

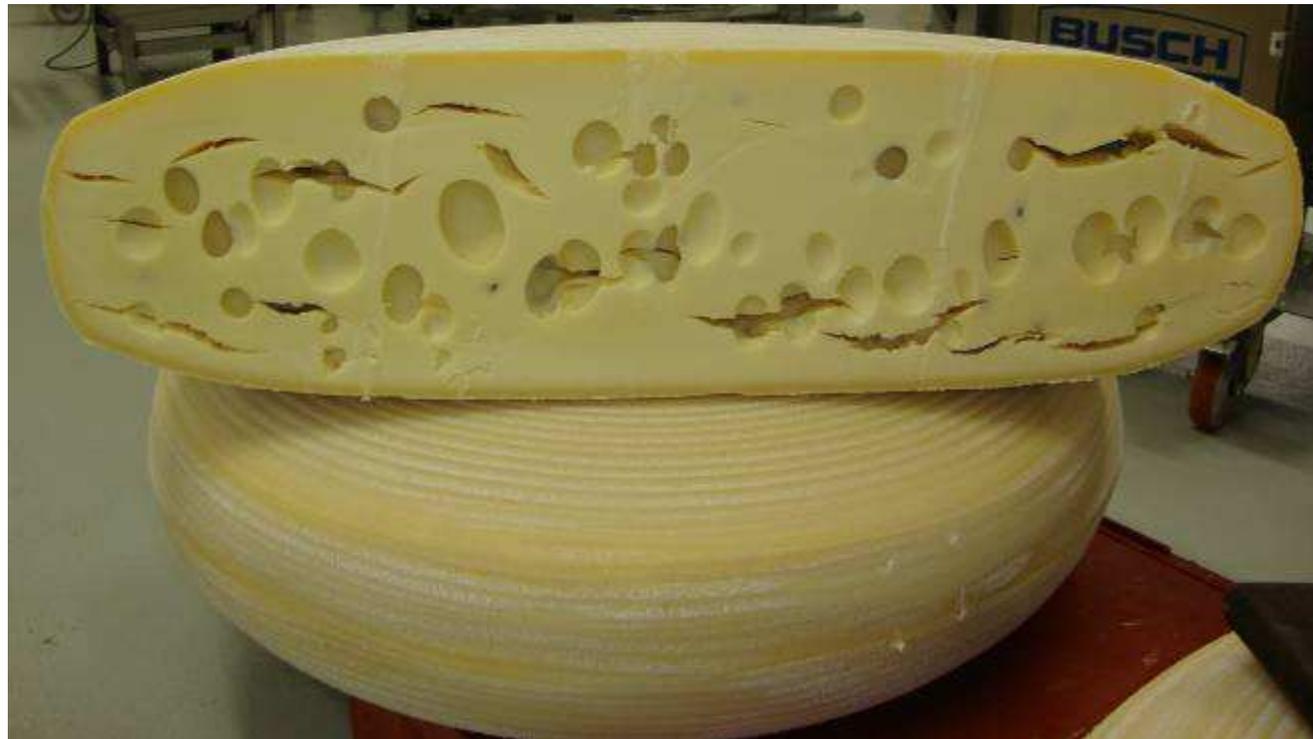


Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches  
Volkswirtschaftsdepartement EVD  
**Forschungsanstalt**  
Agroscope Liebefeld-Posieux ALP

ALP gehört zur Einheit ALP-Haras

# Biogene Amine in Käse



ALP-Kolloquium 22. Okt. 2009



# Bisherige Aktivitäten von ALP (FAM) zu BGA

- **1985 – 1988** Erste Analysen von BGA in Käse in der Schweiz (BAG)
- **1988** Verkostung von BGA-reichen Käsen durch Probanden. Versuch unter Zusammenarbeit BAG, FAM, Toxikolog. Institut der ETH
- **1990** Sieber R. & Lavanchy. Gehalt an biogenen Aminen in Milchprodukten und Käse. Mittl. Geb. Lm-Hygiene 81 (82-105)
- **1992** Sieber R. & Nedjeljko Bilic. Review der Literatur zur Bildung der biogene Amine (Schweiz. Milchwirtschaftl. Forschung 31 33-58)
- **1990 – 2000**: Untersuchungen zu BGA im Rahmen der Studien zum Gärungsverlauf von Emmentaler, Gruyère, Sbrinz, Appenzeller, Tilsiter, Walliser Raclette
- **2001** In-vitro-Prüfung der Säuerungskulturen von ALP auf Bildung von BGA



## Bisherige Aktivitäten von ALP zu BGA (II)

- **2003** Qualitätskontrolle der Säuerungskulturen. Versuchskäse werden auf biogene Amine geprüft
- **2004** Emmi Fondue AG verlangt Attest über Histaminfreiheit der ALP-Kulturen
- **2006** Histaminosefall eines 2-jährigen Kindes in GB nach Konsum von Schweizer Emmentaler (RASFF-Meldung konnte verhindert werden)
- **2006** Käseexporteur verlangt Attest betr. Histamin in Gruyère und Histidindecarboxylase-Aktivität von ALP-Kulturen
- **2006/2007** Start Monitoring BGA in Emmentaler AOC im Auftrag der Sortenorganisation
- **2008** Überprüfung des Kulturesortimentes inkl. der Versuchsstämme auf Histidin- und Tyramindecarboxylase
- **2009** ALP-Forum biogene Amine, Kolloquium BGA in Käse



# Übersicht Kolloquium

1. Biogene Amine aus Sicht der Ernährungswissenschaft  
*Barbara Walther*
2. Übersicht biogene Amine in CH-Käsesorten  
*Ernst Jakob*
3. Isolation von Amin-bildenden Keimen  
*Stefan Irmeler*
4. Détection des gènes codant pour les histidine- et tyramine-décarboxylases  
*Hélène Berthoud*
5. Einsatz von *Lactobacillus buchneri* in Silagen  
*Ueli Wyss*
6. Biogene Amine und Käsequalität  
*Daniel Wechsler*
7. “Sensorik-Test” biogene Amine  
*Reto Portmann*



# Biogene Amine aus Sicht der Ernährung

1. Einführung biogene Amine
2. Biogene Amine und Gesundheit
3. Biogene Amine in der Nahrung
4. Lebensmittelrechtliche Situation

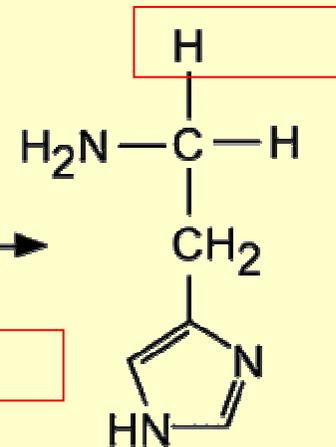
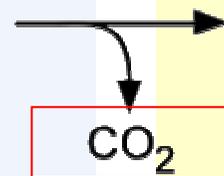
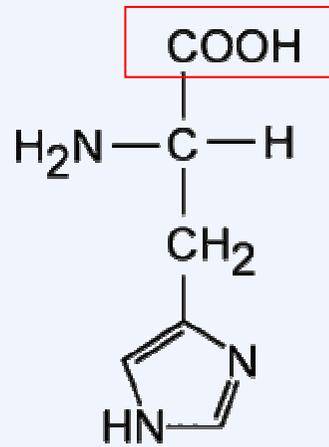
*Barbara Walther*





# Enzymatische Bildung (Decarboxylasen)

Histidin



Histamin

## Aminosäuren

- Histidin →
- Tyrosin →
- Ornithin →
- Lysin →
- Tryptophan →
- Arginin →

## Biogene Amine

- Histamin
- Tyramin
- Putrescin
- Cadaverin
- Tryptamin
- Spermidin, Spermin



# Bildung & Funktion von biogenen Aminen

- Endogene Bildung v.a. in der Leber und Darmflora
- **Monoamine**: Neurotransmitter (Serotonin, Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin) = Stress- und Glückshormone, Regulation Nahrungsaufnahme, Coenzym, Vorstufe von Vitaminen & Hormonen
- **Diamine**: Histamin (Abwehrreaktion, Allergien), Putrescin, Cadaverin (Proteinabbau, Fleischfäulnis)





# Wichtige Nahrungsmittel

Die biogenen Amine können in Nahrungsmitteln vorkommen, die einen **Verderbnisprozess** oder eine **unerwünschte Fermentation** durchlaufen haben.

- Fische und Fischprodukte
- Lang gereifte Käse
- Sauerkraut
- Natürlich fermentierte Würste
- Fermentierte Getränke (z.B. Wein)
- Fermentierte Sojaprodukte





# 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



# Toxische Effekte

## Histamin

**Toxische Dosis:** zwischen **100 bis zu 225 mg**.

Bei Personen mit erhöhter Histaminsensibilität (z.B. Allergiker) können bereits 8 - 40 mg Histamin erste Vergiftungserscheinungen hervorrufen.

**Symptome:** Hautsymptome (Rötungen, Ausschlag, Oedeme), Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall



## Tyramin

**Toxische Dosis:** **25 bis 250 mg**

(von stoffwechselgesunden Personen meist ohne grössere Probleme vertragen)

**Symptome:** hoher Blutdruck, bohrende Kopfschmerzen (Migräne), Schwindel, Sehstörungen, Überempfindlichkeit gegen Licht, Gerüche und Geräusche, Übelkeit, Durchfall, Erbrechen



# Eigenversuch mit beanstandetem Raclette

Deklassiert  
Kundenreklamationen



- Raclette aus Rohmilch
  - Alter: 10 Monate (kalt gelagert)
  - Aussehen: fehlerhafte Lochung
  - Aroma: überreif, brennend
- 
- Summe an biogenen Aminen 1'506 mg/kg  
(Histamin 945 mg/kg, Tyramin 454 mg/kg)
  - **Vorsicht bei Raclette: → Konsum grösserer Mengen (250 g)**  
**→ Biogene Amine werden bei Kochprozessen nicht zerstört !**



# Aufnahme biogene Amine von Raclette



- Racletteessen mit 7 freiwilligen, gesunden Probanden
- Raclette, Salat, Kartoffeln, Tee, Wasser (kein Alkohol)



Nr.	♂ ♀	Konsumierte Menge Käse (g)	Aufnahme Histamin (mg)	Aufnahme Tyramin (mg)	Aufnahme biogene Amine (mg)
1	♂	290	274	132	437
2	♂	287	271	130	432
3	♂	203	192	92	306
4	♂	196	185	89	295
5	♂	186	176	84	280
6	♀	126	119	57	190
7	♀	112	106	51	169



# Symptome



Nr.	♂ ♀	Aufnahme B.A. (mg)	Symptome 1-2 h nach Mahlzeit	Symptome 3-4 h nach Mahlzeit
1	♂	437	Brennen auf Zunge, Hitzegefühl, „Bauchgerumpel“	leichte Übelkeit, „Bauchgerumpel“, Aufstossen, leichter Durchfall
2	♂	432	keine Probleme	Kurzes „Bauchgerumpel“
3	♂	306	keine Probleme	keine Probleme
4	♂	295	„Bauchgerumpel“, Durchfall, starker Durchfall	keine Probleme mehr
5	♂	280	keine Probleme	keine Probleme
6	♀	190	Brennen auf Zunge, „Bauchgerumpel“	Brennen auf der Zunge, Juckreiz, „Bauch- gerumpel“, Durchfall
7	♀	169	Brennen auf Zunge, leichte Kopfschmerzen, Schwin- del, „Bauchgerumpel“	Bauchgerumpel, „Kater“ Gefühl



## Gesetzgebung biogene Amine (FIV)

- keine Toleranz- und Grenzwerte für Käse festgelegt
- bisheriger Toleranzwert in der CH für Wein: 10mg/kg (aufgehoben wegen Anpassung an EU-Verordnungen)
- Fischerzeugnisse: je nach Verarbeitung und Fischart liegt der Grenzwert bei 100 - 200mg Histamin pro kg (Histamin = Verderbsindikator)
- Fischsaucen: max. 500mg Histamin pro kg (Grenzwert)

### Ausblick:

- In der EU wird die Einführung von Limiten seit längerem diskutiert → GHP, Toleranz- & Grenzwerte
- CH würde allfällige EU-Vorgaben übernehmen



# Übersicht biogene Amine in CH-Käsesorten

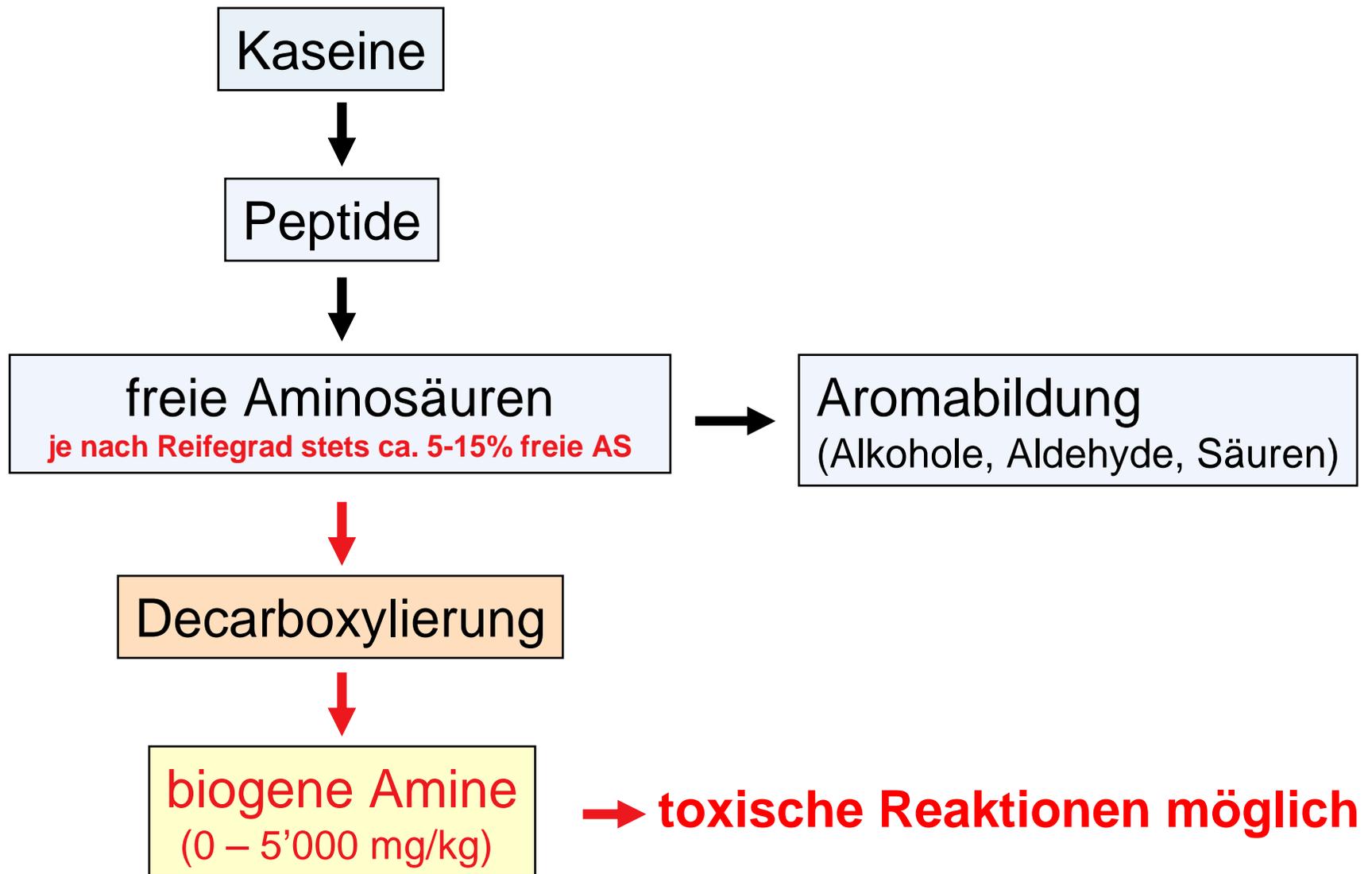
1. Beispiele von Käsen mit erhöhten Gehalten an BGA
2. Sortenspezifische Unterschiede
3. Einflussfaktoren für die Bildung von BGA

*Ernst Jakob*



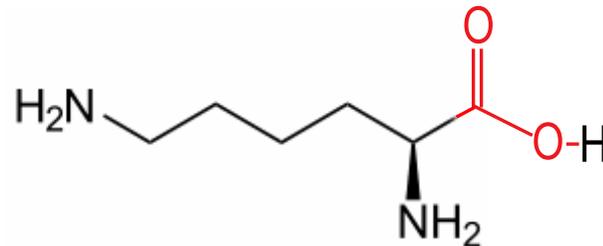
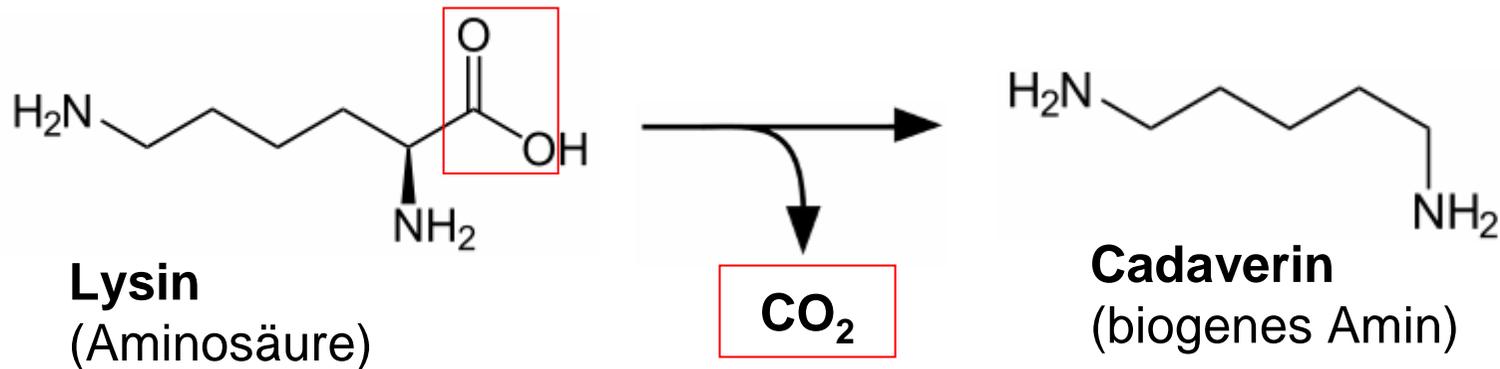


# Bildung biogener Amine in Käse





# Bildung biogener Amine in Käse



- |              |                          |                                    |
|--------------|--------------------------|------------------------------------|
| Histidin     | →                        | <b>Histamin</b> + CO <sub>2</sub>  |
| Tyrosin      | →                        | <b>Tyramin</b> + CO <sub>2</sub>   |
| Tryptophan   | →                        | Tryptamin + CO <sub>2</sub>        |
| Serin        | →                        | Ethanolamin + CO <sub>2</sub>      |
| Phenylalanin | →                        | Phenylethylamin + CO <sub>2</sub>  |
| Arginin      | → Ornithin (+ Harnstoff) | <b>Putrescin</b> + CO <sub>2</sub> |



# Proben von **Schabziger & Halbhartkäsen** mit hohem Gehalt an biogenen Aminen

Merkm	Einheit	Schabziger (Zigerstöckli)	Tiliter rot	Appenzeller extra	Raclette (thermisiert)
Alter		2 Mte.	4 Mte.	> 6 Mte.	10 Mte.
Cadaverin	mg/kg	1413	72	36	21
<b>Histamin</b>	<b>mg/kg</b>	<b>760</b>	<b>765</b>	<b>340</b>	<b>945</b>
Isopentylamin	mg/kg	< 2	< 2	< 2	< 2
Putrescin	mg/kg	414	< 2	5	< 2
Spermidin	mg/kg	< 2	< 2	< 2	< 2
Spermin	mg/kg	< 2	< 2	< 2	< 2
$\beta$ -Phenylethylamin	mg/kg	491	12	60	86
Tryptamin	mg/kg	219	< 2	< 2	< 2
<b>Tyramin</b>	<b>mg/kg</b>	<b>713</b>	<b>169</b>	<b>744</b>	<b>454</b>
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>mg/kg</b>	<b>4010</b>	<b>1018</b>	<b>1185</b>	<b>1506</b>
Bemerkung zur Probe	-	Normal-fabrikation	Normal-fabrikation	Normal-fabrikation	Lochfehler, brennend, deklassiert

- **meist Histamin oder Tyramin dominant**
- **teils auch Cadaverin, Putrescin und  $\beta$ -Phenylethylamin**



# Proben von **Hart- & Extrahartkäsen** mit hohem Gehalt an biogenen Aminen

Merkmal	Berner Alpkäse AOC	Berner Hobelkäse AOC	Emmentaler AOC	Emmentaler AOC	Le Gruyère AOC	Sbrinz AOC
Alter	13 Mte.	33 Mte.	5.5 Mte.	12 Mte.	12 Mte.	12 mois
Cadaverin	7	< 2	4	< 2	178	< 2
<b>Histamin</b>	<b>304</b>	<b>1823</b>	<b>630</b>	<b>1364</b>	<b>2265</b>	<b>1289</b>
Isopentylamin	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Putrescin	214	134	481	< 2	67	< 2
Spermidin	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Spermin	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
$\beta$ -Phenylethylamin	108	15	17	< 2	30	< 2
Tryptamin	< 2	< 2	< 2	47	< 2	< 2
<b>Tyramin</b>	<b>720</b>	<b>566</b>	<b>505</b>	<b>&lt; 2</b>	<b>744</b>	<b>42</b>
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>1353</b>	<b>2538</b>	<b>1637</b>	<b>1411</b>	<b>3283</b>	<b>1332</b>
Bermerkung zur Probe	scharf, brennend	mindere Qualität	gebläht, Gläs, beissend	Normal-fabrikation	Normal-fabrikation	Gläs, brennend, stechend

- **Histamin oder Tyramin dominant**
- **oft Käse mit starken Qualitätsfehlern**



# Gehalt an biogenen Aminen in Le Gruyère AOC (8 Monate, N=10)

„Ausreisser“

Techn. Panne  
Brenntemp. 38°C

Merkmal	Min.	25%- Quantil	Median	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	< 2	27	45	96	307
Histamin	< 2	30	35	37	2265
Putrescin	< 2	3	16	26	67
Tyramin	66	99	129	138	744
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>66</b>	<b>156</b>	<b>234</b>	<b>275</b>	<b>3283</b>

Käse 3 Mte.
17
1347
50
733
2380

- Hohe Brenntemperatur (56-58°C) → tiefe Gehalte an BGA
- in der Regel Tyramin dominant
- **Ausnahmen** sehr selten, aber möglich



## Gehalt an biogenen Aminen in Le Gruyère AOC (12 Monate, N=12)

Merkmal	Min.	25%- Quantil	Median	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	< 2	6	11	19	82
Histamin	< 2	< 2	< 2	12	34
Putrescin	< 2	< 2	< 2	5	11
Tyramin	30	37	44	48	237
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>30</b>	<b>58</b>	<b>65</b>	<b>104</b>	<b>294</b>

- sehr tiefe Gehalte an biogenen Aminen
- Histamin meist nicht nachweisbar
- **Selektion der besten Käse für die Ausreifung!**



## Gehalt an biogenen Aminen in Emmentaler AOC (12 Monate, N=10)

Merkmal	Min.	25%- Quantil	50%- Quantil	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	< 2	< 2	< 2	< 2	3
Histamin	< 2	35	65	191	911
Putrescin	< 2	< 2	< 2	< 2	3
Tyramin	28	29	31	35	77
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>34</b>	<b>85</b>	<b>98</b>	<b>221</b>	<b>945</b>

- In der Regel tiefe Gehalte nach 12 Monaten
- häufiger Ausreisser als bei Gruyère: ca. 15% der Käse (> 12 Mte.) weisen erhöhte Gehalte auf (> 500 mg/kg).



## Gehalt an biogenen Aminen in prämiiertem Berner Hobelkäse AOC (N=10)

Merkmal	Min.	25%- Quantil	50%- Quantil	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	< 2	< 2	< 2	< 2	6
Histamin	< 2	< 2	< 2	7	18
Putrescin	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Tyramin	17	21	29	34	78
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>17</b>	<b>26</b>	<b>34</b>	<b>38</b>	<b>84</b>

- Auswahl der 10 besten Käse (Alter 25 Monate, N=10)
- sehr tiefe Gehalte an biogenen Aminen
- Histamin meist nicht nachweisbar
- **Selektion der besten Käse für die Ausreifung!**



## Gehalt an biogenen Aminen in fehlerhaftem Berner Alpkäse AOC (N=10)

Merkmal	Min.	25%-Quantil	50%-Quantil	75%-Quantil	Max.
Cadaverin	0	0	2	13	138
Histamin	0	16	119	557	1434
Putrescin	0	7	11	20	581
Tyramin	29	68	101	261	720
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>66</b>	<b>136</b>	<b>521</b>	<b>887</b>	<b>1487</b>

- Käsebeurteilung im Alter von 13-14 Monaten
- Auffällige Käse mit Gläs & brennendem Geschmack
- **gehäuft hohe Gehalte an biogenen Aminen**



## Gehalt an biogenen Aminen in **Appenzeller surchoix** (4-6 Monate, N=10)

<b>Merkmal</b>	<b>Min.</b>	<b>25%- Quantil</b>	<b>50%- Quantil</b>	<b>75%- Quantil</b>	<b>Max.</b>
Cadaverin	5	28	56	89	121
Histamin	50	76	103	216	456
Putrescin	< 2	< 2	2	8	18
Tyramin	11	31	53	117	174
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>137</b>	<b>196</b>	<b>281</b>	<b>356</b>	<b>572</b>

- **HH-Käse: schnellere Proteolyse, dafür kürzere Reifung**
- **Cadaverin, Histamin oder Tyramin dominant**
- **Die Teil-Thermisation bietet keine ausreichende Sicherheit**



## Gehalt an biogenen Aminen in **Appenzeller extra** (> 6 Monate, N=23)

Merkmal	Min.	25%- Quantil	50%- Quantil	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	< 2	13	35	80	383
Histamin	46	95	186	278	571
Putrescin	< 2	< 2	5	7	30
Tyramin	16	54	93	207	744
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>134</b>	<b>268</b>	<b>420</b>	<b>652</b>	<b>1185</b>

→ **Cadaverin, Histamin oder Tyramin dominant**

→ **ausgeprägter Einfluss der Reifungsdauer**



## Gehalt an biogenen Aminen in Tilsiter grün (5-8 Wochen, N=10)

Merkmal	Min.	25%- Quantil	50%- Quantil	75%- Quantil	Max.
Cadaverin	3	35	63	126	133
Histamin	< 2	< 2	< 2	8	26
Putrescin	< 2	3	17	37	49
Tyramin	< 2	15	22	32	35
<b>Summe biogene Amine</b>	<b>22</b>	<b>65</b>	<b>127</b>	<b>181</b>	<b>217</b>

- oft Cadaverin dominant (Rekontaminationsflora ?)
- durch die Pasteurisation der Milch wird der Gehalt an biogenen Aminen stark reduziert

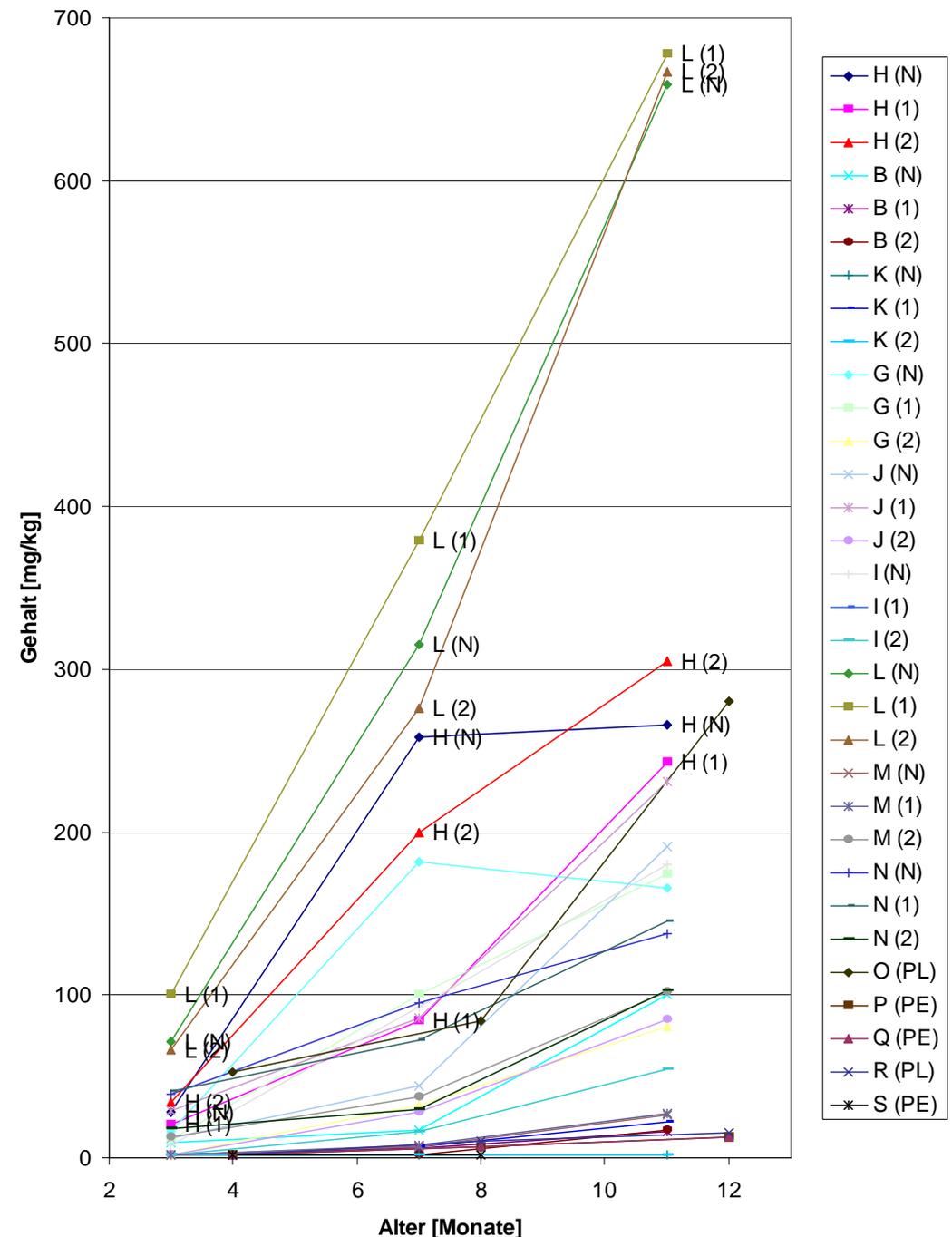


# Einflussfaktoren

- Reifungsdauer
- Wiederholt hohe Gehalte in einzelnen Betrieben  
→ keine „Ausreisser“  
→ ganze Produktion betroffen
- Gehalt an biogenen Aminen ist bis ins Alter von 4-5 Monaten unproblematisch.
- Diagnose vor 3 Monaten ist schwierig
- **Belastete Käse nicht geeignet für lange Ausreifung!**

→ **Ursachenforschung für hohe BGA-Gehalte wichtig!**

Monitoring Histamin (Sommerfabrikation)

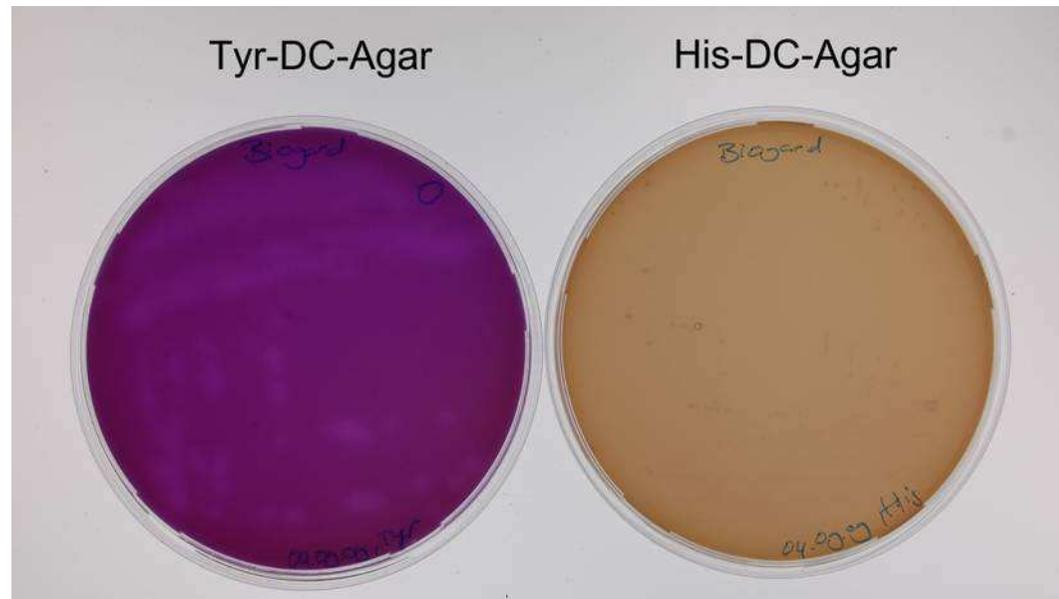
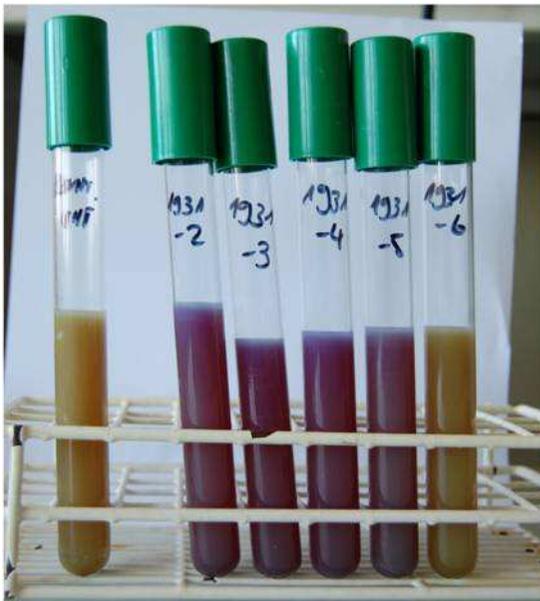




# Isolierung von Amin-bildenden Keimen

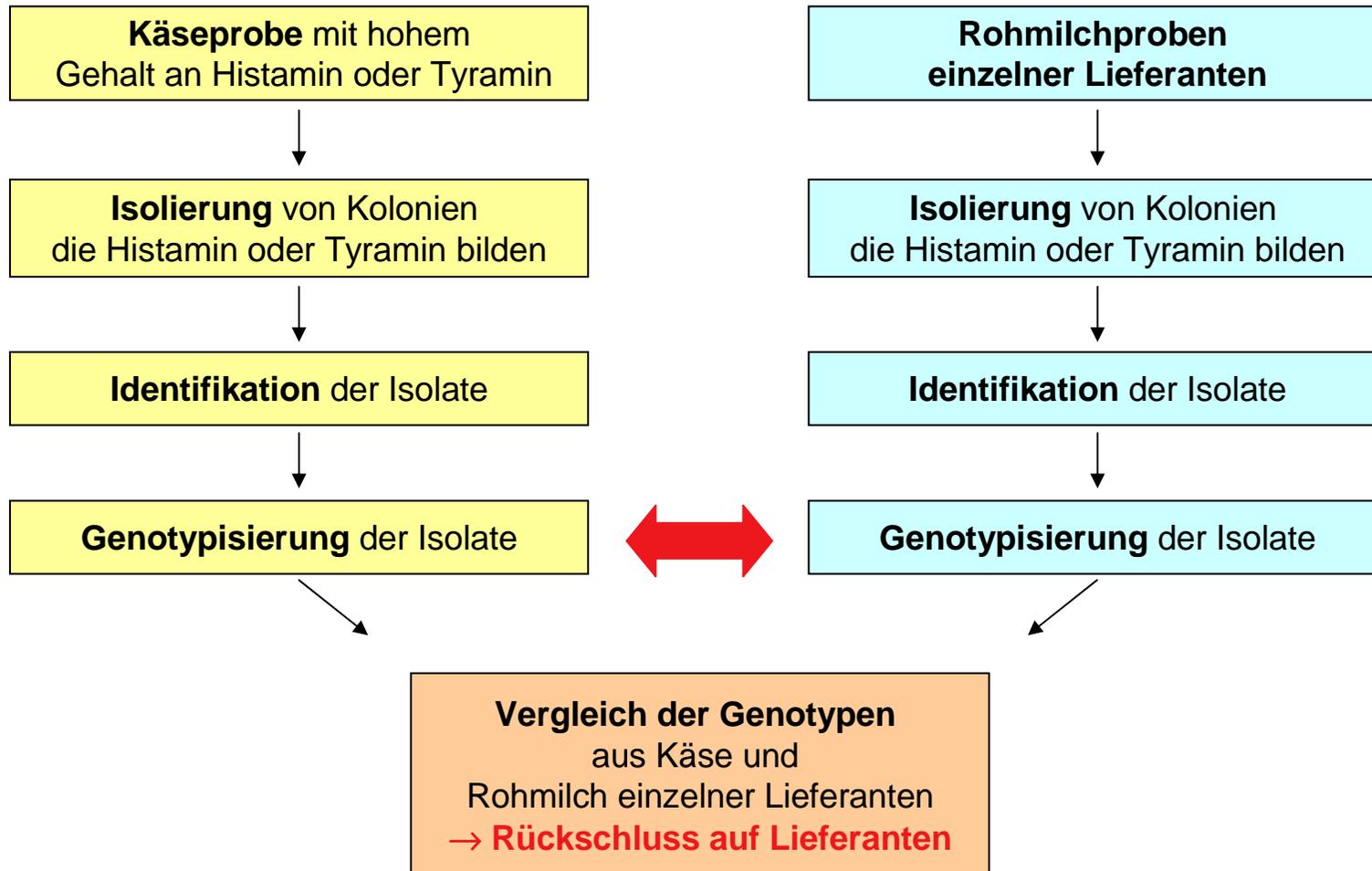
1. Entwicklung von Selektivmedien
2. Überprüfung der Aminbildung mit DC
3. Untersuchung von Praxisproben (Käse, Milch, Biogard)

*Stefan Irmeler*





# Lokalisierung der Kontaminationsquelle



→ **Ursachenermittlung ist analytisch sehr aufwändig**



# His-DC Agar zur Isolation von histaminbildenden Bakterien

5 g Käse  
+ 50 mL Peptonwasser



Stomacher: 3 min



100  $\mu$ L Suspension  
ausplattieren

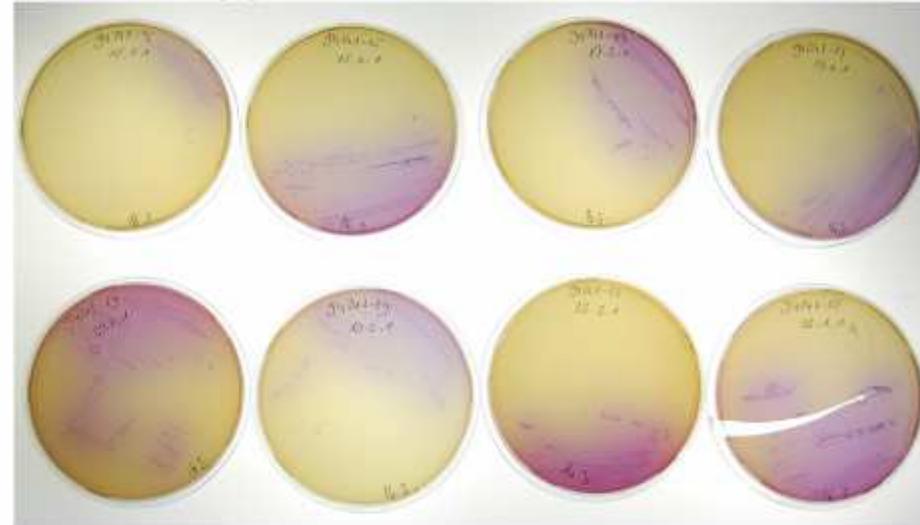


Inkubation:  
anaerob, 30°C, 4-5 Tage

His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

94241-15:  
19 mg/kg Histamin

94241-17:  
28 mg/kg Histamin

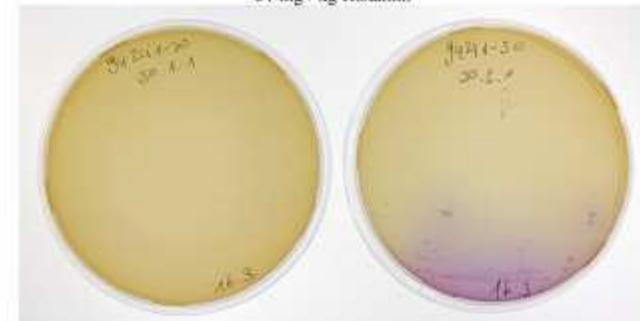


94241-19:  
24 mg/kg Histamin

94241-22:  
33 mg/kg Histamin

His-DC Agar: Emmentaler, 3 Monate

94241-30  
31 mg / kg Histamin





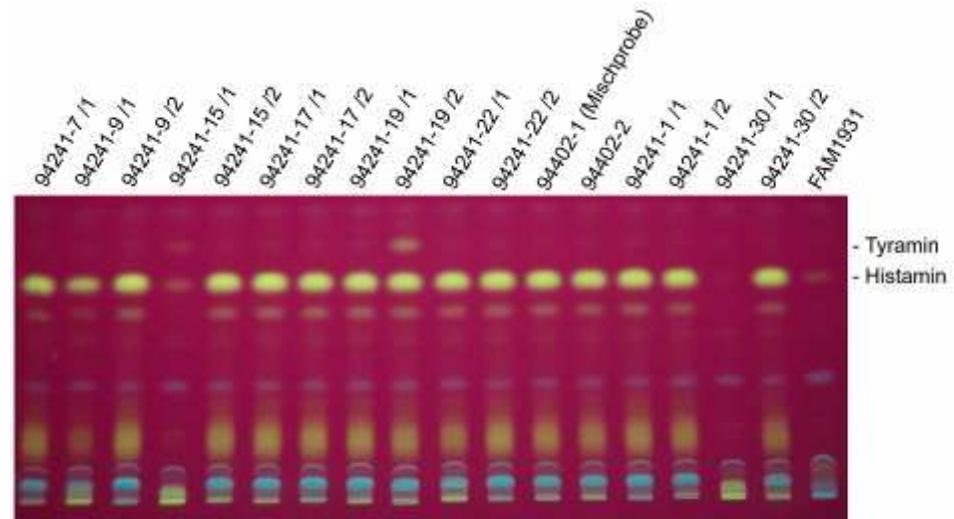
# Nachweis der Histaminbildung mit DC

Inkubation über Nacht in  
Medium + 1% Histidin

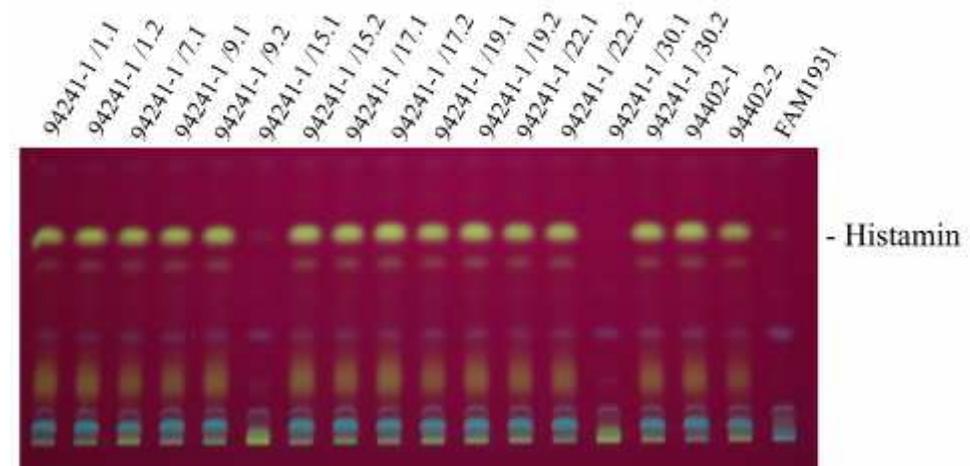
Metaboliten-Extraktion  
Fluorezenzmarkierung  
Extraktion

Auftrennung mit Dünnschicht-  
chromatographie

Nachweis der fluoreszierenden  
Metaboliten (Quantifizierung  
möglich)



↓ 'Aufreinigen' der Stämme





# Nachweis der Tyraminbildung

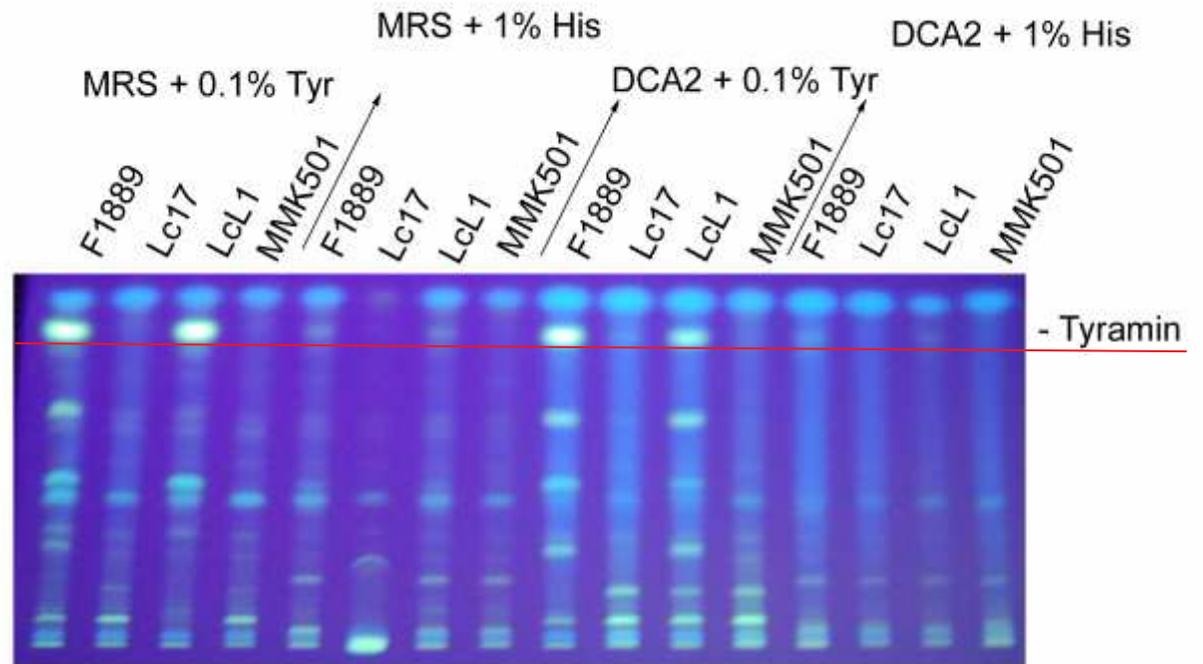
Tyr-DC Agar



Nachweis mit Dünnschichtchromatographie



30°C, ~20 h Inkubation





## Ein Anwendungsbeispiel...



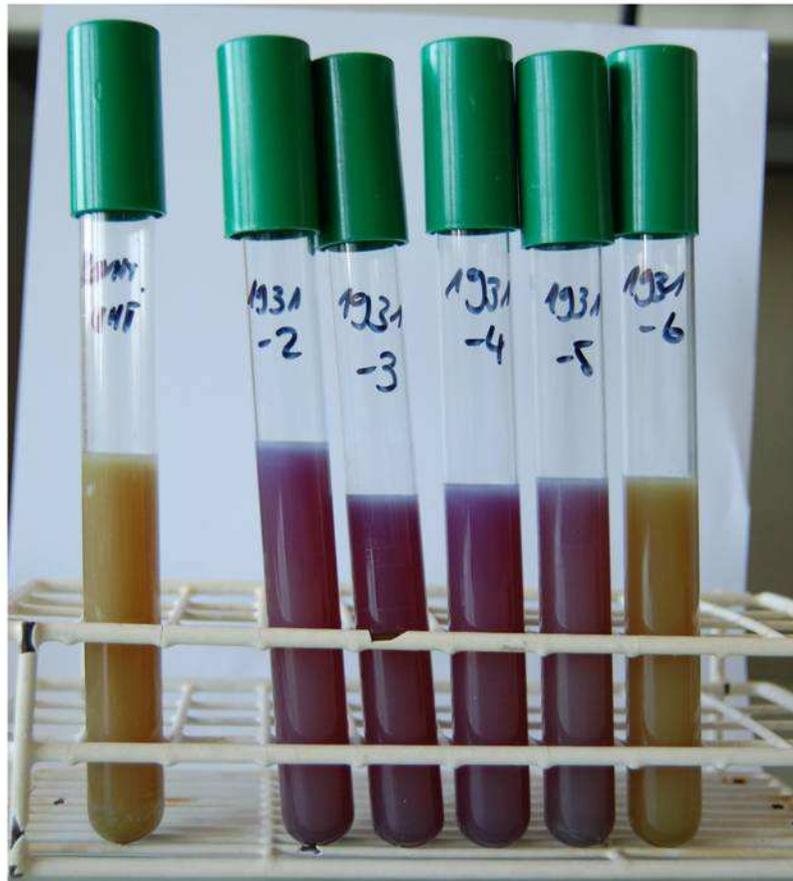
- **Befund:** Die Schutzkultur **Biograd enthält Stämme, die Tyramin bilden**, jedoch keine histaminbildenden Keime
- Tyraminbildung wurde bei *E. faecium* CNCM I-3237 (=ATCC 19434) von Macrobal *et al.* (2004) beschrieben
- Anwendung zur Stabilisierung von Schotte nicht sinnvoll (führt zu Rekontaminationen der Käseemilch)
- Zulassung von *E. faecium* CNCM I-3237 fraglich



# Ausblick: Identifikation von histaminbildenden Bakterien in Milch

*Lactobacillus buchneri* FAM1931

Verdünnungsreihe in His-DC Bouillon



Isolat aus 3 Monate altem Emmentaler (94241-7)

Verdünnungsreihe in His-DC Bouillon





## Zusammenfassung Isolierung von BGA-bildender Keimen aus Käse und Milch

- ✓ Ein Test mit selektiven Agarplatten ist etabliert, mit dem histamin- und tyraminbildende Keime aus Käseproben isoliert werden können.
- ✓ Dünnschichtchromatographie (DC) für den spezifischen Nachweis der Bildung von Histamin- und Tyramin ist etabliert. Die DC-Technik bietet auch die Möglichkeit, beide Amine zu quantifizieren.
- Die Anwendung flüssiger Selektivmedien für Lieferantenmilchproben ist Gegenstand laufender Arbeiten
- Next Step: Identifikation und Charakterisierung der Isolate

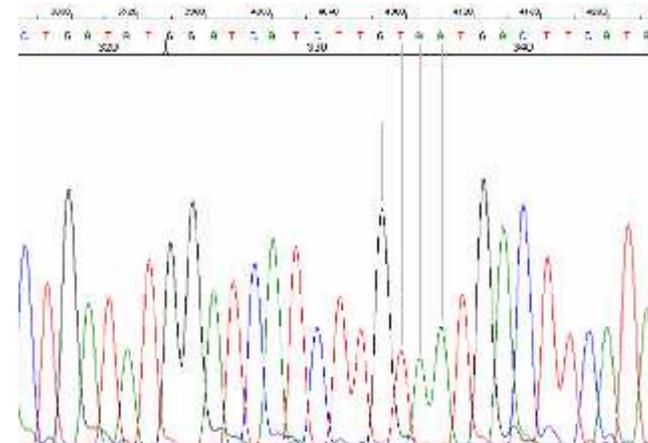
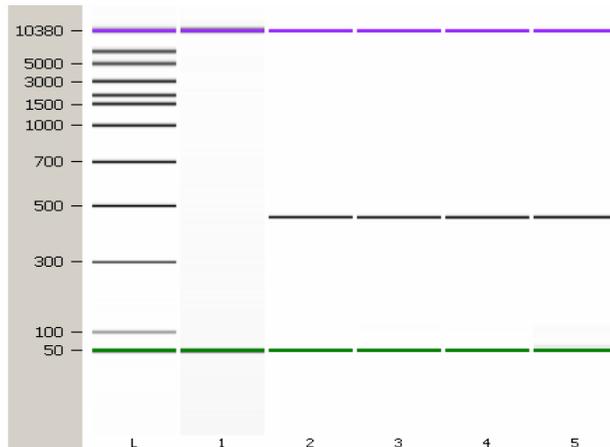
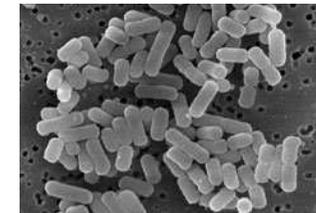


# Résultats de la biologie moléculaire

1. Histamine décarboxylase (*hdc*)
2. Tyramine décarboxylase (*tdc*)
3. Détection des gènes *hdc* et *tdc* dans les cultures ALP
4. Conclusions et perspectives

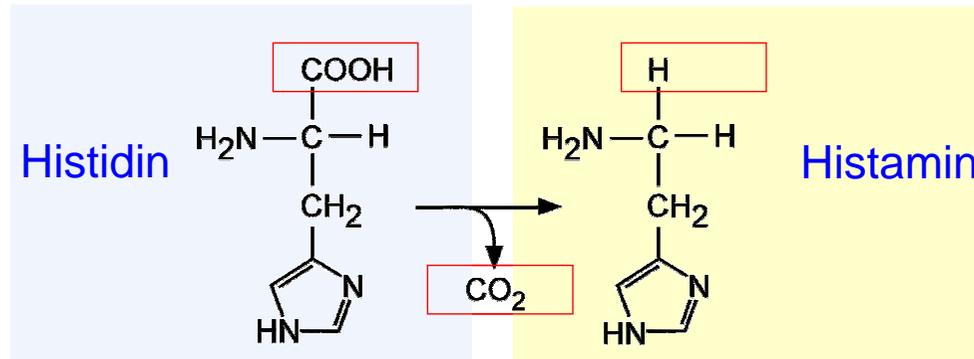


*Hélène Berthoud*





# PCR: Histamine décarboxylase



**Primer F** →

	210	220	230	240	250	260
L 30A	G G T G T T C G T G A C A A G T C T G A T G A C G A T G T T T T A G A T G G T A T T G T T T C T T A T G A C C G T G C A G					
L buchneri	G G T G T T G T T G A T A A A A C T G A T G A T A T G A T C C T T G A T G G T A T T G T T T C G T A T G A C C G T G C G G					
L hilgardii	G G T G T C G T T G A T A A A A C C G A T G A T A T G A T C C T T G A T G G T A T T G T T T C G T A T G A C C G T G C G G					
L reuteri	G G T G T T C G T G A C A A A A C A G A T G A T G A A G T T T T A G A T G G A A T T G T T T C T T A T G A C C G T G C A G					
L sakei	G G T G T C G T T G A T A A A A C C G A T G A T A T G A T C C T T G A T G G T A T T G T T T C G T A T G A C C G T G C G G					
Ooeni	G G T G T C A T T G A T A A A A C C G A T G A T A T G A T C C T T G A T G G T A T T G T T T C G T A T G A C C G T G C G G					

Consensus: G G T G T y s t T G A t A A a a C y G A T G A t a t g a T c c T t G A T G G t A T T G T T T C g T A T G A C C G T G C g G

← **Primer R**

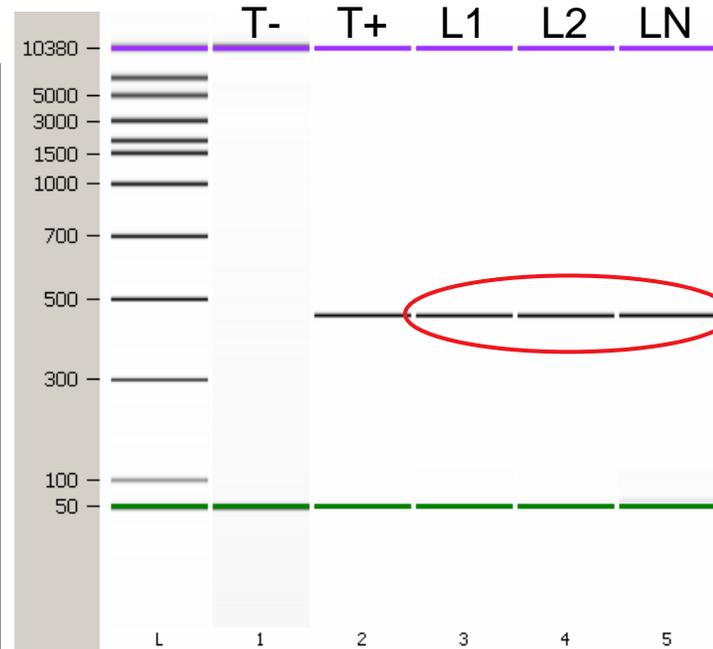
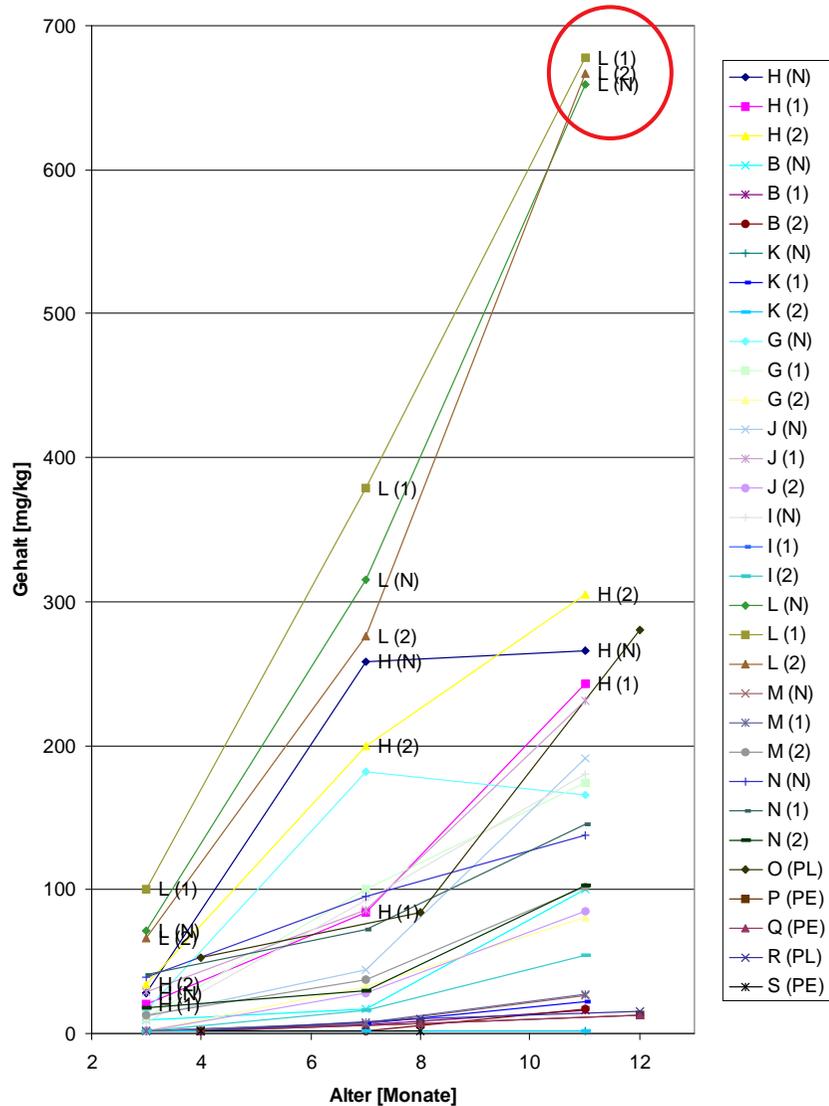
	640	650	660	670	680
L 30A	C C T A C T A A G G A C T C C A G C A T G T T T G T T G A A G A T G C T G G T G T T T G G G A A A C A C C T A A C G				
L buchneri	C C A A C T A A G T A T T C A A G T A T G T A C G T T G A A G A T G C C G G T G T T T G G G A A A C T C C A A A C G				
L hilgardii	C C A A C T A A G T A C T C A A G T A T G T A C G T T G A A G A T G C T G G T G T T T G G G A G A C T C C T A A C G				
L reuteri	C C T G C A A A A G A T T C G A G T A T G T T T A T T G A A G A T G C T G G T G T A T G G G A A A C A C C T A A T G				
L sakei	C C A A C T A A G T A C T C A A G T A T G T A C G T T G A A G A T G C T G G T G T T T G G G A G A C T C C T A A C G				
Ooeni	C C A A C T A A G T A C T C A A G T A T G T A T G T T G A A G A T G C T G G T G T T T G G G A G A C T C C T A A C G				

Consensus: C C a a C t A A g t A c T C a A G t A T G T a y g T T G A A G A T G C t G G T G T t T G G G A r A C t C C t A A c G



# PCR: Histamine décarboxylase (*hdc*)

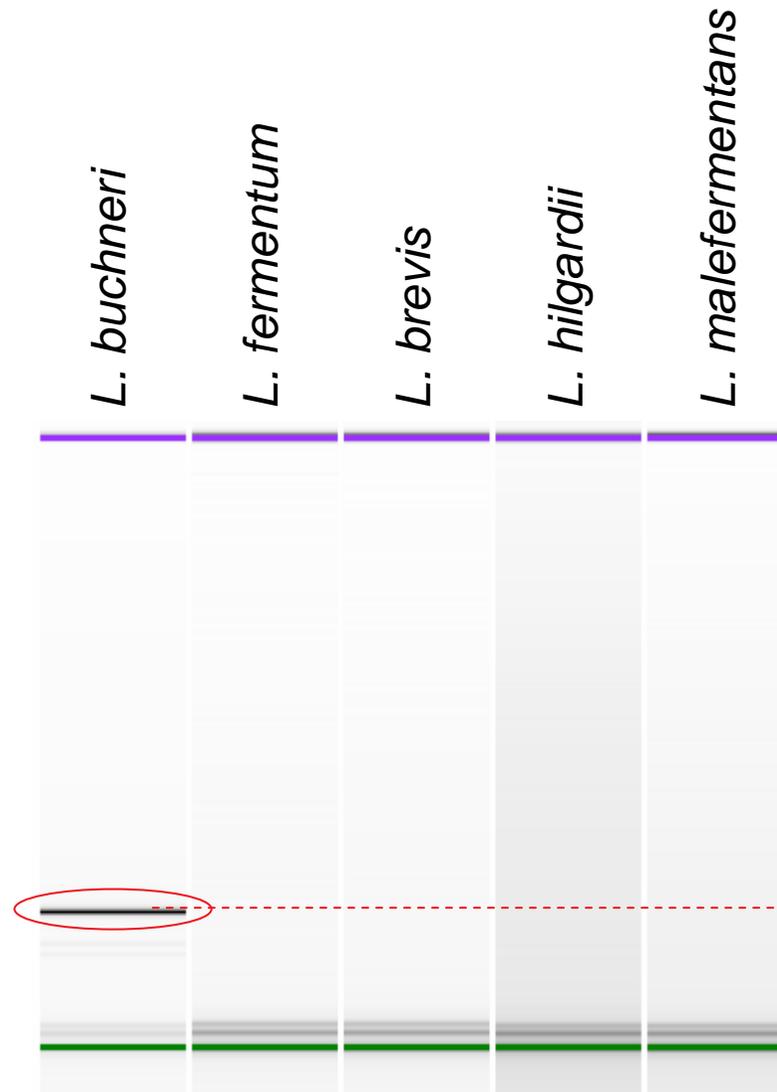
Monitoring Histamin (Sommerfabrikation)



**Séquence identique à celle de *Lactobacillus buchneri***

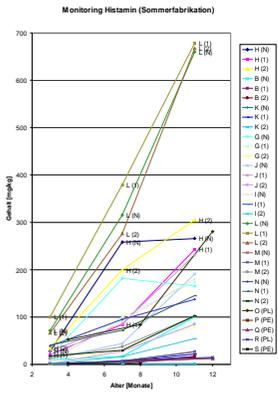


# PCR: *Lactobacillus buchneri* / *parabuchneri*





# Extraits de fromages: PCR *hdc* et *L. buchneri*



	Winter 3Mois	hdc	Histamine	<i>L. buchneri</i>	Sommer 3Mois	hdc	Histamine	<i>L. buchneri</i>
H	101	-	2	-	401	+	28	+
H	102	-	2	+	402	+	20	+/-
H	103	-	2	-	403	+	34	+
B	104	-	2	-	404	-	9	-
B	105	-	2	+	405	-	2	+
B	106	-	5	-	406	-	2	+/-
N	107	+	2	+	407	+	39	+
N	108	+	2	+	408	+	41	+
N	109	-	2	-	409	+/-	18	+
	110	-	2	+	410	-	2	-
	111	-	2	-	411	-	2	-
	112	-	2	-	412	-	2	-
L	113	+	45	+	413	+	71	+
L	114	+	48	+/-	414	+	100	+
L	115	+/-	23	+/-	415	+	66	+
M	116	-	5	-	416	-	2	-
M	117	+	2	+/-	417	-	2	-
M	118	-	14	-	418	-	13	+/-
G	119	-	9	-	419	-	16	-
G	120	+/-	9	+/-	420	-	11	-
G	121	-	2	-	421	+/-	2	+/-
I	122	-	2	+	422	+	8	+
I	123	+	2	+	423	nd	nd	nd
I	124	-	2	-	424	+	2	+/-
J	125	+	31	+	425	-	12	+
J	126	+	15	+	426	+	29	+
J	127	+	30	+/-	427	+/-	2	+



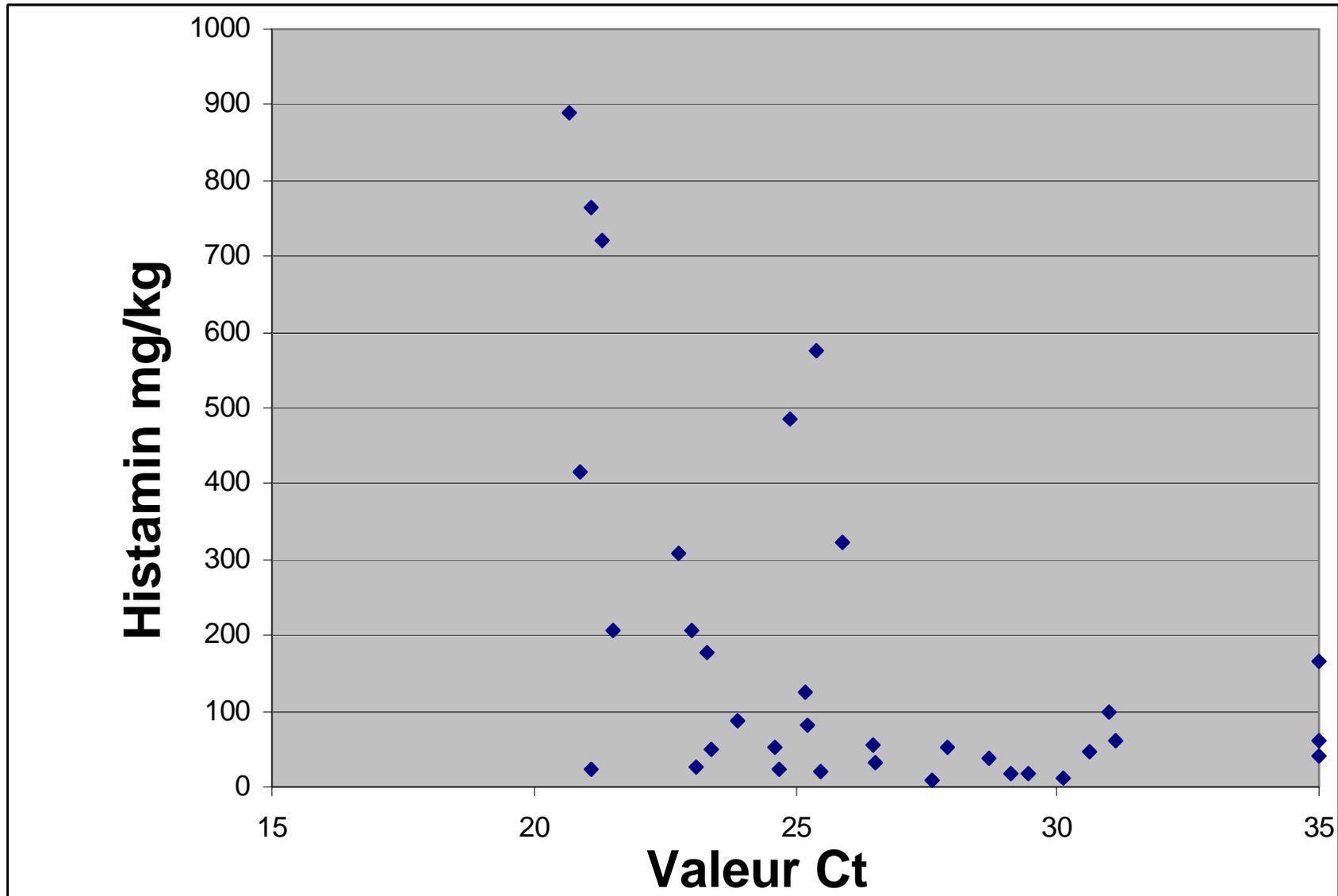
## Extraits de fromages: PCR *hdc* et *L. buchneri*

	<i>température de chauffage</i>	<i>hdc</i>	<i>L. buchneri</i>
<b>Emmental</b>	<b>52-54</b>	<b>5/6</b>	<b>5/6</b>
<b>Le Gruyère</b>	<b>56-58</b>	<b>0/10</b>	<b>0/10</b>
<b>Tête de Moine</b>	<b>50-53</b>	<b>8/8</b>	<b>8/8</b>
<b>Sbrinz</b>	<b>56-58</b>	<b>1/15</b>	<b>2/15</b>
<b>Tilsit rouge</b>	<b>43-44</b>	<b>22/24</b>	<b>24/24</b>

→ Une température de chauffage élevée diminue le risque d'une contamination par *L. buchneri*



# PCR quantitative: résultats préliminaires





# Identification et génotypage des isolats produisant de l'histamine (*résultats préliminaires*)

1. Identification des Isolats:

→ PCR *L. buchneri* / *parabuchneri* positive

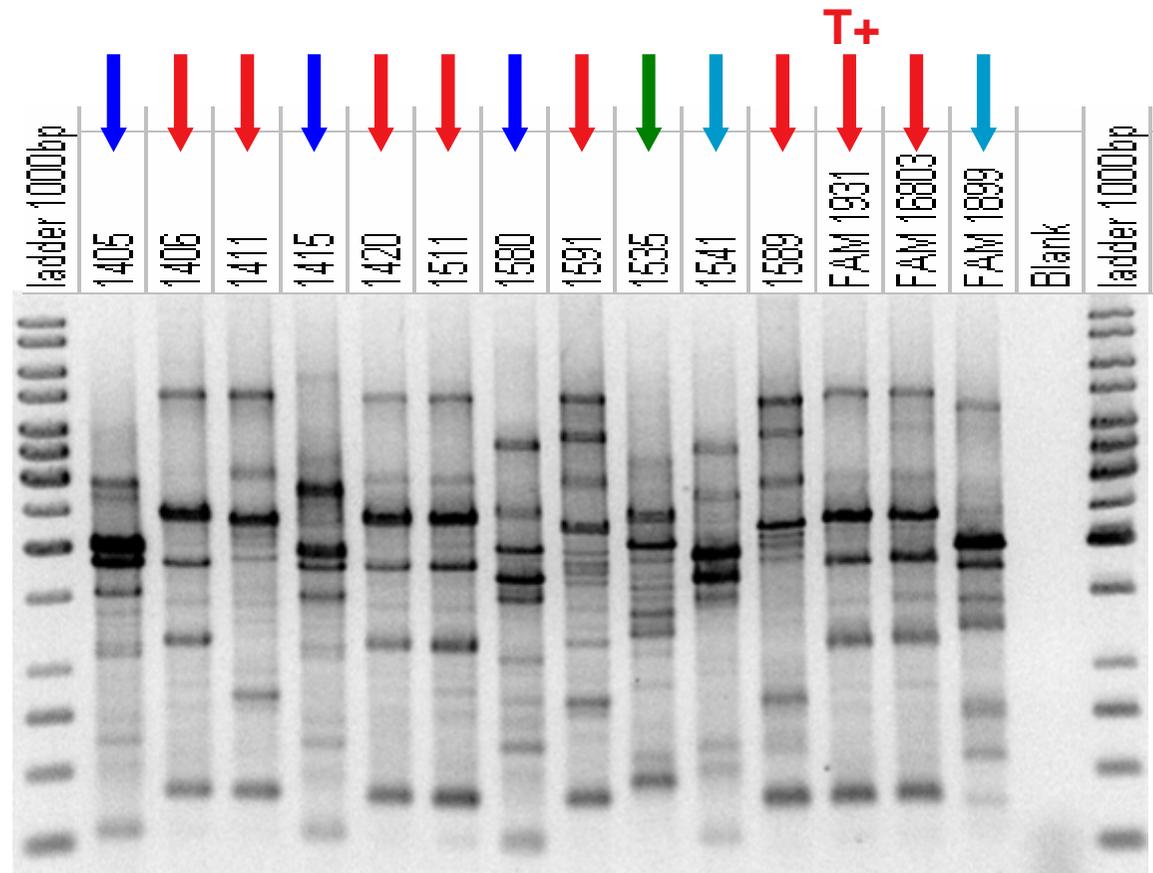
2. Génotypage (GTG<sub>5</sub>)

→ *L. buchneri* / *parabuchneri*

→ *L. casei*

→ *L. rhamnosus*

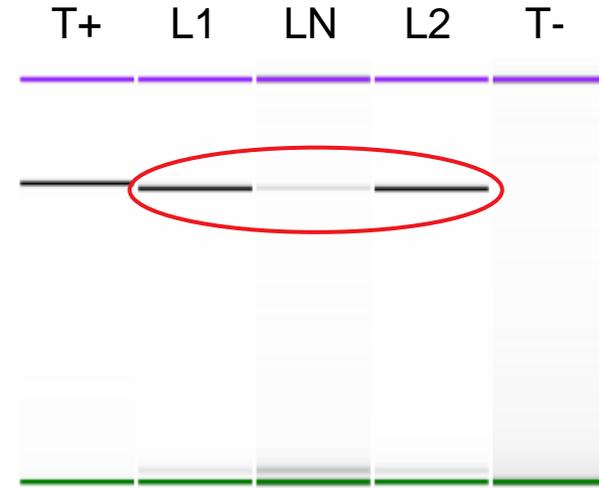
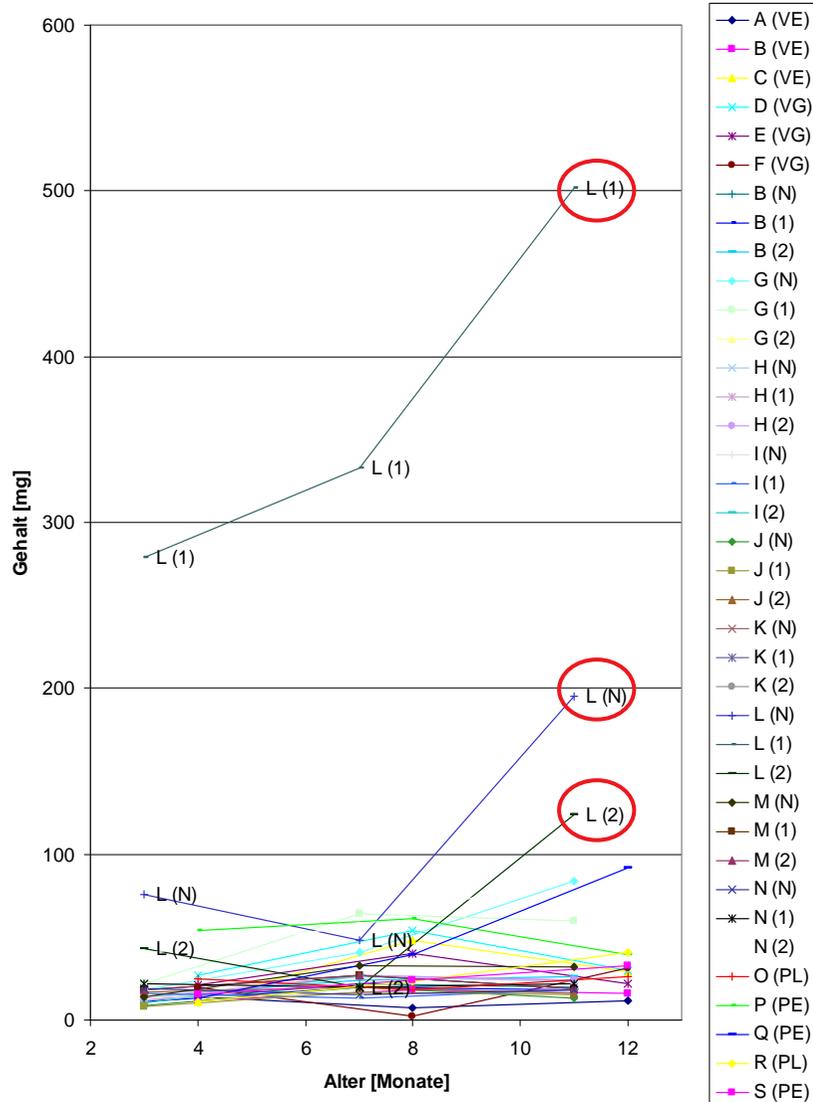
→ *L. plantarum*





# PCR: Tyramine décarboxylase (*tdc*)

Monitoring Tyramin (Winterfabrikation)



**Séquence 97% identique à celle de *Enterococcus faecium***



# Identification et génotypage des isolats produisant de la tyramine

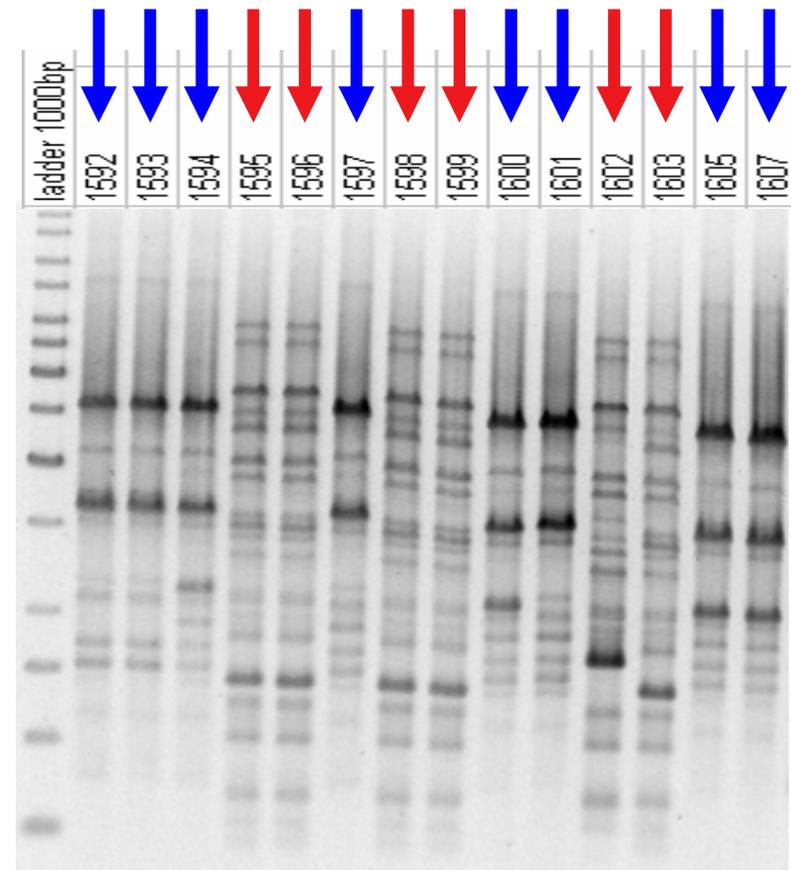
## 1. Identification des isolats de Stefan Irmiler:

### 1. Séquençage ADN<sub>r</sub>16S

### 2. Génotypage (GTG<sub>5</sub>)

→ *Enterococcus faecalis*

→ *Enterococcus durans*





## Contrôle des cultures ALP

1. Histamine décarboxylase négative
2. Tyramine décarboxylase: LcL1 positive (*Lactococcus lactis*)
  - Séquence identique à *Enterococcus durans*
  - Pas de séquence *Lactococcus lactis* disponible



*Et si la culture était contaminée?*

- Vérification microbiologique (Tina Marthaler)
  - Présence d'entérocoques sur milieu spécifique
  - 2 types de colonies sur milieu MRS



Isolement de *Lactococcus lactis* (tdc négatif)



# Conclusions et perspectives

## Conclusions

1. Méthodes pour la détection des gènes *hdc* et *tdc*
2. Si *hdc* présent, *L. buchneri* /*parabuchneri* détecté
3. PCR quantitative non applicable pour le fromage mûr, mais
  1. Pour le fromage très jeune (quelques jours)
  2. Pour le lait des producteurs

## Perspectives

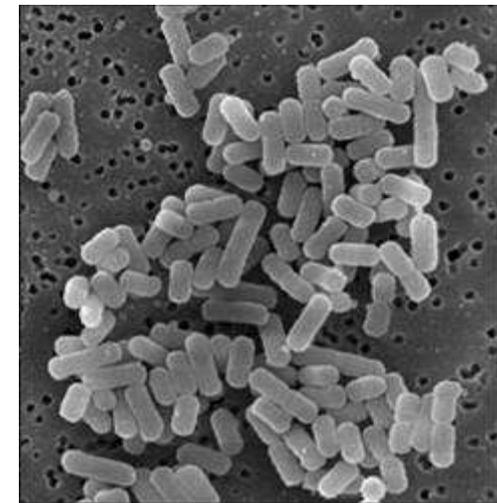
- Augmenter la sensibilité de l'extraction d'ADN du lait
- Développer les méthodes de typage des souches de *Lactobacillus buchneri* / *parabuchneri*



# Einsatz von *Lactobacillus buchneri* in Silagen

1. Einsatz von *L. buchneri* in Silierhilfsmitteln
2. Rechtliche Grundlagen für die Zulassung von Mikroorganismen in Futtermitteln
3. Überprüfung der von ALP zugelassenen Siliermittel mit *L. buchneri* auf die Bildung von Histamin
4. Literatur

*Ueli Wyss*





# Milchsäurebakterien im Futter und in den Silagen

## Lactobacillus

L. acidophilus  
**L. casei**  
L. coryniformis  
L. curvatus  
L. delbrückii  
L. graminis  
L. helveticus  
L. homohiochii  
L. jensenii  
L. paracasei  
L. pentosus  
**L. plantarum**  
L. salivarius

## Lactobacillus

**L. brevis**  
**L. buchneri**  
L. collinoides  
**L. confusus**  
L. divergens  
**L. fermentum**  
L. fructosus  
L. reuteri  
L. viridescens

## Pediococcus

**P. acidilactici**  
P. damnosus  
P. inopinatus  
P. parvulus  
**P. pentosaceus**

## Leuconostoc

**Leuc. mesenteroides**  
Leuc. oenos  
Leuc. paramesenteroides

## Enterococcus

Ec. faecalis  
**Ec. faecium**

## Lactococcus

**Lc. lactis**

## Streptococcus

Sc. bovis

**Fettgedruckt: Kommen regelmässig auf dem Futter vor**

Pahlow et al., 2003



## Ziel des Einsatzes von Siliermitteln

- Zur Verbesserung des Gärverlaufs und zur Verhinderung von Fehlgärungen (insbesondere Buttersäuregärung)
- Zur Verhinderung von Nachgärungen bei der Entnahme beziehungsweise der Verbesserung der aeroben Stabilität





# Verbesserung der aeroben Stabilität von Silagen durch Milchsäurebakterien

Parameter	Kontrolle	<i>L. buchneri</i> (KBE/g)	
		≤ 100.000	> 100.000
Milchsäure (% TM)	5,5	4,3	4,0
Essigsäure (% TM)	2,2	3,3	4,5
Propionsäure (% TM)	0,1	0,3	0,4
Hefen (lg KBE/g)	3,5	2,5	2,0
Aerobe Stabilität (Tage)	4,7	10,8	14,8

**Zusammenfassung  
von 25 Studien mit  
49 Vergleichen an  
Silagen aus:**  
**Mais**  
**Gras**  
**GPS**  
**Luzerne**

➤ *Lactobacillus buchneri*:

*Bildung von Essigsäure + CO<sub>2</sub> und 1,2-Propandiol  
unter anaeroben Bedingungen*

Kleinschmidt und Kung, 2003)



# Rechtliche Grundlagen: **Bewilligung**

## Kreuzkontaminationen Futter - Milch möglich!



Gemäss der Futtermittel-Verordnung dürfen Siliermittel nur mit einer Bewilligung der Forschungsanstalt in Verkehr gebracht werden

Futtermittel-Verordnung (916.307) und  
Futtermittelbuch-Verordnung (916.307.1)



## Rechtliche Grundlagen: **Bewilligung**

**Die Forschungsanstalt ALP erteilt die Bewilligung, wenn das Siliermittel...**

- zum vorgesehenen Gebrauch hinreichend geeignet ist
- bei vorschriftsgemäsem Gebrauch keine wesentlichen nachteiligen Nebenwirkungen zur Folge hat
- weder Mensch, Tier noch Umwelt gefährdet
- sich als wirksam erweist



## Bewilligte Siliermittel, die *Lactobacillus buchneri* enthalten

Bonsilage CCM (flüssig)

Bonsilage CCM (Granulat)

Bonsilage Mais (flüssig)

Bonsilage Mais (Granulat)

Bonsilage Plus (flüssig)

Bonsilage Plus (Granulat)

Lalsil Dry

Lalsil Fresh LB

Pioneer 11CFT

Pioneer 11GFT

Sila-Bac Stabilizer

Silostar Mais Granulat



Die Bildung von BGA wird bei der Entwicklung von Siliermitteln überprüft. Histamin-Problematik von *L. buchneri* ist bekannt.



# Überprüfung der von ALP zugelassenen Siliermitteln mit *Lactobacillus buchneri* auf die Bildung von Histamin

## Prüfung von Produkten verschiedener Hersteller mit total 4 Stämmen von *Lactobacillus buchneri*

Bonsilage CCM	→ <i>L. buchneri</i> DSM 12856
Lalsil Dry	→ <i>L. buchneri</i> NCIMB 40788
Lalsil Fresh LB	→ <i>L. buchneri</i> NCIMB 40788
Pioneer 11GFT	→ <i>L. buchneri</i> LN 40177
Sila-Bac Stabilizer	→ <i>L. buchneri</i> ATCC 202118

**Es konnte bei den überprüften Stämmen keine Bildung von Histamin festgestellt werden. (Gen für Histamin-decarboxylase war auch nicht nachweisbar)**



## Weiterführende Literatur

**Steidlova S. and Kalac P.**, 2003. The effects of using lactic acid bacteria inoculants in maize silage on the formation of biogenic amines. *Arch. Anim. Nutr.* 57 (5), 359-368.

**Nishino N., Hattori H., Wada H. and Touno E.**, 2007. Biogenic amine production in grass, maize and total mixed ration silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Applied Microbiology* 103, 325-332.



# Bedeutung von BGA für die Käsequalität

1. Bedeutung von *Lactobacillus buchneri* für die Käsequalität
2. Beispiele von Praxisfällen mit *Lactobacillus buchneri*

*Daniel Wechsler*





## Vorkommen von *L. buchneri* in Käse



### Wiederholt positive Befunde von *L. buchneri* in Käse

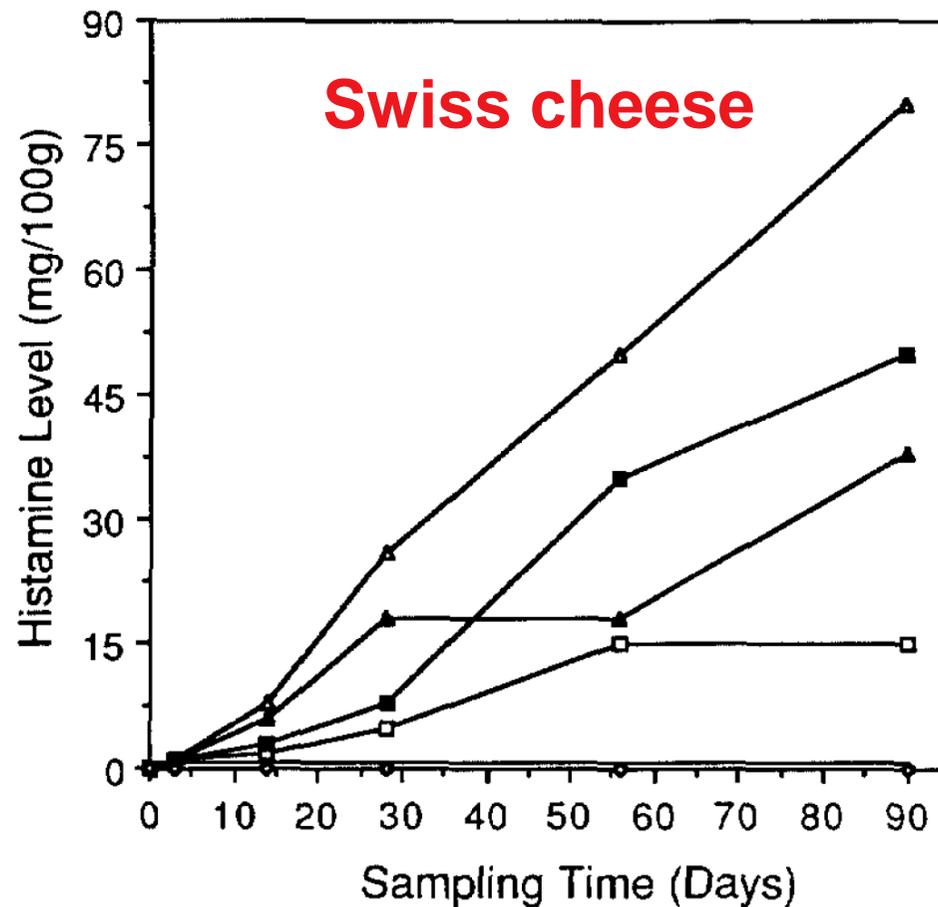
- Natürliches Vorkommen von *L. buchneri* in Silagen
- Ungenügende Reinigung von Tankfahrzeugen
- Kreuzkontaminationen möglich

### Folgen der Präsenz von *L. buchneri* in Käsereimilch

- analoge Wachstumsbedingungen wie in Silagen (pH-Wert, Lactat, anaerobe Verhältnisse)
- Wiederholt identifiziert als wichtiger Histaminbildner
- Lactat-Abbau:  $2 \text{ Lactat} \rightarrow \text{Acetat} + \text{CO}_2 + 1,2\text{-Propandiol}$



# *Lactobacillus buchneri* in Swiss cheese



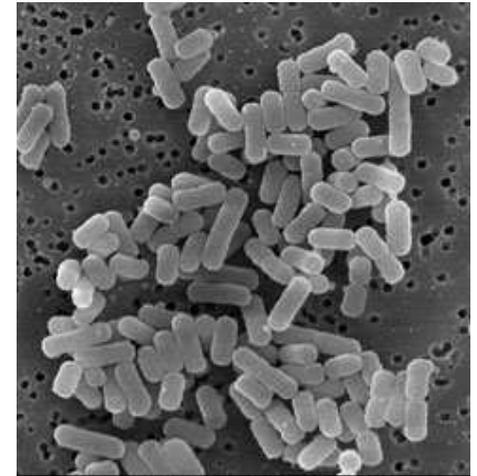
10<sup>5</sup> KBE/ml

10<sup>4</sup> KBE/ml

10<sup>3</sup> KBE/ml

10<sup>2</sup> KBE/ml

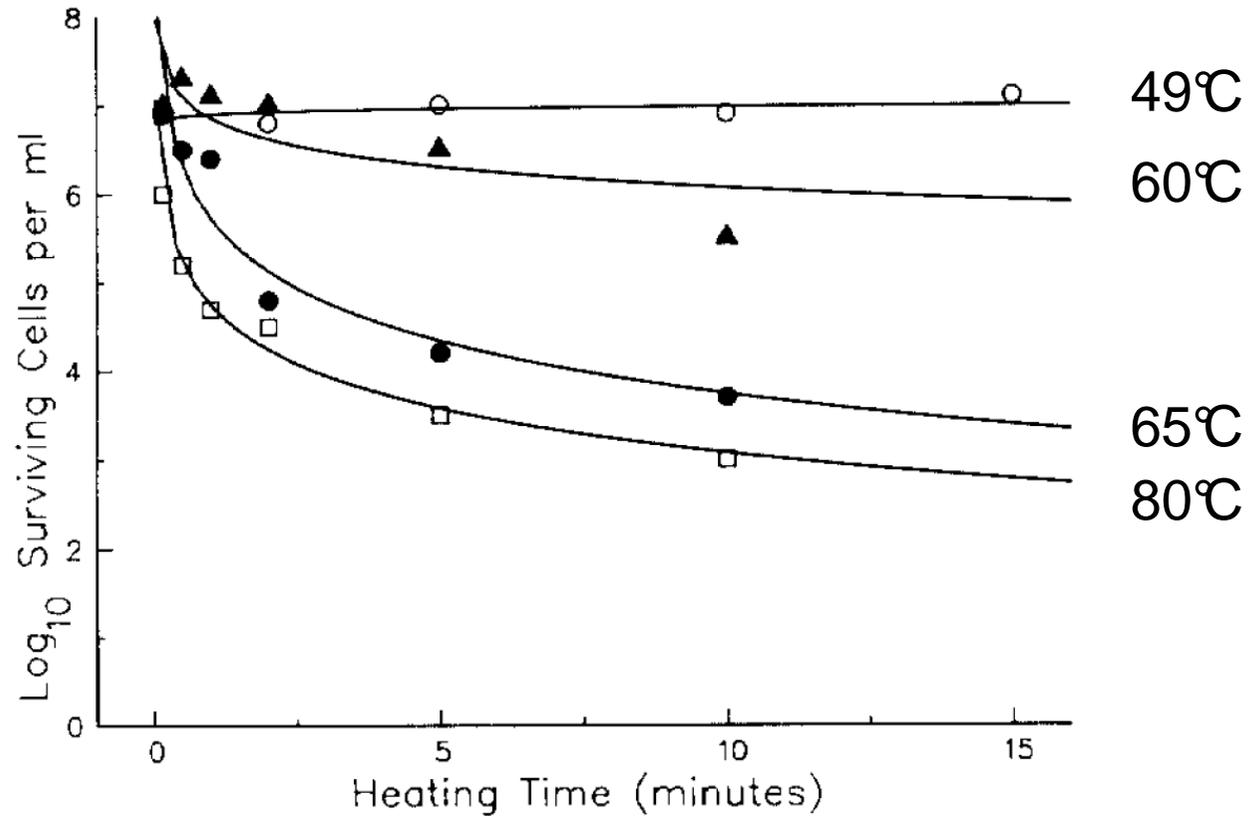
Kontrolle



- bekannt für Bildung von Histamin in hohen Konzentrationen
- nachgewiesen in diversen Käseproben mit hohen Gehalten



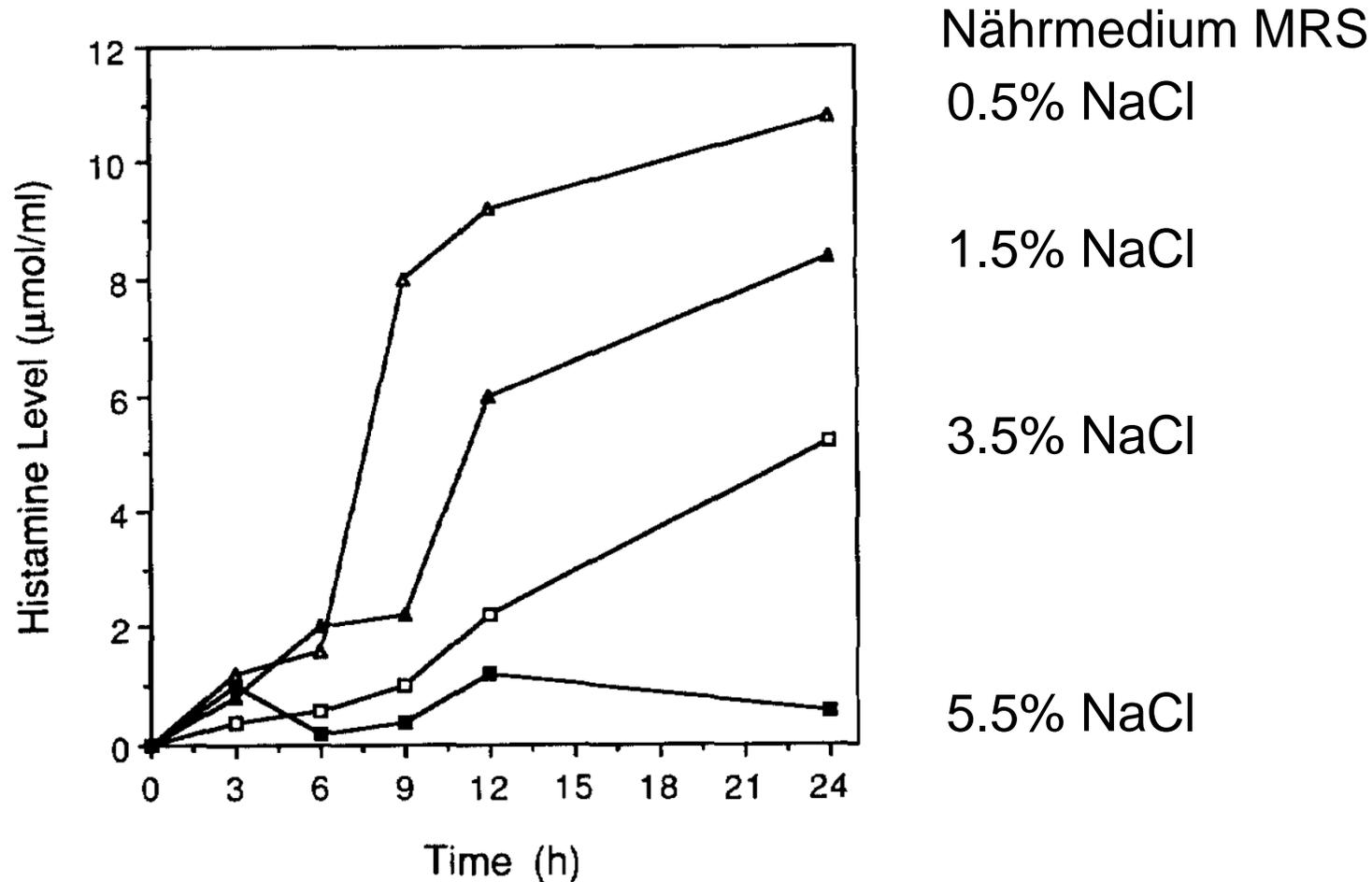
# *Lactobacillus buchneri*: Hitzeresistenz



- Hitzeresistenter Keim, obligat heterofermentativ
- Emmentaler 52-54°C, Le Gruyère AOC 56-58°C



# *Lactobacillus buchneri*: Salzresistenz



- Emmentaler AOC 1.2% NaCl (wässrige Phase)
- Le Gruyère AOC 4.1% NaCl (wässrige Phase)



# L. buchneri & ausländische Grosslochkäse

Table 2 - Nitrogen fractions and biogenic amines in the 20 Ementaler cheese samples investigated.

Analytes	ANOVA	Region (n=)											
		AL (3)		BR (3)		CH (6)		FI (2)		SA (3)		VO (3)	
		x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>	x	s <sub>x</sub>
TN (g/kg)	*	44.1 <sup>AB</sup>	1.7	45.03 <sup>AB</sup>	0.72	44.42 <sup>AB</sup>	0.85	45.5 <sup>AB</sup>	1.3	46.20 <sup>A</sup>	0.77	42.9 <sup>B</sup>	1.6
WSN (g/kg)	***	11.2 <sup>A</sup>	1.1	6.4 <sup>C</sup>	1.7	9.35 <sup>B</sup>	0.41	8.31 <sup>BC</sup>	0.51	10.72 <sup>AB</sup>	0.99	8.77 <sup>B</sup>	0.38
WSN / TN (%)	***	25.5 <sup>A</sup>	1.8	14.2 <sup>C</sup>	4.0	21.1 <sup>B</sup>	1.0	18.3 <sup>BC</sup>	0.6	23.2 <sup>AB</sup>	1.8	20.4 <sup>B</sup>	0.6
NPN (g/kg)	***	7.37 <sup>A</sup>	0.65	3.98 <sup>D</sup>	0.90	5.86 <sup>BC</sup>	0.55	6.19 <sup>ABC</sup>	0.58	7.20 <sup>AB</sup>	1.07	5.42 <sup>CD</sup>	0.37
NPN / WSN (%)	ns	65.6	0.8	62.9	8.2	62.6	4.3	74.4	2.4	66.9	4.3	61.7	2.6
OPA (mmol/kg)	*	246 <sup>A</sup>	63	136 <sup>B</sup>	39	184 <sup>AB</sup>	20	222 <sup>AB</sup>	34	255 <sup>A</sup>	61	187 <sup>AB</sup>	34
Cadaverine (mg/kg)	**	44 <sup>A</sup>	35	5.6 <sup>B</sup>	7.0	0.22 <sup>B</sup>	0.27	25 <sup>AB</sup>	15	8.6 <sup>B</sup>	6.7	1.13 <sup>B</sup>	0.75
Histamine (mg/kg)	*	672 <sup>A</sup>	376	123 <sup>B</sup>	149	12.3 <sup>B</sup>	7.4	59 <sup>B</sup>	26	478 <sup>A</sup>	434	205 <sup>A</sup>	105
Isopentylamine (mg/kg)	**	1.80 <sup>AB</sup>	0.66	0.93 <sup>B</sup>	0.55	2.78 <sup>A</sup>	1.12	1.05 <sup>AB</sup>	0.21	0.53 <sup>B</sup>	0.15	0.17 <sup>B</sup>	0.29
Putrescine (mg/kg)	*	15 <sup>AB</sup>	21	2.3 <sup>AB</sup>	1.2	<2 <sup>B</sup>	—	<2 <sup>B</sup>	—	24 <sup>A</sup>	19	<2 <sup>B</sup>	—
β-Phenylethylamine (mg/kg)	ns	6.0	4.0	1.1	1.9	11	16	15	14	34	27	1.2	2.1
Tryptamine (mg/kg)	ns	<2	—	<2	—	<2	—	3.0	2.2	<2	—	<2	—
Tyramine (mg/kg)	*	178 <sup>AB</sup>	121	8.6 <sup>B</sup>	8.4	54 <sup>B</sup>	123	220 <sup>AB</sup>	45	403 <sup>A</sup>	269	117 <sup>AB</sup>	91
Total biogenic amines (mg/kg)	*	920 <sup>A</sup>	420	142 <sup>B</sup>	165	81 <sup>B</sup>	134	325 <sup>AB</sup>	14	948 <sup>A</sup>	709	325 <sup>AB</sup>	195

Caption: x = mean value; s<sub>x</sub> = standard deviation; ANOVA: ns = not significant, \*) p ≤ 0.05, \*\*) p ≤ 0.01, \*\*\*) p ≤ 0.001.  
 Production sites: A>B>C>D (=significantly different contents p ≤ 0.01) or AB = A and B overlap by using a univariate discriminant analysis.  
 AL = Allgäu, BR = Bretagne, CH = Switzerland, FI = Finland, SA = Savoie, VO = Vorarlberg.

Emmentaler AOC enthält im Vergleich zu ausländischen Grosslochkäsen aus D, F, FI, A geringere Gehalte an BGA

⇒ **Vermutung: Verkäsung von Silomilch mit *L. buchneri* ?**



## Praxisfall Raclette (2009)



- Raclette (10 Monate)
  - starke saisonale Absatzschwankungen → teils sehr lange Lagerung
  - fehlerhafte Lochung
  - überreif, brennend, deklassiert
- 
- Summe an biogenen Aminen 1506 mg/kg (Histamin 945 mg/kg, Tyramin 454 mg/kg)
  - Kundenreklamationen (Durchfall, „Bauchgrumpeln“)
  - 2 weitere Chargen mit 820 und 1010 mg/kg biogene Amine
  - **PCR-Nachweis von *Lactobacillus buchneri***
  - **PCR-Nachweis der Histamindecarboxylase positiv**



## Praxisfall Emmentaler (2009)

EH1



- Fehlerhafter Emmentaler im Alter 6 Monaten (Produktion März 2009)

EH2



- Deklassierung erfolgte bereits im Alter von 3 Monaten (Taxation)
- Blähung (keine Prop-Nachgärung)

EH3



- Atypischer beissender und brennender Geschmack
- Deklassierung von mehrerer Monatsfabrikationen

EH4



- Schätzung des Schadens: ca. CHF 200'000.-



# Praxisfall Emmentaler (2009)

Merkmal	Einheit	Mittelwerte deklassierte Chargen (N=4)				Referenzwerte Emmentaler 7 Mte. (N=9)			
		Mittelwert	± s <sub>x</sub>	Min.	Max.	Mittelwert	± s <sub>x</sub>	Min.	Max.
Einheit									
Cadaverin	mg/kg	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
<b>Histamin</b>	mg/kg	<b>527</b>	<b>± 97</b>	<b>324</b>	<b>721</b>	<b>72</b>	<b>± 97</b>	<b>&lt; 2</b>	<b>237</b>
Putrescin	mg/kg	< 2	< 2	< 2	0	< 2	< 2	< 2	< 2
Tyramin	mg/kg	<b>37</b>	<b>± 12</b>	21	53	<b>28</b>	<b>± 12</b>	15	48
Summe biogene Amine	mg/kg	<b>564</b>	<b>± 103</b>	345	774	<b>100</b>	<b>± 103</b>	15	285
Total flüchtige Carbonsäuren	mmol/kg	<b>86.1</b>	<b>± 9.6</b>	80.6	92.9	<b>106.1</b>	<b>± 9.6</b>	92.6	121.1
Ameisensäure	mmol/kg	<b>3.9</b>	<b>± 0.6</b>	3.3	4.6	<b>4.2</b>	<b>± 0.6</b>	3.3	4.7
Essigsäure	mmol/kg	<b>45.6</b>	<b>± 3.0</b>	42.3	48.2	<b>44.5</b>	<b>± 3.0</b>	40.9	48.8
<b>Propionsäure</b>	mmol/kg	<b>36.1</b>	<b>± 7.2</b>	<b>29.0</b>	<b>43.6</b>	<b>56.2</b>	<b>± 7.2</b>	<b>45.8</b>	<b>66.3</b>
iso-Buttersäure	mmol/kg	<b>0.0</b>	<b>± 0.0</b>	0.0	0.0	<b>0.0</b>	<b>± 0.0</b>	0.0	0.0
Buttersäure	mmol/kg	<b>0.5</b>	<b>± 0.4</b>	0.4	0.6	<b>0.9</b>	<b>± 0.4</b>	0.7	1.8
iso-Valeriansäure	mmol/kg	<b>0.0</b>	<b>± 0.2</b>	0.0	0.0	<b>0.1</b>	<b>± 0.2</b>	0.0	0.6
iso-Caprionsäure	mmol/kg	<b>0.0</b>	<b>± 0.0</b>	0.0	0.0	<b>0.0</b>	<b>± 0.0</b>	0.0	0.0
Caprionsäure	mmol/kg	<b>0.1</b>	<b>± 0.0</b>	0.0	0.1	<b>0.2</b>	<b>± 0.0</b>	0.2	0.3
<b>Propionsäure : Essigsäure</b>	-	<b>0.8</b>				<b>1.3</b>			
<b>pH-Wert</b>	[-]	<b>5.79</b>	<b>± 0.05</b>	5.77	5.82	<b>5.63</b>	<b>± 0.05</b>	5.55	5.70
Enterobacteriaceae	KbE/g	< 10	n.b.	0	0	<b>n.b.</b>	n.b.	n.b.	n.b.
Enterokokken	KbE/g	<b>140</b>	n.b.	140	140	<b>n.b.</b>	n.b.	n.b.	n.b.
Fakultativ heterof. Lb	KbE/g	<b>1.6E+08</b>	n.b.	8.7E+07	2.2E+08	<b>n.b.</b>	n.b.	n.b.	n.b.
<b>Obligat heterof. Lb</b>	KbE/g	<b>1.6E+03</b>	n.b.	930	2300	<b>n.b.</b>	n.b.	n.b.	n.b.

Folgerung: klassische Propionsäuregärung wurde gehemmt  
 (3 lactate → 2 propionate + 1 acetate + 1 CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O)



# Praxisfall Emmentaler (2009)

## Verdacht auf *Lactobacillus buchneri*

### 1. Abbau Milchsäure



- Starke Bildung von **Acetat** hemmt Prop-Kulturen (analog FAKHET-Kulturen MK 3008, 3010, 3012)
- Abbau von Milchsäure erklärt den erhöhten **pH-Wert**
- Bildung von **CO<sub>2</sub>** erklärt Blähung

### 2. Decarboxylierung von Histidin zu Histamin



- erklärt die hohen Gehalte an **Histamin**
- Bildung von **CO<sub>2</sub>** erklärt Blähung

**Präsenz von *Lactobacillus buchneri* mit PCR bestätigt**



# Zusammenfassung Einflussfaktoren BGA

## Milchproduzenten und Käserei

- Zusammensetzung der Rohmilchflora wichtig (nicht nur Keimzahl)
- evtl. Kontamination mit Betriebsflora (?)

## Rohmilchflora / → Kontaminationen mit:

- Enterokokken → Tyramin ↑
- Lactobacillus buchneri → Histamin ↑ ↑
- Pseudomonaden → Putrescin ↑
- Enterobakterien → Cadaverin, Putrescin ↑

## Produkt- & Prozessrezeptur

- Milchart (Schafmilch & Ziegenmilch ↗, Kuhmilch ↘)
- Kulturen (ALP-Kulturen wurden überprüft → OK)
- Milchvorbehandlung bzw. Brenntemperaturen ↓
- Salzgehalt ↘ (mässiger Effekt)
- Reifungsdauer ↑ ↑ ↑



# Zusammenfassung BGA in Schweizer Käse

- Käse mit stark erhöhtem Gehalt an biogenen Aminen weisen oft **Geschmacksfehler** (brennend, stechend) und **Teigfehler** (Pick, Gläs) auf.
- Solche Käse werden meist dank einer **schlechten Taxation** frühzeitig aussortiert und dadurch gelenkt verwertet.
- **Extreme Gehalte an BGA** in kommerziellen CH-Käsen sind **eher selten**. Die Wahrscheinlichkeit für „Ausreisser“ variiert je nach Käsesorte erheblich.
- Bei **Personen mit einer Histaminunverträglichkeit** oder bei Einnahme gewisser Medikamente (→ MAO-Hemmer) sind **Intoxikationen** bei dem Konsum von Käsen mit hohen Gehalten an biogenen Aminen nicht auszuschliessen.
- Trotz grosser **methodischer Fortschritte** bleibt die Ursachenermittlung (=Lokalisation der Kontaminationsquelle) eine aufwändige analytische Arbeit. Weitere Fortschritte sind für eine effiziente Praxisberatung nötig.
- Das **Kultursortiment von ALP** wurden mit neusten Methoden auf die Bildung biogener Amine geprüft → dies ist ein wichtiger Beitrag von ALP für die Lebensmittelsicherheit von Schweizer Käse



## Ausblick

- **Optimierung der Methoden** damit Kontaminationen von Lieferantemilchen mit BGA-bildenden Keimen nachweisbar werden.
  - Fokus auf *Lactobacillus buchneri*
  - Verursacher ausfindig machen
  - Produktionsausfälle reduzieren
  - Verbesserung der LM-Sicherheit
  - Vorbeugende Milchkontrollen
- Das bei BGA erarbeitete Wissen und die neuen Methoden liefern auch wichtige Grundlagen für die Erzielung von **Fortschritten bei anderen problematischen Keimen:**
  - *Cl. tyrobutyricum* (Analyse Lieferantemilchen)
  - **Prop-Fehlgärungen** (Analyse Lieferantemilchen)





## Dank

- ✓ Referenten des heutigen Kolloquiums
- ✓ Fachteam ALP biogene Amine
- ✓ Käseereikonsulenten:  
H. Winkler, R. Amrein, J. Haldemann, D. Goy
- ✓ Support Analytik:
  - Doris Fuchs, Marie-Claire Risse-Yerly
  - Monika Haueter, Stephanie Pfister, Alexandra Roetschi
- ✓ - Tharmatha Bavan, Tina Marthaler, Martina Frank,  
Corazon Weishaupt, Dino Isolini
- ✓ Pilot Plant: K. Schafroth
- ✓ Emmi Käse AG & Emmi Fondue AG
- ✓ Sortenorganisationen & Beratungsorganisationen
- ✓ involvierte Käsereien



## “Sensorik-Test” biogene Amine

1. Modellösung Tyramin (Konzentration 1000 mg/kg)
2. Fehlerhafter Berner Alpkäse (13 Monate) mit erhöhtem Gehalt an BGA und **brennendem Geschmack**
  - Histamin 1672 mg/kg
  - Summe biogene Amine 1708 mg/kg
3. Modell-Lösung Histamin (Konzentration 1000 mg/kg)

*Reto Portmann*

