



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,  
Bildung und Forschung WBF  
**Agroscope**

# Heterofermentative Laktobazillen

## Nicolas Fehér

Käser Diskussionsgruppe – 6. Februar 2025





# Herkunft

- Stäbchenförmige Milchsäurebakterien die natürlicherweise im Gras und Futter vorkommen.



- Vorkommen in der Käserei:
  - In schlecht konservierten Labstücken
  - Bildung von Biofilmen auf den Oberflächen von Käsereimaterial





# Wachstum und Stoffwechsel

## Komplexe Wachstumsfaktoren

- Temperatur : 10 bis 48° C
  - Optimaler pH : 5.5 bis 6.2 = Säureliebend
  - Nährmedium : Verschiedene Kohlenhydrate: Laktose, Galaktose, Glukose, Citrat, Ribose, etc. +++
  - Säuerung: Meistens schwaches Säuerungsvermögen
  - Hitzeresistent: Einige Stämme überleben 62°C während mehreren Minuten
- 
- **Wachsen im Käse!**



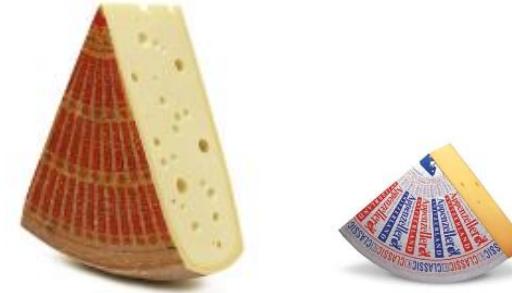
# Anwendungen bei der Käseherstellung



MK 3008: 3 Stämme *Lb. casei* ssp. *casei*

MK 3010: 1 Stamm *Lb. casei* ssp. *casei*

MK 3012: 3 Stämme *Lb. rhamnosus*



## Empfohlen bei der Herstellung von Emmentaler und Halbhartkäse

- Erwünschte Lochbildung in Halbhartkäse
- Hemmen teilweise gewisse Keime bei der Reifung (Propionsäurebakterien, Enterokokken, Salztolerante)
- Haben einen Effekt gegen braune Punkte in Halbhartkäse verursacht durch Propionsäurebakterien

Als Säuerungskultur haben heterofermentative Msb kaum eine Bedeutung. Ihre Fähigkeit Säure zu bilden ist im Verhältnis zu den «Säuerungskulturen» bescheiden!



# Klassifizierung der Laktobazillen

Strikt homofermentative	Fakultativ heterofermentative	Obligat heterofermentative
<i>Lb helveticus</i>	<i>Lb casei</i> ss <i>casei</i>	<i>Lb fermentum</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>delbrueckii</i>	<i>Lb rhamnosus</i>	<i>Lb brevis</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>lactis</i>	<i>Lb paracasei</i> ss <i>paracasei</i>	<i>Lb parabuchneri</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>bulgaricus</i>	<i>Lb paracasei</i> ss <i>tolerans</i>	<i>Lb buchneri</i>
<i>Lb acidophilus</i>		<i>Lb plantarum</i>



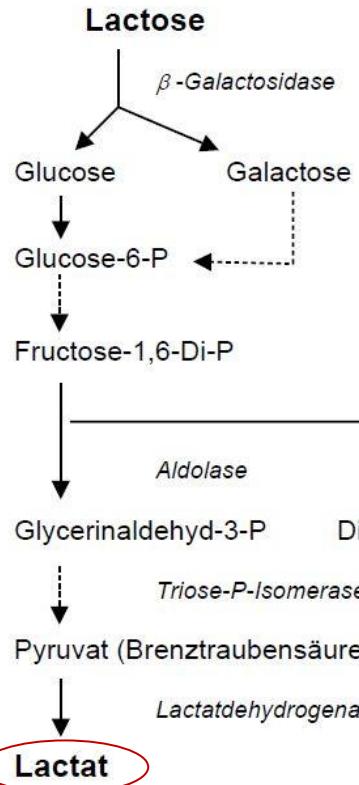
# Unterschied

	Fakultativ heterofermentative	Obligat heterofermentative
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tendenziell mesophil</li><li>• Sind in der Lage, je nach Energiequelle und Wachstumsbedingungen, den homo- oder heterofermentativen Garungstyp zu vollziehen</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tendenziell thermophil</li><li>• Bilden immer CO<sub>2</sub></li><li>• Aktiver Stoffwechsel schon während der Fabrikation</li><li>• Sehr Salztolerant</li></ul>



# Mögliche Stoffwechsel der Laktobazillen

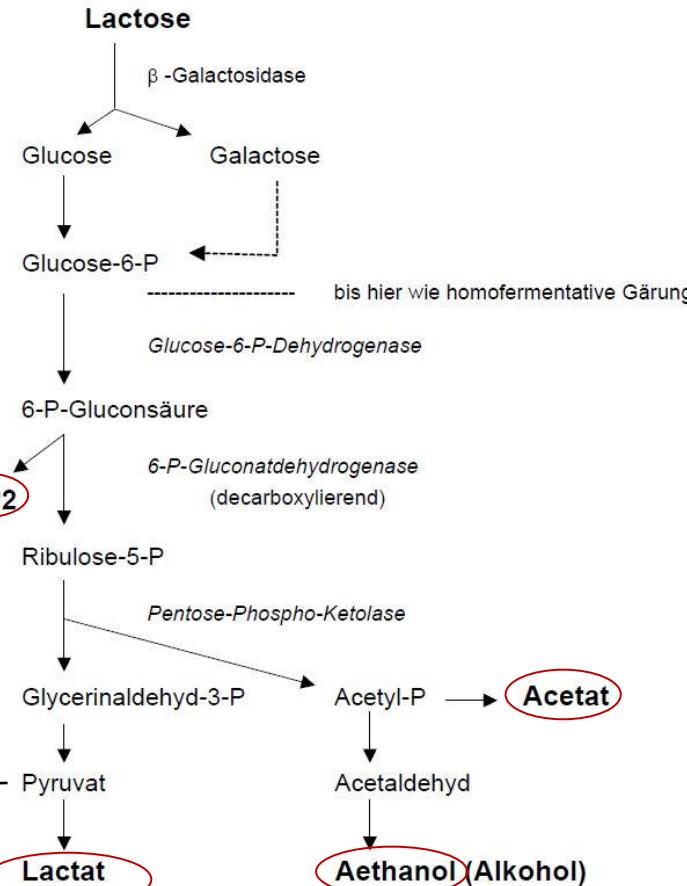
## Homofermentativ



C12-Verbindung (1)

C6-Verbindungen (2)

## Heterofermentativ

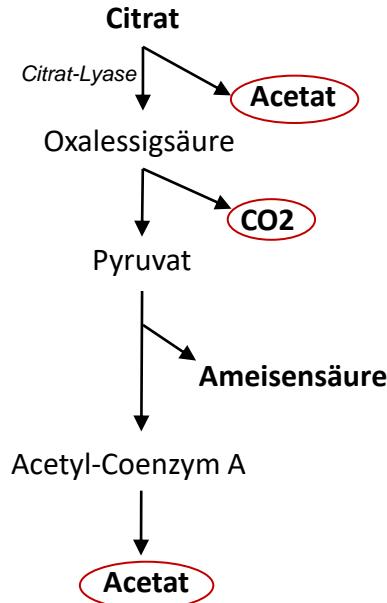


Gärungsbilanz:  $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \longrightarrow 4 C_3H_6O_3$   
Lactose Lactat

Gärungsbilanz:  
Eine Bilanz, wie bei der homofermentativen Milchsäuregärung, ist kaum möglich. Je nach den Umständen sind die einen oder die andern Produkte stärker vertreten.



# Mögliche Stoffwechsel der Laktobazillen



*Lb casei*, *Lb rhamnosus* und *Lb plantarum* können Citrat vergären. Allerdings erst wenn kein Zucker zur Verfügung steht.



# Besonderheit der heterofermentativen Laktobazillen

Einige Stämme haben die Fähigkeit sich zu verkapseln



Ungeschützte Bakterien



Verkapselte Bakterien  
(*Lb. rhamnosus*)

Die Thermisierung ist nicht immer ausreichend  
um *Lb. rhamnosus* vollständig zu hemmen.



# 1. Beispiel aus der Praxis: Loch in Gruyère verursacht durch FAKET von Lieferantenmilch



Foto nach 3 Monaten Reifung

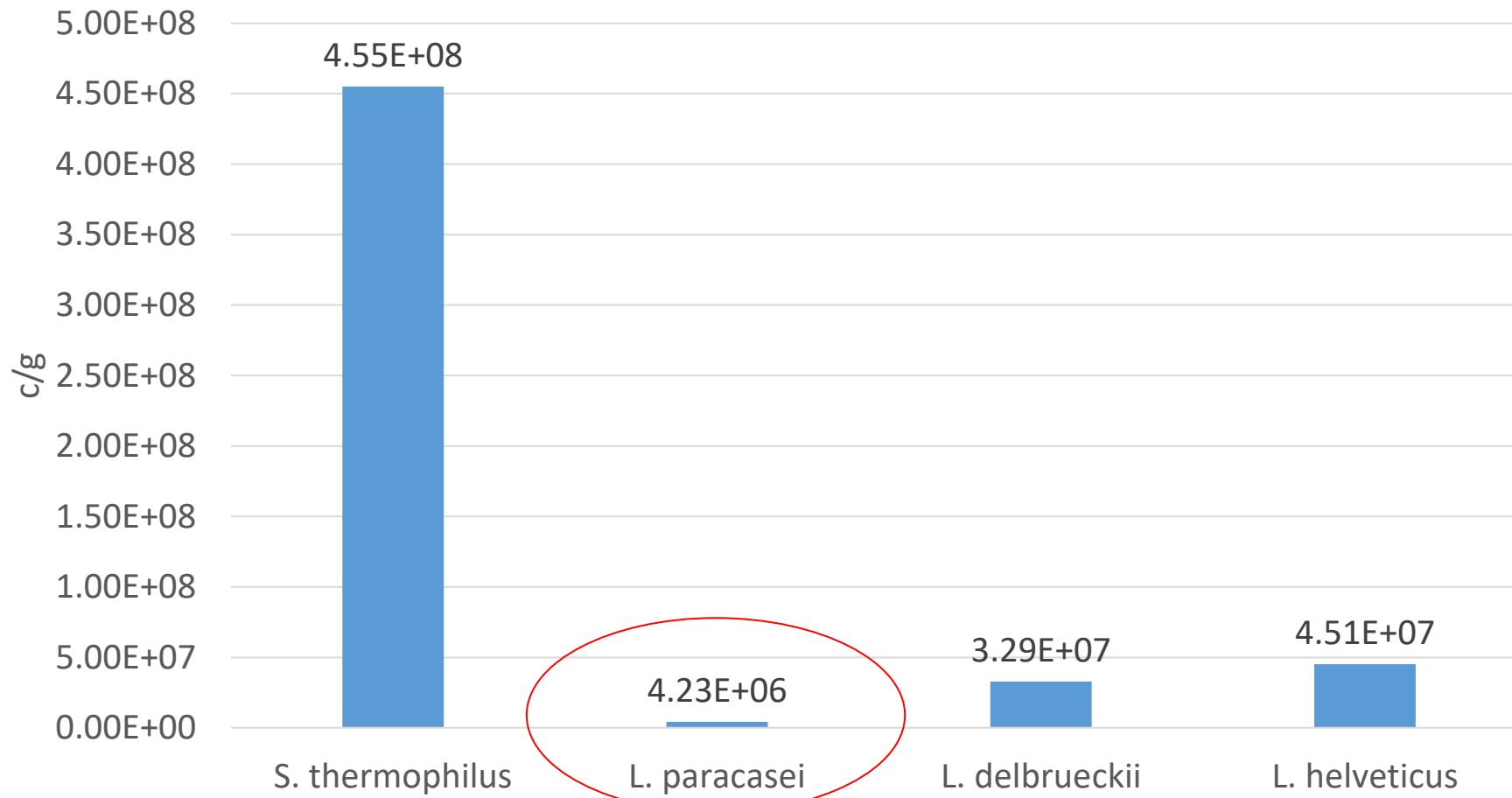


# Der 3 Monate alte Gruyère hat bei der Gaschromatographie (GC) nur einen erhöhten Essigsäuregehalt

[Mmol/Kg]	3 Monate Reifung	5 Monate Reifung	Norm 5 Monate [Mmol/Kg]
Total flüchtige Carbonsäuren	21.86	24.06	
Ameisensäure	C 1	1.86	<b>2.31</b> ↑↑
Essigsäure	C 2	<b>18.39</b>	<b>20.14</b> ↑↑
Propionsäure	C 3	0.51	<b>&lt; de 2.0</b>
i-Buttersäure	i-C 4	0.19	0.19
n-Buttersäure	n-C 4	0.57	0.71
i-Valeriansäure	i-C 5	0.24	0.22
i-Capronsäure	i-C 6	0.00	0.00
n-Capronsäure	n-C 6	0.10	<b>&lt; de 0.3</b>
Buttersäure berechnet aus Gärung		0.12	<b>&lt; de 1.5</b>



# qPCR Gruyère nach 5 Monate Reifung





# Kontrolle Käserei

Probe	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen KBE/g	Enterobakterien ufc/g
Fettsirtenkultur 20h 32°C	<10	<10
Fettsirtenkultur 20h 38°C	<10	<10
Milch Auslauf Plattenaustauschwärmer, erster Milchproduzent am Abend	<10	<10
Molke Kessi	< 10	30
Molke Auslauf buses	< 10	< 10
Molke unter der Form	< 10	< 10



# Kontrolle Lieferantenmilchen

Probe	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen KBE/g	Enterobakterien ufc/g
Produzent A Milch Morgen und Abend	10	<10
Produzent B Milch Morgen und Abend	<10	<10
Produzent C Milch Morgen und Abend	<10	<10
Produzent D Milch Morgen und Abend	<10	580
Produzent E Milch Morgen und Abend	<10	<10
<b>Produzent F Milch Morgen und Abend</b>	<b>Hoher Verdünungsefekt</b>	<b>800</b>
Produzent G Milch Morgen und Abend	20	100
Produzent H Milch Morgen und Abend	<10	<10
Produzent I Milch Morgen und Abend	<10	<100
Produzent J Milch Morgen und Abend	<10	<10
Produzent K Milch Morgen und Abend	<10	<10
Produzent L Milch Morgen und Abend	<10	<10
<b>Kessi 1</b>		<b>80</b>
		3800



# Stallkontrolle bei Produzent F

Analyse	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen KBE/g	Enterobakterien ufc/g
Kuh Belinda	<10	<10
Kleiner Milchbehälter mit bnormalen Melkzeug	<10	<10
Kanne nach kleinem Milchbehälter	Kein Resultat	Kein Resultat
Kuh Lona	<10	<10
<b>Groser Milchbehälter mit Melkzeug mit schwarzem Ende</b>	<b>960</b>	<10 Kein Indiz durch Entero.
<b>Kanne nach großem Milchbehälter</b>	<b>230</b>	<10
Kuh Poupée	<10	<10
Kleiner Milchbehälter	<10	<10
<b>Groser Milchbehälter</b>	<b>290</b>	<10
<b>Kanne 2</b>	<b>130</b>	<10
Wasser	<10	<10



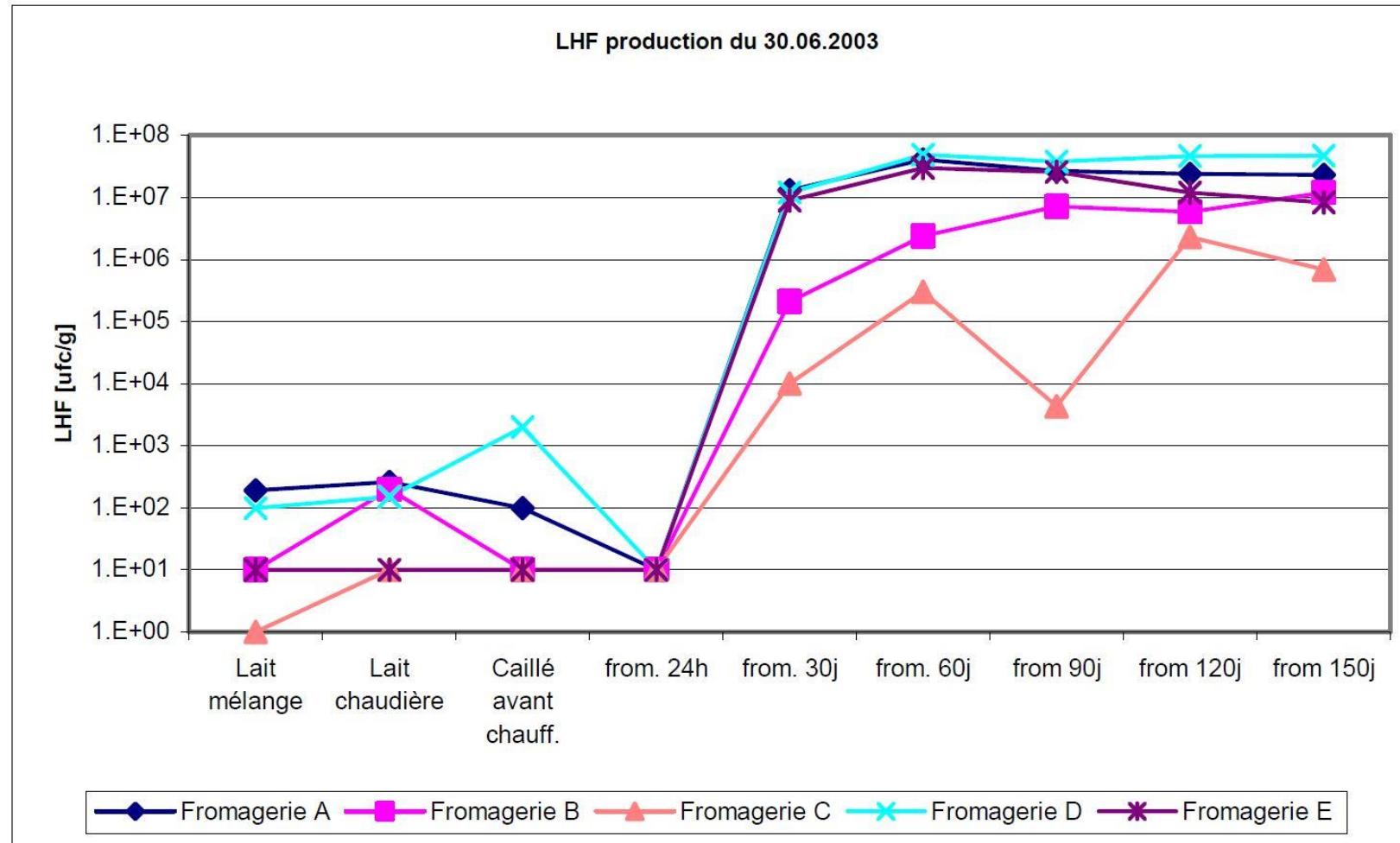
# Normen und Grenzwerte

**Bereits eine leichte Kontamination der Kessimilch mit 10 bis 100 KBE/ml kann während der Käsereifung zu einem starken Wachstum heterofermentativer Laktobazillen führen.**

- Heterofermentative Milchsäurebakterien können zum Aroma beitragen oder ein Fehlaroma verursachen.
- Bei längerer Reifung autolysieren heterofermentativen Lb. aufgrund von Substratmangel.
- Bei einer ausreichend hohen Konzentration können heterofermentative Lb. unter der Presse Löcher im Käse bilden.
- Einige heterofermentative Lb. -Stämme wachsen im Gruyère, ohne Fehler zu verursachen.



# Wachstum von heterofermentative Lb. in Gruyère von 5 verschiedenen Käsereien





## 2. Beispiel aus der Praxis: Loch in Gruyère verursacht durch heterofermentative Lb. – Biofilm Käserei

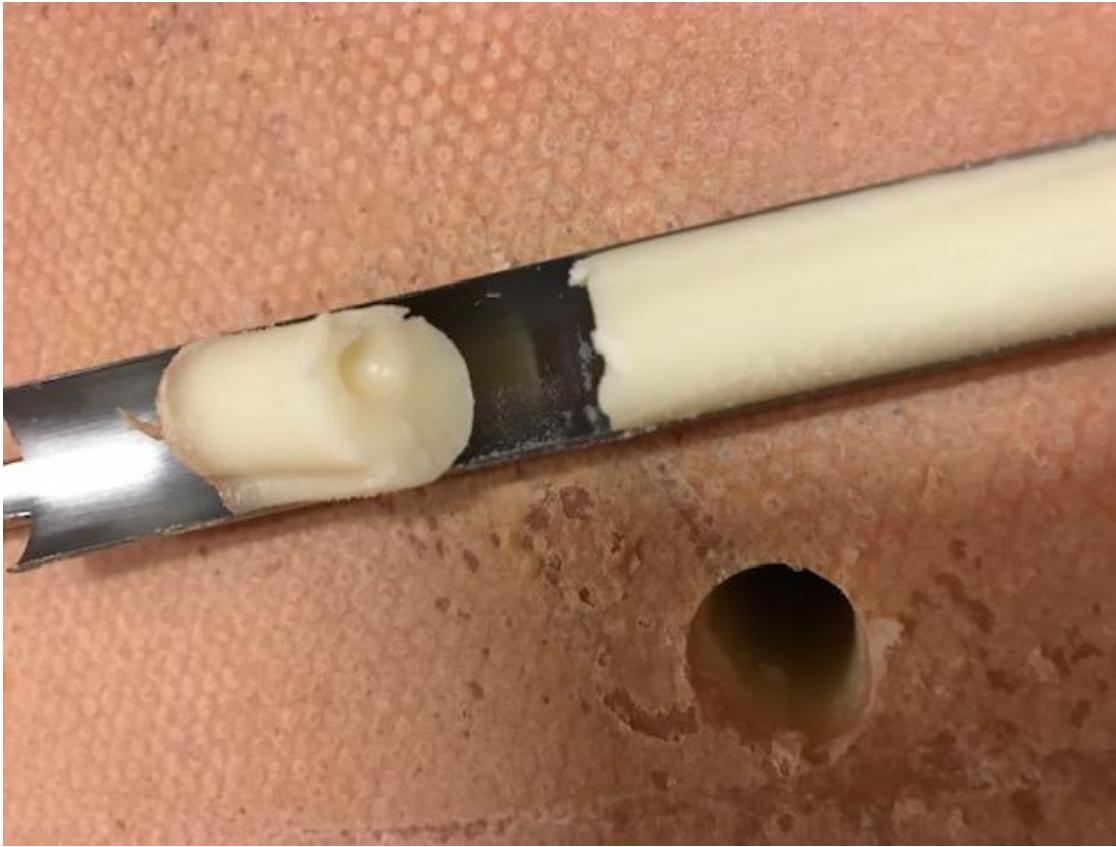


Foto von einem Böhrling beim Käsewägen



# Situation

- Gruyère AOP Käserei
- Alte Infrastruktur und Einrichtungen
- Regelmässig Loch im Teig
- Bei einer Studie im Jahr 2016 wurde *Lactobacillus fermentum* in 24 Stunden und 110 Tage alten Gruyère festgestellt.



# Verlauf Gaschromatographien (GC)

	6 Monate 20.1.22	6 Monate 4.4.22	5,5 Monate		<b>Norm 5 Monate [Mmol/Kg]</b>
			13.4.22	30.4.22	
Total flüchtige Carbonsäuren		11.8	6.74	7.95	9.15
Ameisensäure	C 1	1.4	0.71	0.55	0.88
Essigsäure	C 2	9.3	5.15	6.36	7.35
Propionsäure	C 3	0.1	0.04	0.04	0.07
i-Buttersäure	i-C 4	0.1	0.05	0.11	0.11
n-Buttersäure	n-C 4	0.7	0.61	0.64	0.52
i-Valeriansäure	i-C 5	0.1	0.07	0.14	0.12
i-Capronsäure	i-C 6	0.0	0	0	0
n-Capronsäure	n-C 6	0.2	0.11	0.11	0.1
Buttersäure berechnet aus Gärung		0.0	0.11	0.14	0.02



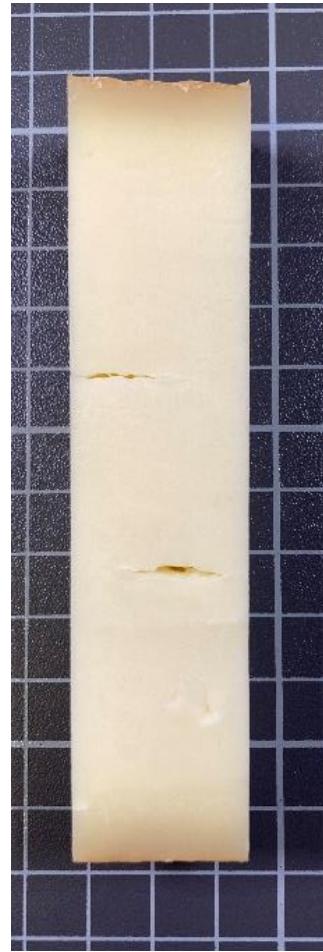
# Proben



20.1.22



4.4.22



13.4.22



30.4.22



# Verlauf Gaschromatographien (GC)

	6 Monate	7 Monate	Norm		
			8.7.22	18.8.22	5 Monate [Mmol/Kg]
Total flüchtige Carbonsäuren			24.46	7.21	
<b>Ameisensäure</b>	<b>C 1</b>	<b>3.09</b>	<b>0.86</b>	↑↑	<b>&lt; de 2.0</b>
<b>Essigsäure</b>	<b>C 2</b>	<b>17.05</b>	<b>5.70</b>	↑↑	
<b>Propionsäure</b>	<b>C 3</b>	<b>2.93</b>	0.01	↑↑	<b>&lt; de 2.0</b>
i-Buttersäure	i-C 4	0.18	0.06		
n-Buttersäure	n-C 4	0.87	0.45		
i-Valeriansäure	i-C 5	0.22	0.07		
i-Capronsäure	i-C 6	0.00	0.00		
n-Capronsäure	n-C 6	0.12	0.06		<b>&lt; de 0.3</b>
Buttersäure berechnet aus Gärung		0.33	0.39		<b>&lt; de 1.5</b>



# Proben



8.7.22



18.8.22



# Kontrolle Lieferantenmilchen

## Analyse der Milch Fabrikation Gruyère vom 10 Januar 2023

Proben	Datum	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen KBE/g
<b>Produzent A</b>	<b>10.01.2023</b>	<b>30</b>
Produzent B	10.01.2023	<10
Produzent C	10.01.2023	<10
<b>Produzent D</b>	<b>10.01.2023</b>	<b>20</b>
Produzent E	10.01.2023	<10
<b>Kessi 1 Abend</b>	<b>10.01.2023</b>	<b>30</b>
<b>Kessi 2 Abend</b>	<b>10.01.2023</b>	<b>10</b>
Kessi 1 Morgen	10.01.2023	<10
Kessi 2 Morgen	10.01.2023	<10



# Kontrolle Käserei

Probe	Datum	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen KBE/g
Milch Milchannahme	10.01.2023	< 10
Magermilch Eingang Kessi	10.01.2023	< 10
Molke Kessi	10.01.2023	< 10
Molke Rohr Einlauf abfüllen	10.01.2023	< 10
Molke unter der Form	10.01.2023	< 10
<b>Molke Auffangbecken unter der Presse</b>	<b>10.01.2023</b>	<b>90</b>
<b>« Tischli » für Blächsieb (Tupfer)</b>	10.01.2023	<b>100</b>
<b>Dichtung Auffangbecken-Boden (Tupfer)</b>	10.01.2023	<b>8200</b>
<b>Deckel und Einschwemmaufsatzt (Tupfer)</b>	01.02.2023	<b>200</b>

Biofilm auf dem Formenmaterial!



Aufgrund ihres hohen Gewichts können die Molkeauffangwannen einsinken oder gegenüber dem Boden ansteigen. Eine undichte Dichtung führt zu einer Verunreinigung des Bodens und erschwert so die Aufrechterhaltung der Hygiene in der Käserei.

**Dichtung Auffangbecken-Boden = 8200 ufc/g fak. hetero. Lb.**



# Schlussfolgerung

- **Biofilm mit heterofermentative Laktobazillen auf dem Formenmaterial!**

## Massnahmen

- Produktionsstopp für einige Tage, um die gesamte Käserei gründlich zu reinigen und die Fliesen zu erneuern.
- Austausch der Deckel und Einschwemmaufsatzt.
- Regelmässige Analyse der Produzentenmilchen.



# Präventive Massnahmen

## Milch und Kulturen:

- Regelmässige Kontrollen der Kesselmilch, Fettsirtenkulturen und Produzentenmilchen von fakultativ heterofermentative Laktobazillen

## Material:

- Formausrüstung in gutem Zustand, da eine poröse Ausrüstung Biofilme von heterofermentativen Laktobazillen beherbergen kann. Analysen mittels Tupfer können bei der Beurteilung der Hygiene helfen.

## Fabrikation:

- Keine Galaktose im Käse nach 24 Stunden, da sie das Wachstum dieser Bakterien fördern kann.
- Aufeinanderfolgendes überimpfen (Booster) von Fettsirtenkulturen vermeiden, da dies die Vermehrung unerwünschter Laktobazillen verstärken kann.
- Labstücke unter optimalen Bedingungen (trocken) aufbewahren, um ein Wachstum zu verhindern.



# Problematik

**Bei der Analyse von fakultativ hereofermentativen Laktobazillen auf festem Nährboden wird analysiert die gesamte Familie ohne Unterscheidung von spezifischen Stämmen.**

**Variabilität der Stämme:** Einige **Stämme** produzieren wenig Gas, andere erzeugen mehr Gas.

**Gasdiffusion:** Je nach Teigkonsistenz kann ein Teil des Gases nach aussen entweichen.

**Bakterielle Interaktionen:** Die Interaktionen während der Reifung beeinflussen die Entwicklung und Aktivität der Laktobazillen.



## Fazit

Bei Problemen mit Loch im Teig in Gruyère eine **GC-Analyse** durchführen und diese gegebenenfalls mehrfach wiederholen, um die Ursache des Fehlers zu ermitteln.

Das Vorhandensein von heterofermentativen Laktobazillen **10 bis 100 KBE/mL** in der Kessimilch kann unter Umständen zu Loch im Gruyère führen.

Nur die Analyse der **fakultativ heterofermentativen Laktobazillen** ermöglicht es, die Kontaminationsquelle zu identifizieren, keine andere Analyse überwacht diese Arten wirksam.



# Neue taxonomie von *Lactobacillus*

- 261 Spezies wurden in der Gattung *Lactobacillus* zusammengefasst, eine Vielfalt, die im Hinblick auf die Umweltanforderungen und die genetischen und phänotypischen Eigenschaften schwer überschaubar ist.
- 15. April 2020 neue Taxonomie von *Lactobacillus* erscheint im Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM).
- Aktualisierte Aufteilung von *Lactobacillus* in 25 Gattungen mit jeweils weitgehend einheitlichen Eigenschaften in Bezug auf Umweltanforderungen und Stoffwechsel („Phylogenese“).
- 25 Gattungsnamen, teilweise neu, wurden vorgeschlagen. Nur die Gattungsnamen wurden angepasst, die Artnamen wurden beibehalten.



# Neue taxonomie von *Lactobacillus*

Alte Bezeichnung (Basonym)	Neue Bezeichnung
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	=alte Bezeichnung (keine Änderung)
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	=alte Bezeichnung (keine Änderung)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	=alte Bezeichnung (keine Änderung)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	=alte Bezeichnung (keine Änderung)
<i>Lactobacillus kefiri</i>	<i>Lentilactobacillus kefiri</i>
<i>Lactobacillus malefermentans</i>	<i>Secundilactobacillus malefermentans</i>
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>

Tabelle: alte und neue Bezeichnungen einiger wichtiger Laktobazillen in Lebens- und Futtermitteln



Denrées alimentaires  
Agroscope Transfer | N° 60 / Avril 2015



Agroscope une bonne alimentation, un environnement sain

## Les lactobacilles hétérofermentaires dans la fabrication du Gruyère

Groupes de discussion

Auteurs  
Daniel Goy, John Haldemann, Ernst Jakob

Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,  
de la formation et de la recherche DEFR  
Agroscope

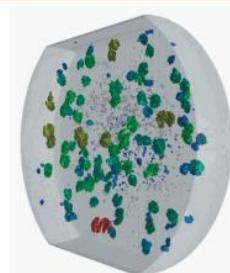
Denrées alimentaires  
Agroscope Transfer I n° 23

## Formation d'ouverture indésirable dans le Gruyère AOP

Groupes de discussion

Avril 2014

Auteurs  
Daniel Goy,  
Dominik Guggisberg,  
John Haldemann,  
Ernst Jakob,  
Daniel Wechsler



Agroscope une bonne alimentation, un environnement sain

### 3.3. Analyses bactériologiques

Le nombre moyen des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs était plus élevé dans le groupe de Gruyère avec défauts d'ouverture (pas significatif). Une présence de *L. fermentum* a été remarquée dans 5 fromages de ce même groupe. Présents dans l'herbe et les fourrages, mais aussi dans les caillettes mal conservées, le *L. fermentum* est susceptibles de coloniser le matériel de fromagerie en formant des biofilms.

#### 1. Introduction

L'ouverture est un critère spécifique à la sorte de fromage et représente un paramètre important pour l'évaluation de la qualité pour la plupart des fromages traditionnels. En ce qui concerne le Gruyère, le cahier des charges caractérise l'ouverture de la façon suivante: la présence d'ouverture - une teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD) élevée favorise l'activité fermenteuse ce qui est favorable à la production de CO<sub>2</sub>,

- la protéolyse progressive (= élasticité diminuée) rend la pâte de plus en plus cassante au cours de la maturation,
- la matière grasse est plus dure pendant l'hiver (= effet d'affouragement), ce qui diminue l'élasticité de la pâte. Ce facteur est une des explications pour l'apparition de ce problème pendant la saison hivernale.

Une conservabilité insuffisante est un problème multifactoriel. Elle est le résultat de plusieurs effets liés aux matières premières, à la transformation et à la maturation. Les facteurs suivants influencent d'une manière synergique le risque d'une formation de becs et de lainures:

Lors d'une étude réalisée en 2005, une comparaison analytique a été faite entre 14 Gruyère de bonne qualité et 17 Gruyère avec des défauts d'ouverture. Plusieurs critères ont été identifiés comme significativement différents entre les deux groupes (Tableau 1).

Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,  
de la formation et de la recherche DEFR  
Agroscope

01-AI-2014\_23.h.indd 1

15.04.14 08:26



## Danke für Ihre Aufmerksamkeit

nicolas.feher@agroscope.admin.ch

**Agroscope** gutes Essen, gesunde Umwelt  
[www.agroscope.admin.ch](http://www.agroscope.admin.ch)

