur Gasbildung beiträgt und dadurch Fehler in der Lochung verursachen kann (unsaubere Lochung, Frühblähung, Pick und/oder Gläs). Darüber hinaus sind in solchen Käsen auch Fehler im Geschmack und Aroma möglich (unreiner Geschmack, atypisches Aroma).

Neben Essigsäure wurde in tieferen Konzentrationen noch Ameisensäure nachgewiesen (3.38 ± 1.08 mmol/kg). Die Präsenz dieser Carbonsäure kann in qualitativ einwandfreien Käsen mit dem Citratabbau und der Präsenz von heterofermentativen Milchsäurebakterien erklärt werden. Die restlichen Carbonsäuren (C3-C6) waren durchschnittlich nur in Konzentrationen von deutlich unter < 1 mmol/kg enthalten. In solchen Konzentrationen können sich diese Carbonsäuren positiv Einfluss auf das Käsearoma auswirken.

Einer der untersuchten Käse zeigte leichte Symptome einer Propionsäuregärung (3.18 mmol/kg). Zwei weitere Käse enthielten auffällig hohe Gehalte an iso-Carbonsäuren. In diesen beiden Käsen waren auch die Gehalte an Buttersäure erhöht. Vermutlich führte eine fehlerhafte Entwicklung der Schmierflora bei diesen beiden Käsen zu den erhöhten Gehalten an flüchtigen Carbonsäuren.

**Tabelle 8:** Gehalte an flüchtigen Carbonsäuren in 120 Tage alten Walliser Raclette GUB (Angaben in mmol/kg)

| Flüchtige Carbonsäure              | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min.  | Max.  |
|------------------------------------|--------|------------|----------------|-------|-------|
| Total flüchtige Carbonsäuren       | 20.48  | 21.15      | 6.39           | 10.08 | 32.39 |
| Ameisensäure                       | 3.16   | 3.38       | 1.08           | 1.35  | 5.32  |
| Essigsäure                         | 16.17  | 16.05      | 5.36           | 6.56  | 26.11 |
| Propionsäure                       | 0.06   | 0.30       | 0.72           | 0.00  | 3.18  |
| iso-Buttersäure                    | 0.09   | 0.25       | 0.43           | 0.03  | 1.87  |
| Buttersäure                        | 0.44   | 0.60       | 0.62           | 0.20  | 3.10  |
| Buttersäure aus Gärung (berechnet) | 0.43   | 0.58       | 0.61           | 0.20  | 3.06  |
| iso-Valeriansäure                  | 0.29   | 0.39       | 0.31           | 0.11  | 1.44  |
| iso-Caprinsäure                    | 0.00   | 0.18       | 0.52           | 0.00  | 2.06  |
| Caprinsäure                        | 0.00   | 0.01       | 0.01           | 0.00  | 0.05  |

### 3.7 Fettsäuremuster

Fett ist der variabelste Faktor in der Zusammensetzung der Milch. Die im Milchfett enthaltenen Fettsäuren unterscheiden sich bezüglich der Länge und der Sättigung (gesättigte bzw. ungesättigte Fettsäuren). Das Milchfett der Rinder ist durch hohe molare Anteile an Butter- und Palmitinsäure gekennzeichnet. Die Fettzusammensetzung wird sowohl durch die Fütterung als auch durch die Genetik und Pansenflora des Rindes beeinflusst. Die im Milchfett enthaltenen Fettsäuren werden mehrheitlich durch die Kuh neu gebildet (de-novo-Synthese). Durch die Einwirkung der Mikroorganismen der Pansenflora werden ungesättigte Fettsäuren aus dem Futter weitgehend gehärtet (Biohydrierung), so dass nur ein kleiner Bruchteil der ungesättigten Fettsäuren aus dem Futter in die Milch übergeht.

Der Einfluss der Fütterung auf das Fettsäuremuster des Milchfettes ist daher beschränkt. Dennoch sind saisonale Unterschiede in der Zusammensetzung des Milchfettes feststellbar. Während der Grünfütterung enthält das Milchfett etwas höhere Anteile an ungesättigten Fettsäuren als in der Winterperiode mit Heu und Zuckerrüben als Futtermittel. Dies ist der Grund, weshalb z.B. die Streichbarkeit von Sommerbutter besser ist als jene von Winterbutter. Pflanzliche Farbstoffe (Carotinoide) aus dem Futter sorgen zudem für die deutlich gelbere Farbe in der Sommerbutter. Die saisonalen Unterschiede in der Zusammensetzung des Milchfettes beeinflussen auch die Teigeigenschaften. Käse aus der Winterfabrikation mit höheren Anteilen an gesättigten Fettsäuren weisen einen festeren Teig und eine weislichere Farbe auf als Käse aus Sommermilch. Das Verhältnis von Ölsäure (C18:1) zu Palmitinsäure (C16) dient als Indikator für die Beurteilung der Härte des Milchfettes. Für die Erreichung eines geschmeidigen Teigs in Hartkäsen wie Gruyère oder Emmentaler ist ein Verhältnis von  $\geq 0.8$  empfehlenswert.

**Tabelle 9:** Fettsäuremuster von Walliser Raclette GUB aus der Winterfabrikation (Angaben in g/100g Fett)

| Fettsäure                          | Abkürzung         | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min.  | Max.  |
|------------------------------------|-------------------|--------|------------|----------------|-------|-------|
| Buttersäure                        | C4                | 3.49   | 3.48       | 0.14           | 3.18  | 3.75  |
| Capronsäure                        | C6                | 2.01   | 2.01       | 0.06           | 1.88  | 2.11  |
| Caprylsäure                        | C8                | 1.13   | 1.12       | 0.06           | 0.99  | 1.20  |
| Caprinsäure                        | C10               | 2.33   | 2.32       | 0.18           | 1.92  | 2.56  |
| Caproleinsäure                     | C10:1 c9          | 0.24   | 0.25       | 0.03           | 0.20  | 0.31  |
| Laurinsäure                        | C12               | 2.72   | 2.71       | 0.22           | 2.25  | 3.04  |
| Myristinsäure                      | C14               | 9.64   | 9.78       | 0.59           | 9.07  | 11.06 |
| Myristoleinsäure                   | C14:1 c9          | 0.67   | 0.68       | 0.11           | 0.50  | 0.90  |
| Pentadecansäure                    | C15               | 1.03   | 1.05       | 0.08           | 0.92  | 1.22  |
| Palmitinsäure                      | C16               | 24.83  | 24.91      | 2.55           | 20.87 | 29.32 |
| Palmitoleinsäure                   | C16:1 c9          | 1.05   | 1.04       | 0.17           | 0.74  | 1.27  |
| Heptadecansäure                    | C17               | 0.50   | 0.49       | 0.05           | 0.40  | 0.63  |
| Stearinsäure                       | C18               | 10.51  | 10.62      | 1.25           | 7.97  | 12.71 |
| Ölsäure                            | C18:1 c9          | 17.16  | 17.60      | 2.00           | 13.49 | 22.24 |
| $\alpha$ -Linolsäure               | C18:2 c9c12       | 1.89   | 1.86       | 0.17           | 1.49  | 2.11  |
| Arachinsäure                       | C20               | 0.19   | 0.20       | 0.03           | 0.14  | 0.27  |
| $\gamma$ -Linolensäure             | C18:3 c9c12c15    | 0.78   | 0.79       | 0.09           | 0.66  | 1.00  |
| Eicosapentaensäure                 | C20:5 (EPA) (n-3) | 0.07   | 0.08       | 0.03           | 0.06  | 0.18  |
| Docosapentaensäure                 | C22:5 (DPA) (n-3) | 0.10   | 0.11       | 0.01           | 0.09  | 0.15  |
| Docosahexaensäure                  | C22:6 (DHA) (n-3) | 0.01   | 0.02       | 0.00           | 0.01  | 0.03  |
| Verhältnis Ölsäure / Palmitinsäure | C18:1 c9 / C16    | 0.70   | 0.71       | 0.09           | 0.54  | 0.94  |

Die Verfütterung von Ölsaaten (Leinsamen, Raps) ist bei Teigproblemen eine empfehlenswerte Massnahme zur Verbesserung des Fettsäuremusters während der Dürrfütterung. Da Teigeigenschaften wie Festigkeit und Elastizität massgeblich vom Wassergehalt eines Käses abhängen, ist die Zusammensetzung des Milchfettes bei Halbhartkäsen wie Walliser Raclette von geringerer Bedeutung als in Hartkäsen. In der vorliegenden Studie wurden 21 Käse aus der Winterfabrikation untersucht (Produktionsdatum 29.11.17). Dieser Umstand erklärt, dass das durchschnittliche Verhältnis von Ölsäure zu Palmitinsäure bei  $0.70 \pm 0.09$  lag (**Tabelle 9**).

Die Zusammensetzung des Milchfettes ist auch aus ernährungsphysiologischer Sicht von Interesse. **Tabelle 10** enthält eine Zusammenstellung, in der die Analysenergebnisse nach ernährungsphysiologischen Kriterien gruppiert sind.

**Tabelle 10:** Zusammensetzung des Milchfettes von Walliser Raclette GUB aus der Winterfabrikation nach ernährungsphysiologisch relevanten Fettsäuregruppen (Angaben in g/100g Fett)

| Fettsäure                          | Abkürzung | Median | Mittelwert | S <sub>x</sub> | Min.  | Max.  |
|------------------------------------|-----------|--------|------------|----------------|-------|-------|
| Summe kurzkettige Fettsäuren       | C4 - C10  | 9.24   | 9.18       | 0.31           | 8.39  | 9.70  |
| Summe mittelkettige Fettsäuren     | C12 - C16 | 42.42  | 42.32      | 3.46           | 36.94 | 48.85 |
| Summe langkettige Fettsäuren       | C17 - C22 | 39.09  | 39.66      | 3.82           | 31.25 | 46.93 |
| Summe gesättigte Fettsäuren        |           | 60.22  | 60.86      | 3.63           | 56.00 | 66.42 |
| Summe ungesättigte Fettsäuren      |           | 29.65  | 30.18      | 2.67           | 24.38 | 35.40 |
| Summe mono-ungesättigte Fettsäuren | MUFA      | 25.04  | 25.38      | 2.34           | 20.27 | 30.17 |
| Summe poly-ungesättigte Fettsäuren | PUFA      | 4.94   | 4.80       | 0.39           | 4.11  | 5.32  |
| Summe konjugierte Linolsäuren      | CLA       | 0.92   | 0.96       | 0.13           | 0.81  | 1.29  |
| Summe Omega-3 Fettsäuren           |           | 1.22   | 1.24       | 0.13           | 1.06  | 1.50  |
| Summe Omega-6 Fettsäuren           |           | 2.91   | 2.90       | 0.23           | 2.54  | 3.42  |

Das im Käse in Form von Fettkügelchen enthaltene Milchfett bleibt während der Herstellung und Käsereifung nahezu unverändert erhalten. Über 95% des Milchfettes liegt in Form von Triglyceriden vor, in denen jeweils drei Fettsäuren mit Glycerin verestert sind. Durch die Einwirkung von lipolytischen Enzymen (mikrobielle Lipasen oder milcheigene Lipoproteinlipase), wird ein kleiner Bruchteil des in Form von Triglyceriden vorliegenden Milchfettes zu freien Fettsäuren und Glycerin abgebaut. Die beiden kurzkettigen Fettsäuren Buttersäure (C4) und Capronsäure (C6) werden bereits in sehr tiefen Konzentrationen wahrgenommen. In tiefer Konzentration haben diese flüchtigen Carbonsäuren einen positiven Einfluss auf das Käsearoma, in erhöhten Konzentrationen verursachen sie sehr schnell einen ranzigen Off-Flavour, der zur Deklassierung der Käse führt.

## 4 Physikalische Charakterisierung

### 4.1 Methodische Angaben

Die für die Bestimmung der physikalischen Eigenschaften verwendeten Analysengeräte sind in **Abbildung 3** abgebildet. Der uniaxiale Kompressionstest wurde nach der ISO-Methode durchgeführt (ISO, 2006). Die Analyse erfolgte auf einer Universalprüfmaschine von Zwick (Zwick, Ulm, Deutschland). Die Messung des Erweichungspunktes wurde mit einem Mettler-Toledo Gerät (DP70) durchgeführt (Mettler-Toledo, Greifensee, Schweiz). Die Messung der Schmelzeigenschaften erfolgte nach der Methode von Guggisberg et al. (2007) mit einem MCR300 Rheometer (Anton-Paar, Buchs, Schweiz).



**Abbildung 3:** Analysengeräte zur Erfassung der physikalischen Eigenschaften von Walliser Raclette: Uniaxialer Kompressionstest mit der Universalprüfmaschine von Zwick (links), Messung des Erweichungspunktes mit dem Mettler-Toledo Gerät DP70 (Mitte) und Messung der Schmelzeigenschaften mit dem MCR300 Rheometer (rechts).

#### 4.1.1 Erklärungen zu den verwendeten Methoden

##### Uniaxialer Kompressionstest:

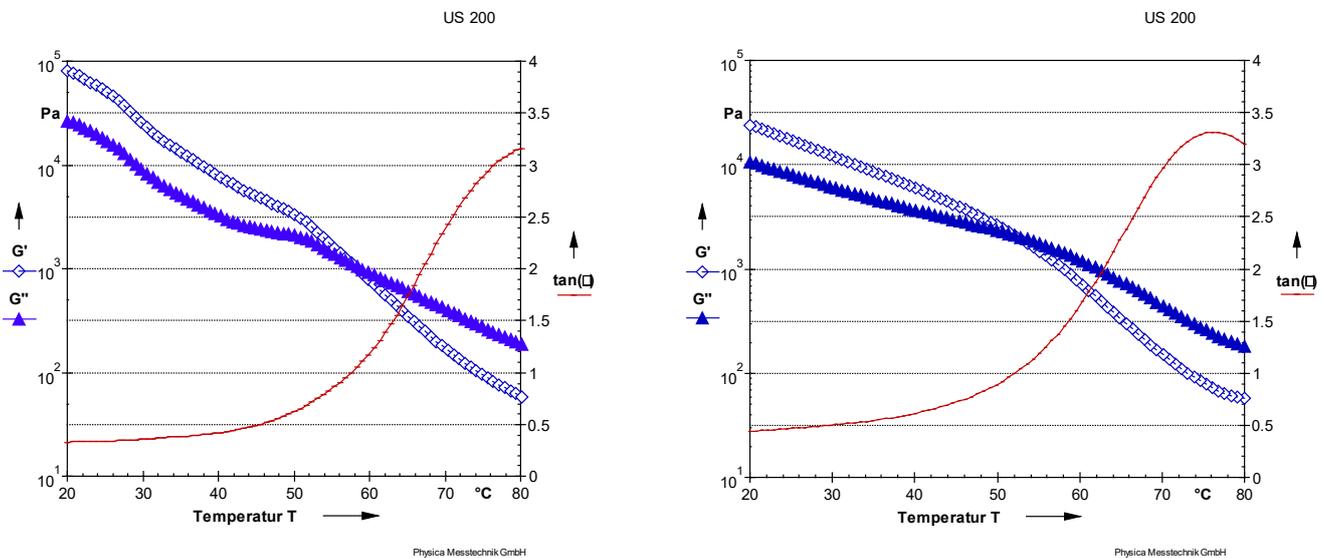
Die Teigfestigkeit (bei 15°C) lässt sich beim Deformieren der Probe messen. Da Raclette Käse kein typisches Bruchverhalten zeigt wie z.B. gereifter Emmentaler oder Greyerzer Käse, wurde die Kraft (F[N]) bei 33% Deformation ausgewählt. Zudem kann dieser Wert sehr gut mit  $G'$  (elastische Eigenschaften) bei 20°C der Methode der rheologischen Schmelzeigenschaften verglichen werden. (Korrelation  $r = 0.914$ ).

##### Erweichungspunkt:

Für das Schmelzen und anschließende Erstarren von Raclette werden möglichst tiefe Temperaturwerte angestrebt. Der Käse soll möglichst lange auf dem Teller «flüssig» bleiben. Die Analyse des Erweichungspunktes erfasst nur Daten während des Aufwärmens der Käseprobe und nicht während des nachfolgenden Erstarrens (Abkühlungsprozess). Im Gegensatz zur rheologischen Methode, bei der sowohl der Schmelz- als auch der Erstarrungsvorgang analysiert werden, ist eine umfassende Beurteilung der Schmelzeigenschaften anhand der Bestimmung des Erweichungspunktes mit dem Mettler-Toledo Gerät DP70 nicht möglich.

**Rheologische Erfassung der Schmelzeigenschaften:**

In **Abbildung 4** sind typische «Rheogramme» für das Aufwärmen von Raclette Käse von 20°C auf 80°C und das anschliessende Abkühlen von 80°C auf 20°C dargestellt.



**Abbildung 4:** Rheologische Erfassung der Schmelzeigenschaften von Raclette: Die beiden Rheogramme zeigen das Erwärmen von Raclette Käse von 20°C auf 80°C (links) und das anschliessende Abkühlen von 80°C auf 20°C (rechts).

Das Rheometer erfasst beim Erwärmen und Abkühlen der Käseprobe die elastischen Eigenschaften ( $G'$ ,  $\diamond$ ) und viskosen Eigenschaften ( $G''$ ,  $\blacktriangle$ ). Zu Beginn des Erwärmungsprozesses (Rheogramm links) weist der Käse bei 20°C eine feste Form auf, was daran ersichtlich ist, dass die elastischen Eigenschaften dominieren ( $G' > G''$ ). Während der kontinuierlichen Erwärmung der Probe von 20° auf 80°C erfolgt dann ein Schmelzen der Probe (Phasenübergang: fest → flüssig). Der Schmelzpunkt der Probe ist erreicht, wenn sich die Linien der elastischen und viskosen Eigenschaften überschneiden ( $G' = G''$ ). Die rote Linie ( $\tan(\delta)$ ) zeigt das Verhältnis von  $G''/G'$  während des Schmelzprozesses. Der Schmelzpunkt liegt gemäss Definition bei  $\tan(\delta) = 1$  (rechte y-Achse). Oberhalb des Schmelzpunktes dominieren die viskosen Eigenschaften über den elastischen Eigenschaften ( $G'' > G'$ ).

Das Rheogramm rechts zeigt den Abkühlprozess von 80°C nach 20°C. Der Erstarrungspunkt ist erreicht, wenn die viskosen und elastischen Eigenschaften wieder gleich gross sind ( $G'' = G'$ , bzw.  $\tan(\delta) = 1$ ). Aus Sicht der Sensorik ist es vorteilhaft, wenn der geschmolzene Käse möglichst lange auf dem Teller «flüssig» bleibt. Werte für den Schmelzpunkt zwischen 55° und 60°C und für den Erstarrungspunkt zwischen 50°C und 55°C gelten als ideale Werte. Ganz selten erstarrt eine Käseprobe sogar unterhalb von 50°C. Ungünstige Schmelzeigenschaften liegen vor, wenn der Erstarrungspunkt deutlich höher als der Schmelzpunkt ist, weil sich die Käsemasse während des Phasenüberganges stark verändert (z.B. «Ausölen», Strukturveränderungen). Bei solchen Käsen kann kein reversibles Verhalten während der Aufwärm- und Abkühlphase beobachtet werden.

**4.2 Teig- und Schmelzeigenschaften**

**Tabelle 11** enthält die Ergebnisse des uniaxialen Kompressionstests. Die Bandbreite der Kraft bei 33 % Deformation ist mit Werten zwischen 2.9 und 11.2 N recht gross. Dies deutet auf erhebliche Unterschiede im Wasser-, Fett-, Kalzium- und Proteingehalt der untersuchten Proben hin.

**Tabelle 11:** Teigfestigkeit von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB (Uniaxialer Kompressionstest)

| Parameter                  | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min. | Max. |
|----------------------------|---------|--------|------------|----------------|------|------|
| Kraft bei 33 % Deformation | N       | 5.9    | 6.5        | 2.4            | 2.9  | 11.2 |

**Tabelle 12** zeigt die Zusammenstellung der Ergebnisse der Bestimmung des Erweichungspunktes. Vorangehende Studien mit Raclette Suisse (2003 bis 2006), in welchen Käse mit einem Erweichungspunkt von  $< 58.5$  °C als «gut» befunden wurden können hier als Vergleich dienen. Die Mehrheit der 21 untersuchten Walliser Raclette Käse lag unter dem für Raclette Suisse empfohlenen Richtwert, was auf ein gutes Schmelzverhalten der untersuchten Walliser Raclette GUB hindeutet.

**Tabelle 12:** Erweichungspunkt von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB

| Parameter        | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min. | Max. |
|------------------|---------|--------|------------|----------------|------|------|
| Erweichungspunkt | °C      | 55.3   | 54.9       | 2.1            | 51.5 | 59.7 |

Die Ergebnisse der rheologischen Erfassung der Schmelzeigenschaften sind in **Tabelle 13** zusammengestellt. **Tabelle 14** enthält Vergleichswerte aus Studien zum Schmelzverhalten von Raclette Suisse Käse (2003 bis 2006). Die in **Tabelle 14** zusammengestellten Richtwerte wurden durch den paarweisen Vergleich mit sensorischen Daten Käsen erarbeitet. Für den Vergleich wurden die Attribute «Fettabscheidung, Viskosität, fadenziehend und gummig» ausgewählt.

**Tabelle 13:** Rheologische Daten zum Schmelzverhalten von 120 Tage alten Walliser Raclette GUB

| Parameter                            | Einheit | Median | Mittelwert | s <sub>x</sub> | Min.   | Max.    |
|--------------------------------------|---------|--------|------------|----------------|--------|---------|
| G' (20°C, vor Erwärmen)              | Pa      | 74'770 | 73'377     | 19'249         | 42'140 | 117'000 |
| G'' (20°C, vor Erwärmen)             | Pa      | 23'430 | 23'844     | 5'960          | 14'660 | 36'820  |
| Schmelzpunkt                         | °C      | 57.8   | 57.5       | 2.6            | 51.9   | 60.8    |
| Viskosität beim Schmelzpunkt         | Pa s    | 120.9  | 123.7      | 32.1           | 76.5   | 224.6   |
| tan δ max. (Erwärmen)                | [-]     | 2.97   | 2.96       | 0.90           | 1.85   | 4.97    |
| Temperatur bei tan δ max. (Erwärmen) | °C      | 77.0   | 77.2       | 2.0            | 74.0   | 80.0    |
| G' (80°C)                            | Pa      | 58.5   | 67.4       | 31.6           | 27.5   | 127.4   |
| G'' (80°C)                           | Pa      | 165.7  | 174.1      | 55.2           | 74.5   | 272.3   |
| tan δ max. (Abkühlen)                | [-]     | 3.06   | 2.93       | 0.78           | 1.75   | 4.62    |
| Temperatur bei tan δ max. (Abkühlen) | °C      | 77.0   | 76.7       | 2.7            | 70.0   | 80.0    |
| Erstarrungspunkt                     | °C      | 53.6   | 53.8       | 3.2            | 48.5   | 64.6    |
| Viskosität beim Erstarrungspunkt     | Pa s    | 298.4  | 296.4      | 73.4           | 166.1  | 429.4   |
| G' (20°C, nach Abkühlen)             | Pa      | 32'420 | 52'812     | 98'586         | 20'850 | 481'900 |
| G'' (20°C, nach Abkühlen)            | Pa      | 14'210 | 20'203     | 28'489         | 9'301  | 143'500 |

Der Vergleich mit den Richtwerten für Raclette Suisse zeigt, dass die Mittelwerte von Walliser Raclette insgesamt auf gute Schmelzeigenschaften schliessen lassen. Einzig der Parameter G' (20°C, vor Erwärmen) ist mit 73'377 über dem Richtwert von 71'805 von Raclette Suisse. Die Tendenz für eine stärkere Fettabscheidung könnte damit erklärt werden, dass Walliser Raclette deutlich mehr Fett enthält (Mittelwerte: Fett 315 g/kg, FiT 540) als Raclette Suisse (Mittelwerte: Fett 288 g/kg, FiT 488).

**Tabelle 14:** Rheologische Richtwerte für ein gutes Schmelzverhalten von Raclette Suisse

| Parameter                        | Einheit | Fettabscheidung | Viskosität | fadenziehend | gummig  |
|----------------------------------|---------|-----------------|------------|--------------|---------|
| G' (20°C, vor Erwärmen)          | Pa      | <71'805         |            |              |         |
| G'' (20°C, vor Erwärmen)         | Pa      | <24'573         |            |              |         |
| Viskosität beim Schmelzpunkt     | Pa s    |                 | <192       | <188         | <166    |
| G' (80°C)                        | Pa      |                 | <121       | <118         | <110    |
| G'' (80°C)                       | Pa      |                 | <258       | <251         | <226    |
| Erstarrungspunkt                 | °C      |                 |            | <56          | <56     |
| Viskosität beim Erstarrungspunkt | Pa s    |                 | <440       | <440         | <382    |
| G' (20°C, nach Abkühlen)         | Pa      |                 |            |              | <95'000 |
| G'' (20°C, nach Abkühlen)        | Pa      |                 |            |              | <37'000 |

Basierend auf statistischen Auswertungen von Raclette Suisse Daten können die Schmelzeigenschaften wie folgt beeinflusst werden: Das Attribut «Fettabscheidung» kann positiv durch die Erhöhung des Wassergehaltes und die Absenkung des FiT beeinflusst werden. Für die Attribute «fadenziehend», «Viskosität» und «gummig» gelten ein tiefer Kalziumwert, eine möglichst tiefe Viskosität bei 80°C und hohe NPN/TN-Werte als positive Einflussgrößen. Der Kalziumgehalt wird einerseits durch die Zusammensetzung (Protein, Fett, Wasser) bestimmt und kann andererseits durch technologische Massnahmen reduziert werden (z.B. Bruchwaschen). Hohe NPN/TN-Werte werden durch eine genügend lange Reifung der Käse erreicht.

## 5 Aromaprofil

### 5.1 Methodische Angaben

Die Käseproben wurden zur Homogenisation des Probenmaterials in flüssigem Stickstoff eingefroren, darauf mit einem Mixer pulverisiert und bis zur Analyse bei -20°C gelagert. Pro Käseprobe wurden zweimal zwei Gramm aufgetaut, danach mittels Headspace-Methode extrahiert und zur Identifizierung und Quantifizierung von flüchtigen Verbindungen mittels Gaschromatographie in Verbindung mit einem Massenspektrometer analysiert (HS-SPME-GC-MS). Zur Quantifizierung von 3-Methylbutanal wurde der Probe ein deuterierter interner Standard (3-Methylbutanal- $d_6$ ) zugesetzt. Die Proben wurden vor der Analyse randomisiert, um Memory-Effekte der Einrichtung zu vermeiden. Für das Aromaprofil wurde eine Auswahl von 53 geruchsaktiven Verbindungen erfasst, die basierend auf der chemischen Struktur in neun Gruppen unterteilt wurden (**Tabelle 15**). Die Identifizierung der flüchtigen Verbindungen wurde mit dem Massenspektrometer durchgeführt, indem die Spektren der detektierten Moleküle mit einer universellen Datenbank (NIST14) verglichen wurden. Zur Standardisierung der Ionenanzahl der einzelnen Verbindungen wurde die Ionenanzahl des charakteristischen Ions durch den in **Tabelle 15** angegebenen Proportionalitätsfaktor dividiert. Der Proportionalitätsfaktor entspricht der relativen Häufigkeit eines einzelnen Ions in einem Massenspektrum in Relation zum dominierenden Ion, dem arbiträr eine Häufigkeit von 1000 zugeordnet wird. Die in **Tabelle 15** angegebenen Proportionalitätsfaktoren wurden den in der Datenbank NIST14 hinterlegten Spektren entnommen. Die HS-SPME-GC-MS Analyse wurde in zweifacher Ausführung durchgeführt. Für die semiquantitative Auswertung wurde von jeder Verbindung der Mittelwert der standardisierten Ionenanzahl verwendet.

In einer ersten Auswertung wurden die 53 geruchsaktiven Verbindungen basierend auf ihren chemischen Eigenschaften in die in **Tabelle 15** aufgelisteten neun Stoffklassen unterteilt.

**Tabelle 15:** Einteilung der im Aromaprofil erfassten 53 geruchsaktiven Verbindungen nach Stoffklassen

| Verbindung                      | Ion [m/z] <sup>1</sup> | Faktor | Geruchsnote                  | Aromafamilie <sup>2</sup> | Geruchsschwelle in Wasser [ppb] |
|---------------------------------|------------------------|--------|------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| <b>Schwefelverbindungen</b>     |                        |        |                              |                           |                                 |
| Methanthiol                     | 48                     | 899    | Knoblauch                    | 1                         | 0.02                            |
| Dimethylsulfid                  | 62                     | 1000   | Zwiebel                      | 1                         | 0.3-1                           |
| Methylthiocyanat                | 90                     | 210    | Zwiebel                      | 1                         | ND                              |
| Dimethyldisulfid                | 94                     | 999    | Zwiebel                      | 1                         | 0.16-12                         |
| Dimethyltrisulfid               | 126                    | 999    | Zwiebel                      | 1                         | 0.005-0.01                      |
| Methional                       | 104                    | 342    | Kartoffel                    | 1                         | 0.2                             |
| 2-Methyltetrahydrothiophen-3-on | 116                    | 527    | schwefelig, fruchtig, Beeren | 1                         | ND                              |
| 3-Methylmercaptopropanol        | 106                    | 1000   | Minze, medizinischer Kampfer | 1                         | ND                              |
| Dimethylsulfon                  | 94                     | 477    | schwefelig, verbrannt        | 1                         | ND                              |
| 3-Methylthiopropansäure         | 120                    | 321    | Zwiebel                      | 1                         | ND                              |
| 4-Methylthiobutansäure          | 134                    | 742    | stechend, käsigt             | 1                         | ND                              |
| <b>Ester</b>                    |                        |        |                              |                           |                                 |
| Ethylacetat                     | 88                     | 35     | ätherartig, fruchtig         | 2                         | 5                               |
| Ethylbutyrat                    | 88                     | 568    | fruchtig                     | 2                         | 1                               |
| Ethylisovalerat                 | 88                     | 999    | fruchtig                     | 2                         | 0.1                             |
| Ethylhexanoat                   | 99                     | 518    | fruchtig                     | 2                         | 1                               |
| Pentylbutyrat                   | 89                     | 130    | fruchtig                     | 2                         | 210                             |
| Ethylcaprylat                   | 127                    | 243    | fruchtig, Wachs              | 2                         | 200                             |
| <b>Alkohole</b>                 |                        |        |                              |                           |                                 |
| 2-Butanol                       | 59                     | 181    | fruchtig                     | 2                         | 16000                           |
| 2-Pentanol                      | 55                     | 173    | gegoren, süsslich, fruchtig  | 2                         | 45000                           |
| 2-Heptanol                      | 83                     | 67     | fruchtig, grün               | 2                         | 250                             |
| 1-Hexanol                       | 69                     | 239    | Wein, fruchtig               | 2                         | 2500                            |
| 2- oder 3-Methylbutanol         | 70                     | 613    | fermentiert, malzig          | 6                         | 250-300                         |
| <b>Lactone</b>                  |                        |        |                              |                           |                                 |
| Octalacton                      | 99                     | 999    | Kokosnuss                    | 2                         | 400                             |
| Decalacton                      | 99                     | 999    | Kokosnuss                    | 2                         | 100                             |
| <b>Phenole</b>                  |                        |        |                              |                           |                                 |
| 4-Methylphenol (p-Cresol)       | 107                    | 999    | phenolisch, tierisch         | 7                         | 55                              |
| 3-Methylphenol (m-Cresol)       | 108                    | 999    | phenolisch, tierisch, holzig | 7                         | 680                             |

Tabelle 15: Fortsetzung

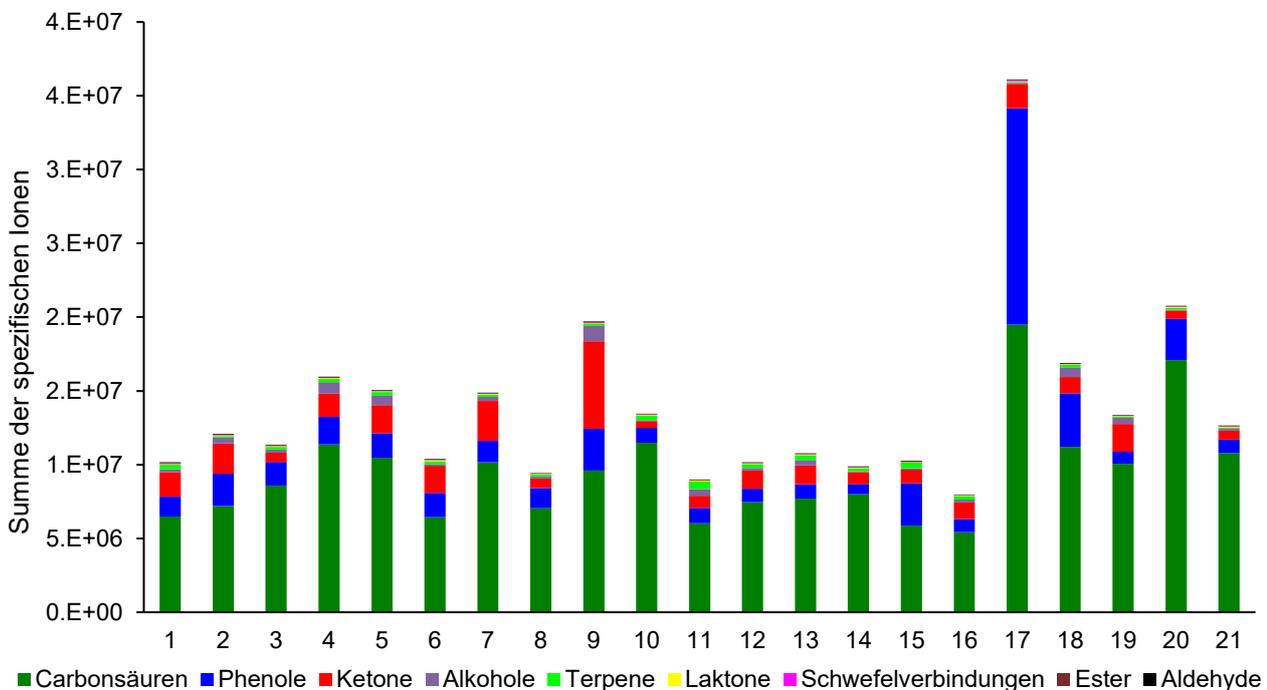
| Verbindung                 | Ion [m/z] <sup>1</sup> | Faktor | Geruchsnote                | Aromafamilie <sup>2</sup> | Geruchsschwelle in Wasser [ppb] |
|----------------------------|------------------------|--------|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| <b>Carbonsäuren</b>        |                        |        |                            |                           |                                 |
| Essigsäure                 | 60                     | 747    | Essig                      | 3                         | 22000                           |
| Propionsäure               | 74                     | 999    | käsig                      | 3                         | 20000                           |
| Iso-Buttersäure            | 88                     | 79     | käsig, ranzig              | 3                         | 8100                            |
| Buttersäure                | 88                     | 18     | käsig                      | 3                         | 240                             |
| Isovaleriansäure           | 87                     | 170    | käsig                      | 3                         | 500                             |
| n-Pentansäure              | 87                     | 15     | ranzig                     | 3                         | 3000                            |
| Iso-Caprinsäure            | 101                    | 38     | käsig                      | 3                         | 3000                            |
| Hexansäure                 | 87                     | 134    | fettig, käsig              | 3                         | 3000                            |
| Octansäure                 | 115                    | 100    | fettig, käsig, ranzig      | 3                         | 3000                            |
| Nonansäure                 | 115                    | 100    | käsig, wachs               | 3                         | 3000                            |
| Decansäure                 | 129                    | 334    | fettig, ranzig             | 3                         | 10000                           |
| <b>Ketone</b>              |                        |        |                            |                           |                                 |
| 2-Butanon                  | 72                     | 250    | chemisch, fruchtig, grün   | 2                         | 50000                           |
| 2-Pentanon                 | 71                     | 97     | süss, Bananen, fermentiert | 2                         | 70000                           |
| 2,3-Butandion (Diacetyl)   | 86                     | 186    | buttrig                    | 4                         | 2.3-6.5                         |
| 3-Hydroxybutanon (Acetoin) | 88                     | 99     | buttrig                    | 4                         | 800                             |
| 2-Heptanone                | 114                    | 40     | gewürzt, waldig            | 5                         | 140-3000                        |
| 2-Nonanone                 | 142                    | 70     | grün, fruchtig             | 2                         | 5-200                           |
| 2-Undecanone               | 170                    | 69     | fruchtig, fettig           | 2                         | 7                               |
| <b>Aldehyde</b>            |                        |        |                            |                           |                                 |
| 2-Methylbutanal            | 86                     | 113    | malzig                     | 6                         | 1                               |
| 3-Methylbutanal            | 86                     | 110    | malzig                     | 6                         | 0.2-2                           |
| Octanal                    | 84                     | 564    | Citrus, Orangenhaut        | 2                         | 0.7                             |
| Nonanal                    | 98                     | 406    | Citrus, frisch, grün       | 2                         | 1                               |
| Phenylacetaldehyd          | 120                    | 282    | blumig, Honig              | 2                         | 4                               |
| <b>Terpene</b>             |                        |        |                            |                           |                                 |
| α-Pinen                    | 121                    | 136    | tannen, grün, gewürzt      | 5                         | 6                               |
| β-Pinen                    | 136                    | 8      | gewürzt, Tanne, waldig     | 5                         | 140                             |
| α-Limonen                  | 136                    | 10     | Citrus, grün               | 5                         | 10                              |
| o-Cymen                    | 134                    | 256    | Citrus, waldig             | 5                         | 100                             |

<sup>1</sup> Ausgewähltes Ion [m/z]<sup>2</sup> Aromafamilien: Knoblauch/Zwiebeln (1); fruchtig/blumig (2); käsig (3); buttrig (4), würzig (5), malzig (6); tierisch (7)

ND: Nicht bestimmt (not determined)

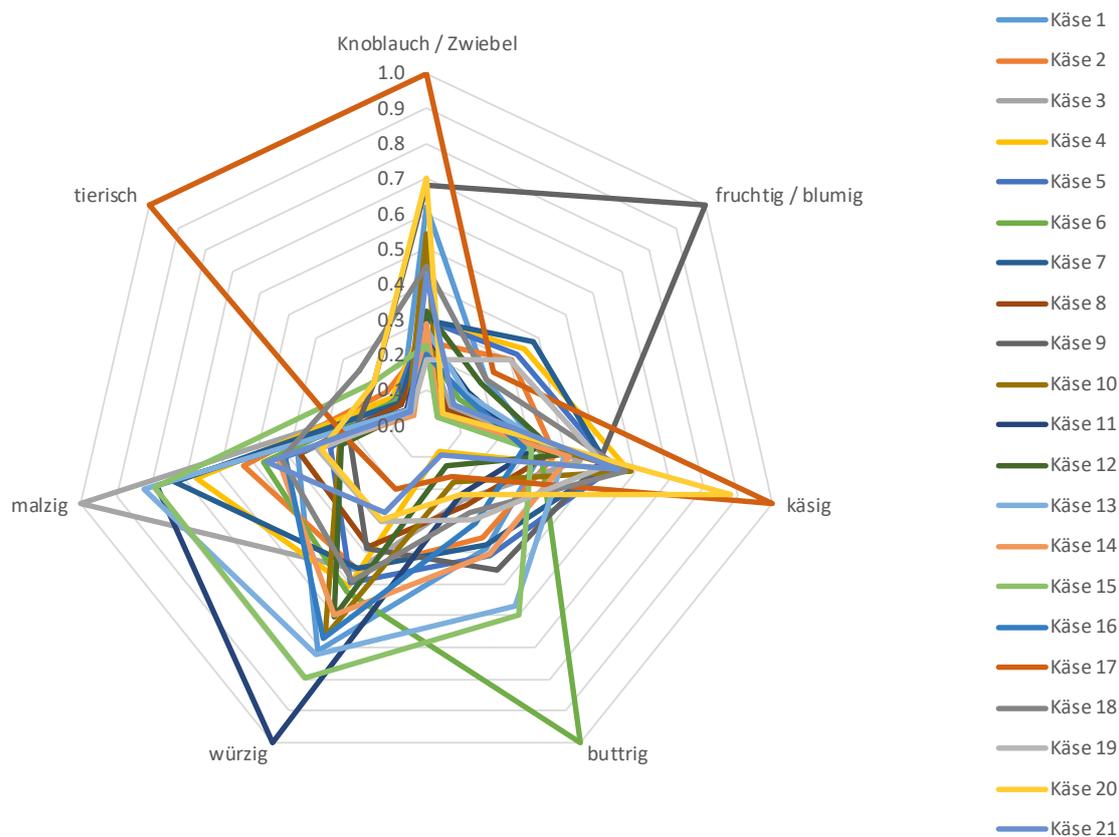
## 5.2 Aromaprofil von Walliser Raclette

**Abbildung 5** zeigt einen semiquantitativen Vergleich der in **Tabelle 15** aufgelisteten Stoffklassen. Für die semiquantitative Darstellung der neun Stoffklassen wurde die standardisierte Ionenanzahl der einzelnen Verbindungen aufsummiert. In chemischer Hinsicht wird die Zusammensetzung der geruchsaktiven Verbindungen in Käse von Carbonsäuren, Phenolen und Ketonen dominiert. Die anderen chemischen Gruppen tragen zu den spezifischen Eigenschaften jedes Käses bei. Die Geruchswahrnehmung des Käses hängt von mehreren Parametern ab. Neben der Konzentration der vorhandenen flüchtigen Moleküle ist auch die Wahrnehmungsschwelle dieser Moleküle und die Zusammensetzung der Matrix (wässrige Phase, Fettphase) für die Wahrnehmung des Käsearomas ausschlaggebend. Die chemische Aufteilung der für das Käsearoma charakteristischen Verbindungen variiert von Käse zu Käse. Die beobachteten Variationen wirken sich direkt auf das Aroma des Käses aus und können durch spezifische Einflüsse der Herstellung, der Reifung und des Terroirs erklärt werden. **Abbildung 5** verdeutlicht, dass das Aroma der untersuchten Käse massgebend durch die Konzentration flüchtiger Carbonsäuren sowie die Konzentration an Ketonen und phenolischen Verbindungen bestimmt wird, die für die käsige bzw. fruchtige, buttrige und tierische Note verantwortlich sind.



**Abbildung 5:** Vergleich von neun geruchsaktiven Stoffklassen in 21 Walliser Raclette GUB. Insgesamt wurden 53 Verbindungen mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie erfasst, die basierend auf ihrer chemischen Struktur den aufgeführten Stoffklassen zugeordnet wurden.

In einer zweiten Auswertung wurden die 53 gemessenen Verbindungen basierend auf ihren Geruchsnoten in sieben Aromafamilien (Knoblauch/Zwiebeln, fruchtig/blumig, käsige, buttrig, würzig, malzig, tierisch) eingeteilt (**Tabelle 15**). Für die semiquantitative Darstellung der sieben Aromafamilien wurde die standardisierte Ionenanzahl der einzelnen Verbindungen aufsummiert. **Abbildung 6** veranschaulicht einerseits die aromatischen Gemeinsamkeiten der 21 untersuchten Walliser Raclette GUB. Die Gruppierung der geruchsaktiven Verbindungen nach Aromafamilien ermöglicht es aber auch, sensorisch wahrnehmbare Besonderheiten einzelner Käse aufzuzeigen. So weist z.B. Käse 6 eine ausgeprägte buttrige Note auf, während das Aromaprofil von Käse 17 eine starke tierische Note enthält. Käse 9 weist im Vergleich zu anderen Käsen eine intensive fruchtige Note auf.



**Abbildung 6:** Aromaprofil von 21 Walliser Raclette GUB. Insgesamt wurden 53 Verbindungen mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie erfasst, die basierend auf ihrer Geruchsnoten (siehe **Tabelle 15**) den sieben Aromafamilien zugeordnet wurden.

## 6 Sensorische Charakterisierung

### 6.1 Methodische Angaben

Die sensorische Charakterisierung der 21 Käseproben erfolgte durch das Sensorik Panel von Agroscope Liebefeld. Die Käse wurden sowohl kalt als auch im geschmolzenen Zustand beurteilt.

#### 6.1.1 Sensorische Charakterisierung der kalten Käse

Das Panel für die Beurteilung der Käse im kalten Zustand umfasste 26 Probanden. Bezüglich Textur wurden die Attribute Teiglänge und Teigfestigkeit beurteilt. Für die Beurteilung des Geschmacks wurden die Attribute süß, salzig, sauer und bitter beurteilt. Neben diesen vier Geschmacksrichtungen wurde zudem die Aromaintensität der Käse beurteilt. Die Charakterisierung des Aromas erfolgte anhand einer Auswahlliste von 12 Aromaattributen (frische Milch, rahmig, buttrig, käsigt, tierisch, nussig, Zwiebel, fruchtig, caramel, rezent, Umami, andere Aromanoten), von denen die Probanden die zutreffenden Attribute individuell auswählen und beurteilen konnten. Für die Zusammenstellung der charakteristischen Aromaattribute wurden nur Attribute berücksichtigt, für die in mindestens 20% der Proben eine Beurteilung vorlag.

Allfällige Aromafehler wurden ebenfalls anhand einer Auswahlliste der folgenden 12 Attribute erhoben: brennend, tierisch, muffig, ranzig, nach Schmiere, chemisch, metallisch, malzig, faulig/putrid, Buttersäure, Propionsäure, andere Aromafehler. Die Beurteilung der Intensität der abgefragten Attribute erfolgte anhand einer skalenlosen Linienskala.

### 6.1.2 Sensorische Charakterisierung der geschmolzenen Käse

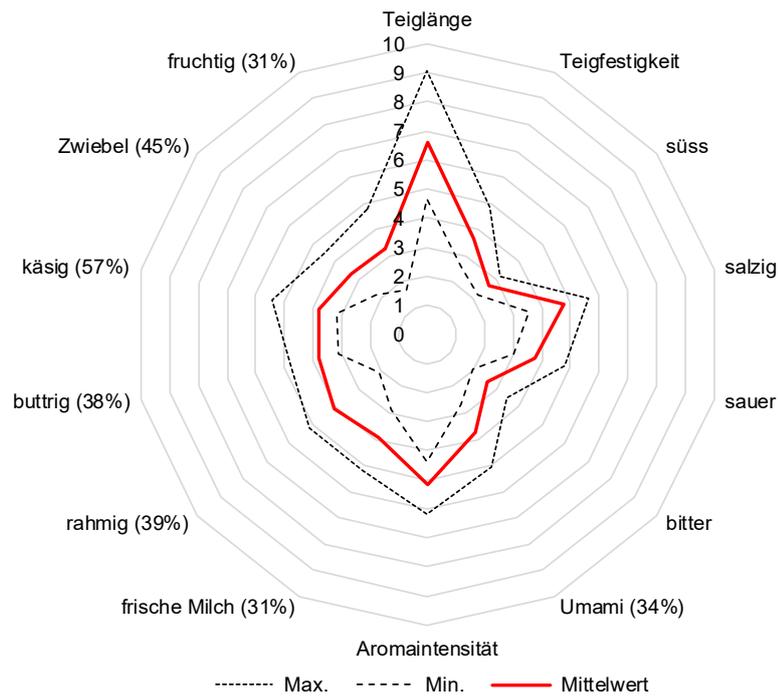
Das Panel für die Beurteilung der geschmolzenen Käse umfasste 21 Probanden. Die Käseproben (ca. 15 g, Abmessungen: 8 x 3 cm, Dicke 4 mm) wurden im Pfännchen geschmolzen (Schmelzdauer 1 min 45 s; höchste Heizstufe) und unmittelbar nach der Entnahme aus dem Schmelzofen (Stöckli AG, Typ 0200) im Pfännchen beurteilt. Für die Beurteilung der Schmelzeigenschaften wurden die Attribute Fettabscheidung, Viskosität, fadenziehend und gummig abgefragt. Die Erfassung von allfälligen Fehlern im Schmelzverhalten erfolgte anhand einer Auswahlliste mit folgenden Attributen: glasig, mehlig, klebrig, andere Fehler. Für die Beurteilung von Geschmack, Aroma und die Erhebung von Aromafehlern wurden die gleichen Attribute wie bei der Beurteilung der kalten Käse verwendet.

## 6.2 Sensorische Eigenschaften von Walliser Raclette

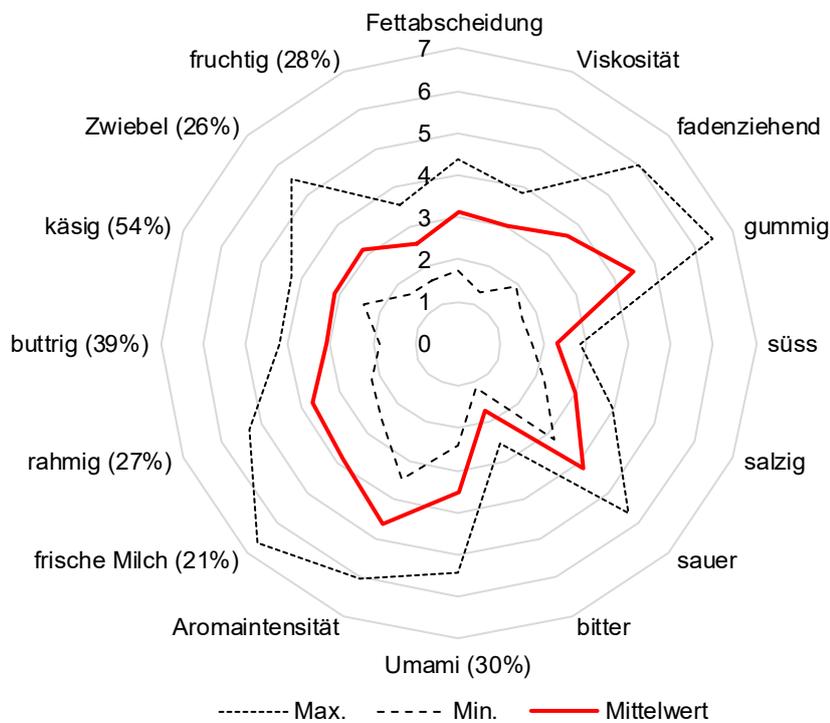
Gemäss Pflichtenheft verfügt Walliser Raclette über einen glatten, geschmeidigen und feinen Teig. Sein Geruch ist milchig frisch (frische Butter, frischer Rahm) und blumig. Der Geschmack ist milchig frisch, wird durch eine saure Note unterstützt und weist eine dominierende pflanzliche und fruchtige Note auf.

In **Abbildung 7** sind die Ergebnisse der sensorischen Beurteilung der kalten Käse zusammengefasst. Die Beurteilung der 21 Käse erfolgte im Alter von 120 Tagen. Die hohe Teiglänge (Mittelwert  $6.6 \pm 1.2$ ) und die geringe Teigfestigkeit ( $3.7 \pm 0.6$ ) sind charakteristisch für die geschmeidige und feine Textur von Walliser Raclette GUB. Geschmack und Aroma waren in diesem Alter noch relativ mild (Mittelwert Aromaintensität  $5.2 \pm 0.4$ ). Der Geschmack der Käse wurde durch eine angenehm salzige (Mittelwert  $4.8 \pm 0.5$ ; Salzgehalt der Käse  $19.7 \pm 1.8$  g/kg) und leicht saure Note (Mittelwert  $3.8 \pm 0.4$ ) sowie den Umami-Geschmack (Mittelwert  $3.8 \pm 0.6$ ) geprägt. Süsse und bittere Noten wurden hingegen nur schwach wahrgenommen. Beim Aroma wurde der käsige Geruch und Zwiebelnoten gut wahrgenommen, darüber hinaus waren auch rahmige, buttrige und fruchtige Noten sowie Noten von frischer Milch charakteristisch. Von den mit Geschmacks- und Aromafehlern assoziierten Attributen wurden die Attribute brennend (24%, Mittelwert  $3.0 \pm 1.0$ ), tierisch (21%; Mittelwert  $2.7 \pm 0.9$ ) und metallisch (Mittelwert  $2.6 \pm 0.9$ ) am häufigsten genannt.

Die Ergebnisse der warm beurteilten Walliser Raclette sind in **Abbildung 8** zusammengefasst. Die geschmolzenen Käse zeigten nur eine schwache Fettabscheidung (Mittelwert  $3.1 \pm 0.7$ ) und eine eher tiefe Viskosität (Mittelwert  $3.0 \pm 0.6$ ). Die Attribute gummig (Mittelwert  $4.5 \pm 1.2$ ) und fadenziehend (Mittelwert  $3.6 \pm 1.0$ ) prägten das Schmelzverhalten etwas stärker, wobei zu bemerken ist, dass bei diesen Attributen grosse Unterschiede zwischen den 21 Käsen festgestellt wurden. Die geschmolzene Masse einiger Käse wies eine leicht glasige Erscheinung auf (22%; Mittelwert  $1.9 \pm 0.6$ ), ansonsten wurden beim Schmelzverhalten kaum andere Fehler verzeichnet. Die geschmolzenen Käse wurden im Vergleich zu den kalten Käsen weniger salzig (Mittelwert  $3.0 \pm 0.5$ ) und bitter (Mittelwert  $1.7 \pm 0.4$ ), aber etwas saurer (Mittelwert  $4.2 \pm 0.7$ ) wahrgenommen. Die oft beobachtete reduzierte Bitterkeit von geschmolzenen Käsen wird allgemein damit erklärt, dass die vorwiegend hydrophoben Bitterpeptide beim Schmelzen in die Fettphase übergehen und dadurch weniger stark wahrgenommen werden. Die Aromaintensität und das Aromaprofil der geschmolzenen Käse wurden ähnlich beurteilt wie in den kalten Käsen. Neben einem dezenten käsigen Geschmack wurden vor allem buttrige und rahmige Noten wahrgenommen. Darüber hinaus zeichneten sich die Käse auch durch Noten von frischer Milch, Zwiebeln und fruchtige Noten aus. Bezüglich Geschmacks- und Aromafehlern wurden die beiden Attribute metallisch (20%; Mittelwert  $3.6 \pm 1.0$ ) und tierisch (18%; Mittelwert  $3.2 \pm 1.5$ ) am häufigsten genannt. Das Attribut brennend wurde in den geschmolzenen Käsen hingegen kaum mehr wahrgenommen (7%; Mittelwert  $2.9 \pm 1.3$ ).



**Abbildung 7:** Sensorisches Profil von kalt beurteiltem Walliser Raclette GUB. Bei Geschmacks- und Aromattributen, die optional aus einer Liste ausgewählt werden konnten, ist in der Klammer die relative Anzahl Nennungen angegeben.



**Abbildung 8:** Sensorisches Profil von warm beurteiltem Walliser Raclette GUB. Bei Geschmacks- und Aromattributen, die optional aus einer Liste ausgewählt werden konnten, ist in der Klammer die relative Anzahl Nennungen angegeben.

## 7 Mikrobiologische Charakterisierung

### 7.1 Analyse des Mikrobioms

Das Mikrobiom beschreibt die Gesamtheit aller Mikroorganismen in einem Ökosystem. Bei Käsemikrobiomanalysen wird genetisches Material direkt aus der Käseprobe extrahiert und sequenziert. Das wesentliche Unterscheidungsmerkmal zu einer klassischen mikrobiologischen Analyse ist, dass Mikroorganismen nicht mehr kultiviert werden und sich auf diese Weise auch nicht-kultivierbare Mikroorganismen nachweisen lassen. Bei Agroscope kommt bei Mikrobiomanalysen ein Verfahren zur Anwendung, das auf der Sequenzierung des 16S rRNA Gens basiert. Hierbei werden im extrahierten genetischen Material Teile des bakteriellen 16S rRNA Gens mittels PCR amplifiziert und anschliessend sequenziert. Die Sequenzierung des 16S rRNA Gens ist besonders aufschlussreich, da dieses Gen universell in allen Bakterien vorkommt, sich jedoch von Bakterienspezies zu Bakterienspezies unterscheidet. Folglich kann durch die Bestimmung der Basenabfolge dieses Gens und dem anschliessenden Vergleich mit bekannten Sequenzen, die Bakterienspezies bestimmt werden. Im Rahmen des Agroscope Forschungsprojektes «Mikrobielle Biodiversität» wurde in den letzten Jahren in Zusammenarbeit mit INRAE in Frankreich die Datenbank DairyDB für milchwirtschaftlich relevante Mikroorganismen erstellt (Meola et al., 2019), die über 10'000 vollständige 16S rRNA-Gensequenzen aus Bakterien und Archeen (Urbakterien) enthält und ungefähr 1'700 Gattungen bzw. 4'000 Spezies abdeckt. Bei der auf der 16S rRNA basierten Mikrobiomanalyse handelt es sich um eine Forschungsmethode von Agroscope, die nicht für diagnostische Zwecke validiert wurde. Trotz der Anwendung einer gepflegten Datenbank zur Identifikation der amplifizierten Sequenzen ist eine Überprüfung der Identifikation z.B. mittels spezies-spezifischen qPCR Analysen zur Festigung der Ergebnisse empfehlenswert.

#### 7.1.1 Extraktion der DNA

Von jedem Käse wurden 10 g Teig und 10 g Rinde aseptisch entnommen und mit Hilfe eines Stomachers in 90 mL Peptonwasser homogenisiert. Für die weitere Aufarbeitung der Teigprobe wurden 10 mL Homogenat mit 50 µL 10% SDS zentrifugiert (4000 g, 30 min, 20°C) und das Pellet in G2-Puffer (Qiagen) resuspendiert, während für die Aufarbeitung der Rindenprobe 1 mL Homogenat mit 600 µL 8M GuHCl zentrifugiert (4000 g, 30 min, 20°C) und das Pellet in 1 mL 4M GuHCl gewaschen wurde. Die Zellen wurden dann mit Hilfe von Zirkoniakügelchen in einem Beadruptor lysiert und die DNA mit dem EZ1-DNA-Tissue Kit mit einem Extraktionsroboter (BioRo-bot EZ1, Qiagen) extrahiert.

#### 7.1.2 PCR-Amplifikation und Sequenzierung

Die DNA wurde mittels PCR unter Verwendung der Primer 8F\_v1f (5'-AGAGAGAGTTTGATCMTGGGCTCAG-3') und 355R\_v2r (5'-GCWGCCTCCCGTAGGAGT-3') amplifiziert, die auf die V1- und V2-Regionen des Gens abzielen, die für die 16S-Untereinheit der ribosomalen RNA kodieren. Die so erzeugten 350 bp-Fragmente wurden dann auf dem S5-Sequenziergerät (Thermo Fisher Scientific) sequenziert.

#### 7.1.3 Bioinformatische Auswertung der Sequenzierungsdaten

Die Sequenzierungsergebnisse wurden mit Hilfe der von der Forschungsgruppe Gärungsorganismen entwickelten Analyse-Pipeline verarbeitet (04\_Pipelines/04\_16S\_pipeline\_S5\_V1V2.R, v. 1.0.3). In einem ersten Schritt wurden die sequenzierten DNA-Fragmente (*Reads*) nach Qualitätskriterien gefiltert und die Primersequenzen mit dem cutadapt Tool entfernt. Dann wurden die ASVs (Amplikonsequenzvarianten) mit dem DADA2-Tool definiert. ASVs sind Gruppen von Sequenzen mit einem hohen Grad an Ähnlichkeit. Die ASVs wurden dann nach ihrer Länge gefiltert, um allfällig vorhandene abnormal kurze ASVs zu eliminieren und schließlich mit Hilfe des IDTAXA-Tools auf der Grundlage der Datenbank DAIRYdb v.1.2.4 taxonomisch der Art zugeordnet. Anschließend wurde eine Tabelle mit der Anzahl der Reads für jede in den einzelnen Proben nachgewiesene Art erstellt und die Daten normalisiert, um die relative Populationsdichte (Abundanz) jeder Spezies in den einzelnen Proben zu erhalten.

## 7.2 Zusammensetzung des Mikrobioms von Walliser Raclette GUB

Erfahrungsgemäss dominieren in fermentierten Lebensmitteln wie Käse die mit den Säuerungskulturen zugesetzten Bakterienarten die Zusammensetzung des Mikrobioms. Die Angabe von relativen Abundanzen ist zwar hilfreich, um die quantitative Zusammensetzung von Mikrobiomen aufzuzeigen. Es wäre aber ein Irrtum anzunehmen, dass nur die Hauptbestandteile des Teig- und Rindenmikrobioms (relative Abundanz von  $\geq 1.0\%$ ) einen Einfluss auf die Käsequalität ausüben. So stellen beispielsweise Propionsäurebakterien, welche für die charakteristische Loch- und Aromabildung in Emmentaler AOP verantwortlich sind, nur einen Minorbestandteil (relative Abundanz  $< 1\%$ ) im Teigmikrobiom dieser Käse dar. Ebenso sind in stark fehlerhaften Käsen (z.B. Käse mit Buttersäuregärung oder Käse mit stark erhöhtem Gehalt an biogenen Aminen) die fehlerverursachenden Spezies nur als Minorbestandteile enthalten. Diese zwei Beispiele verdeutlichen, dass auch Minorbestandteile im Teig- und Rindenmikrobiom einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität ausüben können. In den folgenden Tabellen und Abbildungen finden sich daher stets auch detaillierte Angaben zu den Minorbestandteilen.

Im Teig der 21 untersuchten Walliser Raclette GUB konnten insgesamt 46 Spezies nachgewiesen werden (**Tabelle 16**). Die relative Abundanz von 34 Spezies war in allen untersuchten Käsen  $< 1.0\%$ . Insgesamt wurden 12 Spezies detektiert, deren relative Abundanz in mindestens einem der 21 untersuchten Käse  $\geq 1.0\%$  war. Das Rindenmikrobiom war wesentlich artenreicher. Insgesamt wurden 203 Spezies nachgewiesen, davon waren 32 Spezies in mindestens einem der 21 Käse in einer relativen Abundanz von  $\geq 1.0\%$  präsent. Die restlichen 171 detektierten Spezies stellten Minorbestandteile im Rindenmikrobiom dar.

**Tabelle 16:** Anzahl der nachgewiesenen Spezies im Käseteig und der Rinde der 21 untersuchten Walliser Raclette Käse AOP.

|  | Käseteig (DNA) | Rinde (DNA) |
|--|----------------|-------------|
| Spezies total  | 46             | 203         |
| Spezies mit einer relative Abundanz von $\geq 1.0\%$ | 12             | 32          |
| Spezies mit einer relative Abundanz von $< 1.0\%$    | 34             | 171         |

### 7.2.1 Mikrobiom im Käseteig

Von den insgesamt 46 im Käseteig nachgewiesenen Spezies waren 12 Spezies nur in Spuren in einem der 21 untersuchten Käse nachweisbar, weshalb deren Präsenz eher dem Zufall zugeschrieben werden kann. Die in **Tabelle 17** aufgeführten 34 Spezies waren alle in mindestens zwei der 21 untersuchten Käse präsent und wurden daher als «typischer Bestandteil» des Teigmikrobioms von Walliser Raclette gewertet. Zur Herstellung von Walliser Raclette GUB werden typischerweise Kulturen von *Lactococcus lactis* (mesophile Kultur) und *Streptococcus thermophilus* (thermophile Kultur) eingesetzt. Es erstaunt daher nicht, dass diese beiden Spezies die Zusammensetzung des Teigmikrobioms massgebend prägten. Je nach Herkunft der Käse betrug die relative Abundanz dieser beiden Spezies zusammen zwischen 33 und 97 % (Mittelwert  $79 \pm 19\%$ ). Mit *Lactobacillus delbrueckii* und *Lactobacillus helveticus* wurden zwei weitere thermophile Spezies aus der Gruppe der homofermentativen Lactobacillen nachgewiesen. *Lactobacillus delbrueckii* ist typischer Bestandteil von thermophilen Säuerungskulturen (z.B. MK 401) und *Lactobacillus helveticus* wird teilweise als Zusatzkultur zur Reifungsbeschleunigung zugesetzt. Mit *Leuconostoc mesenteroides* wurde eine Spezies nachgewiesen, die in mesophilen Mischkulturen zur Förderung der Aromabildung verwendet wird. In einigen Käsen war die relative Abundanz dieser drei Spezies sehr tief, was aufzeigt, dass diese Spezies auch über die Rohmilch ins Teigmikrobiom gelangen können.

**Tabelle 17:** Charakteristische Spezies im Teigmikrobiom von Walliser Raclette GUB, sortiert nach deren durchschnittlichen relativen Abundanz.

| Spezies (n=34)                     | Gruppe <sup>a</sup> | Bedeutung | Prävalenz | relative Abundanz (%) |                |        |       |        |
|------------------------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------------------|----------------|--------|-------|--------|
|                                    |                     |           |           | Mittel                | s <sub>x</sub> | Median | Min   | Max    |
| <i>Streptococcus thermophilus</i>  | 1                   | LAB (S)   | 21        | 42.243                | 27.517         | 50.700 | 0.322 | 89.347 |
| <i>Lactococcus lactis</i>          | 1                   | LAB (S)   | 21        | 37.176                | 19.911         | 32.029 | 5.183 | 88.625 |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>     | 1                   | NSLAB +   | 21        | 6.343                 | 8.884          | 2.347  | 0.017 | 34.023 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>      | 1                   | NSLAB +   | 20        | 5.210                 | 7.704          | 3.273  | 0.047 | 36.266 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>     | 1                   | NSLAB +   | 20        | 3.466                 | 6.391          | 1.569  | 0.090 | 29.924 |
| <i>Lactobacillus parabuchneri</i>  | 1                   | NSLAB -   | 20        | 2.679                 | 6.115          | 0.542  | 0.003 | 27.114 |
| <i>Lactobacillus sunkii</i>        | -                   | NSLAB +/- | 10        | 2.228                 | 5.548          | 0.007  | 0.001 | 18.602 |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i>   | 1                   | LAB (S)   | 19        | 0.658                 | 1.838          | 0.007  | 0.002 | 7.752  |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>    | 1                   | LAB (S)   | 21        | 0.632                 | 1.437          | 0.009  | 0.004 | 5.150  |
| <i>Lactobacillus coryniformis</i>  | 1                   | NSLAB +   | 19        | 0.415                 | 0.605          | 0.165  | 0.011 | 2.475  |
| <i>Lactobacillus curvatus</i>      | 1                   | NSLAB -   | 19        | 0.263                 | 0.294          | 0.188  | 0.009 | 1.089  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | 1                   | NSLAB -   | 16        | 0.262                 | 0.528          | 0.050  | 0.001 | 1.938  |
| <i>Lactobacillus nenjiangensis</i> | -                   | NSLAB +/- | 8         | 0.143                 | 0.185          | 0.062  | 0.014 | 0.610  |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i>   | 1                   | LAB (A)   | 14        | 0.128                 | 0.141          | 0.098  | 0.004 | 0.515  |
| <i>Lactobacillus sakei</i>         | 1                   | NSLAB +/- | 12        | 0.098                 | 0.115          | 0.059  | 0.008 | 0.378  |
| <i>Lactobacillus buchneri</i>      | 1                   | NSLAB -   | 2         | 0.096                 | 0.003          | 0.096  | 0.093 | 0.099  |
| <i>Enterococcus malodoratus</i>    | 1                   | NSLAB -   | 2         | 0.093                 | 0.063          | 0.093  | 0.030 | 0.155  |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>     | 1                   | NSLAB +   | 13        | 0.052                 | 0.130          | 0.002  | 0.000 | 0.495  |
| <i>Lactobacillus crustorum</i>     | -                   | NSLAB +/- | 2         | 0.035                 | 0.008          | 0.035  | 0.028 | 0.043  |
| <i>Leuconostoc carnosum</i>        | 1                   | NSLAB +/- | 3         | 0.033                 | 0.014          | 0.042  | 0.013 | 0.044  |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i>     | 1                   | NSLAB +   | 9         | 0.031                 | 0.030          | 0.019  | 0.005 | 0.092  |
| <i>Weissella paramesenteroides</i> | 1                   | NSLAB +/- | 6         | 0.025                 | 0.028          | 0.013  | 0.002 | 0.085  |
| <i>Lactobacillus fuchuensis</i>    | -                   | NSLAB +/- | 9         | 0.021                 | 0.022          | 0.017  | 0.001 | 0.067  |
| <i>Enterococcus gilvus</i>         | -                   | NSLAB -   | 15        | 0.020                 | 0.022          | 0.013  | 0.000 | 0.075  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>       | 2                   | negativ   | 6         | 0.016                 | 0.013          | 0.013  | 0.000 | 0.034  |
| <i>Streptococcus uberis</i>        | 1                   | NSLAB +/- | 11        | 0.010                 | 0.010          | 0.004  | 0.000 | 0.036  |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 2                   | ?         | 2         | 0.008                 | 0.002          | 0.008  | 0.006 | 0.009  |
| <i>Lactobacillus harbinensis</i>   | -                   | NSLAB +/- | 2         | 0.007                 | 0.005          | 0.007  | 0.002 | 0.012  |
| <i>Staphylococcus devriesei</i>    | -                   | ?         | 2         | 0.007                 | 0.000          | 0.007  | 0.007 | 0.007  |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i>  | 2                   | NSLAB +/- | 3         | 0.003                 | 0.001          | 0.003  | 0.002 | 0.004  |
| <i>Aerococcus viridans</i>         | 2                   | ?         | 2         | 0.003                 | 0.002          | 0.003  | 0.001 | 0.004  |
| <i>Enterococcus faecalis</i>       | 2                   | NSLAB -   | 7         | 0.003                 | 0.003          | 0.001  | 0.001 | 0.010  |
| <i>Clostridium tyrobutyricum</i>   | 1                   | negativ   | 4         | 0.001                 | 0.000          | 0.000  | 0.000 | 0.001  |
| <i>Enterococcus faecium</i>        | 2                   | NSLAB -   | 2         | 0.001                 | 0.000          | 0.001  | 0.000 | 0.001  |

LAB Lactic acid bacteria (Milchsäurebakterien)

LAB (S) LAB Starter, Säuerung

LAB (A) LAB Starter, Aromabildung

NSLAB Non starter lactic acid bacteria (nicht als Starterkultur zugesetzte Milchsäurebakterien)

NSLAB + NSLAB, denen vorwiegend positive Einflüsse auf die Käsequalität zugeschrieben werden

NSLAB - NSLAB, denen vorwiegend negative Einflüsse auf die Käsequalität zugeschrieben werden

NSLAB +/- NSLAB, deren Einfluss auf die Käsequalität nicht geklärt ist.

<sup>a</sup> Einstufung von Organismen gemäss BAFU/BAG (Modul 1: Bakterien, Stand Januar 2013)

Im Teigmikrobiom der meisten Käse waren auch einige NSLAB (non starter lactic acid bacteria) Spezies in hohen relativen Abundanzen ( $\geq 1\%$ ) enthalten. Mit *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* und *Lactobacillus coryniformis* wurden fünf fakultativ heterofermentative Laktobazillenarten aus der Gruppe der NSLAB nachgewiesen. Diese Spezies vergären Hexosen normalerweise vollständig zu Laktat, bei Glucosemangel vergären sie Hexosen zu Milchsäure, Essigsäure, Ethanol und  $\text{CO}_2$ . Pentosen werden zu Laktat und Acetat vergoren. Weiter wurden mit *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus brevis* und *Lactobacillus sunkii* drei obligat heterofermentative NSLAB nachgewiesen.

**Tabelle 18** zeigt die relative Abundanz verschiedener Keimgruppen im Teigmikrobiom von Walliser Raclette. Daraus ist ersichtlich, dass die mit den Kulturen zugesetzten LAB Spezies durchschnittlich etwa 80% des Käsemikrobioms abdecken, während der Anteil der NSLAB Spezies durchschnittlich bei etwa 20% liegt.

NSLAB sind ein wichtiger Bestandteil des Mikrobioms von Käse und tragen während der Reifung mit ihrer Stoffwechselaktivität zur Bildung von Aromakomponenten bei. Rohmilchkäse weisen in der Regel einen intensiveren Geruch und Geschmack auf, was hauptsächlich mit der Präsenz von NSLAB erklärt wird. NSLAB gelangen von ihrem natürlichen Habitat (Gräser, Zitzen etc.) über die Rohmilch und über die Verarbeitung (z.B. Biofilme in Produktionsanlagen) in die Käse und wachsen mit der Autolyse der Starterkulturen zur sekundären Reifungsflora heran. Die Gruppe der NSLAB stellt eine sehr heterogene Gruppe von Mikroorganismen dar, die nicht nur positive, sondern auch negative Einflüsse auf die Käsequalität ausüben können. Die in Käse auffindbaren NSLAB Spezies sind meist gut an die schwierigen Milieubedingungen von Käse angepasst (Fehlen von vergärbaren Kohlenhydraten, tiefer pH-Wert, tiefe Temperatur, reduzierter  $a_w$ -Wert, Salzgehalt). Das Wachstum von NSLAB wird oft durch spezies- und stammspezifische Stoffwechseleigenschaften unterstützt (z.B. Verwertung Citrat, ADI-Stoffwechsel, Bildung von biogenen Aminen). Mit *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus curvatus* und *Lactobacillus brevis* wurden vier NSLAB Spezies nachgewiesen, deren Präsenz im Käse oft mit erhöhten Gehalten an biogenen Aminen einhergeht.

**Tabelle 18:** Relative Abundanz verschiedener mikrobiologischen Gruppen im Käseteig von Walliser Raclette GUB

| Keimgruppe                          | Anzahl Spezies | Relative Abundanz (%) |        |        |        |        |
|-------------------------------------|----------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|
|                                     |                | Mittelwert            | $s_x$  | Median | Min    | Max    |
| LAB (S, A)                          | 5              | 80.733                | 18.194 | 88.468 | 33.323 | 97.232 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB +   | 6              | 15.027                | 13.571 | 9.161  | 1.983  | 46.950 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB -   | 4              | 2.998                 | 6.143  | 0.783  | 0.084  | 27.475 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. NSLAB +/- | 16             | 1.270                 | 4.135  | 0.093  | 0.009  | 19.014 |
| <i>Enterococcus</i> spp. NSLAB -    | 4              | 0.030                 | 0.042  | 0.013  | 0.000  | 0.171  |
| <i>Staphylococcus</i> ssp.          | 3              | 0.017                 | 0.012  | 0.015  | 0.000  | 0.036  |
| <i>Clostridiaceae</i> spp.          | 1              | 0.001                 | 0.000  | 0.000  | 0.000  | 0.001  |
| <i>Enterobacteriaceae</i>           | 0              | n.n.                  | n.n.   | n.n.   | n.n.   | n.n.   |
| <i>Propionibacterium</i> spp.       | 0              | n.n.                  | n.n.   | n.n.   | n.n.   | n.n.   |

n.n. nicht nachweisbar

LAB (S, A) Lactic acid bacteria (Milchsäurebakterien), die zur Säuerung oder Aromabildung zugesetzt werden

NSLAB Non starter lactic acid bacteria (nicht als Starterkultur zugesetzte Milchsäurebakterien)

NSLAB + NSLAB, denen vorwiegend positive Einflüsse auf die Käsequalität zugeschrieben werden

NSLAB - NSLAB, denen vorwiegend negative Einflüsse auf die Käsequalität zugeschrieben werden

NSLAB +/- NSLAB, deren Einfluss auf die Käsequalität nicht geklärt ist.

Mit *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus gilvus*, *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* wurden vier Milchsäurebakterienarten aus der Familie der *Enterococcaceae* nachgewiesen. Bakterien der Gattung *Enterococcus* sind ubiquitär vorkommende Mikroorganismen, die sich vor allem im Magen-Darm-Trakt von Mensch und Tier finden. Aufgrund ihrer hohen Hitzetoleranz und ihres Überlebens unter schwierigen Umweltbedingungen können sie als Indikatoren für die hygienische Qualität von Lebensmitteln dienen. Die Bedeutung von Enterokokken für die Qualität von Käse ist umstritten. Enterokokken gehören ebenfalls zur Gruppe der NSLAB und werden vereinzelt auch heute noch in Kulturen zur Herstellung von traditionellen Rohmilchkäsen eingesetzt. Diverse Studien zeigen, dass Enterokokken als Bestandteil des Mikrobioms einen positiven Einfluss auf die organoleptischen Eigenschaften von

Käse ausüben können. Als Folge des weit verbreiteten Einsatzes von Antibiotika in der Tierhaltung weisen viele Enterokokkenisolate Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika auf, weshalb ihre Präsenz in fermentierten Lebensmitteln heute kritisch beurteilt wird. In Milchprodukten finden sich vor allem *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium*, die gemäss Liste des Bundesamts für Umwelt BAFU (2013) als Gruppe 2 Organismen eingestuft werden (**Tabelle 17**). Diese Gruppe beinhaltet Organismen, deren Vorkommen ein geringes Risiko für die Sicherheit bzw. Gesundheit darstellen. Die Präsenz dieser beiden Spezies in Käse ist auch deshalb unerwünscht, da viele Stämme dieser beiden Spezies biogene Amine bilden. In Käse mit stark erhöhtem Gehalt an Tyramin sind erfahrungsgemäss oft Enterokokken die Ursache für die damit verbundene Gläsbildung. Im Vergleich mit Literaturangaben fällt auf, dass im Teigmikrobiom von Walliser Raclette *Enterococcus gilvus* die am häufigsten nachgewiesene Spezies dieser Gattung war.

Neben Enterokokken wurden mit *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* und *Staphylococcus devriesei* auch drei Staphylokokkenarten nachgewiesen (Gruppe 2 Organismen). Erfahrungsgemäss ist *Staphylococcus aureus* etwa in einem Drittel der Rohmilchproben enthalten (Jakob und Eugster, 2016). Eine starke Vermehrung von *Staphylococcus aureus* in den ersten 24 Stunden nach der Käseherstellung ist aus Sicht der Lebensmittelsicherheit problematisch, da diese Spezies bei Keimzahlen von  $> 10^5$  KbE/g hitzestabile Toxine bilden kann. Mit *Clostridium tyrobutyricum* wurde eine weitere unerwünschte Spezies nachgewiesen, sie ist die Verursacherin der Buttersäuregärung in Käse.

Wie bereits erwähnt, wurden in den 21 Käsen insgesamt 12 Spezies detektiert, deren relative Abundanz in mindestens einem der 21 untersuchten Käse  $\geq 1.0\%$  war. **Tabelle 19** enthält eine Zusammenstellung wichtiger metabolischer Eigenschaften dieser Spezies. Die hohe relative Abundanz der vier homofermentativen Milchsäurebakterien kann durch deren Einsatz als Kultur zur Herstellung von Walliser Raclette erklärt werden. Bei den restlichen acht Spezies handelt es sich um Vertreter aus der Gruppe der NSLAB, die über die Rohmilch oder die Verarbeitung («Betriebsflora») in die Käse gelangen. Mit Ausnahme von *Lactobacillus sunkii* (präsent in 10 der 21 Käse) waren alle aufgeführten Spezies in mindestens 16 der 21 Käse nachweisbar. Über das Vorkommen und die Bedeutung von *Lactobacillus sunkii* in Käse finden sich bisher in der Fachliteratur kaum Informationen. Die Präsenz der restlichen 11 Spezies in Käse ist in der Fachliteratur hingegen gut dokumentiert. Mit *Lactobacillus parabuchneri* und *Lactobacillus curvatus* wurden zwei NSLAB Spezies nachgewiesen, die wiederholt aus stark mit biogenen Aminen belasteten Käsen isoliert wurden und die beide über eine gute Thermoresistenz verfügen. Die Fähigkeit zur Bildung von biogenen Aminen ist bei beiden Spezies ein stammspezifisches Merkmal. Stämme, die über diese Fähigkeit verfügen, haben einen selektiven Wachstumsvorteil in Käse, da sie aus diesem Stoffwechsel Energie gewinnen können. Auch die Fähigkeit zum Abbau von Citrat ist bei vielen Spezies ein stammspezifisches Merkmal, welches das Wachstum dieser sogenannten Citrat-positiven Stämmen unterstützt. Die Bildung von biogenen Aminen und der Abbau von Citrat führen beide zu einer Freisetzung von CO<sub>2</sub>. Die Gasbildung durch diese beiden Stoffwechsel beeinflusst auch die Lochbildung und die Lagerstabilität der Käse.

**Tabelle 19:** Metabolische Eigenschaften und Bedeutung von Spezies, die im Mikrobiom von mindestens einem der untersuchten 21 Walliser Raclette in einer relativen Abundanz von  $\geq 1\%$  enthalten waren.

| Spezies                           | Milchsäuregärung | Laktat-Isomere | Citrat-abbau | Bildung von BGA (Häufigkeit / Intensität) | Bedeutung für die Käsequalität  |
|-----------------------------------|------------------|----------------|--------------|---|---|
| <i>Lactobacillus brevis</i>       | OH               | DL             | cit+         | mässig / mässig (Tyr, Put, His, PEA)      | Minorbestandteil in der Sekundärflora von Cheddar und anderen Käsen   |
| <i>Lactobacillus coryniformis</i> | FH               | D(-)           | cit-         | mässig / mässig (His)                     | Die Spezies ist oft Bestandteil des Mikrobioms von fermentierten Gemüsen und Silagen; Stämme mit Bildung von Bacteriocinen (Reuterin); Isolate aus Churpi Käse (Yakmilchkäse), Ziegenmilchkäse und Histamin bildendes Isolat aus Tête de Moine (FAM 23050). |
| <i>Lactobacillus curvatus</i>     | FH               | DL             | cit-         | mässig / stark (Tyr, Put, His)            | Minorbestandteil in der Sekundärflora von gereiften Käsen (z.B. Cheddar). BGA bildende Stämme dieser Spezies sind oft auch in Käsen mit stark erhöhtem Gehalt an BGA enthalten.   |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i>  | H                | D(-)           | cit-         | nicht erwiesen                            | Bestandteil von Käsekulturen, Milchsäuregärung (Endsäuerung), Proteolyse  |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>   | H                | DL             | cit-/cit+    | nicht erwiesen                            | Bestandteil von Käsekulturen, Milchsäuregärung (Endsäuerung), Proteolyse  |
| <i>Lactobacillus parabuchneri</i> | OH               | DL             | cit-         | häufig / stark (His)                      | oft präsent in unangenehm brennend Käsen, Hauptverursacher von stark erhöhten Histamingehalten in Käsen   |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>    | FH               | DL             | cit+/cit-    | nicht erwiesen                            | Gasbildung (CO <sub>2</sub> ) / Lochbildung, durch cit+ Stämme, antagonistische Effekte gegen Enterokokken (Nahrungskonkurrenz Citrat) und Propionsäurebakterien. Präsent in der Sekundärflora diverser Käse wie Gruyère, Cheddar etc.                      |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>     | FH               | DL             | cit+/cit-    | nicht erwiesen                            | Spezies wurde aus Pflanzen, Salzlake von Oliven, Milch sowie aus L'Etivaz, traditionellem Feta, Fiore Sardo Schafkäse und Serpa Weichkäse isoliert. Aromaförderung durch Bildung von Acetat, Succinat beim Abbau von Citrat                                 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>    | FH               | DL             | cit+/cit-    | mässig / mässig (Put, Cad, His)           | Bildung von Diacetyl und Acetoin aus Citrat, einzelne Stämme können Putrescin und Tyramin abbauen. Förderung der sekundären Proteolyse in Käse. Häufiger Bestandteil der Sekundärflora von Cheddar  |
| <i>Lactobacillus sunkii</i>       | OH               | DL             | ?            | nicht erwiesen                            | Die Spezies wurde isoliert aus Sunki, einer traditionellen japanischen Gemüsezubereitung, die aus fermentierten, essigsauen Rübenblättern besteht. Keine Angaben zum Vorkommen in Käse in der Literatur verfügbar.  |
| <i>Lactococcus lactis</i>         | H                | L(+)           | cit+/cit-    | nicht erwiesen                            | Bestandteil von Käsekulturen, Milchsäuregärung, Bildung von Diacetyl, Acetoin und CO <sub>2</sub> , Lochbildung   |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | H                | L(+)           | cit-         | sehr selten (His)                         | Bestandteil von Käsekulturen, Milchsäuregärung (schnelle Anfangssäuerung)   |

H = homofermentativ; FH = fakultativ heterofermentativ; OH = obligat heterofermentativ

Cit+ = Citrat positive Stämme (bauen Citrat ab); Cit- = Citrat-negative Stämme (können Citrat nicht vergären)

Biogene Amine (BGA); Cad = Cadaverin; Put = Putrescin; His = Histamin; PEA = 2-Phenylethylamin; Tyr = Tyramin

## 7.2.2 Rindenmikrobiom

Wie bereits in Tabelle 16 aufgezeigt, wurden in der Rinde insgesamt 203 Bakterienspezies nachgewiesen. Davon waren 34 Spezies in der Rinde sämtlicher Käse nachweisbar, 94 Spezies waren in mehr als der Hälfte der Käse

nachweisbar, 156 Spezies waren in mindestens zwei der untersuchten Käse nachweisbar, weitere 47 Spezies wurden nur in einem der untersuchten Käse detektiert. Diese Angaben verdeutlichen, dass das Rindenmikrobiom von geschmierten Käsen eine sehr komplexe und artenreiche Zusammensetzung aufweist. Die in Tabelle 20 aufgeführten 32 Spezies waren in mindestens einem der 21 untersuchten Käse in einer relativen Abundanz von  $\geq 1\%$  enthalten. Zusammen deckten sie durchschnittlich  $96 \pm 1\%$  des Rindenmikrobioms ab (Minimum 92%, Maximum 98%).

**Tabelle 20:** Charakteristische Spezies im Rindenmikrobiom von Walliser Raclette GUB, sortiert nach deren durchschnittlichen relativen Abundanz.

| Spezies (n=32)                             | Phylum         | Prävalenz | relative Abundanz (%) |                |        |       |        |
|--|----------------|-----------|-----------------------|----------------|--------|-------|--------|
|  |                |           | Mittel                | S <sub>x</sub> | Median | Min   | Max    |
| <i>Corynebacterium casei</i>               | Actinobacteria | 21        | 24.757                | 9.485          | 24.344 | 9.162 | 47.137 |
| <i>Halomonas variabilis</i>                | Proteobacteria | 21        | 13.369                | 9.801          | 11.725 | 0.252 | 32.339 |
| <i>Sphingobacterium lactis</i>             | Bacteroidetes  | 21        | 10.833                | 6.865          | 9.800  | 0.224 | 27.711 |
| <i>Brevibacterium aurantiacum</i>          | Actinobacteria | 21        | 5.699                 | 2.414          | 4.785  | 2.690 | 10.438 |
| <i>Psychrobacter celer</i>                 | Proteobacteria | 21        | 5.001                 | 5.987          | 3.262  | 0.143 | 29.300 |
| <i>Sphingobacterium alimentarium</i>       | Bacteroidetes  | 21        | 4.990                 | 3.934          | 5.454  | 0.032 | 12.885 |
| <i>Corynebacterium variabile</i>           | Actinobacteria | 21        | 4.760                 | 3.985          | 3.340  | 0.469 | 16.175 |
| <i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i> | Firmicutes     | 21        | 4.447                 | 3.778          | 3.746  | 0.958 | 18.530 |
| <i>Corynebacterium Species</i>             | Actinobacteria | 21        | 3.932                 | 3.486          | 3.658  | 0.034 | 13.352 |
| <i>Facklamia tabacinasalis</i>             | Firmicutes     | 21        | 3.866                 | 3.587          | 3.013  | 0.323 | 15.519 |
| <i>Halomonas alkaliphila</i>               | Proteobacteria | 21        | 2.821                 | 3.663          | 1.051  | 0.001 | 15.388 |
| <i>Clostridiisalibacter Species</i>        | Firmicutes     | 21        | 2.703                 | 3.168          | 1.381  | 0.004 | 13.705 |
| <i>Alkalibacterium Species G4</i>          | Firmicutes     | 21        | 1.234                 | 1.312          | 0.886  | 0.045 | 4.795  |
| <i>Anaerosphaera aminiphila</i>            | Firmicutes     | 19        | 1.039                 | 1.830          | 0.127  | 0.008 | 5.743  |
| <i>Corynebacterium terpenotabidum</i>      | Actinobacteria | 21        | 0.831                 | 0.548          | 0.641  | 0.081 | 2.188  |
| <i>Marinobacter Species ZS2-30</i>         | Proteobacteria | 21        | 0.793                 | 2.392          | 0.201  | 0.005 | 11.418 |
| <i>Peptoniphilus stercorisuis</i>          | Firmicutes     | 16        | 0.730                 | 2.404          | 0.004  | 0.001 | 10.014 |
| <i>Brevibacterium senegalense</i>          | Actinobacteria | 21        | 0.683                 | 0.405          | 0.661  | 0.251 | 1.784  |
| <i>Peptostreptococcus russellii</i>        | Firmicutes     | 17        | 0.635                 | 1.265          | 0.016  | 0.000 | 4.264  |
| <i>Vagococcus fluvialis</i>                | Firmicutes     | 21        | 0.409                 | 0.334          | 0.312  | 0.001 | 1.092  |
| <i>Enterococcus devriesei</i>              | Firmicutes     | 21        | 0.367                 | 0.440          | 0.228  | 0.010 | 1.718  |
| <i>Enterococcus pseudoavium</i>            | Firmicutes     | 20        | 0.365                 | 0.352          | 0.265  | 0.013 | 1.421  |
| <i>Streptococcus thermophilus</i>          | Firmicutes     | 16        | 0.361                 | 0.473          | 0.139  | 0.001 | 1.749  |
| <i>Staphylococcus equorum</i>              | Firmicutes     | 12        | 0.349                 | 0.332          | 0.233  | 0.101 | 1.399  |
| <i>Microbacterium trichothecenolyticum</i> | Actinobacteria | 21        | 0.312                 | 0.289          | 0.256  | 0.057 | 1.489  |
| <i>Sphingobacterium gobiense</i>           | Bacteroidetes  | 21        | 0.311                 | 0.412          | 0.126  | 0.001 | 1.696  |
| <i>Actinomycetaceae Species</i>            | Actinobacteria | 19        | 0.248                 | 0.398          | 0.040  | 0.000 | 1.650  |
| <i>Microbacterium imperiale</i>            | Actinobacteria | 19        | 0.246                 | 0.285          | 0.108  | 0.005 | 1.192  |
| <i>Lactococcus lactis</i>                  | Firmicutes     | 17        | 0.209                 | 0.259          | 0.102  | 0.003 | 1.044  |
| <i>Lactobacillus curvatus</i>              | Firmicutes     | 20        | 0.196                 | 0.276          | 0.062  | 0.003 | 1.009  |
| <i>Peptoniphilus coxii</i>                 | Firmicutes     | 14        | 0.173                 | 0.420          | 0.037  | 0.000 | 1.665  |
| <i>Bavariococcus seileri</i>               | Firmicutes     | 19        | 0.096                 | 0.305          | 0.017  | 0.001 | 1.385  |

Neben Bakterien gehören auch Hefen und Schimmel zum Rindenmikrobiom, die jedoch mit der angewendeten Methode nicht erfasst wurden. Das bakterielle Rindenmikrobiom zeigte mit *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* und *Lactobacillus curvatus* nur eine geringe Überschneidung mit dem Teigmikrobiom. Die Präsenz von *Streptococcus thermophilus* und *Lactococcus lactis* lässt sich damit erklären, dass diese beiden Spezies im Käseteig

sehr dominant vertreten waren und dass bei Mikrobiomanalysen auch die DNA von abgestorbenen Zellen erfasst wird. Ein Wachstum dieser beiden homofermentativen Milchsäurebakterien in der Käserinde ist eher unwahrscheinlich.

Die in der Rinde von Walliser Raclette vorhandenen Bakterienspezies gehören zu vier Phyla: Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes und Bacteroidetes. Am stärksten vertreten waren die Actinobacteria (41.5%), vor allem die gewöhnlichen Spezies, die die Käseoberfläche besiedeln, wie *Corynebacterium* spp., *Brevibacterium* spp. und *Microbacterium* spp. Diese tragen bekanntlich zum Käsearoma und/oder der Rindenfarbe bei. Andere gewöhnlichen Actinobacteria wie *Brachybacterium* spp. scheinen in der Rinde von Walliser Raclette eine untergeordnete Rolle zu spielen. Das zweithäufigste Phylum waren die Proteobacteria (22.0%) mit *Halomonas* spp. und *Psychrobacter celer*. In den letzten 10 Jahren wurden diese Spezies mit Hilfe von kulturunabhängigen Methoden als wesentlicher Teil des Rindenmikrobioms erkannt (Irlinger et al., 2012, Wolfe et al., 2014, Dugat-Bony et al., 2016, Quijada et al., 2018). Ihre genaue Rolle in der Reifung ist noch wenig erforscht. Firmicutes (17.2%) waren das dritthäufigste Phylum. Darin enthalten waren fakultativ anaerobe halophile und alkaliphile (FAHA) Spezies wie z.B. *Marinilactibacillus psychrotolerans*. Ihre Rolle als Schutz gegen Listerien in der Rinde von Raclette wurde an Agroscope untersucht (Roth, 2011). Gut vertreten waren auch Spezies von anaeroben Bakterien wie *Anaerosphaera aminiphila*. Ihre hohe relative Abundanz ist unerwartet und ihre Rolle noch unbekannt. Mit Rinden assoziierte Milchsäurebakterien (*Vagococcus fluvialis*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus curvatus* und *Bavariicoccus seileri*) und koagulase negative Staphylokokken waren in kleinen Mengen ebenfalls vorhanden. Bei den Bacteroidetes (16.1%) waren *Sphingobacterium* spp. in unerwartet hohen relativen Abundanzen vorhanden. Diese Spezies stammen wahrscheinlich aus der Rohmilch, die für die Herstellung von Walliser Raclette verwendet wird (Hantsis-Zacharov, 2007) und wurden bereits in der Rinde von lange gereiften Rohmilchkäsen nachgewiesen (Quijada et al., 2018). Mit ihren lipolytischen Eigenschaften könnten sie einen Beitrag zum Käsearoma leisten (Hantsis-Zacharov, 2007).

Die Zusammensetzung des Rindenmikrobioms von Walliser Raclette hängt von den Reifungsbedingungen sowie von den Interaktionen zwischen den einzelnen Mikroorganismen ab. *Corynebacterium* und *Psychrobacter* spp. sowie der Schimmel *Fusarium* sind stark mit der Rinde von geschmierten Käse assoziiert. Die Anwesenheit von *Fusarium* ist zudem positiv mit *Corynebacterium* spp., *Sphingobacterium* spp. und *Halomonas* spp. assoziiert (Wolfe et al., 2014).

### 7.2.3 Betriebsspezifische Unterschiede im Teig- und Rindenmikrobiom

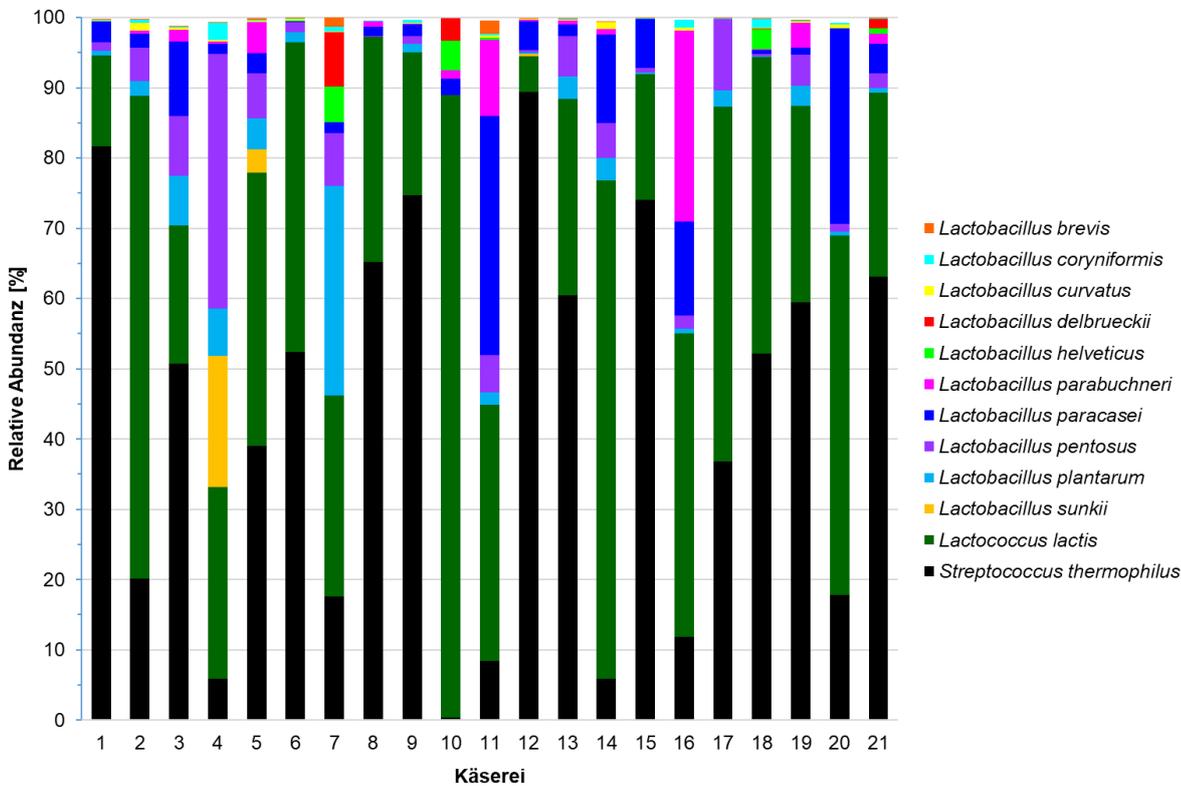
Walliser Raclette GUB wird aus roher Kuhmilch hergestellt. Das Brennen und Ausrühren des Käsebruchs erfolgt bei Temperaturen im Bereich von 36-45 °C, so dass nur eine schwache thermische Inaktivierung von hitzelabilen Mikroorganismen erfolgt. Die Zusammensetzung des Teigmikrobioms von Walliser Raclette GUB wird hauptsächlich durch die zugesetzten Kulturen, das Mikrobiom der verarbeiteten Rohmilch und durch betriebsspezifische Einflüsse («Betriebsflora») geprägt. **Tabelle 21** enthält quantitative Angaben zur betriebsspezifischen Zusammensetzung des Teig- und Rindenmikrobioms. Im Durchschnitt wurden im Teigmikrobiom der 21 untersuchten Käse  $18 \pm 4$  Spezies nachgewiesen, wovon  $5 \pm 1$  Spezies in einer relativen Abundanz von  $> 1.0\%$  enthalten waren. Die Unterschiede in der Artenvielfalt zwischen den 21 Herstellbetrieben waren beträchtlich. Der Käse Nr. 4 wies mit 27 nachgewiesenen Spezies die höchste Artenvielfalt auf. Der Käse Nr. 10 wies mit total 8 Spezies und im Vergleich mit den Käsen aus allen anderen Betrieben eine erstaunlich geringe Artenvielfalt auf.

Im Rindenmikrobiom der 21 Käse wurden durchschnittlich  $92 \pm 11$  verschiedene Spezies gefunden, davon waren  $12 \pm 2$  der nachgewiesenen Spezies in einer relativen Abundanz von  $\geq 1\%$  enthalten (Minimum 8 Spezies, Maximum 16 Spezies). Die Rinde von Betrieb 9 wies mit 119 Spezies die höchste Artenvielfalt auf, während der Käse von Betrieb 10 mit nur 72 Spezies eine deutlich tiefere Artenvielfalt zeigte.

**Tabelle 21:** Anzahl der nachgewiesenen Spezies im Käseteig (DNA) und der Rinde der 21 untersuchten Walliser Raclette Käsen unterschiedlicher Herkunft. (gelb = Maximalwerte, rot = Minimalwerte)

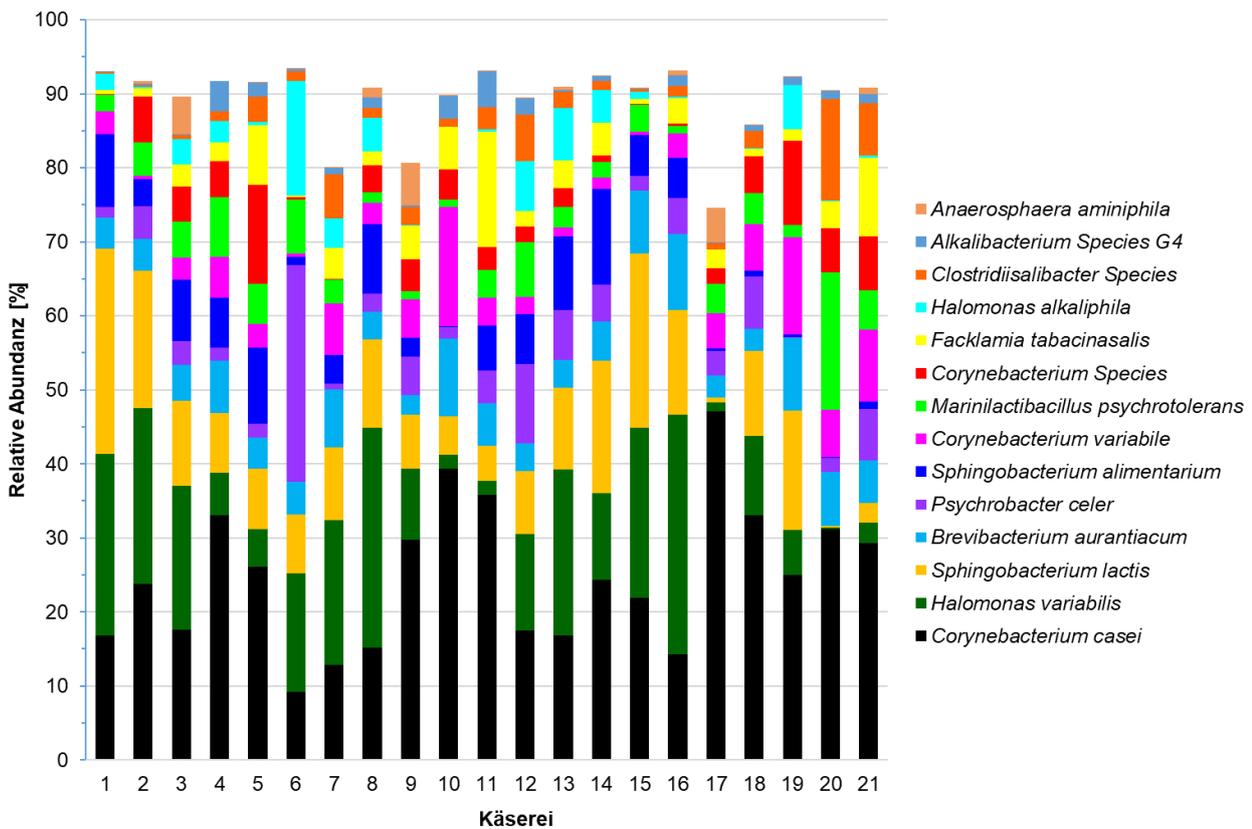
| Käse Nr.                    |             | Mittelwert | s <sub>x</sub> | 1  | 2  | 3  | 4  | 5   | 6  | 7   | 8  | 9   | 10  | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18  | 19  | 20 | 21 |
|-----------------------------|-------------|------------|----------------|----|----|----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|----|----|
| Total nachgewiesene Spezies | Teig (DNA)  | 18         | 4              | 18 | 19 | 22 | 27 | 19  | 18 | 14  | 14 | 16  | 8   | 20 | 20 | 17 | 21 | 17 | 17 | 14 | 15  | 21  | 17 | 21 |
| Anzahl Spezies > 1.0%       |             | 5          | 1              | 4  | 6  | 6  | 7  | 7   | 4  | 8   | 3  | 5   | 5   | 7  | 3  | 5  | 5  | 3  | 6  | 4  | 4   | 6   | 4  | 6  |
| Anzahl Spezies < 1.0%       |             | 13         | 4              | 14 | 13 | 16 | 20 | 12  | 14 | 6   | 11 | 11  | 3   | 13 | 17 | 12 | 16 | 14 | 11 | 10 | 11  | 15  | 13 | 15 |
| Total nachgewiesene Spezies | Rinde (DNA) | 92         | 11             | 78 | 98 | 96 | 82 | 102 | 99 | 101 | 87 | 119 | 72  | 91 | 92 | 91 | 88 | 89 | 85 | 91 | 113 | 89  | 76 | 98 |
| Anzahl Spezies > 1.0%       |             | 12         | 2              | 11 | 8  | 12 | 15 | 12  | 10 | 13  | 16 | 15  | 12  | 12 | 14 | 12 | 11 | 9  | 10 | 14 | 13  | 12  | 11 | 15 |
| Anzahl Spezies < 1.0%       |             | 80         | 11             | 67 | 90 | 84 | 67 | 90  | 89 | 88  | 88 | 71  | 104 | 60 | 79 | 78 | 79 | 77 | 80 | 75 | 77  | 100 | 77 | 65 |

**Abbildung 9** zeigt die betriebspezifischen Unterschiede in der Zusammensetzung des Teigmikrobioms. Aus der Graphik kann gefolgert werden, dass in praktisch allen Betrieben eine Kombination von *Streptococcus thermophilus* und *Lactococcus lactis* als Säuerungskultur eingesetzt wurde. Einzig im Käse von Betrieb 10 war die relative Abundanz von *Streptococcus thermophilus* mit 0.3% sehr gering. In einigen Käsen wurden auch erhöhte relative Abundanzen der beiden homofermentativen Spezies *Lactobacillus delbrueckii* (Käse 7, 10, 21) und *Lactobacillus helveticus* (7, 10, 18 und 21) festgestellt. Betriebspezifische Abklärungen ergaben, dass diese Betriebe neben *Streptococcus thermophilus* und *Lactococcus lactis* auch eine thermophile Mischkultur aus *Lactobacillus helveticus* und *Lactobacillus delbrueckii* verwenden. Im Käse aus Betrieb Nr. 4, welcher die höchste Artenvielfalt aufwies, war die relative Abundanz der mit den Kulturen zugesetzten homofermentativen Milchsäurebakterien mit 33% auffallend tief (Mittelwert 81 ± 18%). In der Gruppe der NSLAB dominierten je nach Herkunft der Käse verschiedene Spezies die Zusammensetzung. Käse 4 wies eine sehr hohe relative Abundanz an *Lactobacillus pentosus* und *Lactobacillus sunkii* auf, in Käse 7 war *Lactobacillus plantarum* stark vertreten, Käse 11 und 20 enthielten hohe Anteile an *Lactobacillus paracasei* und in Käse 16 war *Lactobacillus parabuchneri* die dominante NSLAB Spezies. Diese Beispiele illustrieren sehr eindrücklich, dass die 21 untersuchten Käsen neben vielen Gemeinsamkeiten auch grosse betriebspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des Teigmikrobioms aufwiesen, was sich vermutlich auch auf die organoleptischen Eigenschaften der Käse auswirkte.



**Abbildung 9:** Vergleich der Zusammensetzung des Teigmikrobioms von Walliser Raclette GUB von 21 verschiedenen Käsereien (In der Grafik wurden nur jene 12 Spezies berücksichtigt, die in mindestens einem der 21 untersuchten Käse eine relative Abundanz von ≥ 1% aufwiesen).

**Abbildung 10** zeigt die betriebsspezifischen Unterschiede in der bakteriellen Zusammensetzung des Rindenmikrobioms. Die 14 berücksichtigten Spezies deckten je nach Herkunft der Käse zwischen 75 und 94% des bakteriellen Mikrobioms ab (Mittelwert  $89 \pm 5\%$ ). Mit Ausnahme von *Anaerosphaera aminiphila* waren die 14 Bakterienarten in sämtlichen Rindenproben präsent. Der Vergleich der 21 Käse lässt erkennen, dass die bakteriellen Rindenmikrobiome der 21 Käse sehr viele Gemeinsamkeiten aufweisen. So waren Bakterienarten der Gattungen *Corynebacterium*, *Halomonas*, *Sphingobacterium* und *Brevibacterium* in nahezu allen Käserinden in hohen relativen Abundanz vertreten. Neben den vielen Gemeinsamkeiten gab es auch betriebsspezifische Besonderheiten: In der Rinde der Käse Nr. 7, 9 und 17 wurden noch weitere Spezies in relativen Abundanz von  $> 1\%$  gefunden. In der Rinde von Käse 7 waren *Marinobacter* Arten mit einer relativen Abundanz von über 11% besonders stark vertreten. Die Rinde von Käse Nr. 9 enthielt zusätzlich *Peptostreptococcus russellii*, *Enterococcus devriesei* und *Peptoniphilus coxii* in relativen Abundanz von  $\geq 1\%$  und in der Rinde von Käse 17 war die Spezies *Peptoniphilus stercorisuis* in einer auffallend hohen relativen Abundanz von 10% präsent. Diese drei Beispiele zeigen, dass neben den in **Abbildung 10** berücksichtigten 14 Spezies je nach Herstellbetrieb auch noch andere Spezies einen wichtigen Bestandteil im Rindenmikrobiom darstellen können.



**Abbildung 10:** Vergleich der Zusammensetzung des Rindenmikrobioms von Walliser Raclette GUB von 21 verschiedenen Käsereien (In der Grafik wurden nur jene 14 Spezies berücksichtigt, deren durchschnittliche relative Abundanz  $\geq 1\%$  war).

## 8 Literaturverzeichnis

- Ascone P., Maurer J., Haldemann J., Irmeler S., Berthoud H., Portmann R., Fröhlich-Wyder M.-T., Wechsler D. (2017). Prevalence and diversity of histamine-forming *Lactobacillus parabuchneri* strains in raw milk and cheese - a case study. *International Dairy Journal*, 70, 26-33.  
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.012>
- Collomb M., Spahni-Rey M., & Steiger G. (1990). Dosage de la teneur en azote selon Kjeldahl de produits laitiers et de certaines de leurs fractions azotées à l'aide d'un système automatisé. *Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène*, 81, 499–509.
- Dugat-Bony, E.; Garnier, L.; Denonfoux, J.; Ferreira, S.; Sarthou, A.S.; Bonnarme, P.; Irlinger, F. (2016). Highlighting the microbial diversity of 12 French cheese varieties. *International Journal of Food Microbiology* 238, 265-273. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.026>
- Egger L., Ménard O., Abbühl L., Duerr D., Stoffers H., Berthoud H., Meola M., Badertscher R., Blaser C., Dupont D., Portmann, R. (2021). Higher microbial diversity in raw than in pasteurized milk Raclette-type cheese enhances peptide and metabolite diversity after *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 340, 128154. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128154>
- Fröhlich-Wyder M. T. (2003). Der Appenzeller und seine Charakterisierung. Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, IB 4/2003.
- Fröhlich-Wyder M. T., Guggisberg D., Badertscher R., Wechsler D., Wittwer A., Irmeler S. (2013). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus parabuchneri* on the eye formation of semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 33, 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.03.004>
- Guggisberg D., Bütikofer U., Albrecht B. (2007). Melting and solidification characteristics of Swiss Raclette cheese measured by small amplitude oscillatory shear measurements. *Journal of Texture Studies* 38, 297-323.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2007.00099.x>
- Hantsis-Zacharov E., Halpern M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (22): 7162-7168 doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00866-07>
- IDF (2004). Cheese and processed cheese – determination of the total solids content (reference method). IDF Standard 4. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF (2006). Cheese and processed cheese products – determination of chloride content – potentiometric titration method. IDF Standard 88. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Irlinger, F., S.A.Y. I. Yung, A.-S. Sarthou, C. Delbes-Paus, M.-C. Montel, E. Coton, M. Coton, and S. Helinck. (2012). Ecological and aromatic impact of two Gram-negative bacteria (*Psychrobacter celer* and *Hafnia alvei*) inoculated as part of the whole microbial community of an experimental smear soft cheese. *International Journal of Food Microbiology* 153:332-338  
 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.022>
- Irlinger, F.; Layec, S.; Hélinck, S.; Dugat-Bony, E. (2014). Cheese rind microbial communities: Diversity, composition and origin. *FEMS Microbiology Letters*, 362, 1–11.  
 doi: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnu015>
- ISO (2002a). Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. ISO 15884:2002 (IDF 182: 2002). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2002b). Milk fat – Determination of the fatty acid composition by gas – liquid chromatography. ISO 15885:2002 (IDF 184:2002). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (1975). Cheese – determination of fat content – van gulik method. ISO standard 3433. Geneva, Switzerland: International Organisation for Standardisation.

- ISO (2006). Cheese – Determination of rheological properties by uniaxial compression at constant displacement rate. ISO 17996:2006 (IDF 205:2006). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO. (2007a). Milk – Determination of nitrogen content – Part 3: Block-digestion method (semi-micro rapid routine method). ISO 8968-3:2007 (IDF 20-3:2007). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO. (2007b). Milk and milk products – Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents – Atomic absorption spectrometric method. ISO 8070: 2007 (IDF 119:2007). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jakob E., Eugster E. (2016). Lebensmittelsicherheit von Käse: Verfahren zur Behandlung der Käsereimilch Agrarforschung Schweiz 7 (11–12): 476-483.
- Lavanchy P., Sieber R. (1993). Proteolyse in verschiedenen Hart- und Halbhartkäse: 1. Freie Aminosäuren. Schweiz. Milchw. Forsch. 22 (4), 59-64.
- Meola M., Rifa E., Shani N., Delbès C., Berthoud H., Chassard C. (2019). DAIRYdb: a manually curated reference database for improved taxonomy annotation of 16S rRNA gene sequences from dairy products. BMC Genomics 20, 560. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5914-8>
- Quijada, N.M.; Mann, E.; Wagner, M.; Rodríguez-Lázaro, D.; Hernández, M.; Schmitz-Esser, S. (2018). Autochthonous facility-specific microbiota dominates washed-rind Austrian hard cheese surfaces and its production environment. International Journal of Food Microbiology, 267, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.025>
- Roth E., Miescher Schwenninger S., Eugster-Meier E., Lacroix, C. (2011). Facultative anaerobic halophilic and alkaliphilic bacteria isolated from a natural smear ecosystem inhibit *Listeria* growth in early ripening stages. International Journal of Food Microbiology, 147: 26–32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.032>
- Wenzel C., Irmeler S., Bisig W., Guggisberg D., Roetschi A., Portmann R., Wechsler, D., Froehlich-Wyder M.-T. (2018). The effect of starters with a functional arginine deiminase pathway on cheese ripening and quality. International Dairy Journal 85, 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.008>
- Wolfe, B.E.; Button, J.E.; Santarelli, M.; Dutton, R.J. (2014). Cheese rind communities provide tractable systems for *in situ* and *in vitro* studies of microbial diversity. Cell, 158, 422–433. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.041>