

# **EFAM** — **INFORMATION**

**Juni 1983/Nr. 124**

Herausgegeben von der  
Eidgenössischen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft  
CH-3097 Liebefeld  
Direktor: Prof. Dr. B. Blanc

## **Vergleichende Untersuchungen von Rohmilchtsiterkäsen mit und ohne Nachgärung**



# Vergleichende Untersuchungen von Rohmilchtilsiterkäsen mit und ohne Nachgärung

von C. Steffen, H. Glättli, G. Steiger, E. Flückiger, M. Rüegg, C. Bühlmann, P. Lavanchy, B. Nick, J. Schnider, F. Rentsch

Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern

Eingereicht am 5. Juli 1982

**Im Verlaufe eines Jahres wurden je 54 Rohmilchtilsiter von guter Qualität und mit Nachgärung im Alter von durchschnittlich 4½ Monaten mit Hilfe verschiedener Methoden analysiert. Es zeigte sich, dass die nachgärenden Käse eine intensivere Propionsäuregärung, eine stärkere Proteolyse zu niedermolekularen Caseinabbauprodukten und zum Teil Unterschiede in Wasser- und Proteingehalt aufwiesen. Die unterschiedlichen Enzymmuster liessen zudem auf eine zwischen den beiden Käsegruppen abweichende Mikroflora schliessen.**

## 1. Einleitung

In früheren Arbeiten wurden analytisch erfassbare Unterschiede zwischen qualitativ guten und nachgärenden handelsreifen Emmentaler- (3, 8, 13, 14, 15, 20), Greyerzer (4, 16), Sbrinz- (1, 17) und Appenzellerkäsen (2, 18) ermittelt. Dabei resultierten einige Ergebnisse, die für das Nachgärungsproblem der hier erwähnten Käsesorten gemeinsam waren. Als Hauptmerkmale sind dabei für nachgärende Käse die intensivere Propionsäuregärung, die stärkere Proteolyse zu niedermolekularen Abbauprodukten, die Unterschiede in der Mikroflora der Käse und der höhere Wassergehalt hervorzuheben. Diese gemeinsamen Nachgärungsmerkmale waren in den bisher untersuchten Käsesorten mehr oder weniger ausgeprägt. Verschiedene Analysen ergaben jedoch nur für einzelne Käsesorten gesicherte Differenzen zwischen den guten und den fehlerhaften Laiben.

Eine Gewichtung der Analysenergebnisse bezüglich der Trennung zwischen Käse guter Qualität und Käse mit Nachgärung erlaubte die Diskriminanzanalyse. Sie ermittelte diejenige Methode, welche die grösste Trennwirkung erzielte und erlaubte zudem einen Rückschluss auf wichtige Ursachen der Nachgärung. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Methoden, die in der Diskriminanzanalyse bei den verschiedenen Käsesorten die grösste Trennwirkung aufwiesen. Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass sich für die untersuchten Käsesorten verschiedene Parameter mit hoher Diskriminanzwirkung ergaben. Für den Emmentaler zeigte eine den Eiweissabbau, für Greyerzer-, Sbrinz- und Appenzellerkäse, eine die Propionsäuregärung charakterisierende Methode, die höchste Trennwirkung.

**Tabelle 1:** Ergebnisse der Diskriminanzanalyse bei verschiedenen Käsesorten (Analysen mit der grössten Trennwirkung bezüglich guten und nachgärenden Käsen)

Diskriminanzanalyse	Emmentaler	Greyerzer	Sbrinz	Appenzeller
Schritt 0	p-Benzochinonwert	Acetat	Acetat	Propionsäure
Schritt 1	Acetat	i-Valeriansäure	n-Buttersäure	Wasser

Für den aus Rohmilch hergestellten Tilsiterkäse ist eine gute Lagerfähigkeit wichtig. Zur genügenden Reifung benötigen die Käse eine Lagerungszeit von 3–5 Monaten. Die Nachgä-

rung hat beim Tilsiter meistens eine starke Zunahme der Lochgrösse, Pick- und Gläsbildung sowie geschmackliche Veränderungen (süßser, unreiner, atypischer Geschmack) zur Folge. Der Fehler manifestiert sich somit ähnlich wie bei den übrigen bisher untersuchten Käsesorten. Von der Technologie, Form, Zusammensetzung und Reifung her, ist der Rohmilchtilsiter am ehesten mit dem Appenzellerkäse vergleichbar. Gewisse Übereinstimmungen in den möglichen Ursachen der Nachgärung sind deshalb nicht ausgeschlossen. Trotzdem dürfen die beiden Käsesorten nicht ohne weiteres gleichgestellt werden, da in der Herstellung und Reifung gewisse Unterschiede bestehen. Aus diesem Grund bildete die analytische Charakterisierung von Rohmilchtilsiterkäsen guter Qualität von solchen mit Nachgärung (je 54 Laibe) den Abschluss der umfangreichen Serie über die vergleichenden Untersuchungen. Die vorliegenden Versuche hatten zum Ziel, allfällige Differenzen zwischen den beiden Käsegruppen analytisch zu erfassen, um Rückschlüsse auf die möglichen Ursachen der Nachgärung beim Rohmilchtilsiter zu ziehen.

## 2. Material und Methoden

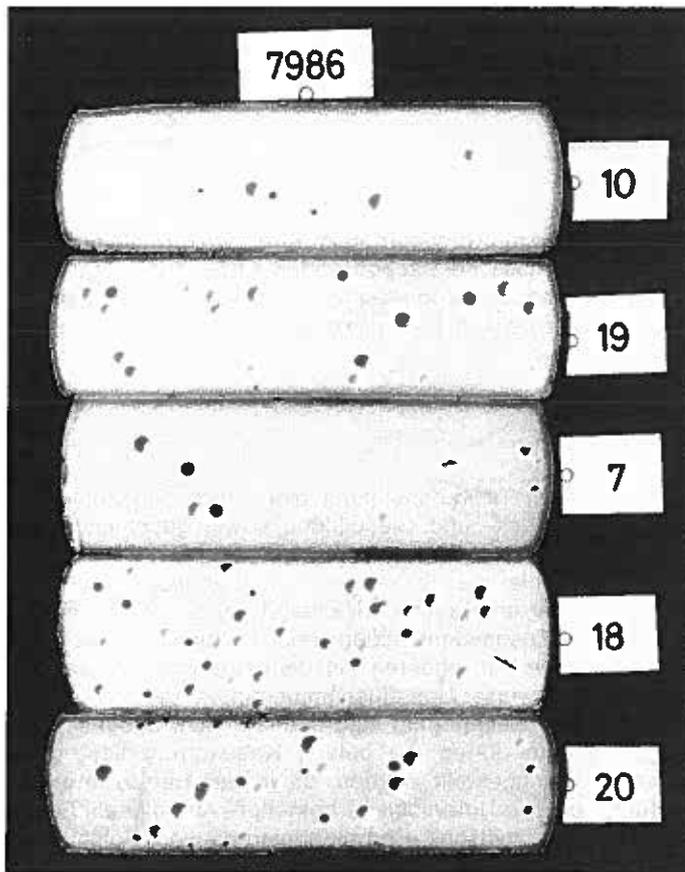
### 2.1 Probematerial

In der Zeit von April 1979 bis März 1980 wurden pro Monat 10 Tilsiterkäse (5 gute und 5 nachgärende Laibe) aus verschiedenen Käsereien in Lagern der Handelsfirmen ausgesucht. Nach Versuchsprogramm sollten die Käse im Zeitpunkt der Untersuchung ein Alter zwischen 120 und 150 Tagen (4–5 Monate) aufweisen. Es handelte sich somit um gelagerte und ausgereifte Ware.

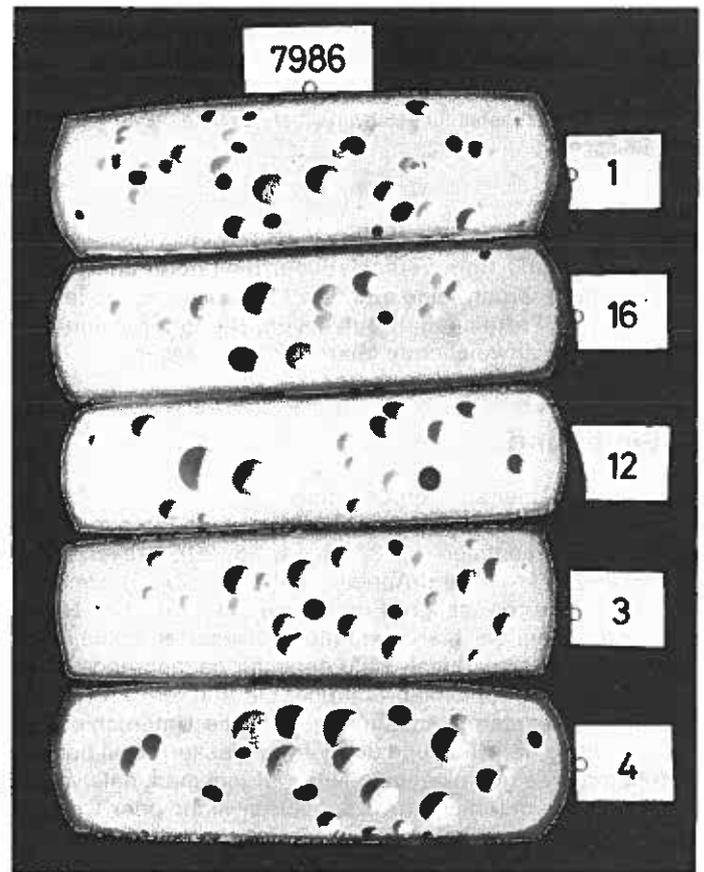
Als nachgärende Käse wurden Laibe ausgewählt, die im Lagerkeller der Käserei oder Handelsfirma eine deutliche Zunahme der Lochbildung und zum Teil Gläsbildung aufwiesen (vgl. Abbildung 1).

In einer monatlichen Serie wurde jeweils nur 1 Käse aus demselben Betrieb in den Versuch einbezogen. Um im Verlaufe der 12 Monate dauernden Untersuchung die typischen Qualitätskriterien beibehalten zu können, war es notwendig, aus derselben Käserei zum Teil mehrmals Proben zu erheben. Dabei wurden aber maximal 5 Käse, verteilt über das ganze Jahr, aus demselben Betrieb untersucht.

**Abb. 1:** Schnittbild einer Versuchsserie  
Rohmilchtilsiter von guter Qualität



Rohmilchtilsiter mit Nachgärung



## 2.2 Probenaufarbeitung

Zur Probenaufarbeitung wurde von der Käseoberfläche vorerst eine 0,5 cm dicke Schicht (Rindenpartie mit Schmiere) entfernt und verworfen. Die bakteriologischen und rheologischen Untersuchungen benötigten ganze Käsestücke. Die restliche Käsemasse wurde gerieben und gemischt. Das Untersuchungsmaterial ging anschliessend verschlüsselt in Doppelproben zur Analyse an die verschiedenen Laboratorien.

## 2.3 Datenerfassung und Auswertung

Mit Hilfe eines Computers wurden in einer ersten Stufe die Ergebnisse in Form von Histogrammen graphisch dargestellt, stark abweichende Einzelwerte nachgeprüft und die Mittelwerte berechnet. Die bereits früher beschriebene Diskriminanzanalyse (14) kam für alle Methoden, ausser derjenigen der bakteriologischen Untersuchungen, zur Anwendung.

## 2.4 Methoden

Die eingesetzten Methoden wurden bereits früher beschrieben. Es waren dies:

### – bakteriologische Untersuchungen

Psychrotrophe Laktobazillen, Fremdkeime, salztolerante Keime, Propionsäurebakterien, Proteolyten, Lipolyten und Enterokokken.

Letztere wurden zudem differenziert in *Sc. faecalis* und *Subsp.*, *Sc. faecium*, *Sc. durans* und übrige (*Sc. bovis*, *Sc. equinus*) (9, 17).

### – biochemische Untersuchungen

Aktivitätsbestimmung der Enzyme:  $\beta$ -Galaktosidase ( $\beta$ -Gal), Laktatdehydrogenase (LDH), Malatdehydrogenase (MDH), Alkalische Phosphatase (Phosph), L-Leucin-Arylamidase (LAP), L-Glutaminsäure-Arylamidase (GAA), L-

Lysin-Arylamidase (LAA), L-Prolin-Arylamidase (PAA) und Imino-peptidase (IP)

Nachweis der Metaboliten L- und D-Milchsäure, Pyruvat, Acetat, Succinat, Glutamat und als Mass für den niedermolekularen Proteinabbau den p-Benzochinonwert (17).

### – chemische Untersuchungen

Wasser, Fett, Kochsalz, Kalzium, Kupfer, Eisen, Mangan, flüchtige Fettsäuren, Total-Stickstoff, Stickstofffraktionen, pH-Wert (20) sowie freie Aminosäuren (8).

### – rheologische Untersuchungen

#### – Teigeigenschaften

Teighärte, Deformation und Kraft beim Stauchbruch, Druckspannung, Rückverformungskraft (7)

#### – Farbmessung

Tristimulus-Methode (5)

### – physikalisch-chemische Untersuchungen

Wasseraktivität, Wassersorption, pH-Labilität, Laugenverbrauch bis pH 8,3 bzw. 9,0 sowie elektronenmikroskopische Aufnahmen (3).

## 3. Resultate und Diskussion

### 3.1 Alter

Das Alter der untersuchten Tilsiterkäse betrug für beide Gruppen durchschnittlich 144 Tage mit einer Standardabweichung von 10 Tagen. Die Extremwerte lagen bei 126 bzw. 167 Tagen. Das durchschnittliche Alter bei der Probeentnahme war somit 10 Tage höher als im Versuchsprogramm vorgesehen. Mittelwert und Standardabweichung des Alters der getrennten Käsegruppen zeigten jedoch eine gute Übereinstimmung, so dass altersbedingte Unterschiede bei den Ergebnissen auszuschliessen sind.

### 3.2 Bakteriologische Untersuchungen

Die bakteriologischen Resultate sind in Tabelle 2 dargestellt. Es fällt auf, dass als einzige der untersuchten physiologischen Gruppen die Propionsäurebakterien in Käsen mit Nachgärung signifikant stärker vertreten waren als in den qualitativ guten Käsen. Die erwünschte Qualität wies durchschnittlich 27 500 Propionsäurebakterien pro Gramm Käse auf, die fehlerhaften Käse 323 000 pro Gramm. Die Kenntnis der Keimzahlen allein genügt indes noch nicht, um eine

Aussage über die Aktivität dieser Organismen machen zu können. Die chemischen und biochemischen Analysenresultate (vgl. Tabellen 3, 4, 5) bestätigten aber eindeutig eine intensivere Propionsäuregärung in den fehlerhaften Käsen. Es wurde mehr Milchsäure abgebaut, was wiederum die höheren Konzentrationen an Essig- und Propionsäure erklärt. Auch die höhere Aktivität der MDH weist in die gleiche Richtung.

**Tabelle 2:** Resultate der bakteriologischen Analysen und der Enterokokkendifferenzierung (N ohne NG = 54, N mit NG = 54)

Bestimmung		MITTELWERT $\bar{x}$			STANDARDABWEICHUNG s		
		beide Gruppen <sup>1</sup>	ohne NG <sup>2</sup>	mit NG <sup>2</sup>	beide Gruppen	ohne NG	mit NG
Psychrotrophe Laktobazillen	log KZ/g	4,13			1,42		
Fremdkeime	log KZ/g	3,74			1,21		
Salztolerante Keime	log KZ/g	3,82			1,13		
Propionsäurebakterien	log KZ/g		4,44	5,51		2,11	2,54
Proteolyten	log KZ/g	3,55			1,97		
Lipolyten	log KZ/g	1,48			1,27		
Enterokokken total	log KZ/g	4,30			1,25		
— <i>Sc. faecalis</i> und Subsp.	log KZ/g	4,16			1,35		
— <i>Sc. faecium</i>	log KZ/g	2,68			1,51		
— <i>Sc. durans</i>	log KZ/g	2,42			1,27		
— übrige Enterokokken	log KZ/g	2,38			1,25		

#### Legende:

<sup>1</sup> kein signifikanter Unterschied zwischen Käse ohne und mit Nachgärung

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Irrtumswahrscheinlichkeit < 5%)

KZ = Keimzahl

N = Anzahl untersuchte Käse

NG = Nachgärung

Vergleicht man die Propionsäurebakterienzahlen der Tilsiter mit denjenigen anderer Käsesorten (15, 16, 17, 18), so fällt auf, dass diese im Tilsiterkäse deutlich tiefer lagen. Eine Erklärung dafür kann anhand des vorliegenden Zahlenmaterials nicht gefunden werden. Immerhin ist zu beachten, dass der bakteriologische Status im 5-monatigen Käse nicht den bakteriologischen Verlauf während der Reifung aufzeigt. Die Milchsäuregehalte sind zwar mit denen im Emmentalerkäse vergleichbar (15), die Milchsäure wurde aber mit Sicherheit nicht durch dieselben Propionsäurebakterienstämme abgebaut, da nur bei der Emmentalerkäsefabrikation ein bestimmtes Propionsäurebakterienstammgemisch zugeimpft wird. Zudem stimmt im Emmentalerkäse das Verhältnis der Essigsäure zur Propionsäure ziemlich gut mit den in vitro gemessenen Werten überein (6), was beim Tilsiter nicht der Fall war. Hier fand man einen grossen Überschuss an Essigsäure, was auf eine Beteiligung anderer Mikroorganismen bei deren Entstehung schliessen lässt. Die vorliegenden Ergebnisse gestatten aber keine Aussagen über die Artzugehörigkeit dieser Organismen.

Trotz ähnlicher Keimzahlen – mit Ausnahme derjenigen für die Propionsäurebakterien – war das mikrobielle Geschehen in den beiden Käsegruppen unterschiedlich. Die höhere Aktivität der  $\beta$ -Gal. (Tabelle 3) in den Käsen mit Nachgärung lässt auf eine unterschiedliche Milchsäurebakterienflora der Käse schliessen. Die höhere LDH-Aktivität in den Nachgärungskäsen hängt nicht nur mit dem Laktoseabbau sondern auch mit der Propionsäuregärung zusammen.

Die Resultate der Aminosäureanalysen (Abbildung 2) weisen ebenfalls auf eine veränderte Milchsäurebakterienflora in den Nachgärungskäsen hin. Da der Eiweissabbau in erster Linie den Laktobazillen zugeschrieben wird und während der Reifung nahezu psychrotrophe Bedingungen herrschen, überraschte allerdings die Übereinstimmung der Keimzahlen der psychrotrophen Laktobazillen. Es ist aber zu berücksichtigen, dass Aminosäuren durch diverse andere Mikroorganismen abgebaut (decarboxyliert, desaminiert) werden, so dass das unterschiedliche Aminosäuremuster in den beiden Käsegruppen durchaus verschiedenen Ursprungs sein kann. Die verschiedenartige Zusammensetzung der freien Aminosäuren

weist aber auch hier auf eine unterschiedliche mikrobielle Aktivität während der Reifung der beiden Käsegruppen hin. Nicht zu vernachlässigen ist ferner der Einfluss der Schmiereflora, deren Zusammensetzung bekanntlich sehr komplex ist. Man weiss, dass die Behandlung der Käseoberfläche während der Reifung einen wesentlichen Einfluss auf die Zusammensetzung der Oberflächenflora ausüben und somit auch die Käsequalität entscheidend mitbeeinflussen kann.

### 3.3 Biochemische Analysen

Die untersuchten Enzymaktivitäten der nachgärenden und qualitativ guten Tilsiterkäse sind in Tabelle 3 zusammengestellt. In den reifen, fehlerhaften Käsen wurden für die Enzyme alkalische Phosphatase,  $\beta$ -Gal, LDH, MDH und GAA statistisch gesichert höhere Aktivitäten gemessen. Kein signifikanter Unterschied resultierte bei der LAP. Die erhöhte Enzymaktivität lässt ganz allgemein auf eine unterschiedliche Mikroflora in den beiden Käsegruppen schliessen. Für die Interpretation der Enzymresultate gilt es jedoch den grossen Schwankungsbereich, den jeweils auch die relativ grosse Standardabweichung zum Ausdruck bringt, zu berücksichtigen.

Die Rohmilch enthält bereits alkalische Phosphatase mit einer durchschnittlichen Aktivität von ca. 300 IE. Die Werte dieses Enzyms schwanken jedoch in einem relativ grossen Bereich. Die Aktivitäten variierten in den untersuchten Rohmilchtilsiterkäsen zwischen 42 und 560 IE. Es ist anzunehmen, dass bei der Fabrikation (Temperaturbehandlung) ein Teil der Enzymaktivität zerstört wird. Andererseits ist jedoch in einigen Käsen eine Neubildung von alkalischer Phosphatase durch die Mikroflora nicht ausgeschlossen. Verschiedene Bakterienarten sowie auch Hefen und Schimmelpilze sind befähigt alkalische Phosphatase zu bilden (10). Ein Vergleich mit den untersuchten Hartkäsen Emmentaler, Greyerzer und Sbrinz ergibt für die Halbhartkäse Appenzeller und Tilsiter 5- bis 10-fach höhere Durchschnittswerte. Inwieweit für diese Unterschiede die Brenntemperatur, Schmierebehandlung und Mikroflora der Käsemasse verantwortlich sind, konnte anhand der vorliegenden Untersuchungen nicht ermittelt werden.

**Tabelle 3:** Resultate der Enzymaktivitätsbestimmung  
(N ohne NG = 54, N mit NG = 54)

Bestimmung		MITTELWERT $\bar{x}$			STANDARDABWEICHUNG s		
		beide Gruppen <sup>1</sup>	ohne NG <sup>2</sup>	mit NG <sup>2</sup>	beide Gruppen	ohne NG	mit NG
$\beta$ -Galactosidase	IE		1 358	1 850		632	704
Lactat-Dehydrogenase	IE		3 823	6 088		3 400	4 960
Malat-Dehydrogenase	IE		1 059	2 342		459	1 248
Alk. Phosphatase	IE		230	275		73	82
L-Leucin-Arylamidase	IE	31,0			12,5		
L-Glutaminsäure-Arylamidase	IE		56,2	68,2		16,3	16,9
Imino-peptidase	rFE <sup>3</sup>		14,7	25,8		8,0	14,8

<sup>1</sup> kein signifikanter Unterschied zwischen Käse ohne und mit Nachgärung

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Irrtumswahrscheinlichkeit < 5%)

<sup>3</sup> relative Fluoreszenz-Aktivitätseinheiten

Die  $\beta$ -Galaktosidase-Aktivitätsbestimmung gab für die nachgärenden Käse einen leicht erhöhten Mittelwert. Die grossen Unterschiede von Käse zu Käse (Extremwerte: 376 bzw. 4 022 IE) zeigten deutlich, dass die Mikroflora in ihrer Zusammensetzung stark verschieden war. Die LDH-Aktivität der Käsemasse ergab für die fehlerhaften Käse im Durchschnitt deutlich höhere Werte. Analog zur  $\beta$ -Gal. kamen auch hier grosse Differenzen von Käse zu Käse zum Ausdruck. Die Aktivität der Malatdehydrogenase, wie der Imino-peptidase erlaubt eine Aussage über die Intensität der Propionsäuregärung im Käse. Beide Enzyme zeigten in der Gruppe der nachgärenden Käse höhere Aktivitäten, dies in Übereinstimmung mit den Resultaten der Propionsäurebakterienzahl (vgl.

Tabelle 2) und verschiedenen Metaboliten wie zum Beispiel Acetat und Restmilchsäure (vgl. Tabelle 4), flüchtige Fettsäuren und Propionsäure (vgl. Tabelle 5). Verschiedene Käse der Nachgärungsgruppe wiesen sowohl bei der MDH als auch bei der IP extrem hohe Aktivitäten auf.

Mit dem LAP und GAA-Nachweis wurden Enzymaktivitäten der Proteolyse «in die Tiefe» erfasst. Dabei resultierte einzig in der GAA-Aktivität ein signifikant höherer Mittelwert. Tendenziell wiesen auch die LAP-Werte in den nachgärenden Käsen im Vergleich zu denjenigen guter Qualität auf eine höhere proteolytische Aktivität hin. Die Resultate der analysierten Stoffwechselformen- bzw. -endprodukte sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

**Tabelle 4:** Ergebnisse der Bestimmung verschiedener Stoffwechselformen  
(N ohne NG = 54, N mit NG = 54)

Bestimmung		MITTELWERT $\bar{x}$			STANDARDABWEICHUNG s		
		beide Gruppen <sup>1</sup>	ohne NG <sup>2</sup>	mit NG <sup>2</sup>	beide Gruppen	ohne NG	mit NG
Gesamtmilchsäure	$\mu\text{mol/g}$		49,4	23,5		15,6	16,5
L-Milchsäure	$\mu\text{mol/g}$		25,0	11,7		7,9	8,4
D-Milchsäure	$\mu\text{mol/g}$		24,1	11,8		7,5	8,2
Pyruvat	$\mu\text{mol/g}$		0,53	0,99		0,41	0,57
Acetat	$\mu\text{mol/g}$		28,9	39,9		10,5	8,2
Succinat	$\mu\text{mol/g}$		6,03	9,48		2,49	4,41
Glutamat	$\mu\text{mol/g}$		36,7	44,0		10,7	10,6
p-Benzochinonwert	$\mu\text{mol/g}$		370,0	446,6		72,6	65,4

<sup>1</sup> kein signifikanter Unterschied zwischen Käse ohne und mit Nachgärung

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Irrtumswahrscheinlichkeit < 5%)

Normalerweise beträgt die Milchsäurekonzentration im jungen Käse ca. 145  $\mu\text{mol/g}$  (18). Die in den reifen Tilsiterkäsen nachgewiesene Gesamtmilchsäure entspricht der Restmilchsäure. In beiden Käsegruppen fand ein beachtlicher Milchsäureabbau statt, der in den nachgärenden Käsen durchschnittlich um 25  $\mu\text{mol/g}$  grösser war. Dies lässt auf eine intensivere Vergärung von Milchsäure, wahrscheinlich durch die Propionsäurebakterien, in der Gruppe der fehlerhaften Käse schliessen. Die beiden Laktat-Isomere waren in beiden Käsegruppen prozentual gleich vertreten. Die noch vorhandene L- und D-Milchsäure liess somit keine Differenzierung der beiden Gruppen hinsichtlich der Milchsäurebakterien zu.

Pyruvat ist Zwischenprodukt verschiedener Stoffwechselformen. Die Pyruvat-Konzentration variierte in der Gruppe der qualitativ guten Käse zwischen 0,01 und 1,5  $\mu\text{mol/g}$  und in den nachgärenden Käsen zwischen 0,2 und 2,7  $\mu\text{mol/g}$  mit einem signifikant höheren Mittelwert für die fehlerhaften Laibe. Dieselbe Feststellung konnte für Succinat gemacht werden, das unter anderem auch Stoffwechselformenprodukt der Propionsäuregärung ist. Die graphische Darstellung der Succinat-Einzelwerte ergab, dass ein beachtlicher Teil der fehlerhaften Käse Succinat-Konzentrationen

erreichte, die in keinem der qualitativ guten Käse gemessen wurden. Einzelne nachgärende Käse unterschieden sich allein schon im Succinat-Wert von den qualitativ guten Proben deutlich. Acetat, das Produkt verschiedener Stoffwechselformen sein kann, zeigte einen deutlich höheren Mittelwert für die fehlerhaften Käse (vgl. Tabelle 4). Ausgehend von der Gärbilanz der Propionsäuregärung (3 mol Laktat  $\rightarrow$  1 mol Acetat + 2 mol Propionat + 1 mol  $\text{CO}_2$ ) lässt sich aus dem vorliegenden Acetat ein Milchsäureabbau von durchschnittlich 86  $\mu\text{mol/g}$  in den qualitativ guten und von 120  $\mu\text{mol/g}$  in den fehlerhaften Käsen errechnen. Dies entspricht in beiden Gruppen der Differenz zwischen dem Milchsäuregehalt im 24-stündigen Käse und der ermittelten Restmilchsäure-Konzentration nach 4-5 Monaten. Diese Überlegung verleitet zur Annahme, dass in den Tilsiter nachgewiesene Acetat dürfte ausschliesslich aus der Propionsäuregärung stammen. Dem widerspricht aber die Tatsache, dass das Verhältnis von Essig- zu Propionsäure in der gaschromatographischen Untersuchung deutlich von der Gärbilanz der Propionsäurebakterien abweicht. Somit ist auch eine Acetat-Bildung aus Milchsäure über andere Gärungsvorgänge als die Propionsäuregärung nicht ausgeschlossen. Mit der enzymatischen Bestimmung des Glutamats, das unter

den einzelnen freien Aminosäuren am stärksten vertreten ist (vgl. Abbildung 2) und der Ermittlung des p-Benzochinonwertes, der die Gesamtheit der niedermolekularen Eiweissabbauprodukte erfasst, wird eine Beurteilung der Proteolyse «in die Tiefe» ermöglicht. Die Mittelwerte in der Tabelle 4 ergaben für beide Nachweisverfahren signifikante Unterschiede, die eine stärkere Proteolyse in den nachgärenden Käsen aufzeigen. Dies stimmt mit der höheren Aktivität der GAA überein.

Ein Vergleich der biochemischen Untersuchungsergebnisse von Rohmilchtilsiterkäse mit den übrigen bisher untersuchten Käsesorten ergab, dass die Ergebnisse der Rohmilchtilsiter- und Appenzellerkäse gut übereinstimmen. Die signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der beiden Käsegruppen sind bei beiden Käsesorten gleich gerichtet und ungefähr gleich gross.

### 3.4 Chemische Untersuchungen

In den chemischen Analysen (Tabelle 5 und Abbildung 2) unterscheiden sich die fehlerhaften von den qualitativ guten Käsen durch einen höheren Wassergehalt, einen niedrigeren Kochsalzgehalt, einen höheren pH-Wert, höhere Anteile an wasserlöslichem Stickstoff (WLN), Nicht-Protein-Stickstoff (NPN), einen höheren Titrationswert flüchtiger Fettsäuren, einen höheren Gehalt an Essigsäure und vor allem an Propionsäure sowie eine grössere Menge an freien Aminosäuren. Als weitere flüchtige Fettsäuren blieben die Werte für n-Buttersäure und iso-Valeriansäure für beide Gruppen gleich, für die iso-Buttersäure und die iso-Caprinsäure wurden unterschiedliche, jedoch sehr tiefe Werte gefunden. Der mit 0,8% deutlich höhere Wassergehalt der qualitativ ungenügenden Käse scheint wiederum wie bereits bei Appenzellerkäse (18) und auch bei den Hartkäsesorten Emmentaler (20) und Greyerzer (16) einer der Risikofaktoren für die Nachgärung zu bilden. Erhöhte Werte für den WLN und den NPN sowie für die flüchtigen Fettsäuren sind weitere deutliche Zeichen für die Nachgärungsdisposition der fehlerhaften Käse. Die vermehrte Produktion flüchtiger Fettsäuren ist vorwiegend auf eine Propionsäuregärung zurückzuführen, bei welcher in bekannter Weise nebst Propionsäure auch Essigsäure entsteht. Verglichen mit Appenzellerkäse (2,41 resp. 4,09 mmol Propionsäure/100 g) sind die absoluten Mengen an Propionsäure (1,59 bzw. 3,70 mmol Propion-

Abb. 2: Gehalt an freien Aminosäuren in Rohmilchtilsiterkäsen mit und ohne Nachgärung

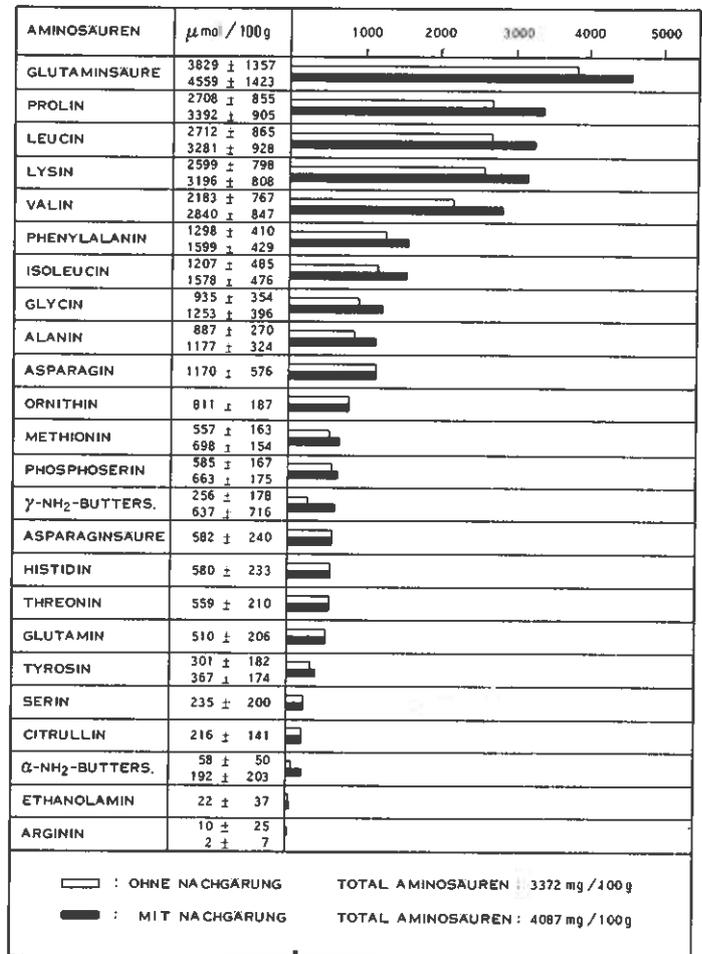


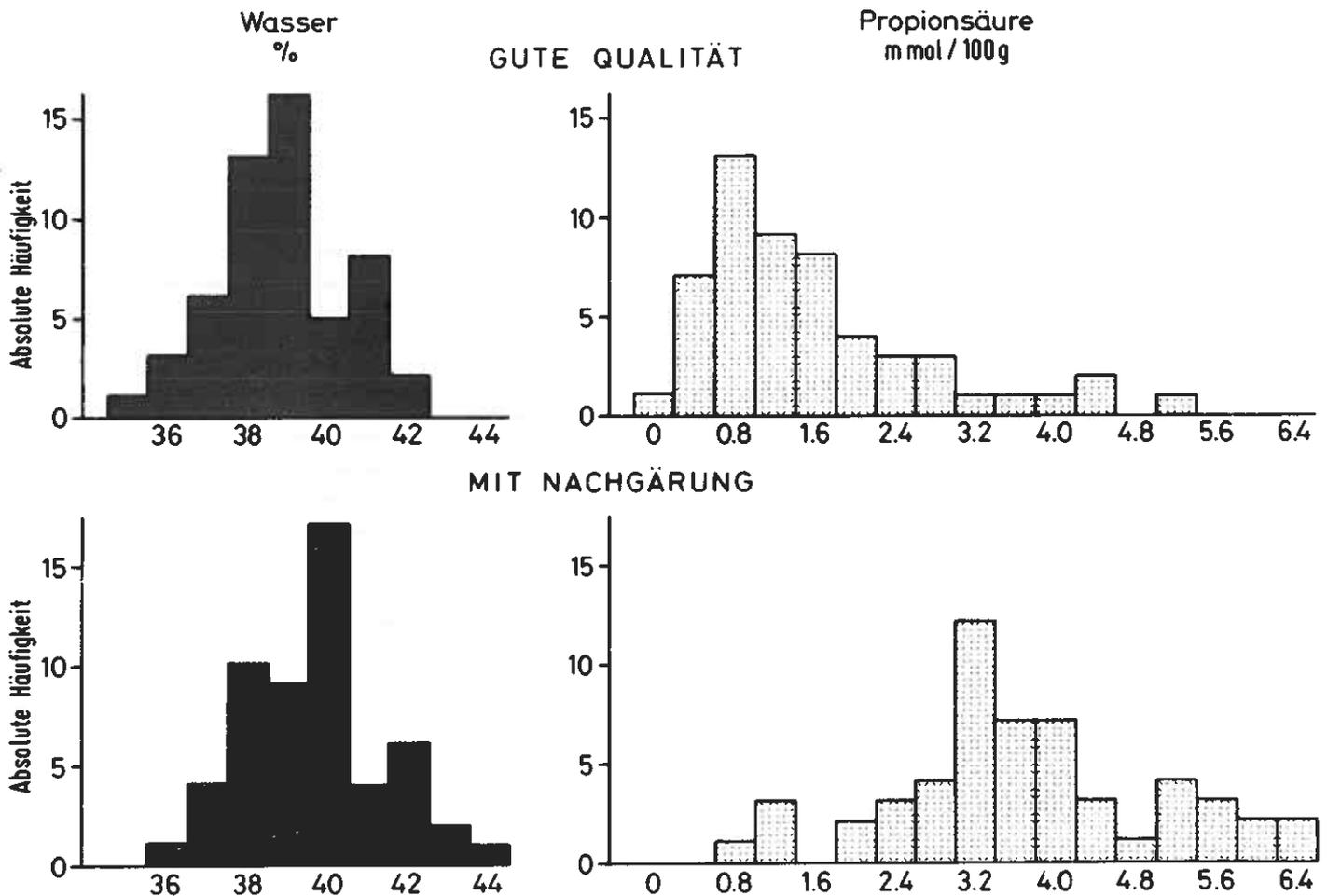
Tabelle 5: Resultate der chemischen Analysen (N ohne NG = 54, N mit NG = 54)

Bestimmungen		MITTELWERT $\bar{x}$		STANDARDABWEICHUNG s			
		beide Gruppen <sup>1</sup>	ohne NG <sup>2</sup>	mit NG <sup>2</sup>	beide Gruppen	ohne NG	mit NG
Wasser	%		38,8	39,6		1,6	1,7
Fett	%	30,5			1,4		
Kochsalz	%		1,88	1,75		0,20	0,21
Gesamtstickstoff (TN)	%		4,15	4,09		0,10	0,11
Anteil wasserl. Stickstoff (WLN)	% von TN		44,6	47,5		7,4	9,7
Anteil Nichtprotein-Stickstoff (NPN)	% von TN		21,0	25,0		3,1	2,8
pH			6,16	6,45		0,18	0,22
Flüchtige Fettsäuren	mmol/100 g		5,29	8,08		1,68	1,55
Essigsäure	mmol/100 g		3,03	3,79		0,68	0,60
Propionsäure	mmol/100 g		1,59	3,70		1,14	1,33
iso-Buttersäure	mmol/100 g		0,10	0,03		0,18	0,10
n-Buttersäure	mmol/100 g	0,37			0,34		
iso-Valeriansäure	mmol/100 g	0,13			0,15		
iso-Caprinsäure	mmol/100 g		0,10	0,05		0,13	0,08
Calcium	%	0,90			0,09		
Kupfer	μg/100 g	1 367			288		
Eisen	μg/100 g	314			88		
Mangan	μg/100 g	24,8			3,6		
Zink	μg/100 g	4,2			0,6		

<sup>1</sup> kein signifikanter Unterschied zwischen Käse ohne und mit Nachgärung

<sup>2</sup> signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Irrtumswahrscheinlichkeit < 5%)

Abb. 3: Wassergehalt und Propionsäurekonzentration der untersuchten Tilsiterkäse mit und ohne Nachgärung (Häufigkeitsverteilung)



säure/100 g) weniger hoch. Der Unterschied zwischen qualitativ guten und nachgärenden Käsen war jedoch beim Tilsiter ausgeprägter und die Mehrproduktion an Propionsäure erreichte das 2,3-fache gegenüber dem 1,7-fachen beim Appenzeller. Wie schon früher beim Appenzellerkäse, fällt auch beim Tilsiter die relativ grosse Streuung der Gehalte an flüchtigen Fettsäuren (3 bis 12 mmol flüchtige Fettsäuren/100 g) auf; ein weiterer Hinweis darauf, wie unterschiedlich das Gärungsgeschehen in den einzelnen Käsen bzw. Fabrikationen war (vgl. dazu Abbildung 3).

Die Unterscheidung zwischen qualitativ guten und nachgärenden Käsen anhand der Anteile WLN und NPN ist bei Tilsiter- etwas ausgeprägter als bei Appenzellerkäse. Dies korreliert übrigens sehr gut mit den ebenfalls festgestellten Unterschieden im pH-Wert, dem p-Benzochinonwert und der Summe an freien Aminosäuren. Die Menge der vier in den meisten Käsen dominierenden freien Aminosäuren Glutaminsäure, Leucin, Prolin und Lysin (Abbildung 2) ist bei Tilsiterkäsen mit Nachgärung deutlich erhöht, was beispielsweise bei Appenzellerkäse nicht der Fall war. Die Mengenverhältnisse der andern freien Aminosäuren unterschieden sich ebenfalls klar von den Resultaten für Appenzellerkäse, so dass auf verschiedene proteolytische Vorgänge geschlossen werden kann.

Im Gegensatz zu Appenzellerkäse war beim Tilsiter der Kupfergehalt nicht unterschiedlich. Die ebenfalls nicht differierende Calcium-Konzentration lässt den Schluss zu, dass die Anfangssäuerung im Käse allgemein genügend war und nicht als mögliche Ursache für eine spätere Nachgärung angesehen werden kann.

### 3.5 Rheologische Untersuchungen und Farbmessung

Tabelle 6 vermittelt einen Überblick über die Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen und der Farbmessungen.

Tabelle 6: Vergleich physikalischer Merkmale von Tilsiterkäsen mit und ohne Nachgärung

Merkmal		Mittelwert $\bar{x}$		Standardabweichung $s$	
		ohne NG	mit NG	ohne NG	mit NG
Teighärte	PE	121	134	22	28
Deformation b.					
Stauchbruch	%	50,2	44,7	7,2	7,0
Kraft beim Stauchbruch	kp	2,20	1,92	0,38	0,36
Druckspannung	kp		1,36		0,37
Farbe L		71,3	72,8	2,5	2,7
Farbe a			-0,95		0,34
Farbe b			19,0		2,0

**Legende:** Farbe L = Helligkeit (100 = weiss, 0 = schwarz)  
 Farbe a = Rot-Grün (positive Werte rot, negative grün)  
 Farbe b = Gelb-Blau (positive Werte gelb, negative blau)  
 PE = Penetrometereinheiten (1 PE = 0,1 mm Eindringtiefe)

Die Messung der Druckspannung ergab keine signifikanten Festigkeitsunterschiede zwischen den beiden Gruppen mit und ohne Nachgärung, hingegen deuten die Resultate der Penetrometermessung auf einen signifikant weicheren Teig der Nachgärungskäse. Dies steht im Gegensatz zu den früher untersuchten Sorten. Beim Emmentaler wiesen die Nachgärungskäse einen penetrometrisch härteren Teig auf (20), während beim Greyerzer (16), Sbrinz (17) und Appenzeller

(18) keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen registriert wurden. Da die nachgärenden Tilsiterkäse aber einen signifikant höheren Wassergehalt aufwiesen, erstaunt es nicht, dass ihr Teig tendenziell weicher war. Bei gleichem Wassergehalt wäre der Teig der Nachgärungskäse vermutlich eher härter oder zumindest gleich hart ausgefallen wie der der Käse ohne Nachgärung. So gesehen, besteht also kein Unterschied zu den früher untersuchten Sorten. Zwischen den Druckspannungswerten der beiden Tilsitergruppen wurden im Gegensatz zur penetrometrisch bestimmten Teighärte keine Unterschiede festgestellt. Dies liegt vermutlich daran, dass sich bei der penetrometrischen Messung zusätzlich die Konsistenz (Länge) des Teiges auf die Eindringtiefe der Nadel auswirkt. Der Teig der nachgärenden Käse war nämlich signifikant kürzer (Deformation beim Stauchbruch) als derjenige der qualitativ guten Tilsiterkäse und der Widerstand gegen die eindringende Nadel des Penetrometers demzufolge geringer.

Der kürzere Teig der Tilsiterkäse mit Nachgärung steht in Zusammenhang mit ihrem stärkeren Eiweissabbau. Verschiedene Parameter, die die Proteolyse charakterisieren, zeigten signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Beim Appenzellerkäse wurden die gleichen Feststellungen gemacht. So deutet zum Beispiel die geringere Kraft beim Stauchbruch auf einen kleineren Verformungswiderstand des Teiges der Nachgärungstilsiter hin.

Die Farbmessungen bestätigten die bei den andern Sorten gefundenen Ergebnisse. Die Käse mit Nachgärung waren signifikant heller als die qualitativ guten Käse (L-Farbe). In der grün-rot- und blau-gelb-Komponente unterschieden sich die beiden Tilsitergruppen hingegen nicht. Bei der b-Farbe

(blau-gelb) waren die üblichen saisonalen Einflüsse zu registrieren. Die während der Grünfütterungsperiode im Sommer hergestellten Käse wiesen höhere Gelbanteile auf als die im Winter fabrizierten.

### 3.6 Physikalisch-chemische Messungen

Die Resultate der ausgewählten physikalisch-chemischen Messungen sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Bezüglich der Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert) wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den qualitativ guten und fehlerhaften Käsen gefunden. Ähnlich wie bei früheren Untersuchungen anderer Käsesorten (1, 2) kompensierten sich in diesem Merkmal verschiedene Einflussfaktoren. Die in den Nachgärungskäsen aufgrund der fortgeschrittenen Proteolyse erwartete  $a_w$ -Erniedrigung (berechnet ca. 0,006; 11, 18) wurde durch den tieferen Kochsalzgehalt, den höheren pH-Wert und Wassergehalt ausgeglichen, so dass die Mittelwerte beider Gruppen sich nicht signifikant unterschieden. Der Mittelwert von  $a_w = 0,962$  stellt für das Wachstum der Propionsäurebakterien noch keinen limitierenden Faktor dar (12, 21). Für gewisse Laktobazillen und Streptokokken jedoch dürfte sich dieses  $a_w$ -Niveau stark hemmend auswirken (21). Für das Wassersorptionsvermögen gelten ähnliche Überlegungen wie für die Wasseraktivität. Die aufgrund des tieferen Kochsalzgehaltes und höheren pH-Wertes erwartete Erniedrigung des Wassersorptionsvermögens wurde durch den höheren Gehalt an niedermolekularen Eiweissabbauprodukten ausgeglichen. Der Mittelwert von 45,0% ist vergleichbar mit den Werten der Appenzellerkäse (2), aber deutlich höher als bei den Hartkäsesorten Emmentaler (3), Sbrinz (1) und Greyerzer (4).

**Tabelle 7:** Wasseraktivität, Wasser-Sorptionsvermögen und pH-Titration von Tilsiterkäsen (N ohne NG = 54, N mit NG = 54)

Bestimmung	MITTELWERT $\bar{x}$ <sup>1</sup>			STANDARDABWEICHUNG s		
	beide Gruppen	ohne NG	mit NG	beide Gruppen	ohne NG	mit NG
Wasseraktivität $a_w$	0,962			0,006		
Wassersorption % H <sub>2</sub> O <sup>2</sup>	45,0			4,6		
pH-Labilität <sup>3</sup>		4,44	4,74		0,49	0,68
Laugenverbrauch bis pH = 8,3 <sup>4</sup>		0,421	0,385		0,044	0,053
Laugenverbrauch bis pH = 9,0 <sup>4</sup>	0,709			0,074		

<sup>1</sup> Wenn kein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand, ist der Mittelwert in der Kolonne «beide Gruppen» aufgeführt

<sup>2</sup> Gleichgewichtswassergehalt bei  $a_w = 0,933$  (3)

<sup>3</sup> Entspricht dem Winkel der Tangente an die Titrationskurve beim pH-Wert des Käses, d. h. der pH-Verschiebung pro mmol KOH und 1 g fettfreier Käsetrockenmasse ( $\text{pH} \cdot \text{mmol}^{-1} \text{g}^{-1}$ )

<sup>4</sup> mmol KOH pro 1 g fettfreier Käsetrockenmasse

Gegenüber pH-Änderungen verhielten sich die Tilsiterkäse mit und ohne Nachgärung verschieden. In den Nachgärungskäsen änderte sich der pH-Wert bei der Zugabe von KOH im Mittel stärker als in den Vergleichskäsen. Die mittlere pH-Labilität bezogen auf 1 g Käse und 1 mmol KOH betrug bei den Nachgärungskäsen 15,8 (s = 2,2) und bei den Normalkäsen 14,5 (s = 1,6). Dieser Unterschied bleibt auch noch signifikant wenn die pH-Labilität auf die fettfreie Trockenmasse bezogen wird. Somit lag der Grund für den Unterschied effektiv in der verschiedenen Zusammensetzung der Hydrolyse-Produkte der Caseine und nicht wie im Falle des Appenzellerkäses (2) hauptsächlich in den unterschiedlichen Wassergehalten (beim Appenzellerkäse war das Pufferungsvermögen nicht mehr signifikant verschieden, nachdem die Werte auf die fettfreie Trockenmasse bezogen wurden). Auch der durchschnittliche Laugenverbrauch bis pH = 8,3 bei der Titration des Käses war verschieden. Ähnlich wie beim Appenzellerkäse (2) benötigte der Nachgärungskäse weniger Lauge um bis zum gleichen pH-Wert von 8,3 zu gelangen. Dies ist eine Konsequenz der erhöhten pH-Labilität und des

höheren Anfangs-pH-Wertes. Der mittlere Laugenverbrauch bis pH = 9,0 war nicht mehr signifikant verschieden, vermutlich infolge zunehmender Streuung der Einzelwerte.

Weil die untersuchten physikalisch-chemischen Merkmale zusammengesetzte Grössen darstellen, in denen sich die Auswirkungen der intensiveren Proteolyse durch andere Einflüsse (z. B. Wasser- und Kochsalzgehalt) teilweise kompensieren, eignen sie sich zur Diagnose der Nachgärung nicht.

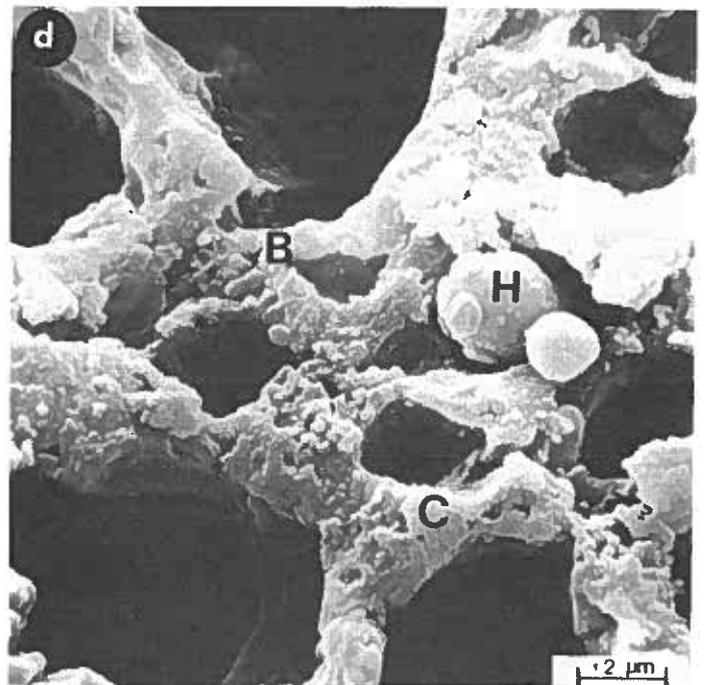
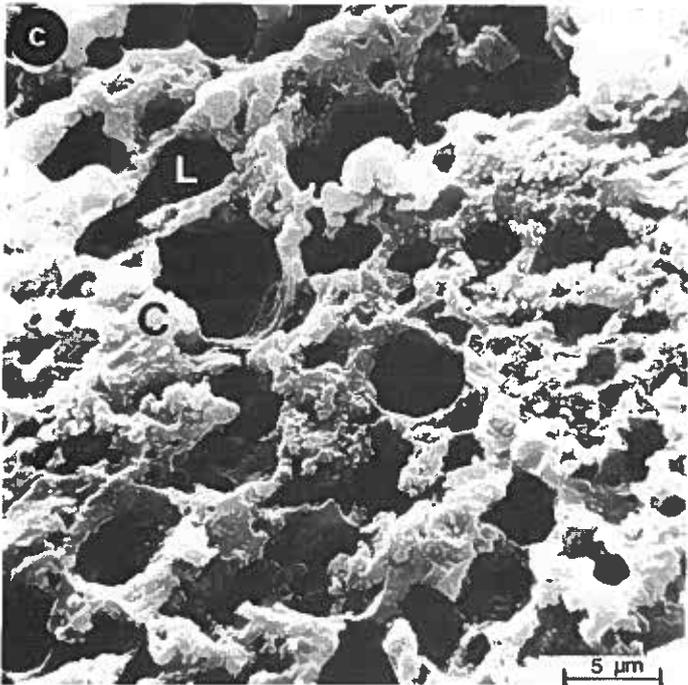
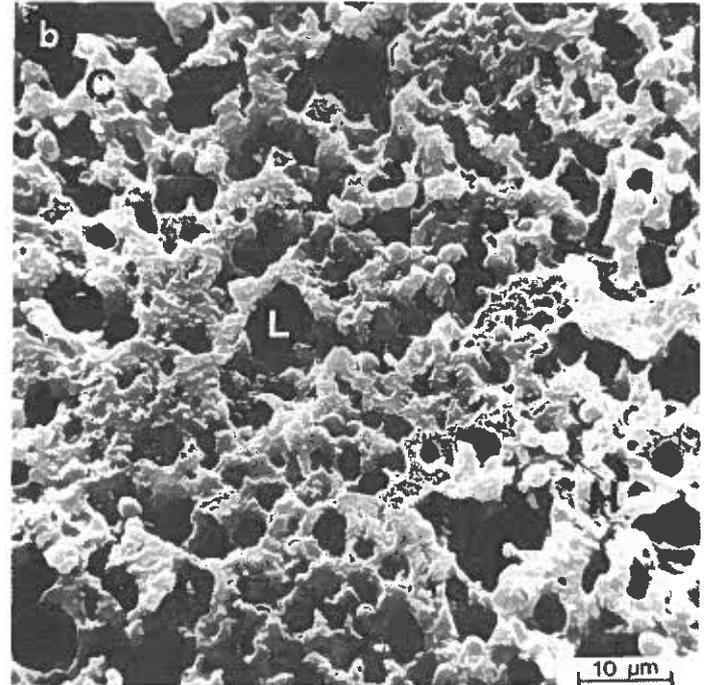
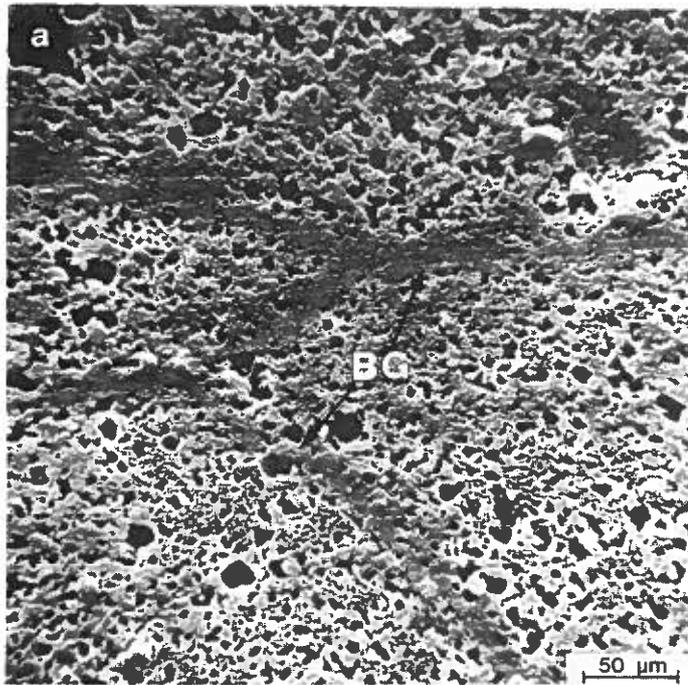
Sie stellen aber einen neuen Beitrag zur Sortencharakterisierung dar und geben insbesondere Auskunft über die Wasserbindungsverhältnisse.

### 3.7 Rasterelektronenmikroskopie

Abbildung 4 zeigt typische Bilder des entfetteten Rohmilchtilsiterkäses bei verschiedenen Vergrösserungen. Die Bilder von Käsen mit und ohne Nachgärung liessen sich nicht eindeutig unterscheiden. Bei schwacher Vergrösserung (Abbildung 4a) sind wie bei den übrigen untersuchten Käse-

sorten (1, 2, 3, 4) die Bruchkorngrenzen als dunkle Streifen erkennbar. Die beim Emmentaler (4) und in geringerem Ausmasse auch beim Appenzellerkäse (2) beobachteten kleinen Gaslöcher waren beim Tilsiter ebenfalls vereinzelt zu finden (vgl. Abbildung 4a).

**Abb. 4:** Rasterelektronenmikroskopische Bilder von entfettetem Tilsiterkäse bei 4 verschiedenen Vergrößerungen (BG=Bruchkorngrenzen, B=Bakterien, C=Caseingerüst, H=Hefezelle, L=durch die Entfernung von Fettkügelchen entstandene Hohlräume)



Von den bisher im Rahmen dieser vergleichenden Untersuchungen analysierten Käsesorten, wies der Tilsiter den intensivsten Proteinabbau auf. In den Bildern des Caseingerüsts zeigte sich dies durch eine ausgeprägte grob granuläre Struktur.

### 3.8 Diskriminanzanalyse

In Tabelle 8 sind die F-Werte der Diskriminanzanalyse einiger ausgewählter Parameter aufgeführt. Hohe Werte sind identisch mit einer stärkeren Trennwirkung. In einem ersten Schritt der Diskriminanzanalyse ergaben die flüchtigen Fettsäuren die beste Trennwirkung der beiden Käsegruppen. Dies lässt primär auf eine verschiedene Intensität der Propionsäuregärung in den qualitativ guten bzw. nachgärenden Käsen schließen. Mit der Diskriminanz der flüchtigen Fettsäuren nach dem ersten Schritt ist auch eine

deutliche Abnahme der F-Werte verschiedener, die Propionsäuregärung charakterisierender Analysenresultate (z. B. Propionsäure, MDH, Gesamtmilchsäure) festzustellen. Die Unterscheidungsmöglichkeit wurde in den weiteren Schritten mit dem pH-Wert, der iso-Caprönsäure-Konzentration und dem Total-Stickstoff erreicht. Anhand der 4 erwähnten Methoden war es möglich, 87% aller untersuchten Käse der richtigen Qualitätsgruppe zuzuordnen. Im Vergleich zum Appenzellerkäse wiesen die Rohmilchtilsiter andere Trennkriterien auf.

**Tabelle 8:** F-Werte einiger ausgewählter Methoden in der Diskriminanzanalyse

Analyse (Methode)	Diskriminanzanalyse				
	Schritt 0	Schritt 1	Schritt 2	Schritt 3	Schritt 4
Wasser	7,2	6,5	0,7	1,2	0,0
Kupfer	0,0	1,0	0,9	0,3	0,5
flüchtige Fettsäuren	80,6	-	-	-	-
- Essigsäure	37,7	0,2	0,1	0,3	0,1
- Propionsäure	78,5	4,9	7,7	0,2	0,0
- i-Caprinsäure	4,5	13,8	17,3	-	-
Gesamtmilchsäure	70,7	7,3	1,0	0,6	1,6
L-Milchsäure	72,2	7,7	1,3	0,5	1,4
Acetat	38,0	0,1	0,1	0,5	0,8
MDH	50,2	5,2	4,3	0,2	0,6
pH	54,0	16,3	-	-	-
p-Benzochinonwert	33,3	3,4	1,9	2,4	3,6
NPN in % TN	49,5	7,8	2,3	5,0	3,9
Total N	8,2	6,6	5,7	9,5	-
Salzgehalt	9,7	0,5	1,2	0,0	1,6

\* diskriminierende Analysen: Schritt 1 = flüchtige Fettsäuren  
Schritt 2 = pH  
Schritt 3 = iso-Caprinsäure  
Schritt 4 = Total N

### Folgerungen

Die vergleichenden Untersuchungen von guten und nachgärenden reifen Rohmilchtilsiterkäsen ergaben für einige der angewandten Analysenverfahren signifikante Mittelwertsunterschiede. Dabei war vorerst der weite Streubereich der gemessenen Einzelwerte auffallend, obwohl die Käse bezüglich Alter relativ gut übereinstimmten und eine definiert einheitliche Probeentnahme befolgt wurde. Bereits die chemische Zusammensetzung der Käse zeigte eine grosse Streubreite, wie aus Tabelle 9 hervorgeht.

**Tabelle 9:** Mittelwert, Standardabweichung und Extremwerte wichtiger Bestandteile von qualitativ guten und nachgärenden Rohmilchtilsiterkäsen

Analyse		$\bar{x}$	s	Extremwerte	
				Min.	Max.
Wasser	%	39,2	1,66	34,7	43,6
Fett	%	30,5	1,44	27,6	34,0
Eiweiss (TN x 6,38)	%	26,3	0,72	24,2	27,9
Kochsalz	%	1,82	0,22	1,26	2,42

Diese Streuungen der Gehaltsanteile der Käse sind wohl auf Unterschiede in der Rohmilchflora, der Fabrikation, im Säuerungsverlauf und zum Teil in der Behandlung während der Lagerung zurückzuführen. Dazu ist zu bemerken, dass sich die grossen Unterschiede nicht nur auf die qualitativ schlechten Käse beschränken. Die Differenzen in der chemischen Zusammensetzung wirken sich in der Folge mit grosser Wahrscheinlichkeit auf die weiteren Gärungsvorgänge aus.

Die Keimzahlen verschiedener Bakteriengruppen, die Enzymaktivitäten und die Werte der Stoffwechselprodukte streuten ebenso in einem weiten Bereich. Unter diesen Voraussetzungen ist eine Interpretation der vorliegenden Ergebnisse bezüglich des Fehlers «Nachgärung» schwierig. Verschiedene fehlerhafte Käse unterschieden sich in einzelnen Methoden jedoch ausgeprägt von der qualitativ guten Gruppe. Einige nachgärende Käse wiesen dagegen keine deutlichen Unterschiede auf, lagen aber in ihrer Tendenz in derselben Richtung wie die fehlerhafte Gruppe.

Eindeutige Unterschiede zwischen den beiden Käsegruppen resultieren im Gehalt an flüchtigen Fettsäuren. Die nachgärenden Käse wiesen deutlich höhere Werte auf. Der Titrationswert flüchtiger Fettsäuren betrug nur in 7 von insgesamt 54 untersuchten qualitativ guten Käsen 3,0 mmol/100 g oder mehr, während 46 von insgesamt 54 nachgärenden Käsen über diesem Wert lagen. Die flüchtigen

Fettsäuren bestanden vorwiegend aus Propion- und Essigsäure. In deutlich kleineren Mengen wurden die höhermolekularen Verbindungen (Buttersäure, Valeriansäure und Caprinsäure) nachgewiesen. In den nachgärenden Käsen war der Durchschnittswert für die Propionsäure eindeutig erhöht; 49 von insgesamt 54 fehlerhaften Laiben wiesen 2 mmol oder mehr Propionsäure pro 100 g Käse auf, während für die qualitativ gute Gruppe eine durchschnittliche Propionsäurekonzentration von 1,59 mmol/100 g ermittelt wurde und bei 40 Käsen der Wert für die Propionsäure unter 2 mmol/100 g lag.

Eine intensivere Propionsäuregärung ist nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen als Hauptursache für die Nachgärung im Rohmilchtilsiterkäse anzusehen. Diese Feststellung wird durch weitere Analyseergebnisse noch erhärtet. Die höhere Zahl an Propionsäurebakterien, die kleinere Restmilchsäurekonzentration, die höheren Gehalte an Acetat und Succinat sowie die deutlich höheren Aktivitäten der Imino-peptidase und der Malatdehydrogenase in den Nachgärungskäsen sind weitere Hinweise auf eine intensivere Propionsäuregärung. Der Grund der stärkeren Propionsäuregärung kann anhand der Untersuchungsergebnisse in den reifen Käsen nicht mit Sicherheit ermittelt werden. Es ist aber auffallend, dass keine gesicherten Unterschiede bei den bekannten Hemmfaktoren, wie Kupferkonzentration und Wasseraktivität gefunden werden konnten. Leicht erhöht ist dagegen der Kochsalzgehalt in den qualitativ guten Käsen. Die um durchschnittlich 0,13% höhere Salzkonzentration (dies entspricht bezogen auf den Wassergehalt einer um 0,41% höheren Konzentration) dürfte kaum allein für die weniger intensive Propionsäuregärung verantwortlich sein. Obschon die bakteriologischen Ergebnisse mit Ausnahme der Propionsäurebakterienzahl, keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Käsegruppen aufzeigten, muss aufgrund verschiedener anderer Bestimmungen auf eine unterschiedliche Mikroflora geschlossen werden. Die während der Milchsäuregärung dominierenden Mikroorganismen sind in den 4½ Monate alten Käsen längst in der Absterbephase. Deshalb erstaunen die relativ geringen Keimzahlen in den verschiedenen bakteriologischen Tests nicht. Hingegen erlauben die in der reifen Käsemasse vorliegenden Enzymaktivitäten noch gewisse Rückschlüsse auf die ursprünglich im Käse vorhandene Mikroflora. Dabei fallen die in Nachgärungskäsen höheren Aktivitäten der alkalischen Phosphatase,  $\beta$ -Galaktosidase, Laktatdehydrogenase und der Glutaminsäure-Arylamidase auf. Somit musste in den nach-

gärenden Käsen eine höhere Enzymproteinmenge vorliegen oder eine andere Mikroflora für den Verlauf der Milchsäuregärung und der Proteolyse verantwortlich sein. Es wird Gegenstand weiterer Versuche sein, dieses Problem genauer abzuklären

Wie die Appenzeller- erfuhren auch die Tilsiterkäse einen relativ starken Milchsäureabbau. Im Durchschnitt dürfte dieser während der 4½-monatigen Reifung ungefähr 80–100 µmol Milchsäure/g Käse entsprechen. Dieser Abbau ist mit einem Emmentalerkäse vergleichbar, wie auch der Gehalt an flüchtigen Fettsäuren bestätigt. Das Verhältnis Essigsäure zu Propionsäure beträgt in qualitativ guten Tilsiterkäsen 1 : 0,5, in den nachgärenden Käsen 1 : 1, wobei die übliche Propionsäuregärung ein Verhältnis von 1 : 2 aufzeigen sollte. Somit bleibt unklar, ob Milchsäure ausschliesslich durch die Propionsäurebakterien abgebaut wurde.

Eine Beeinflussung des Verlaufes der Propionsäuregärung durch die Proteolyse ist nicht ausgeschlossen. Einerseits wird durch den Eiweissabbau der pH-Wert erhöht und andererseits ist bekannt, dass Propionsäurebakterien in der Lage sind, gewisse Aminosäuren umzusetzen (6). Verschiedene nachgärende Käse zeigten eine deutlich stärkere Proteolyse. In der Diskriminanzanalyse wies der pH-Wert nach den flüchtigen Fettsäuren die grösste Trennwirkung auf. Der Proteinabbau «in die Breite» war, gemessen am wasserlöslichen Stickstoff, in den beiden Käsegruppen nicht stark unterschiedlich. Deutliche Mittelwertsdifferenzen resultierten beim Nachweis niedermolekularer Eiweissabbauprodukte. Die höhere Konzentration der nachgärenden Käse an NPN, freien Aminosäuren, Glutamat sowie der höhere p-Benzochinonwert sind Hinweise auf einen verstärkten Proteinabbau «in die Tiefe». Anhand der vorliegenden Untersuchung konnte der Einfluss der Schmierflora auf das Gärungsgeschehen nicht ausgeschieden werden. Nach unserem Dafürhalten dürften die Unterschiede hauptsächlich auf die sich in der Käsemasse befindlichen Mikroorganismen zurückzuführen sein, da für die Probenahme eine relativ breite Randzone entfernt wurde. Ein möglicher Einfluss der Schmierflora muss in einem speziellen Versuch abgeklärt werden.

Eine Umsetzung von Aminosäuren, wie Alanin, Asparagin, Threonin sowie Asparaginsäure, Phenylalanin und Glycin durch Propionsäurebakterien zu Propion-, Essigsäure und CO<sub>2</sub> (6) konnte die Bestimmung der freien Aminosäuren im reifen Käse nicht mit Sicherheit aufzeigen. Asparaginsäure, Threonin und Asparagin wiesen keine Unterschiede zwischen den beiden Käsegruppen auf. Die Glycin-, Alanin- und Phenylalanin-Konzentrationen waren in den fehlerhaften Käsen sogar erhöht.

Die Diskriminanzanalyse beim Rohmilchtilsiter ergab für die Iso-Caprone Säure eine gewisse Trennwirkung zwischen den beiden Käsegruppen. Im Gegensatz zur n-Caprone Säure stammt die iso-Caprone Säure nicht aus der Lipolyse. Sie entsteht in der Umwandlung von Aminosäuren, wobei eine Transaminierung stattfinden muss. Transaminasen kommen sowohl in Milchsäurebakterien, der Rohmilchflora als auch in *Brevibacterium linens* vor. In den Hartkäsen Emmentaler, Greyerzer und Sbrinz wurde keine iso-Caprone Säure nachgewiesen (16, 17, 20), während Appenzeller- und Tilsiterkäse relativ geringe Konzentrationen dieser flüchtigen Fettsäure aufwiesen. Auffallenderweise resultierte für die qualitativ guten Käse trotz geringerer Konzentration an flüchtigen Fettsäuren mit durchschnittlich 0,1 mmol/100 g ein doppelt so hoher Mittelwert wie in den fehlerhaften Laiben. Es gilt jedoch zu beachten, dass über 50% der analysierten Käse guter Qualität ebenfalls keine iso-Caprone Säure aufwiesen. Der Stand des heutigen Wissens erlaubt daher keine Aussage, ob die Enzymsysteme der Rohmilch, der Milchsäurebakterienkulturen oder der Schmierflora in den Rohmilchtilsiterkäsen

verantwortlich waren. Da aber im Greyerzerkäse mit Schmierflora wie in den übrigen analysierten Hartkäsen keine iso-Caprone Säure nachgewiesen werden konnte, ist ein Einfluss der Temperaturbehandlung während der Bearbeitung im Kessi oder anschliessend auf der Presse nicht auszuschliessen.

Nebst flüchtigen Fettsäuren, pH-Wert und iso-Caprone Säurekonzentration kam dem Total-Stickstoff in der Diskriminanzanalyse noch eine gewisse Bedeutung zu. Die qualitativ guten Käse wiesen einen etwas höheren durchschnittlichen Total-Stickstoff-Gehalt auf. Gleichzeitig resultierte bei ausgeglichenem Fettgehalt ein höherer Wassergehalt für die fehlerhaften Käse. Somit dürfte der Total-Stickstoff in der Diskriminanzanalyse ein Hinweis auf den Wassergehalt im Käse und somit auf die Technologie und den Verlauf der Milchsäuregärung auf der Presse bei der Rohmilchtilsiterfabrikation sein.

Als Folge der bisher erwähnten Unterschiede resultierte logischerweise eine Auswirkung auf die Teigbeschaffenheit und zum Teil auf die Teigfarbe. Für Tilsiterkäse mit Nachgärung wurde ein signifikant kürzerer und hellerer Teig mit geringerem Verformungswiderstand ermittelt.

Die vorliegenden Resultate der Tilsiterkäse zeigen vergleichbare Tendenzen zum entsprechenden Versuch mit Appenzellerkäse (18). Die intensivere Propionsäuregärung in den nachgärenden Käsen ist beiden Sorten als Hauptfaktor der Nachgärung gemeinsam. Der höhere Kupfergehalt in den qualitativ guten Appenzellerkäsen und die Aktivität einzelner Enzymgruppen konnten jedoch beim Tilsiter nicht durchwegs bestätigt werden. Diese Feststellung zeigt, dass das Nachgärungsproblem bei den einzelnen Käsesorten differenziell zu betrachten ist. Die Voraussetzungen zur Behebung des Käsefehlers «Nachgärung» werden jedoch bei allen Rohmilchkäsen dieselben sein. Die Milchqualität, die Zusammensetzung der Milchsäurebakterien-Kulturen, die Technologie und die Behandlung während der Reifung sowie alle Faktoren, die die Propionsäuregärung direkt oder indirekt zu beeinflussen vermögen, müssen kontrolliert und weiter untersucht werden.

## Résumé

### Analyses comparatives de fromages de Tilsit à base de lait cru avec et sans fermentation secondaire

54 fromages de Tilsit à base de lait cru de bonne qualité et 54 atteints de fermentation secondaire, tous âgés d'environ 4½ mois, ont été analysés au cours d'une année à l'aide de diverses méthodes. Il s'est avéré que les fromages atteints de fermentation secondaire présentent une fermentation propionique plus intense, une protéolyse plus forte aboutissant à des produits de dégradation des caséines de faible poids moléculaire et, en partie, des différences dans la teneur en eau et en protéines. De plus, les variations dans la configuration des enzymes laissent supposer que les deux groupes de fromages se distinguent aussi par la microflore.

## Abstract

### Comparative analyses of raw milk Tilsit cheese with and without secondary fermentation

Various methods have been applied to analyze throughout one year 54 raw milk Tilsit cheeses of good quality and 54 loaves with secondary fermentation, all of them 4½ months old. The cheeses with secondary fermentation show a more intense propionic acid fermentation, a stronger proteolysis resulting in low-molecular casein breakdown products and partly differences in water and protein levels. From the variations in the enzyme patterns it can be concluded that the two cheese types must have different microfloras.

## Literatur

- 1 BLANC, B., FÜRST, M., RÜEGG, M., BAER, A., CASEY, M. und LUKESCH, A.: Schweiz. Milch. Forschung, **10** (1), 12–15 (1981)
- 2 BLANC, B., FÜRST, M., RÜEGG, M., BAER, A., CASEY, M. und LUKESCH, A.: in Vorbereitung
- 3 BLANC, B., RÜEGG, M., BAER, A., CASEY, M. und LUKESCH, A.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 27–36 (1979)
- 4 BLANC, B., RÜEGG, M., BAER, A., CASEY, M. und LUKESCH, A.: Schweiz. Milch. Forschung, **9**, 29–34 (1980)
- 5 BOSSET, J.-O., RÜEGG, M. und BLANC, B.: Schweiz. Milch. Forschung, **6**, 1–6 (1979)
- 6 DALLA TORRE, M.: unveröffentlichte Arbeit, EFAM (1974)
- 7 EBERHARD, P. und FLÜCKIGER, E.: Schweiz. Milchztg., **105** (58), 396, 399 (1979)
- 8 LAVANCHY, P., BÜHLMANN, C. und BLANC, B.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 9–14 (1979)
- 9 MOSSEL, D. A. A.: Arch. Lebensm. Hyg., **28**, 1–2 (1977)
- 10 RITTER, W.: Separatdruck. Schweiz. Milchztg., **83**, WB Nr. 3 (1953)
- 11 RÜEGG, M. und BLANC, B.: Milchwissenschaft, **32**, 193–201 (1977)
- 12 RÜEGG, M. und BLANC, B.: in «Water activity: Influences on food quality», L. B. ROCKLAND und F. STEWARD, Ed., Academic Press, San Francisco (1980)
- 13 STEFFEN, C.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 44–48 (1979)
- 14 STEFFEN, C., BÜHLMANN, C., SCHNIDER, J., SCHÄR, H. und RENTSCH, F.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 3–8 (1979)
- 15 STEFFEN, C., GLÄTTLI, H. und NICK, B.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 19–26 (1979)
- 16 STEFFEN, C., GLÄTTLI, H., STEIGER, G., FLÜCKIGER, E., BÜHLMANN, C., LAVANCHY, P. und NICK, B.: Schweiz. Milch. Forschung, **9**, 1927 (1980)
- 17 STEFFEN, C., GLÄTTLI, H., STEIGER, G., FLÜCKIGER, E., BÜHLMANN, C., LAVANCHY, P., NICK, P. und SCHNIDER, J.: Schweiz. Milch. Forschung, **10** (1), 78–87 (1981)
- 18 STEFFEN, C., GLÄTTLI, H., STEIGER, G., FLÜCKIGER, E., BÜHLMANN, C., LAVANCHY, P., NICK, B., SCHNIDER, J. und RENTSCH, F.: Schweiz. Milch. Forschung, **10** (3), 51–58 (1981)
- 19 STEFFEN, C., NICK, B., STEINMANN, T., FINGER, E. und SCHEIDEGGER, s.: Mitteilung der EFAM an die Organe der Käsereiberatung (1982)
- 20 STEIGER, G. und FLÜCKIGER, E.: Schweiz. Milch. Forschung, **8**, 39–43 (1979)
- 21 STREIT, K., RÜEGG, M. und BLANC, B.: Milchwissenschaft, **34**, 459–462 (1979)

