

# Biogene Amine in Käse



Marie-Therese Fröhlich-Wyder

www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt

ARGE Heumilch Tirol

6. Februar 2025

## Inhaltlicher Ablauf



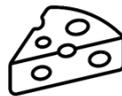
### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine

## Inhaltlicher Ablauf



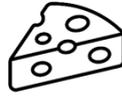
### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



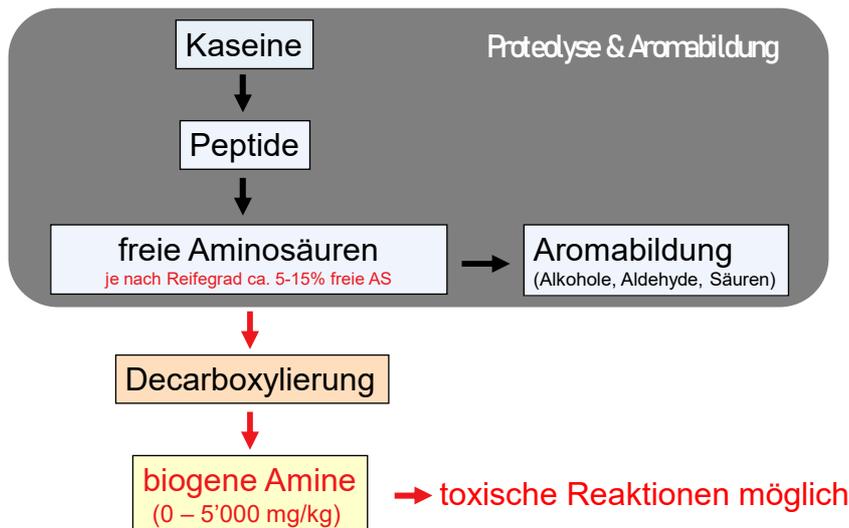
### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

3

## Wie entstehen biogene Amine?



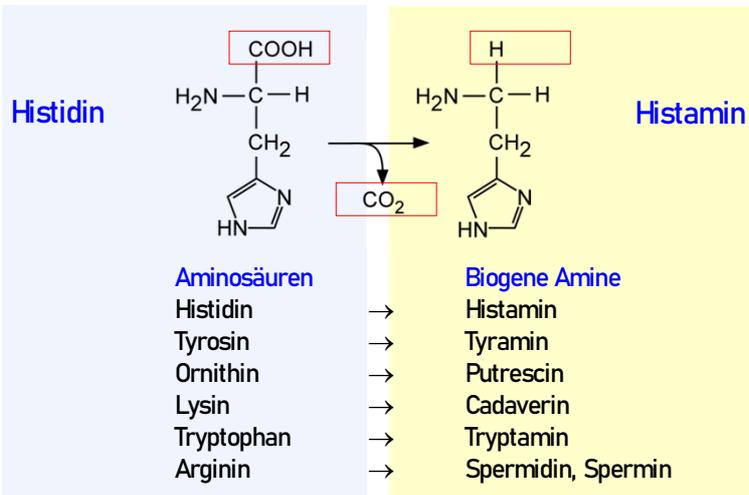
Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

BA =  
Biogene Amine

4



## Die Dekarboxylierung von Aminosäuren



Voraussetzungen:

- ① Freie Aminosäuren (Proteolyse!) und die
- ② entsprechenden Mikroorganismen

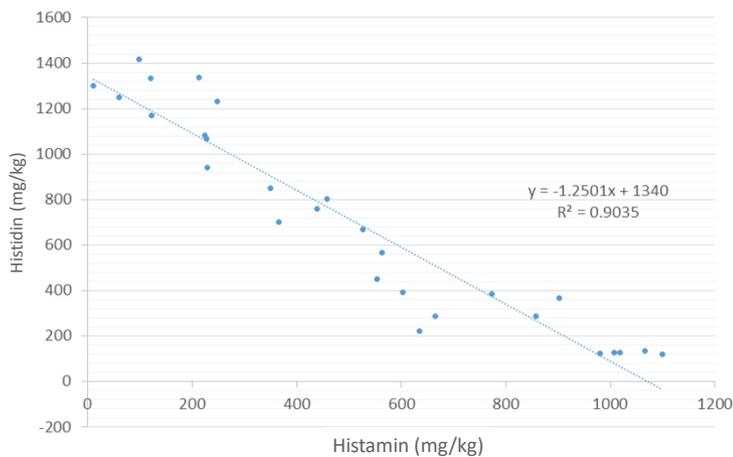
Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

BA =  
Biogene Amine

5



## ① Freie Aminosäuren: Bsp. Histidin

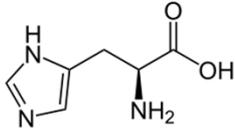


32 Halbhart-Käse aus  
Rohmilch  
(6 Monate / 8 Käsereien)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

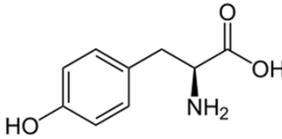
6

## ② Mikroorganismen: ein paar Beispiele



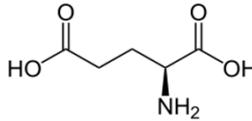
Histidin → Histamin + CO<sub>2</sub>

Stammspezifisch in:  
*Lentilactobacillus parabuchneri*



Tyrosin → Tyramin + CO<sub>2</sub>

Stammspezifisch in:  
*Levilactobacillus brevis*  
*Latilactobacillus curvatus*  
*Enterococcus spec.*



Glutaminsäure →  
γ-Aminobuttersäure (GABA)  
+ CO<sub>2</sub>

Stammspezifisch in:  
*Lentilactobacillus (para)buchneri*  
*Levilactobacillus brevis*  
*Lactiplantibacillus plantarum*

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

7

## Warum werden BA gebildet?



Die Mikroorganismen profitieren

⚡ Energiequelle (besseres Wachstum)

☂ Schutzsystem gegen Säurestress (erhöhte Vitalität)

Interaktionen sind möglich:

👤👤 säure-sensitive Bakterien können vom Schutz profitieren

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

8

## 🇨🇭 Wo kommen BA vor?



In geringen Mengen kommen biogene Amine überall vor, ohne dass Mikroorganismen beteiligt sein müssen.

- Spermin und Spermidin: in allen pflanzlichen und tierischen Lm und Lebewesen (wichtige physiologische Eigenschaften)
- Serotonin: Bananen, Walnuss, Ananas, Avocado (Einfluss auf Stimmung, Schmerzwahrnehmung und Schlaf)
- Phenylethylamin: Schokolade (Lust- und Glücksempfinden)
- Tryptamin: Tomate (wichtige Vorläufersubstanz)
- Unproblematisch



## 🇨🇭 Wo können BA in hohen Mengen vorkommen?



BA wie Histamin, Tyramin, Cadaverin und Putrescin können in Nahrungsmitteln vorkommen, die einen **Verderbnisprozess** oder eine (**unerwünschte**) **Fermentation** durchlaufen haben.

- Fische und Fischprodukte 
- Lang gereifte Käse (Reifung ~ Verderbnisprozess) 
- Sauerkraut 
- Natürlich fermentierte Würste 
- Fermentierte Getränke (z.B. Wein) 
- Fermentierte Sojaprodukte 
- Im Normalfall unproblematisch (Abbau erfolgt in der Darmschleimhaut)



## Histamin in Käse (2020 -2024)



<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>

European Commission | RASFF Window | Welcome [User]

Home > Search

Date: 01/01/2000 - 30/12/2024 | Countries: Any | Type: Any

Status: Any | Product: milk and milk products | Risk: Any

Reference: 1234 5678 | Subject: histamine | Search | Reset

Hide search criteria

2 NOTIFICATIONS

Reference	Category	Type	Subject	Date	Origin	Notifying	Classification	Decision
2022.6393	Milk and milk products	food	Elevated Levels of Histamine and Tyramine in Gruyere Raw Milk Cheese from France	2 NOV 2022	France	Ireland	alert notification	serious
2021.7104	Milk and milk products	food	Histamine in organic raw milk cheddar cheese from Ireland	23 DEC 2021	Ireland	Ireland	alert notification	serious

Items per page: 25 | Showing 1-2 of 2

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

11



## Cheddar aus bio. Rohmilch (IRE, 2021)



- Beschwerde: rote und juckende Zunge
- Meldung: Irland (amtliche Kontrollen)
- Menge: 743 mg/kg (ppm)
- Rückruf & Information der Bevölkerung: Irland

## Gruyère aus Rohmilch (F, 2022)

- Meldung: Irland (interne Messungen)
- Menge: 485 mg/kg (ppm)
- Rückruf: Irland & Belgien
- Information an Konsumenten: Niederlanden

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

12



# 1. Marktrückruf im 2012



Notification detail - 2012.0391

**Histamine (1227 mg/kg - ppm) in cheddar cheese from the Netherlands**

Reference : 2012.0391  
 Notification date : 14/03/2012  
 Last update : 11/04/2012  
 Notification type : food - alert - food poisoning  
 Action taken : withdrawal from the market  
 Notification from : UNITED KINGDOM (GB)  
 Distribution status : information on distribution not (yet) available  
 Product : cheddar cheese  
 Product category : milk and milk products

Follow up :

Reference	Follow-up from	Date	Follow-up type	Info

Hazards :

Substance / Hazard	Category	Analytical result	Units	Sampling date
Histamine	biocontaminants	1227	mg/kg - ppm	05/03/2012

Distributed to :  
 [ ITALY | SWEDEN | UNITED KINGDOM ]

Origin :  
 [ NETHERLANDS ]

Close this window

- Irischer Cheddar
- 1227 mg/kg Histamin
- exportiert via NL nach GB
- Vollzug interveniert in GB
- Rückruf in I, S, GB

**Kinder mit Symptomen → 1. Marktrückruf von Käse mit BGA!**  
 (Ähnlicher Fall mit CH-Emmentaler endete 2006 ohne RASFF-Eintrag)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
 M.T. Fröhlich-Wyder

13



# Grenz-/Höchstwerte nur für Histamin (EU)



Aber nicht in Milch- und Milchprodukten!



VERORDNUNG (EG) Nr. 2073/2005 DER KOMMISSION  
 vom 15. November 2005  
 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel  
 (Text von Bedeutung für den EWR)  
 (ABl. L 338 vom 22.12.2005, S. 1)

Code	Substance	Class	Limit 1	Limit 2	Units	Reference	Notes
▼M1 ↓							
1.26	Fishery products from fish species associated with a high amount of histidine <sup>(15)</sup>	Histamine	9 <sup>(18)</sup>	2	100 mg/kg	200 mg/kg	►M9 ↓ EN ISO 19343 ◀ Products placed on the market during their shelf-life
▼M5 ↓							
1.27	Fishery products, except those in food category 1.27a, which have undergone enzyme maturation treatment in brine, manufactured from fish species associated with a high amount of histidine <sup>(15)</sup>	Histamine	9 <sup>(18)</sup>	2	200 mg/kg	400 mg/kg	►M9 ↓ EN ISO 19343 ◀ Products placed on the market during their shelf-life
▼C5 ●							
1.27a	Fish sauce produced by fermentation of fishery products	Histamine	1	0	400 mg/kg		►M9 ↓ EN ISO 19343 ◀ Products placed on the market during their shelf-life

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
 M.T. Fröhlich-Wyder

14



## «Tolerierbare» Höchstgehalte in Käse (A)



Vorschlag der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES)

Biogenes Amin	Höchstgehalt	Portion Käse (40g)
Histamin	< 400 mg/kg	16 mg
Tyramin	< 1000 mg/kg	40 mg
Putrescin	< 180 mg/kg	7 mg
Cadaverin	< 540 mg/kg	22 mg
Phenylethylamin	< 25 mg/kg	1 mg

Die vorgeschlagenen Höchstwerte basieren auf der zu erwartenden Exposition der Konsumenten  
(**Exposition = Konzentration in einem LM x Verzehrsmenge**)



## QM Fromarte (CH)



Qualitätssicherungs- und Managementsystem: Branchenlösungen zur Qualitätssicherung mit einem Sollwert für Histamin

- < 500 mg / kg für Raclettekäse und Fonduemischungen
- < 750 mg / kg für alle übrigen Käse



## Fallbeispiele



Beratungstätigkeit Agroscope

- Grund für Analysen ist meist Geschmack oder Lochbildung

Datenbank von Agroscope

- Analysen von fehlerhaften Käsen, d.h. Verdacht auf biogene Amine
- Während den ersten 20 Jahren des neuen Jahrtausends
- N total = 1161

## Raclette Suisse & Raclette du Valais



Cadaverin	21 mg/kg
Histamin	945 mg/kg
Putrescin	< 2 mg/kg
Tyramin	454 mg/kg
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1506 mg/kg</b>

Cadaverin	382 mg/kg
Histamin	42 mg/kg
Putrescin	102 mg/kg
Tyramin	305 mg/kg
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>867 mg/kg</b>

- Aroma leicht atypisch, aber keine starken Fehler im Geruch und Geschmack
- Lochung atypisch gross, unsauber

## «Flösserkäse» & Emmentaler



Cadaverin	14 mg/kg
<b>Histamin</b>	<b>1132 mg/kg</b>
Putrescin	< 2 mg/kg
Tyramin	20 mg/kg
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1166 mg/kg</b>

<b>Histamin</b>	<b>630 mg/kg</b>
Putrescin	481 mg/kg
Tyramin	505 mg/kg
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1637 mg/kg</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

19

## Zeit für Fragen



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

20

## Gesundheitliche Aspekte



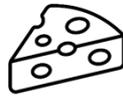
### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



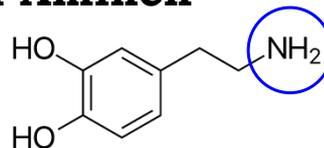
### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

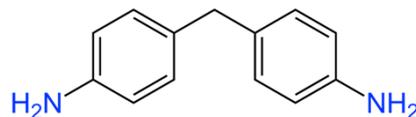
21

## Funktion von biogenen Aminen



### Monoamine:

- Neurotransmitter (Serotonin, Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin) = Stress- und Glückshormone, Regulation Nahrungsaufnahme, Coenzym, Vorstufe von Vitaminen & Hormonen. Auch Tyramin ist ein Monoamin (Intoleranzen)



### Diamine:

- Histamin (Gewebshormon, an Immunabwehr beteiligt, Intoleranzen), Putrescin, Cadaverin (Verwesung, Fleischfäulnis, Enterobakterien)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

Von Jü - Eigenes Werk, Gemeinfrei,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=81407454>

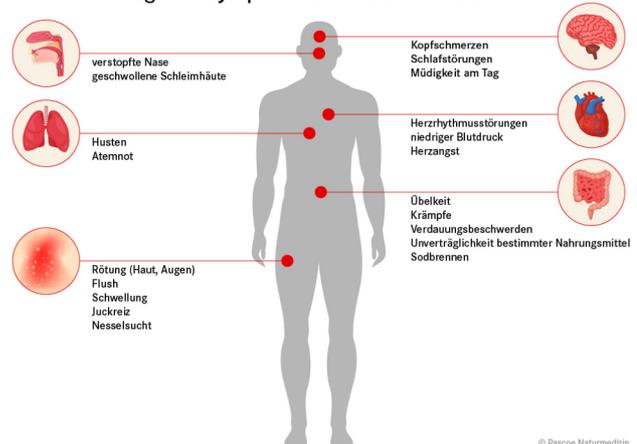
22

## Histamin – Toxische Effekte

- **Toxische Dosis:** zwischen 100 bis zu 225 mg.  
Bei Personen mit erhöhter Histaminsensibilität (Histaminintoleranz) können bereits 8 - 40 mg Histamin erste Vergiftungserscheinungen hervorrufen.
- **Symptome:** Hautsymptome (Rötungen, Ausschlag, Oedeme), Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall
- **Ursache:** Störung im Abbau von Histamin oder Einnahme von Dioxidase Hemmern (DAO); Überproduktion im Körper



Mögliche Symptome bei Histaminintoleranz



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder  
Quelle Foto Nesselsucht: [www.zdf.de](http://www.zdf.de)

## Tyramin – Toxische Effekte

- **Toxische Dosis:** 25 bis 250 mg (keine klinischen Untersuchungen)
- von gesunden Personen meist ohne grössere Probleme vertragen: wird durch Monoaminoxidasen (MAO) abgebaut!
- Vorsicht geboten ist bei der Einnahme von MAO Hemmern: Tyramin wird schlecht abgebaut!  
«Cheese Effekt» = starke Blutdrucksteigerung!
- **Symptome:** hoher Blutdruck, bohrende Kopfschmerzen (Migräne), Schwindel, Sehstörungen, Überempfindlichkeit gegen Licht, Gerüche und Geräusche, Übelkeit, Durchfall, Erbrechen



Artikel zu cheese Effekt:

- [https://www.das-pta-magazin.de/downloadfile/3448494/pages\\_3448284\\_46\\_47\\_48.pdf](https://www.das-pta-magazin.de/downloadfile/3448494/pages_3448284_46_47_48.pdf)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

## Beispiele – toxische Dosis erreicht mit ~100 g



Cadaverin	21 mg/kg
<b>Histamin</b>	<b>945 mg/kg</b>
Putrescin	< 2 mg/kg
<b>Tyramin</b>	<b>454 mg/kg</b>
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1506 mg/kg</b>



Cadaverin	14 mg/kg
<b>Histamin</b>	<b>1132 mg/kg</b>
Putrescin	< 2 mg/kg
Tyramin	20 mg/kg
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1166 mg/kg</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

25

## Aufnahme durch Lebensmittel

Im Normalfall unproblematisch (körpereigene Regulation)

- Abbau in der Darmschleimhaut
  - Monoaminoxidase (MAO); z.B. Tyramin
  - Diaminoxidase (DAO); z.B. Histamin



Ausnahmen:

- Histamin-Intoxikationen (Fisch-Vergiftung)
- Histamin-Intoleranz (individuelle Pseudoallergie)
- Tyramin-Intoleranz („Cheese-Effect“)
- Chronische Darmerkrankungen (Durchlässigkeit)
- Medikamente mit MAO/DAO-hemmender Wirkung
- Gleichzeitiger Alkoholkonsum ungünstig

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

26

## Zeit für Fragen



## Einfluss auf die Käsequalität



### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine



## Jetzt sind Sie an der Reihe



<https://www.mentimeter.com/app/presentation/alveexvcp9izr5f6xar46x9k5aeqjrmj/edit?source=share-invite-modal>



## Appenzeller (9 Mt) mit



bissal brennen auf zunge  
riecht nach säure nassschmierig  
geschmackig leichtes brennen  
leicht herb unrein herb  
etwas scharf brennen  
scharf gut intensiv langanhaltend faulig unrein | sehr gut  
brennt a biBi  
brennen auf zunge  
bissal brennen auf gaumen



## Französischer Käse mit 1400 mg Histamin



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

31



## BA beeinflussen die Käsequalität



### Sensorische Wahrnehmung

- Histamin: scharf, brennend, stechend, beissend («brennt auf der Zunge»)
- Tyramin: leicht bitter, würzig, eher nicht dominant
- Cadaverin: bitter, eher geruchsaktiv als faulig, aasartig
- Putrescin: bitter, eher geruchsaktiv als fischig, faulig, nach Verwesung



### Reifung

- Alle BA: pH-Wert steigt; schnellere bzw. andere Reifung
- Ursache: H<sup>+</sup> werden gebunden & BA sind alkalischer

### Aussehen

- Alle BA: gebläht, Risse, zu viele Löcher, zu grosse Löcher
- Ursache: Bei der Dekarboxylierung von Aminosäuren entsteht CO<sub>2</sub>



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

32

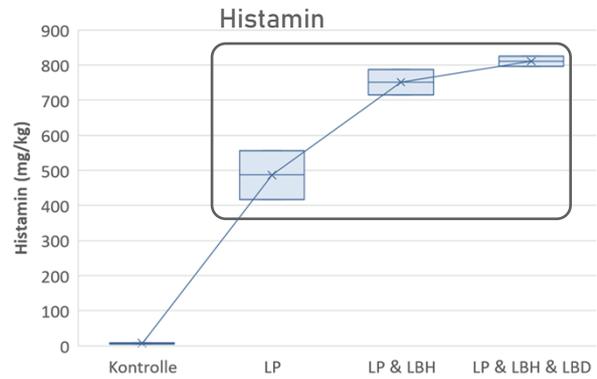
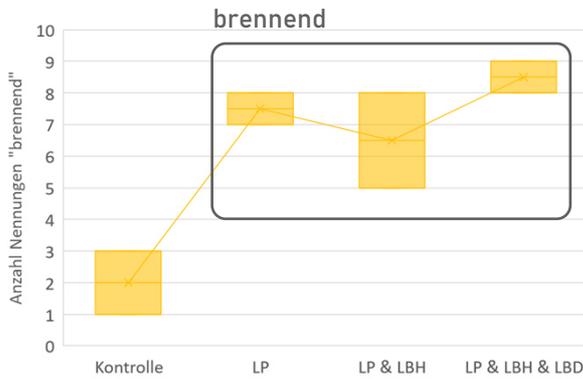
Bildquelle brennende Zunge: [As Many Exceptions As Rules: Maybe We Do Taste The Burn](#)



## Histamin ist auch im Käse brennend



Das Sensorik Panel von Agroscope beschreibt Histamin haltigen Käse des Typs Tilsiter mehrfach als brennend!



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

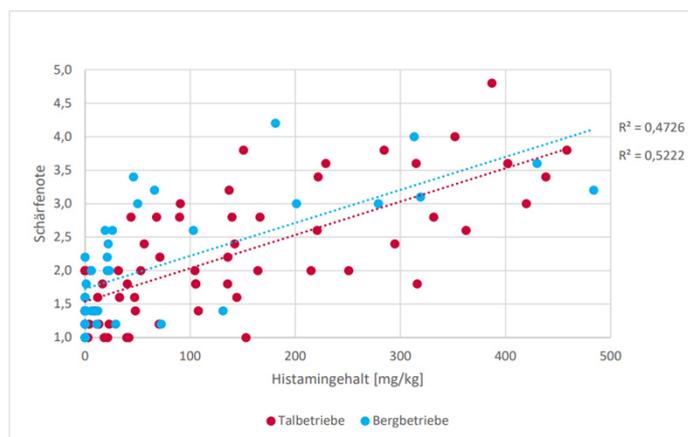
33



## Ein Resultat aus dem Tirol & Voralberg



Abbildung 3 Durchschnitts-Schärfenoten gegen Histamin-Gehalt der Käse



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

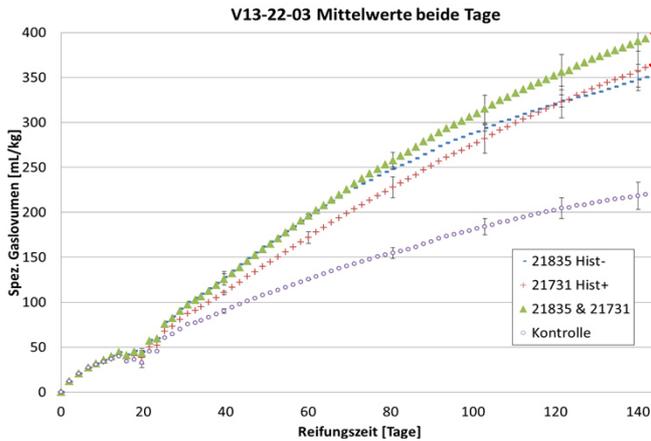
34

Quelle: [https://dafne.at/content/report\\_release/a9ae66bd-621c-4df9-9d47-9cc348b2d78b\\_0.pdf](https://dafne.at/content/report_release/a9ae66bd-621c-4df9-9d47-9cc348b2d78b_0.pdf) [Biogene Amine in Bergkäse](#)





## CO<sub>2</sub> von BA beeinflusst die Lochbildung



Histamin-bildender *L. parabuchneri* Stamm (21731):

- Käse Typ Tilsiter in den Gasvolumenmonitoren

Insbesondere zu einem späteren Zeitpunkt während der Reifung:

- Käseteig ist weniger elastisch; die Gefahr für Lochungsfehler ist somit grösser

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

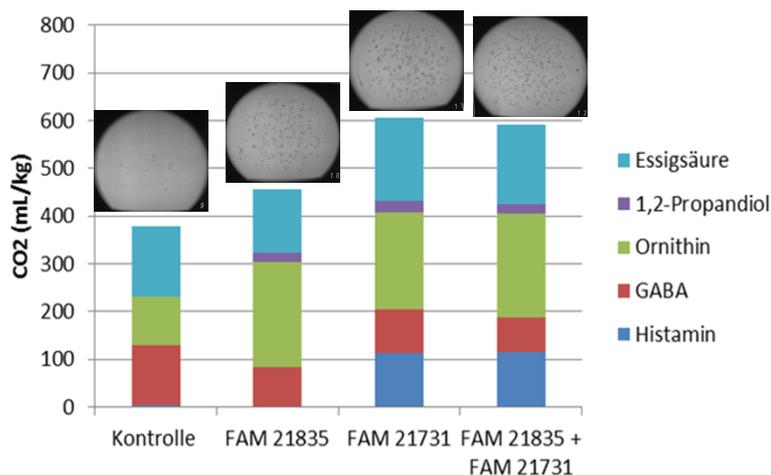
37



## 500 mg Histamin ~ 100 mL CO<sub>2</sub>\*



\* Unter Normalbedingungen



Die zusätzlich gebildete Menge an CO<sub>2</sub> ist nicht unwesentlich!

- Mittlerer Gehalt an Histamin von ~580 mg/kg (N = 3)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

38



## Wie wird die Bildung von BA beeinflusst?

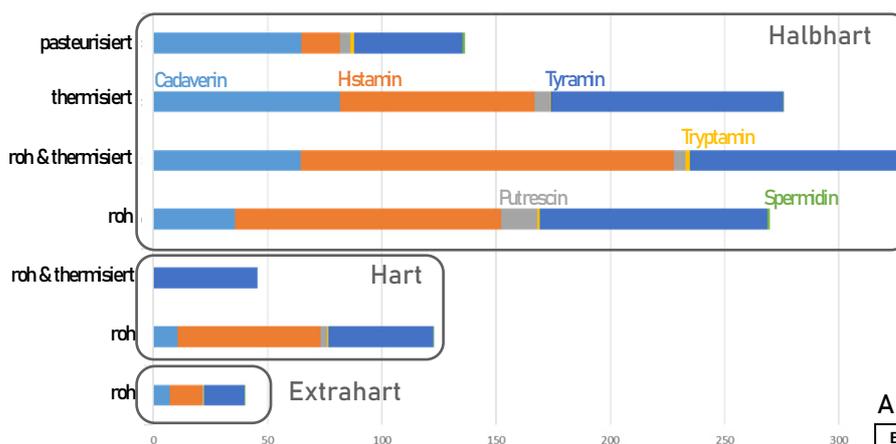


Aus verschiedenen Versuchen und der Praxiserfahrung

- Milchqualität insbesondere Zusammensetzung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur (~Härtestufe)
- Art der Reifung
- Dauer der Reifung
- Anfängliche mikrobielle Kontaminationslast



## Milchbehandlung & Härtestufe



Histamin:

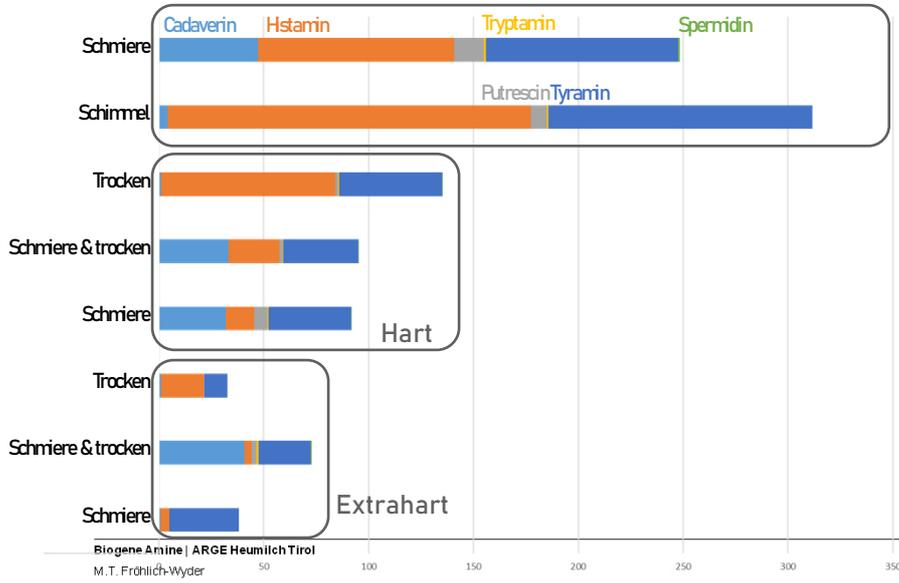
- Rohmilch
- (Halb)hart

Anzahl Proben

Extrahart	roh	45
	roh	380
Hart	roh & thermisiert	3
	roh	521
Halbhart	roh & thermisiert	83
	thermisiert	46
	pasteurisiert	83



# Oberflächenreifung & Härtestufe



Cadaverin:  
■ Schmiere!!

## Anzahl Proben

Halbhart	Schimmel	26
	Schmiere	707
Hart	Schmiere	107
	Schmiere & trocken	10
	trocken	266
Extrahart	Schmiere	10
	Schmiere & trocken	7
	trocken	28

41

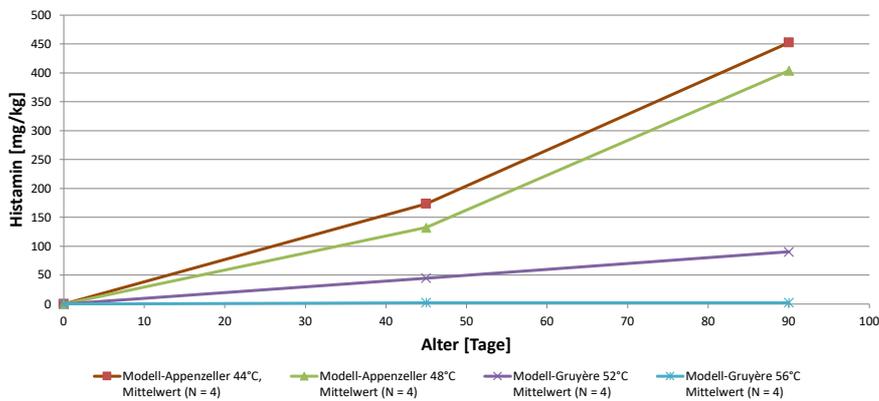
41



# Brenntemperatur und *L. parabuchneri*



Keine Bildung von Histamin bei Brenntemperaturen  $\geq 56^\circ\text{C}$

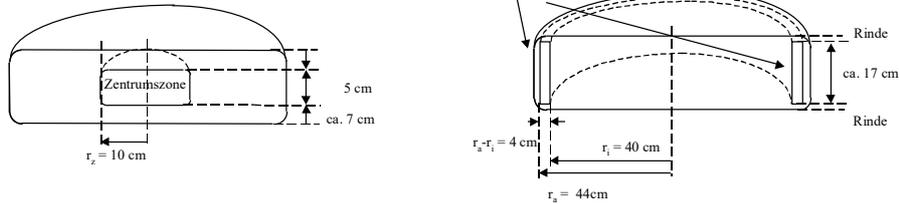


Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

42

42

## Zonale Unterschiede in Emmentaler (6.5 Mte)



Käsesorte	Cadaverin	Histamin	Putrescin	Tyramin	Summe biogene Amine
Emmentaler Gemisch	< 2	171	< 2	8	180
Emmentaler Rand	2	349	< 2	14	369
Emmentaler Zentrum	< 2	22	< 2	< 2	24

→ Sehr langsame Abkühlung

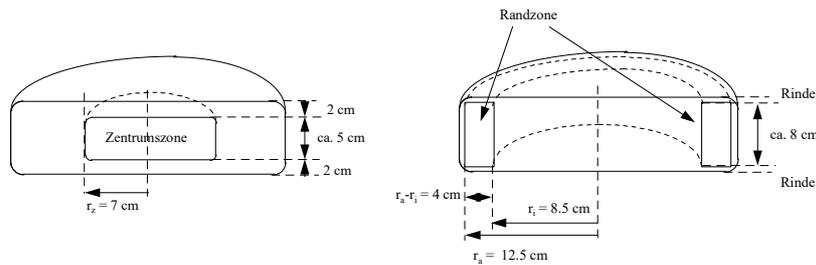
Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

Quelle: Versuch AP 28 / Homogenitätsversuch (LIMS 10816;1998)

43

43

## Zonale Unterschiede in Tilsiter (3 Mte)



Käsesorte	Cadaverin	Histamin	Putrescin	Tyramin	Summe biogene Amine
Tilsiter Gemisch	51	153	4	152	382
Tilsiter Rand	53	100	< 2	244	422
Tilsiter Zentrum	49	187	5	60	309

→ Unterschiedlicher Trend für Histamin und Tyramin

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder  
Quelle: Versuch AP 28 / Homogenitätsversuch (LIMS 10816;1998)

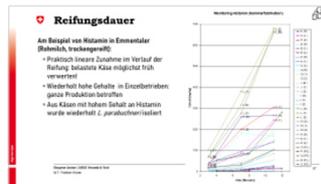


44



STILX

## Exkurs – Schmiere als Quelle von BA Bildnern



## Praxisfall ① Raclettescheiben verpackt



STILX



Gasanalyse zeigt:  
Bombage durch CO<sub>2</sub>

Cadaverin	mg/kg	3071
Histamin	mg/kg	0
Putrescin	mg/kg	877
β-Phenylethylamin	mg/kg	349
Tryptamin	mg/kg	23
Tyramin	mg/kg	1037
<b>Summe BGA</b>	<b>mg/kg</b>	<b>5357</b>

## Praxisfall ② fehlerhafter Tisiter



- Tilsiter mit fehlerhafter Schmiere
- starke Bildung div. flüchtiger Carbonsäuren
- starke Bildung von Cadaverin (pH-Wert ↑)

Merkmal	Rinde	Randzone	Zentrum
Total flüchtige Carbonsäuren	64.9	49.3	36.0
Ameisensäure	0.3	2.4	2.6
Essigsäure	33.1	29.5	25.5
Propionsäure	10.4	6.2	2.7
iso-Buttersäure	4.8	2.5	1.6
Buttersäure	2.1	2.9	2.1
Bs berechnet aus Gärung	1.8	2.9	2.1
iso-Valeriansäure	10.5	3.3	0.9
iso-Caprinsäure	3.6	2.4	0.6
Caprinsäure	0.1	0.0	0.0
pH-Wert	7.19	6.03	5.64
Cadaverin	2504	886	279
Putrescin	162	85	29
β-Phenylethylamin	38	13	0
Isopentylamin	153	42	0
Tyramin	173	77	11
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>3029</b>	<b>1103</b>	<b>320</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



SUMME

## Fall ③ Modell-Raclette (Forschungskäserei)



- Modell-Raclette mit fehlerhafter Schmiere
- starke Bildung von Cadaverin
- hoher pH-Wert in der Randzone

	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	1127	733	346
Histamin	0	0	0
Isopentylamin	103	104	46
Putrescin	17	0	0
β-Phenylethylamin	155	98	0
Trypamin	0	0	0
Tyramin	36	32	42
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1439</b>	<b>968</b>	<b>433</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



SUMME

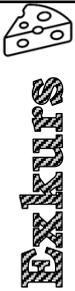
## 🇨🇭 Versuch Reifung mit Schmierem ① & ③



Reifung während  
180 Tagen bei  
11°C

Kontrolle (foliengereift)

	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	29	40	23
Histamin	7	7	7
Putrescin	16	23	11
Spermidin	0	0	0
Spermin	0	0	0
β-Phenylethylamin	6	6	0
Tryptamin	0	0	0
Tyramin	59	56	28
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>117</b>	<b>132</b>	<b>70</b>



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

49

Agroscope

49

## 🇨🇭 Resultate mit Schmiere ①: schmieregereift



pH 6.19

	Raclette Scheibe	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	3071	1132	730	567
Histamin	0	0	0	0
Putrescin	877	29	38	40
Spermidin	0	0	0	0
Spermin	0	0	0	0
β-Phenylethylamin	349	52	19	11
Tryptamin	23	52	39	25
Tyramin	1037	363	143	95
<b>Summe BA</b>	<b>5357</b>	<b>1651</b>	<b>983</b>	<b>749</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



Agroscope

50



## Resultate mit Schmiere ①: foliengereift



STILX



pH 5.69

	Raclette Scheibe	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	3071	997	747	689
Histamin	0	34	18	20
Putrescin	877	490	403	388
Spermidin	0	0	0	0
Spermin	0	0	0	0
$\beta$ -Phenylethylamin	349	129	86	76
Tryptamin	23	14	13	13
Tyramin	1037	487	309	260
<b>Summe BA</b>	<b>5357</b>	<b>2154</b>	<b>1581</b>	<b>1448</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



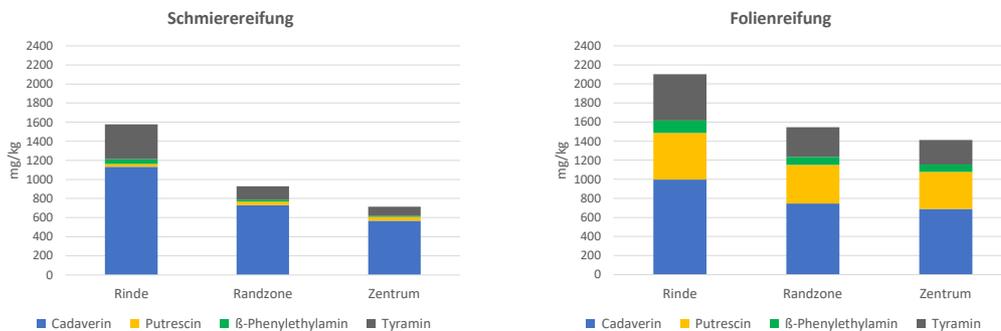
## ① Vgl. Schmiere- vs. Folienreifung



STILX

Gleiche Kontaminanten, teilweise unterschiedliches Resultat

- Bei Schmierereifung ist die Bildung von Cadaverin reproduzierbar (analog Praxisfall)
- Anaerobe und saure Bedingungen fördern die Bildung von (unterschiedlichen) BA?



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



## Resultate mit Schmiere ③: schmierereif



pH 5.98

SMILX

	Rinde Modellraclette	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	1127	641	275	203
Histamin	0	0	0	0
Putrescin	17	8	0	0
Spermidin	0	0	0	0
Spermin	0	0	0	0
β-Phenylethylamin	155	16	5	3
Tryptamin	0	35	28	18
Tyramin	36	53	25	20
<b>Summe BA</b>	<b>1439</b>	<b>786</b>	<b>353</b>	<b>259</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



## Resultate mit Schmiere ③ : foliengereift



pH 5.55

SMILX

Zone	Rinde Modellraclette	Rinde	Randzone	Zentrum
Cadaverin	1127	52	58	44
Histamin	0	21	13	12
Putrescin	17	24	19	18
Spermidin	0	0	0	0
Spermin	0	0	0	0
β-Phenylethylamin	155	363	272	198
Tryptamin	0	15	17	19
Tyramin	36	465	328	220
<b>Summe BA</b>	<b>1439</b>	<b>940</b>	<b>708</b>	<b>511</b>

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder



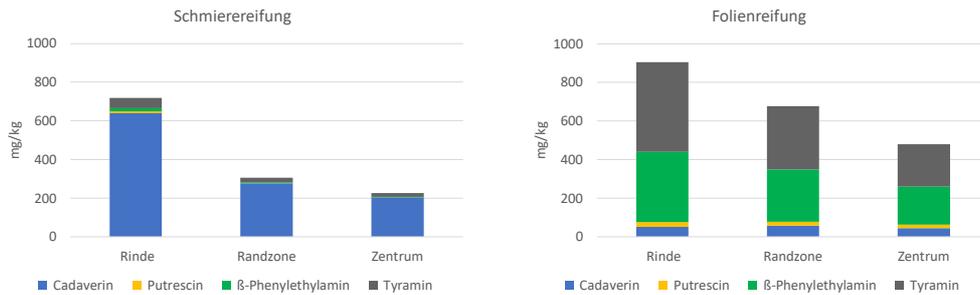
### ③ Vgl. Schmiere- vs. Folienreifung



STILIX

Gleiche Kontaminanten, teilweise unterschiedliches Resultat

- Bei Schmierereifung ist die Bildung von Cadaverin reproduzierbar (analog Praxisfall)
- Anaerobe und saure Bedingungen fördern die Bildung von (unterschiedlichen) BA?



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

55



### Schmiere als Quelle von BA Bildnern



STILIX

- Erhöhte Gehalte an biogenen Aminen in Käse können auch durch **Oberflächen Kontaminationen** hervorgerufen werden.
- Vorsicht vor **Oberflächen-Kreuzkontaminationen** in der Praxis bei foliengereiften und schmierereiften Käsen!
- Vorsicht bei der Interpretation der Analysergebnisse von **Durchschnittsproben**.
- Zonale Analysen liefern ergänzende Informationen: Starke **Gradienten an BA** in Käse können ein klarer Indikator für Oberflächenkontaminationen sein.

Verursacher

- *Morganella morganii* (Cadaverin & Putrescin), ein gram-negatives fakultativ anaerobes Bakterium (wird bei der Analyse von Enterobakterien erfasst), bildet in Fisch Histamin
- *Paucilactobacillus wasatchensis* (Cadaverin & Putrescin), ein Milchsäurebakterium bislang erst aus Cheddar isoliert
- *Latilactobacillus curvatus* (Tyramin & Tryptamin), ein Milchsäurebakterium

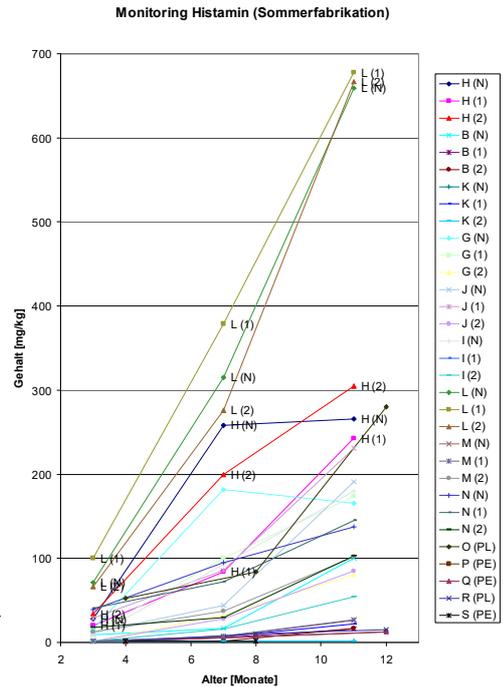
Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

56

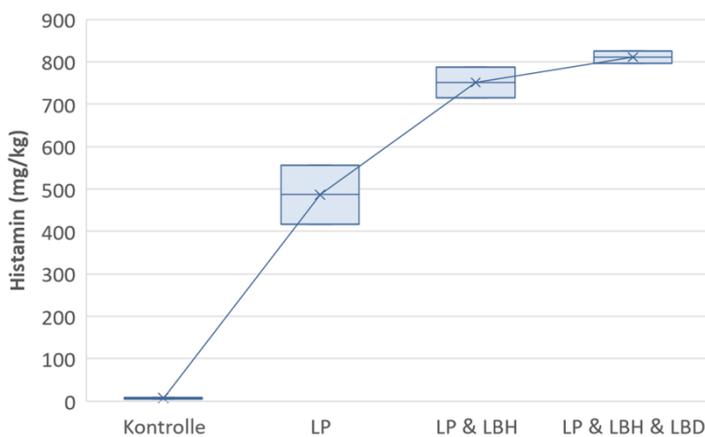
## Reifungsdauer

Am Beispiel von Histamin in Emmentaler (Rohmilch, trockengereift):

- Praktisch lineare Zunahme im Verlauf der Reifung: belastete Käse möglichst früh verwerten!
- Wiederholt hohe Gehalte in Einzelbetrieben: ganze Produktion betroffen
- Aus Käsen mit hohem Gehalt an Histamin wurde wiederholt *L. parabuchneri* isoliert



## Stärkere Proteolyse = mehr BA!



Voraussetzung: es hat Mikroorganismen im Käse, die BA bilden können!

Milchsäurebakterien wie *L. helveticus* und *L. delbrückii* können zu einer stärkeren Proteolyse führen

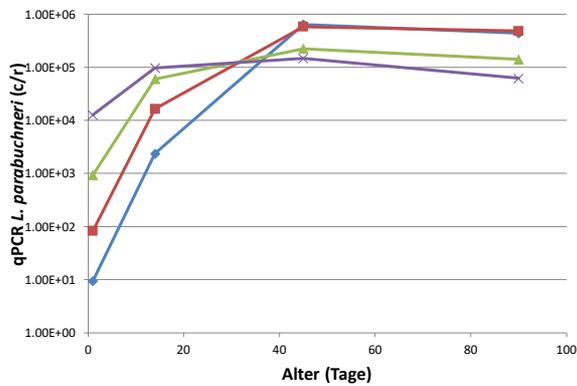
→ *L. parabuchneri* als Beispiel kann mehr Histamin bilden

→ Der pH steigt

→ Was wiederum die proteolytischen Enzyme ankurbelt



## Kein Einfluss der Impfdosis



von *L. parabuchneri* auf die Histamin Bildung

- Trotz unterschiedlicher Impfdosis in der Kessmilch war das Wachstum von *L. parabuchneri* in Modell-Raclette ab 45 Tagen sehr ähnlich (N = 4)
- Histamin (90 Tage) :  $98 \pm 10$  mg/kg (min. 82 mg/kg, max. 121 mg/kg)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

59

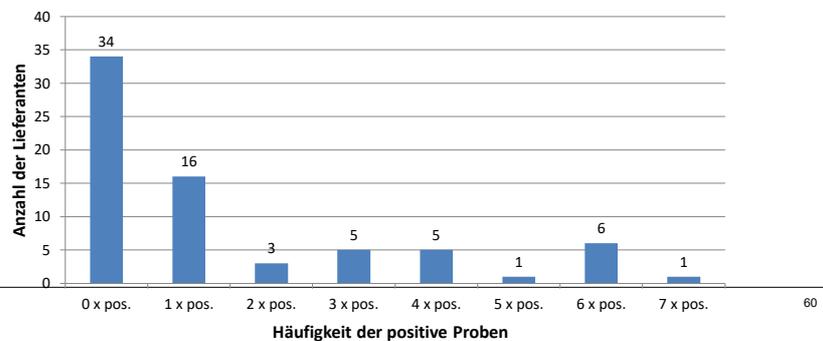


## Studie zu *L. parabuchneri* in Rohmilch



Untersuchung von 497 Rohmilchproben (71 Lieferanten)

- Milchproben: **21 %** hatten histaminbildende Keime.
- Lieferanten: In **52 %** hatten sporadisch oder regelmässig histaminbildende Keime
- Quantitative Analysen zeigen, dass die Kontaminationen mit *L. parabuchneri* sehr tief sind (meist < 10 KbE/ml, max. 1000 KbE/ml) → tiefe Konzentrationen reichen

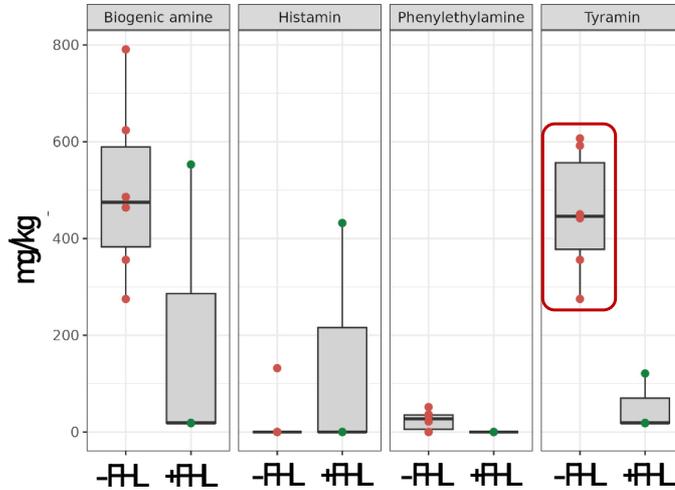


Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

60



## Gute Konkurrenzflora erwünscht



### Emmentaler AOP

- Fakultativ heterofermentative Laktobazillen (FHL) verwerten Citrat, wie auch die Enterokokken!
- Sind genug FHL vorhanden, entsteht weniger Tyramin

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

61

61



## Einflussfaktoren



Einflussfaktoren	Effekt	Bemerkungen
Gesamtkeimzahl	↗	Auch bei tiefen Keimzahlen sind Kontaminationen mit aminbildenden Keimen möglich. Die Zusammensetzung ist entscheidend.
Enterokokken in der Rohmilch	↗↗	hitzeresistent, Wachstum während Reifung. Oft erhöhte Enterokokken-Keimzahl in Käsen mit hohem Gehalt an Tyramin.
<i>L. parabuchneri</i> in der Rohmilch	↗↗	Stämme von <i>L. parabuchneri</i> bilden häufig Histamin und wurden wiederholt aus Käsen mit sehr hohen Gehalten an Histamin isoliert. Können in Biofilmen persistieren.
Enterobakterien in der Rohmilch	↗	Enterobakterien bilden oft vor allem Cadaverin und Putrescin. Diese Amine finden sich fast nur in stark fehlerhaften Käsen (→ schlechte Milchqualität oder Betriebshygiene, Kontamination der Schmiere mit z.B. <i>M. morganii</i> )
Pseudomonaden in der Rohmilch	↗	Pseudomonaden zeigen teils starke Bildung von Putrescin. Vermehrung bei tiefen Temperaturen bei der Kühlung von Milch.
Milch verschiedener Tierarten	↗	Ziegenmilch und Schafmilch weisen in der Tendenz höhere Gesamtkeimzahlen auf. Die teils lange Zwischenlagerung der Milch mehrerer Tage für eine Käseproduktion wirkt sich ungünstig auf den Gehalt an biogenen Aminen aus.
Thermisation	↘	Durch die Thermisation wird die Rohmilchflora reduziert, das Verfahren reicht jedoch nicht aus, um aminbildende Keime zu eliminieren.
Pasteurisation	↘↘	Durch eine Pasteurisation lässt sich der Gehalt Histamin und Tyramin in Käse deutlich reduzieren. Bei Rekontaminationen sind eher Cadaverin und Putrescin zu erwarten.
Käsekulturen	↘↗	In den Kulturen zur Herstellung von Käse sollten keine Stämme enthalten sein, die biogene Amine produzieren können. Die Kulturen von Agroscope sind diesbezüglich geprüft.
Brenntemperaturen	↘	Hohe Brenntemperaturen senken das Risiko für hohe Gehalte an biogenen Aminen in Käse (Ausreisser sind möglich).
Wassergehalt, wff	↗	Ein hoher Wassergehalt beschleunigt die Proteolyse, begünstigt auch das Wachstum von aminbildenden Keimen und wirkt sich auch sonst ungünstig auf die Ausreifbarkeit aus. Die Bildung biogener Amine erfolgt in Halbhartkäsen deutlich schneller als in Hartkäsen.
Freie Aminosäuren	↗	Sie sind das Substrat für die Bildung biogener Amine. In gereiften Käsen liegen 5-15% des Gesamtproteins als freie Aminosäuren vor. Bei der Anwendung von proteolytischen Kulturen können in Gegenwart von aminbildenden Keimen mehr biogene Amine entstehen.
Salzgehalt	↘	Hohe Salzgehalte reduzieren die mikrobiologische Aktivität während der Käsereifung, hohe Gehalte an biogenen Aminen sind aber dennoch nicht auszuschließen.
Reifungsdauer	↗↗	bedeutendste Einflussfaktor. Enthält ein Käse aminbildende Keime, die während der Reifung aktiv bleiben, ist mit einem kontinuierlichen Anstieg an biogenen Aminen zu rechnen. Die Selektion erstklassiger Käse für eine lange Ausreifung hat daher höchste Priorität.
Reifungstemperatur	↗	Hohe Reifungstemperaturen beschleunigen die Bildung biogener Amine. Ein Stopp der Bildung biogener Amine ist erst bei Lagertemperaturen < 2°C zu erwarten.

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

62

62

## Zeit für Fragen



## Inhaltlicher Ablauf



### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine



## Prävention auf verschiedenen Ebenen



### Kulturen

- Seit 2003 werden die Agroscope Kulturen auf das Vorhandensein von Decarboxylasen untersucht
- 2004 Emmi Fondue AG verlangt Attest über Histaminfreiheit der Agroscope-Kulturen
- 2006 Histaminosefall eines 2-jährigen Kindes in GB nach Konsum von Schweizer Emmentaler (keine RASFF-Meldung)
- 2006 Käseexporteur verlangt Attest betr. Histamin in Gruyère und Histidindecaboxylase-Aktivität von Agroscope-Kulturen
- 2006/2007 Start Monitoring BA in Emmentaler AOP im Auftrag der Sortenorganisation
- Seit 2008 werden zudem sämtliche Kulturen und Versuchskulturen sowie Stämme von Agroscope auf das Vorhandensein von Decarboxylasen untersucht



## Prävention am Bsp von *L. parabauchneri*



### Eigenschaften

- Ein obligat heterofermentatives Milchsäurebakterium
- Vorkommen: Spucke, Bier, Käse, fermentierte pflanzliche und tierische Lebensmittel und findet sich auch in **Biofilmen**; möglicherweise auch in Gras & Silage, aber kein Hinweis als Kontaminationsquelle für Käse
- **Tiefe Schadensschwelle:** 50 Keime/mL
- Hitzeresistent bis zu **56°C**
- Histamin Bildung trägt zu einem pH-Anstieg und einer Lochbildung bei
- Gesamtkeimzahl der Rohmilch macht keine Aussage!





## Mögliche Ursachen bei der Milchproduktion



- zu tiefe Reinigungstemperaturen
- zu kurze Reinigungsdauer
- zu tiefe Dosierung des Reinigungsmittels oder Verwendung ungeeigneter Reinigungsmittel
- ungenügende Reinigung von heiklen Anlagen bei der automatischen Reinigung der Melkanlage
- fehlende visuelle Kontrolle der Saubrität der Melkanlagen nach der Reinigung.
- ungenügende Wartung von Melkanlagen (defekte Dichtungen, spröde Gummiteile, alte Schläuche etc.)
- mangelhafter Service von Melkanlagen
- fehlerhafte Installation von Melkanlagen
- fehlerhafte Montage von Briden bei Schlauchanschlüssen
- ungenügende Reinigung des Milchsammeltanks
- verschlitzte Dichtungen im Milchsammeltank (Dichtung Rührwerk, Ventildichtung)

**Es geht darum, die Entstehung von Biofilmen im Auge zu behalten!**

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

67



## Korrekte Reinigung von Melkanlagen



- Nach jedem Melken sofort vospülen, reinigen und nachspülen
- Für die Reinigung von Melkanlagen sind geprüfte Produkte von vertrauenswürdigen Firmen zu verwenden
- Die Vorgaben des Herstellers für die Dosierung des Reinigungsmittels sind einzuhalten und die korrekte Dosierung zu überprüfen
- Alkalische und saure Reinigungen müssen abwechselnd angewendet werden
- Die Temperatur der Reinigungslösung sollte während der Reinigung mindestens **60 °C** im Rücklauf erreichen. Nur so ist gewährleistet, dass hitzeresistente Keime abgetötet werden. Eine um 5 °C tiefere Temperatur, erfordert zur Abtötung der Bakterien eine 20-mal längere Reinigungsdauer!

**Generell milchführende Anlagen**

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

68



## Bedeutung der Reinigungstemperatur



Positive Betriebe	Maximale Temperatur (°C) bei 1. Besuch	Maximale Temperatur (°C) bei 2. Besuch	Negative Betriebe	Maximale Temperatur (°C) bei 1. Besuch
1	52	56	1	54
2	44	59	2	59
3	51	51	3	62
4	56	56	4	62
5	52	52	5	50
6	57	57		
7	52	55		
Ø	52	55	Ø	57.4

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

69



## Visuelle Kontrolle: Ablagerungen



Ein Sammelstück



Gummi-Stopfen der Endeinheit Dreiweghahnen



Gummi-Dichtung der Endeinheit Kappventil eines Milchtankes



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

70



## Visuelle Kontrollen sind wichtig



Ablagerungen bei heiklen Anlageteilen, sowie undichte und tropfende Stellen

- Von aussen nicht sichtbar
  - Deckel und Dichtungen der Endeinheit
  - Dreiweghahn und Milchwahn
  - Sammelstück
  - Dichtung von Rührwerk, Milchtank und Tankauslauf
- Untersuchung und Reinigung von Hand



Hygienisches Design:

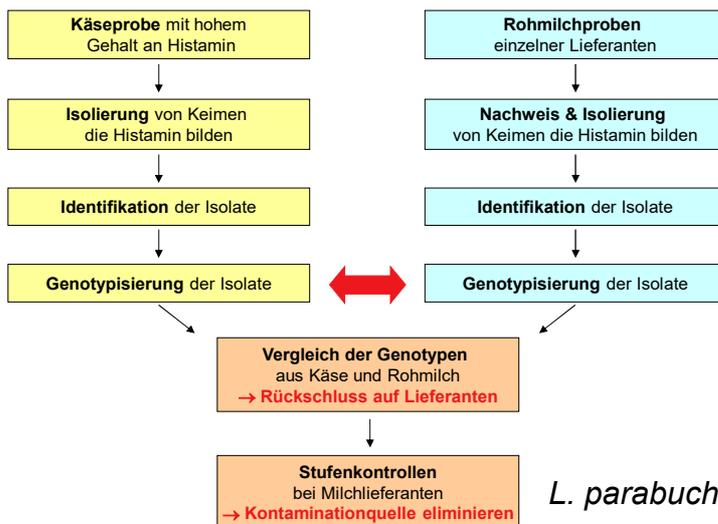
- Wenig Verschraubungen, keine unnötigen Bögen, gute Zugänglichkeit heikler Anlagenteile für die visuelle Kontrolle und die manuelle Reinigung

<https://link.ira.agroscope.ch/de-CH/publication/36168>

<https://link.ira.agroscope.ch/de-CH/publication/41027>



## Tritt ein Fall auf ...



... Käse mit Histamin

1. Kessimilch
2. Lieferantenmilch
3. Stufenkontrolle

*L. parabuchneri*



## Beispiel einer Stufenkontrolle



N°	Probenahme Orte (Milch)	Resultat
1	Kuh Melba	-
2	Kuh Adelle	-
3	Kuh ... (jede einzelne Kuh)	-
24	Kuh Diva, Mastitis (Viertel)	-
25	Kuh Adonis (frisch gekalbt)	-
27	<b>Erste Flüssigkeit beim Ausgang des Schlauches in den Milchtank (inkl. Restwasser)</b>	<b>+</b>
28	Erste Milch beim Ausgang des Schlauches in den Milchtank (nur Milch, ohne Restwasser)	-
29	Milch am Boden des Milchtanks	-
31	<b>Mischmilch am Ende des Melkens</b>	<b>(+)</b>
32	Letzte Milch (Entleerung der Anlage erfolgt ohne Schwamm)	-
33	Leitungswasser (gleicher Wasserhahn wie für die Spülung)	-
34	Tupfer Probe der Vakuumanlage	-



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

73



## Praxisfall einer Käserei



### Halbhartkäse aus Rohmilch

- 3 Chargen pro Tag, Reinigung erfolgt nach der 3. Charge
- Über eine Dauer von 10 Produktionstagen wurden von jeder Charge je ein Käse beprobt
- Die Käse wurden im Betrieb bis zum Alter von 90 Tagen ausgereift und danach auf folgende Merkmale untersucht:
  - BA
  - qPCR *L. parabuchneri* → (GE/g)
  - Nachweis Histamindecarboxylase-Gen → (GE/g)

Frage: Abklären, ob der Chargenbetrieb einen Einfluss auf die Gehalte an BA hat

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

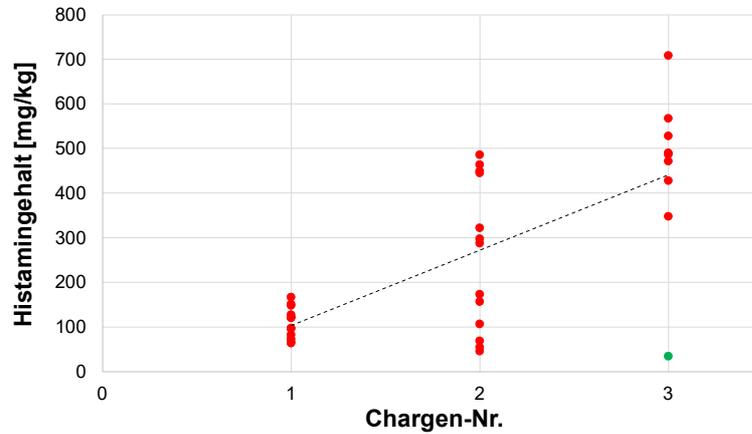
74



## Zusammenhang Charge & Histamin



- Klarer Zusammenhang ersichtlich: Wachstum *L. parabuchneri* in Produktionsanlagen!



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

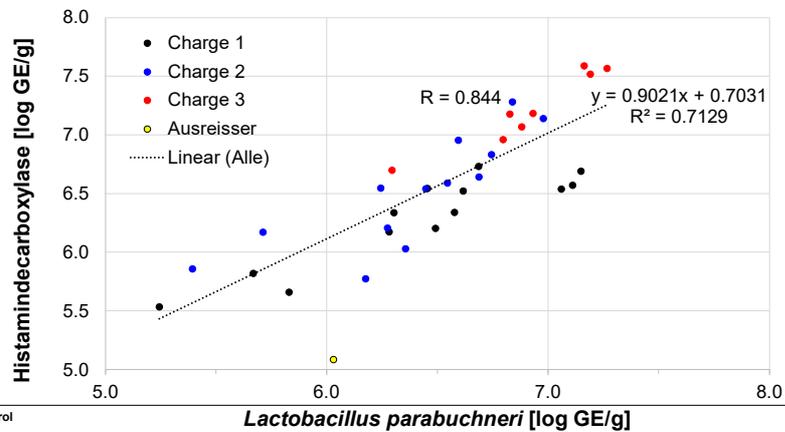
75



## Korrelation *L. parabuchneri* - HDC



- Gute Korrelation zwischen HDC und *L. parabuchneri*
- In Käse wachsen hauptsächlich *L. parabuchneri* mit HDC



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

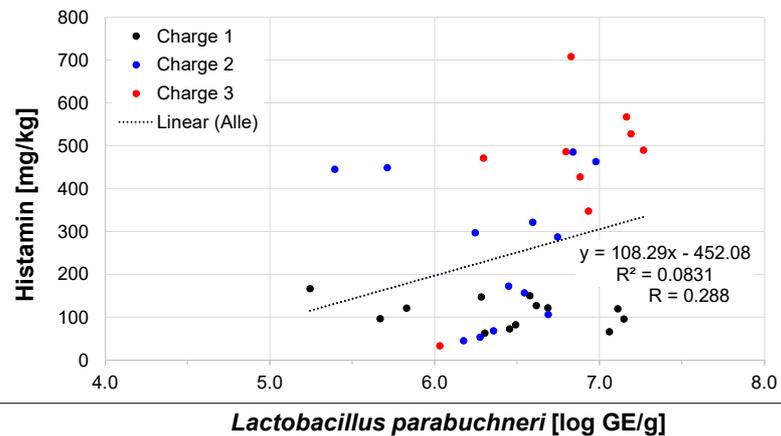
76



## Korrelation Histamin - *L. parabuchneri*



- Kein klarer Zusammenhang ersichtlich, da Histamin unabhängig von der Keimdichte akkumuliert wird



## Folgerungen und Lösungsansätze



Drei Hauptursachen tragen zu erhöhten Histamingehalten bei:

1. Rohmilchqualität / Betriebsgrösse (ca. 60 Milchlieferanten)
2. Tiefere Brenntemperaturen als Vergleichsbetriebe
3. Chargenbetrieb

Lösungsansätze:

- Sanierung von Histamin-positiven Milchlieferanten
- Separate Sammlung und Verarbeitung von His-positiven Lieferanten (letzte Charge)
- Chargenfabrikation / Reinigungsintervalle

## Zeit für Fragen



## Nachweismethoden



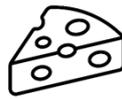
### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine



## HDC-Agar zur Isolation von histaminbildenden Bakterien



5 g Käse  
+ 50 mL Peptonwasser



Stomacher: 3 min



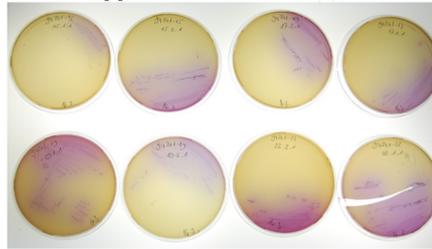
100 µL Suspension  
ausplattieren



Inkubation:  
anaerob, 30°C, 4-5 Tage

His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

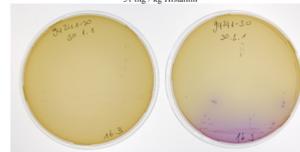
94241-15: 19 mg/kg Histamin      94241-17: 28 mg/kg Histamin



94241-19: 24 mg/kg Histamin      94241-22: 33 mg/kg Histamin

His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

94241-30  
31 mg/kg Histamin



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

81



## ... anwendbar für andere Amin Bildende MO



... die eine Decarboxylase Aktivität aufweisen

- Statt Histidin wird Lysin verwendet

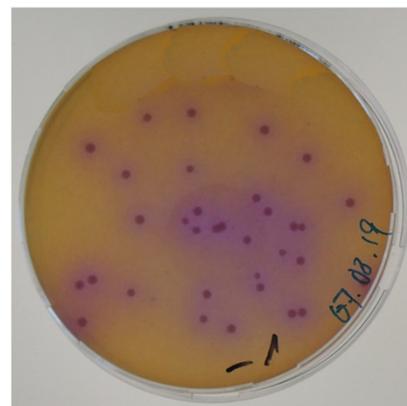
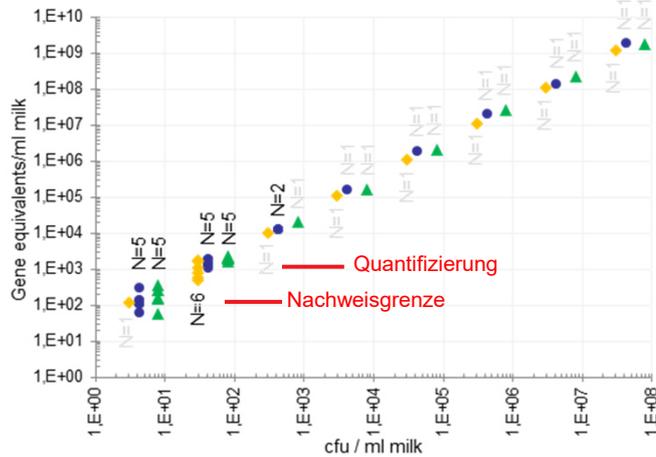


Abbildung 5: Agarplatte mit Cadaverin bildenden Bakterien, die auf dem spezifischen Medium als rötlich gefärbt Kolonien erkennbar sind.

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

82

## Nachweis von *L. parabuchneri* mit qPCR



Mit beimpfte Milchproben (N = 3)

- Für tiefe Konzentrationen (Schadensschwelle!), Milchproben vorgängig z.B. 7 Tage vorbebrüten
- Nachweis des Gens *hdc* in der Milch kann zur Prognose einer möglichen Histaminbildung beigezogen werden (Histidindecaboxylase)

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

83

83

## ... anwendbar für andere Amin bildende MO

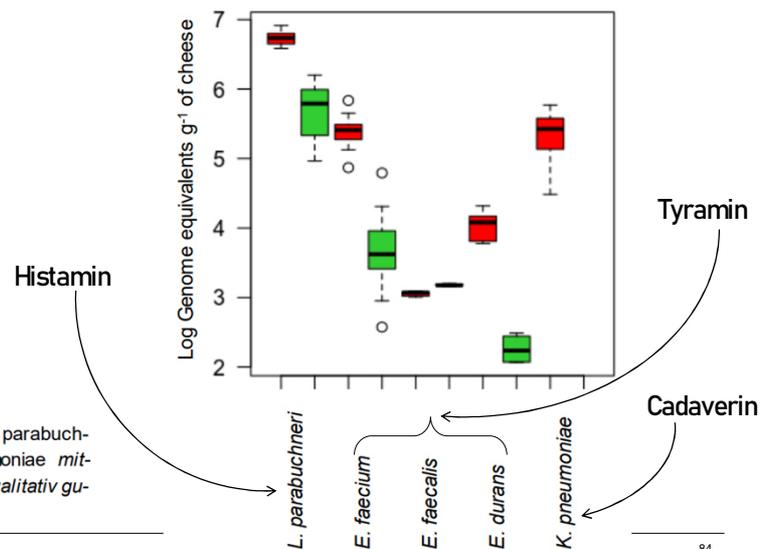


Abbildung 9: Spezies-spezifischer Nachweis von *L. parabuchneri*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* und *K. pneumoniae* mittels qPCR in fehlerhaften Käsen (rot; n = 10) und qualitativ guten Käsen (grün; n = 10).

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

84

84

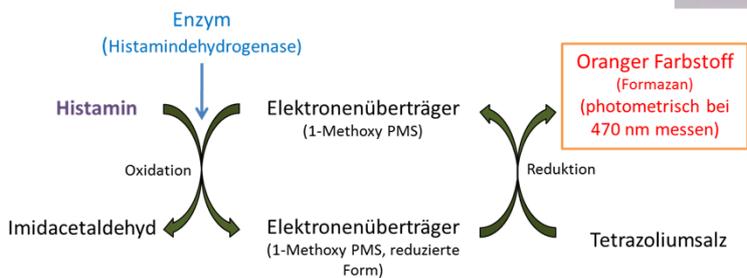


# Nachweis der Histaminbildung in Rohmilchproben



## Prinzip des Histamintests

- Quantitative Bestimmung des Histamins
- Enzymatische Reaktion
- Ursprünglich für Fischprodukte konzipiert



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

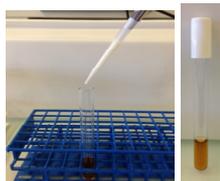
85



# 1. Vorbereitung des Histamintests



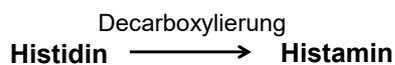
Milchproben



1.  
1 ml Milchprobe in  
5 ml Medium  
(Melibiose + 0.3 %  
Histidin)



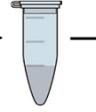
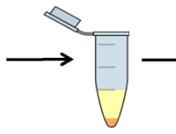
2.  
Inkubation bei 30 °C  
Messung des  
Histamins nach 4-7  
Tagen



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

86

## 2. Durchführung der Messung



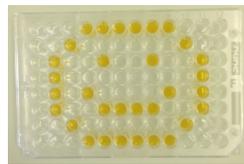
1. 200  $\mu$ l zentrifugieren

2. 10  $\mu$ l Überstand in 1 ml 0.1 M EDTA (pH 8)

3. 50  $\mu$ l Lösung + Testkomponenten



6. Messung bei 470 nm Absorptionswert über 0.1 = Histamin positiv



5. Positive Milchproben



4. Inkubation 37 °C, 15 min in Mikrotiterplatte

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

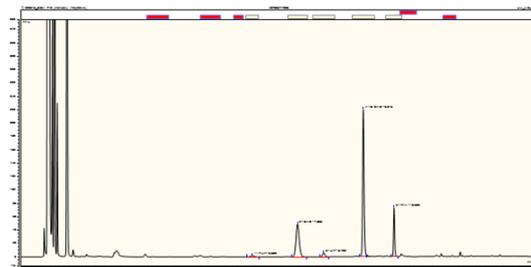
87

## Nachweis von BA in Käse mittels HPLC



### Standardanalytik an Agroscope

- Extraktion von aminhaltigen Substanzen aus Käse
- Derivatisierung mit einer Dansylchlorid-Lösung
- Auftrennung mittels Flüssigchromatographie
- Detektion der Substanzen mit UV (Dank der Dansylierung)
- Quantifizierung mit Hilfe von Standards.
- Mit dieser Methoden werden Tryptamin, Tyramin, PEA, Cadaverin, Putrescin, Histamin, Spermin und Spermidin erfasst.
- <https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/de/home/services/dienste/lebensmittel.html>



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

Bildquelle geriebener Käse: [www.lebensmittellexikon.de](http://www.lebensmittellexikon.de)

88



## Wenn man es genau wissen will: Mikrobiom Analysen

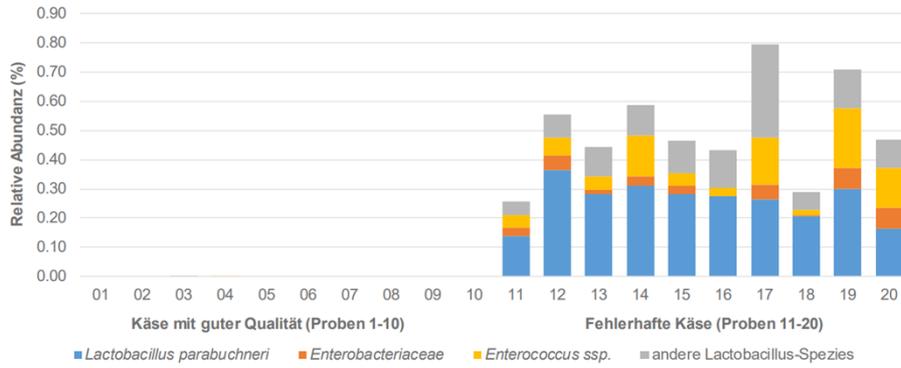


Abbildung 4: Relative Abundanz von Minorbestandteilen im Käsemikrobiom.

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

89



## Zeit für Fragen



Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

90

## The End



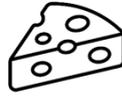
### Grundlagen

- Entstehung
- Herkunft
- Gesetz
- Vorkommen



### Gesundheit

- Histamin
- Tyramin



### Käsequalität

- Sensorik
- Reifung
- Milchbehandlung
- Brenntemperatur
- Reifungsart
- Reifungsdauer
- Impfdosis
- Zonale Unterschiede



### Prävention

- Kulturen
- Milchproduzenten
- Käserei



### Nachweis

- Histamin
- hdc
- qPCR
- Biogene Amine

## Beiträge von ...

... vielen Kolleginnen und Kollegen (auch ehemaligen\*)

- H. Berthoud (*Vielen Dank für die Durchsicht*)
- S. Irmeler (*Vielen Dank für die Durchsicht*)
- J. Haldemann
- B. Walther
- E. Jakob\*
- D. Wechsler\*
- Th. Bavan\*
- M. Haueter\*
- M. Anderegg
- K. Schafroth\*
- F. Loosli



## Quellen

- Ascone, P., Jürg Maurer, John Haldemann, Stefan Irmeler, Hélène Berthoud, Reto Portmann, Marie-Therese Fröhlich-Wyder, Daniel Wechsler (2017). **Prevalence and diversity of histamine-forming Lactobacillus parabuchneri strains in raw milk and cheese – A case study**, IDJ 70, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.012>.
- Bachmann, H.P.; U Büttikofer, R Badertscher, M Dalla Torre, P Lavanchy, U Bühler-Moor, B Nick, J Jimeno, R Warmke, W Grosch, R Sieber, J.O Bosset, (1997), **Ripening of Emmental Cheese Wrapped in Foil with and without Addition of Lactobacillus casei subsp. casei**. I. Microbial, Chemical, Rheological and Sensorial Investigations, LWT - Food Science and Technology, 30, 417-428, <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0199>.
- Berthoud H, Wechsler D, Irmeler S. **Production of Putrescine and Cadaverine by Paucilactobacillus wasatchensis**. Front Microbiol. 2022 Mar 3;13:842403. doi: 10.3389/fmicb.2022.842403
- Maurer, J., John Haldemann, Patrizia Ascone, Daniel Wechsler (2016). **Empfehlungen für Produzenten von Käseemilch zur Vermeidung von Infektionen in Melkanlagen mit Propionsäurebakterien und Lactobacillus parabuchneri**. Agroscope Merkblatt
- Maurer J., Wechsler D., Irmeler St., Berger Th. (2019). **Vermeidung von persistenten Kontaminationen in Melkanlagen**. Agrarforschung Schweiz 10, 116-121.
- Fröhlich-Wyder, MT., Bisig, W., Guggisberg, D. et al. **Influence of low pH on the metabolic activity of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus parabuchneri strains in Tilsit-type model cheese**. Dairy Sci. & Technol. 95, 569–585 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0238-1>
- Ryser, L.T., Emmanuelle Arias-Roth, Hélène Berthoud, Céline Delbès-Paus, Christophe Chassard, Rémy Bruggmann, Stefan Irmeler (2022). **Cadaverine, putrescine, and histamine formation of Morganella morganii in raclette-type cheese**, IDJ 129, 105362, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105362>.
- Wechsler, D., Stefan Irmeler, Hélène Berthoud, Reto Portmann, René Badertscher, Walter Bisig, Karl Schafroth, Marie-Therese Fröhlich-Wyder (2021). **Influence of the inoculum level of Lactobacillus parabuchneri in vatmilk and of the cheese-making conditions on histamine formation during ripening**. IDJ 113, 104883
- Wechsler, D., Stefan Irmeler, Thomas Aeschlimann, Marco Meola, Hélène Berthoud (2020). **Aufklärung von nicht alltäglichen Käsefehlern mit modernster Analytik**. Agroscope Transfer 358
- Kolloquien zu biogenen Aminen** aus den Jahren 2009, 2014, 2016, Agroscope, Liebefeld-Bern, Schweiz
- Jahressitzung 2017 Raclette Suisse**, Schweiz

Biogene Amine | ARGE Heumilch Tirol  
M.T. Fröhlich-Wyder

93

93



94