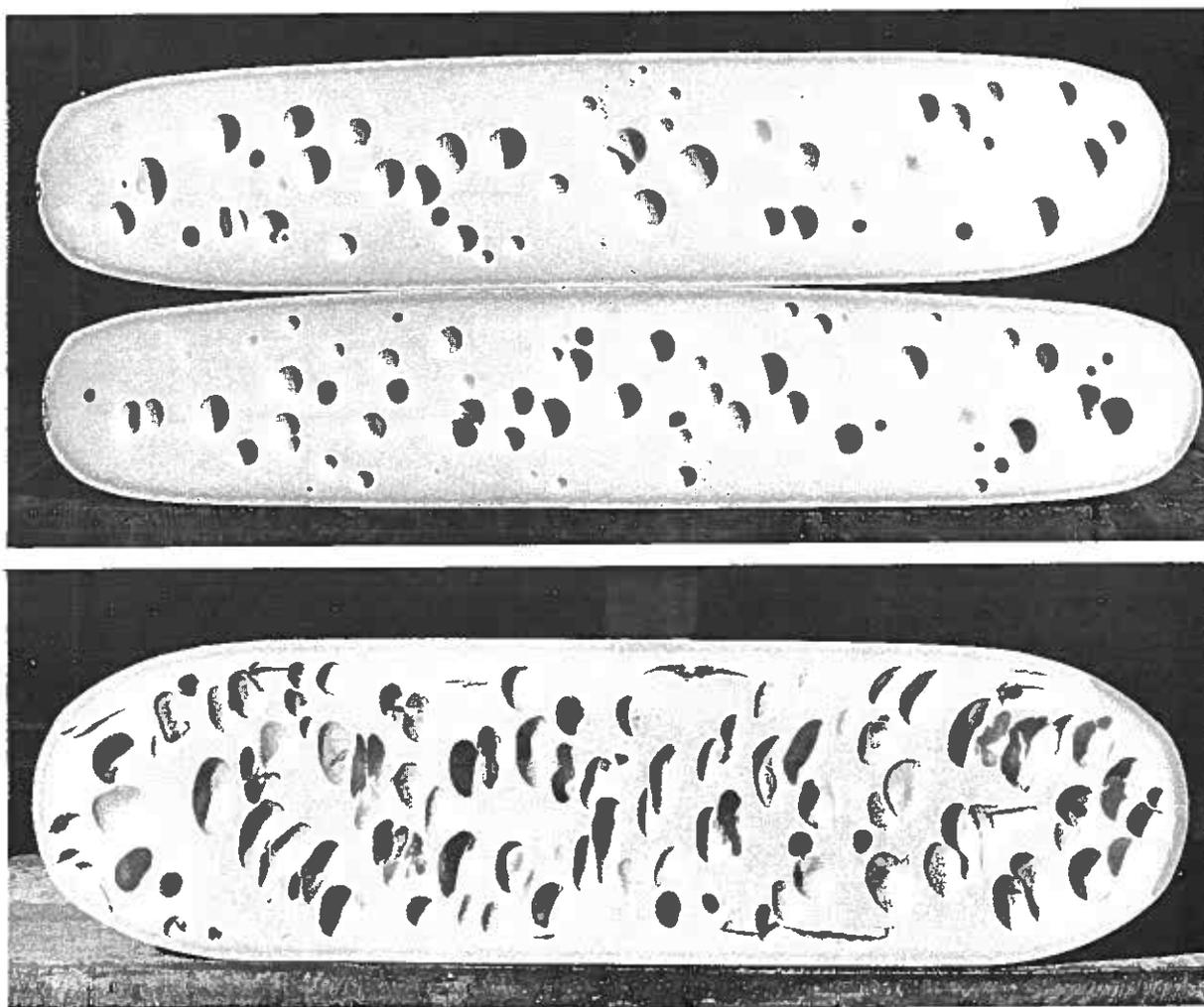


EFAM — INFORMATION

Februar 1979/80
Herausgegeben von der
Eidgenössischen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld
Direktor: Prof. Dr. B. Blanc



Schnittbilder von qualitativ guten Emmentalerkäsen
und eines Laibes mit typischer Nachgärung (Foto EFAM).

Vergleichende Untersuchungen in Emmentalerkäsen mit und ohne Nachgärung

Chr. Steffen, C. Bühlmann, J. Schnider, H. Schär, F. Rentsch

Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern

Eingereicht am 14. 12. 1978

I. Probenerhebung, statistische Auswertung und Fabrikationsdaten

In vergleichenden Untersuchungen wurden während eines Jahres einerseits 60 Emmentalerkäse mit Nachgärung und andererseits 60 Käse mit guter Qualität anhand von mehr als 80 Parametern charakterisiert.

Die Diskriminanzanalyse zeigte, dass die Bestimmung des p-Benzochinonwertes (als Mass für den Eiweissabbau) und der enzymatische Acetatnachweis (als Grösse für die Intensität der Propionsäuregärung) die Methoden mit dem grössten Aussagewert für die Unterscheidung der beiden Käsegruppen sind.

Die Auswertung der Fabrikationsdaten aus den Herstellerbetrieben ergab, dass der Käser nicht einen zu hohen Anteil der Kessimilch für die Verbesserung des Lochansatzes zentrifugieren sollte. Ebenso sind zur Bekämpfung der Nachgärung extrem kurze Vorkäs- und Ausrührzeiten sowie ein frühes Verbringen der Käse vom Salzbadraum in das Gärlokal zu vermeiden.

1. Einleitung

Das Problem der Nachgärung beschäftigt die Forscher in den Ländern mit einer namhaften Produktion von Emmentalerkäsen bereits seit vielen Jahren. Der erwähnte Käsefehler ist aber auch ein Problem für andere Käsesorten. Die einschlägige Literatur enthält deshalb mehrere Publikationen, die sich mit dem Problembereich Nachgärung auseinandersetzen.

Als Nachgärung wird in der Schweiz die Veränderung des Käses in seiner Form während der Lagerung bei relativ tiefen Temperaturen (10—13 °C), bedingt durch CO₂, definiert (28). Unter der Veränderung ist ein Anwachsen der Laibhöhe zu verstehen, die zu stark gezogener Lochung und je nach Teigbeschaffenheit im Extremfall zu Gläsbildung führt.

Für Fabrikanten und Käsehandel ist die Nachgärung ein gefürchteter Käsefehler. In den Jahren 1970—1975 variierte der prozentuale Anteil von Nachgärungspartien im Zeitpunkt der Taxation im Bereich zwischen 5 und 27,5%. Dabei zeigte sich ein deutlicher jahreszeitlicher Einfluss mit einem minimalen Nachgärungsanteil in den Herbstmonaten und einem Maximum am Ende der Dürrfütterungsperiode in der März/April-Produktion (28, 38).

In der Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft sind in den letzten Jahren einige Forschungsprojekte über die Nachgärung durchgeführt worden. Im Arbeitsprogramm der Jahre 1977/78 wie auch in den kommenden Jahren steht der Käsefehler Nachgärung im Zentrum der Käseforschung.

Während vieler Jahre führte man die Nachgärung auf einen erneuten Beginn der Stoffwechselaktivität durch die Propionsäurebakterien zurück, nachdem diese, sei es durch eine hemmende Wirkung der eigenen Stoffwechselprodukte oder durch ein Absterben am Ende der Heizperiode, die Gasproduktion scheinbar einstellten. Die Forschungstätigkeit konzentrierte sich deshalb auf die Ermittlung von Faktoren, die eine Aktivierung von Propionsäurebakterien bei tieferen Temperaturen ermöglichen.

Anhand von Untersuchungen über den Lactatabbau im reifenden Emmentalerkäse konnte festgestellt werden,

dass die Propionsäuregärung bei der tieferen Temperatur im Lagerkeller zwar verlangsamt aber stetig weiterläuft (27, 31). Der Milchsäureabbau im Lagerkeller kann aber stark unterschiedlich sein (28). Käse mit Nachgärung zeigten bei den Temperaturen im Lagerkeller einen intensiveren Milchsäureabbau (34). Die Feststellung der weiter andauernden Propionsäuregärung nach der Heizperiode wurde in der Folge durch die Bestimmung von Stoffwechselprodukten der Propionsäuregärung wie das Total flüchtiger Fettsäuren, Essigsäure, Propionsäure (37) und CO₂ (5, 6, 7) bestätigt. Radiologische Untersuchungen von Emmentalerkäsen im Lagerkeller ergaben, dass sogar bei tieferen Temperaturen neue Löcher entstehen können und das bestehende Lochvolumen zunimmt (17). Verschiedene Beobachtungen aus der Praxis über das sogenannte Absterben der Käse konnte mit der CO₂-Löslichkeit, die stark von der Temperatur abhängig ist (12, 23, 22) erklärt und in Extremversuchen (7) widerlegt werden.

Die Propionsäuregärung und somit das Wachstumsvermögen der Propionsäurebakterien ist ein wichtiger Faktor in der komplexen Frage der Nachgärung. Forschungsergebnisse zeigten, dass viele Propionsäurebakterienstämme in der Lage sind, bei Temperaturen unter 10 °C zu wachsen (23). Die Nachgärung wird deshalb auch als ein sogenanntes Kaltraumphänomen bezeichnet (13).

Die Nachgärung ist jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen. Statistische Auswertungen ergeben einen höheren Anteil von Käsen mit Nachgärung am Ende der Dürrfütterungsperiode (28, 38). In einem Grossversuch wurde diese Feststellung bestätigt (9). Bei einer entsprechenden Versuchswiederholung führte die gezielte Auswahl der Milch einer Lieferantengruppe zu Qualitätsunterschieden, die grösser waren als die fütterungsbedingten Einflüsse (33).

Verschiedene Untersuchungen bringen die Nachgärung in Zusammenhang mit der Milchqualität. Mit einer keimreicheren Kessimilch erhöht sich die Nachgärungsgefahr (28). Fremdbakterien können direkt oder indirekt über ihre Stoffwechselprodukte Einfluss auf die Propionsäurebakterienaktivität ausüben. Eine fördernde Wirkung wird der Mikrokokken-Staphylokokkengruppe zugeschrieben (24, 25). Staphylokokken beeinflussen über ihre Stoffwech-

selprodukte (Essigsäure und Isovaleriansäure) die Propionsäuregärung (26). Umfangreiche Arbeiten in Deutschland weisen auf einen engen Zusammenhang der Nachgärung mit dem Wachstum bestimmter Bakteriengruppen hin (14, 15). Das Vorhandensein von Pseudomonaden kann die Entwicklung von Enterokokken, insbesondere *Streptococcus durans*, fördern. Ihre Stoffwechselprodukte, vor allem Glutaminsäure, begünstigen das Wachstum von *Lactobacillus bifementans* und somit eine erneute CO₂-Produktion.

Einerseits besteht die Auffassung, dass die Nachgärung weder durch einen hohen CO₂-Gehalt noch durch eine Strukturveränderung des Käseteiges verursacht wird (12). Versuche mit dem Einsatz von Rohmischkulturen und praktische Beobachtungen in der Schweiz lassen hingegen einen engen Zusammenhang zwischen der Proteolyse im Käse und der Nachgärung erkennen (28, 35). Diese Feststellung wird in einer Arbeit über die Aminosäureproduktion verschiedener Rohmischkulturen im Emmentalerkäse erhärtet (18).

Umfangreiche Arbeiten im Zusammenhang mit der CO₂-Bildung und Diffusion während der Käsereifung wurden an unserer Forschungsanstalt durchgeführt (3, 4, 5, 6, 7). Es zeigte sich, dass die im Käse gebildete CO₂-Menge deutlich über dem aus der Propionsäuregärung errechneten CO₂-Volumen liegt. Zudem wurde eine CO₂-Bildung vor dem Beginn der Propionsäuregärung festgestellt.

Aus der Käsepraxis sind verschiedene nachgärungsbeeinflussende Faktoren einzelner Fabrikationsschritte bekannt. Vermehrt Nachgärung wurde durch die Zentrifugation der Kessmilch, die der Verbesserung des Lochansatzes dient, hervorgerufen (9, 10). Massgeblich scheint ebenfalls der Temperaturverlauf während des Fabrikationsprozesses und anschliessend im Käse auf der Presse zu sein (32). Eine hemmende Wirkung erfolgt durch Kupfer (8), durch eine intensive Anfangssäuerung und eine höhere Kochsalzkonzentration (9).

Seit dem vermehrten Einsatz der Rohmischkulturen in der Emmentalerkäsefabrikation ab Herbst 1975 trat der erwähnte Käsefehler in unserem Lande in wesentlich geringerem Ausmass auf. In den letzten 2½ Jahren variierte der Anteil der Nachgärungspartien zwischen 1,4 und 9,7% bei einem Durchschnitt von ca. 5%. Beunruhigend ist vor allem die Tatsache, dass wohl verschiedene nachgärungsbeeinflussende Faktoren bekannt, die eigentlichen Ursachen der Nachgärung jedoch noch nicht im Detail abgeklärt sind.

Als Grundlage für die weiteren Arbeiten in der Nachgärungsforschung wurden 1977/78 an handelsreifen Emmentalerkäsen über 80 Parameter gemessen. Einerseits wurden Käse von sehr guter Qualität und Lagerfähigkeit und andererseits mit ausgeprägter Nachgärung in die vergleichenden Untersuchungen einbezogen. Der Versuch hatte zum Ziel, die Schwankungen in der Zusammensetzung von Käsen mit und ohne Nachgärung im Laufe eines Jahres mit verschiedenen Methoden zu ermitteln. Aus gesicherten Unterschieden zwischen den erwähnten Käsegruppen sollen Hinweise für die weitere Forschung zur Ermittlung der möglichen Nachgärungsursachen gefunden werden. Gleichzeitig hatte die Arbeit zum Ziel, aussagekräftige Parameter und Methoden für die übrigen Projekte im Rahmen der Nachgärungsforschung und Käseberatung zu finden.

Die Erhebungen wurden vorerst an Emmentalerkäse durchgeführt. Die Ergebnisse dieser umfangreichen Untersuchung werden in verschiedene Teilgebiete aufgeteilt und publiziert (1, 19, 30, 34, 37). Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf die Probleme der Probeerhebung und

Probeaufarbeitung, der Datenerfassung und Auswertung, sowie auf die Resultate im Zusammenhang mit der Käsefabrikation.

2. Experimenteller Teil

Käseauswahl

Nach Versuchsprogramm sollten Käse im Alter zwischen 120 und 150 Tagen für die Untersuchungen ausgewählt werden. Die Probeerhebung erfolgte in den verschiedenen Käsehandelsfirmen der Schweiz. Während eines Jahres wurden monatlich je 5 Emmentalerkäse mit und ohne Nachgärung ausgewählt.

Für die Auswahl von Käse ohne Nachgärung wurde eine sehr gute Qualität sowie eine erfahrungsgemäss gute Lagerfähigkeit vorausgesetzt. Im Gegensatz dazu mussten die qualitativ ungenügenden Käse die Merkmale der Nachgärung ausgeprägt aufweisen (vgl. Abb. 1).

In der Regel werden die Käse mit eindeutiger Nachgärung durch den Handel als Schmelzrohware frühzeitig verwendet. Deshalb war es oft schwierig, Käse mit den typischen Fehlermerkmalen im festgesetzten Alter zu finden.

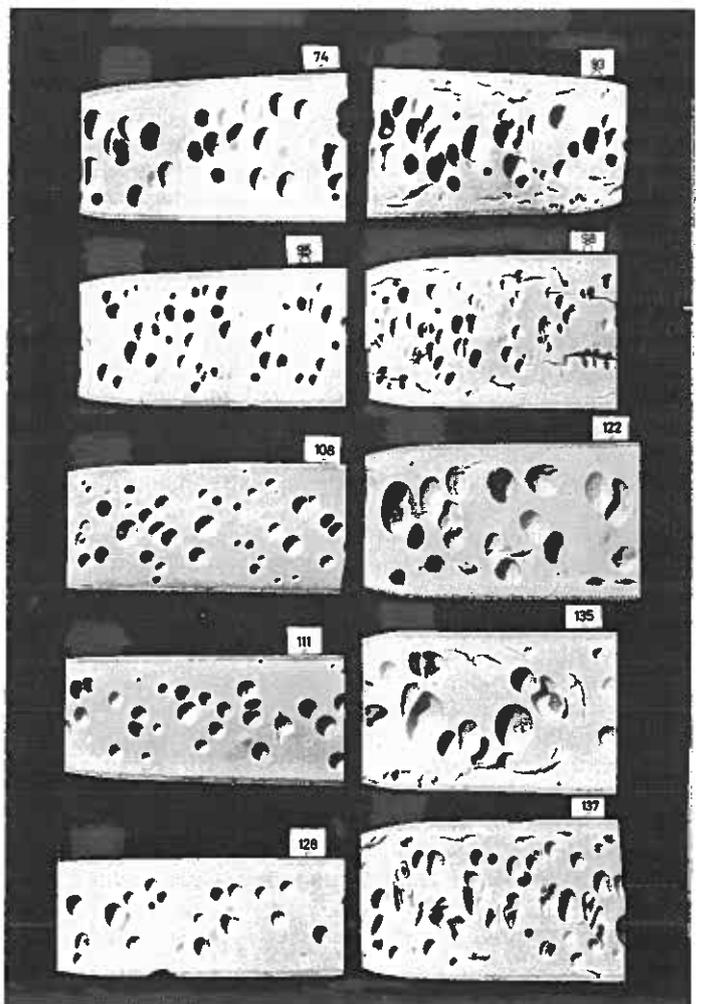
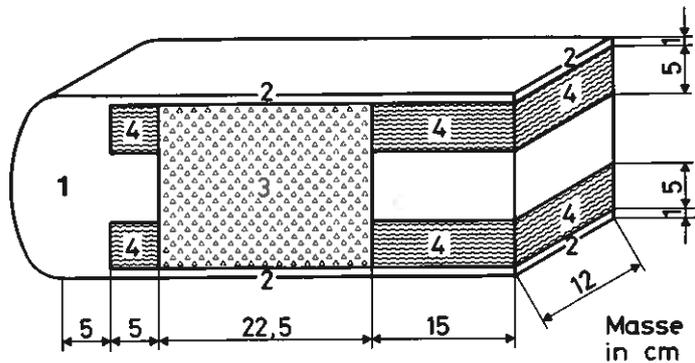


Abb. 1: Schnittbilder einer Versuchsserie
links: Käse von guter Qualität
rechts: Käse mit Nachgärung

Probeentnahme und Probeaufarbeitung

Für die Untersuchungsproben wurde aus den vertikal halbierten Käseläiben je ein Stück vom Rand bis zum Zen-

trum in einer Breite von 12 cm verwendet. Für die Laboratorien wurden die Proben gerieben, damit die Käse nicht visuell klassiert werden konnten. Für einige bestimmte Analysen mussten jedoch Käsestücke abgegeben werden. Die Probeaufarbeitung erfolgte immer gemäss Abbildung 2.



- 1 Randzone (Järbseite) 5 cm vom Span
2 Rinde 1 cm
3 Ganzes Stück
4 Geriebene Stücke

Abb. 2: Schematische Darstellung der Probeentnahme (die Untersuchungen wurden aus den Zonen 3 und 4 durchgeführt)

Pro Käse wurden je 2 Proben mit unterschiedlicher Bezeichnung an die Laboratorien abgegeben. Die Numerierung der Proben erfolgte nach dem Zufälligkeitsprinzip.

Datenerfassung

Nach der Probeerhebung wurden für die entsprechenden Käse die Fabrikationsdaten im Herstellerbetrieb ermittelt und direkt auf EDV-Blätter registriert.

Die sämtlich geprüften Parameter-Resultate aus den Laboratorien wurden auf EDV-Belegen gesammelt und zusammen mit den Fabrikationsdaten im Eidg. Statistischen Amt, Bern, verarbeitet.

Für die Auswertung des relativ grossen Zahlenmaterials (über 25 000 Ergebnisse) mit aufwendigen statistischen Verfahren war die Benützung einer Computeranlage notwendig. Dazu dienten die Datenanalysensysteme BMDP (2) und SPSS (21).

Versuchsauswertung

Alle Daten wurden graphisch dargestellt. Anhand dieser Graphiken konnten einzelne stark abweichende Resultate erkannt und überprüft werden. In den meisten Fällen handelte es sich hierbei um Schreib- oder Rechenfehler. Nach der Fehlerkorrektur wurden die Daten der Doppelbestimmungen gemittelt.

Die Mittelwerte der beiden Gruppen (mit und ohne Nachgärung) wurden für jede Variable untereinander verglichen. Man prüfte, ob die Gruppenmittelwerte voneinander verschieden sind. Dazu legten wir eine Sicherheitsschwelle von 5% fest, d. h. die Irrtumswahrscheinlichkeit beträgt 5% ($p = 0,05$). Die Berechnungen wurden ebenfalls für eine Sicherheitsschwelle von 1 und 0,1% durchgeführt. Diese Einfachvarianzanalyse entspricht im Vergleich der beiden Gruppen dem bekannten T-Test.

Mit der Zweifachvarianzanalyse wurde die Möglichkeit jahreszeitlicher Schwankungen sowie methodischer Fehler überprüft. Die Irrtumswahrscheinlichkeit beträgt $p = 0,05$.

Das Alter der Käse im Zeitpunkt der Probeentnahme war nicht einheitlich. Die Ergebnisse einzelner Variablen können dadurch beeinflusst werden. Deshalb wurde eine Zweifachvarianzanalyse mit dem Alter als Kovariable durchgeführt. Dabei wurde angenommen, dass im Altersbereich von ± 15 Tagen die Abweichungen vom mittleren Alter den Wert der gemessenen Variablen linear beeinflusst (11).

3. Ergebnisse

Alter der Käse

Gemäss Versuchsordnung sollten die Käseproben im Alter von 120–150 Tagen entnommen werden. Aus Abbildung 3 geht hervor, dass die Mittelwerte der beiden Gruppen gut übereinstimmen. Die Altersgrenzen von 120 und 150 Tagen konnten bei den Käseproben mit Nachgärung aus den bereits erwähnten Gründen nicht exakt eingehalten werden. Die Käse der beiden Gruppen zeigen bezüglich Alter keine signifikanten Unterschiede.

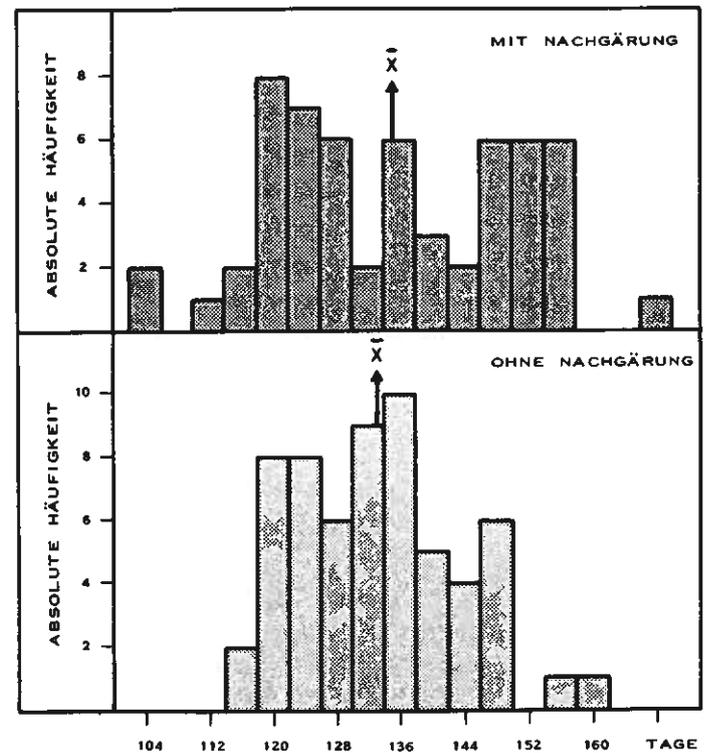


Abb. 3: Alter der Käse im Zeitpunkt der Probeentnahme

Fabrikationsdaten

Die signifikanten Unterschiede in den Fabrikationsdaten der beiden Käsegruppen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Fabrikationsdaten mit signifikanten Unterschieden ($p = 0,05$)

Variable	Anzahl Beobachtungen		Mittelwert		Standardabweichung	
	ohne NG	mit NG	ohne NG	mit NG	ohne NG	mit NG
Anteil zentrifugierter Milch, %	60	60	48,7	62,6	32,6	37,2
Wasserzusatz, %	59	59	8,6	7,6	2,1	2,5
Vorkäsen, Min.	59	59	36,8	33,1	6,7	8,7
Ausrühren, Min.	59	59	40,6	35,7	9,5	11,8
Setzen, Tg.	55	50	40,7	38,2	6,2	5,5
Offen, Tg.	56	51	58,4	54,4	6,0	5,8

Die bekannte Tatsache, dass durch die Zentrifugation der Kessmilch zur Verbesserung des Lochansatzes gleichzeitig die Nachgärungsgefahr zunimmt, wurde in dieser Auswertung erneut bestätigt.

Eindeutige Unterschiede sind bezüglich des Wasserzusatzes zur Kessmilch festzustellen. Er war bei den Käsen ohne Nachgärung um durchschnittlich 1% höher. Die Verdünnung der Kessmilch ist als ein mitbestimmender Faktor im Zusammenhang mit der Nachgärung zu beachten.

Die Fabrikationszeit der Käse mit Nachgärung ist deutlich kürzer. Während des Vorkäsens wird die Synärese gefördert. Eine extrem kurze Vorkäszeit kann eine ungenügende Synärese des Bruchkornes zur Folge haben. Während des Ausrührens wird weitgehend die Brenntemperatur beibehalten. Je nach Dauer dieser Heisshaltezeit kann die Selektion der Bakterienflora im Bruchkorn und in der Molke beeinflusst werden.

Die in der Praxis häufig gemachte Feststellung, dass die zu Nachgärung disponierten Käse einen frühen Beginn der Lochbildung hätten und somit auch relativ früh vom Gärin den Lagerkeller gebracht werden müssen, wurde in dieser Auswertung bestätigt. Die Lochbildung setzte durchschnittlich 2 Tage früher ein und die Käse waren ebenfalls entsprechend früher offen.

Bei den in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnissen könnte der Eindruck aufkommen, dass die Werte sehr nahe beieinander liegen. Für den Praktiker gilt es daher vor allem zu beachten, dass extreme Werte vermieden werden müssen. Der prozentuale Anteil der zu zentrifugierenden Kessmilch sollte nicht zu hoch, der Wasserzusatz nicht zu tief, die Vorkäs- und Ausrührzeit nicht zu kurz sein. Zudem muss vermieden werden, dass die Käse in einem relativ frühen Zeitpunkt vom Salzbadkeller in den Gärraum verbracht werden.

Diskriminanzanalyse

Die Diskriminanzanalyse hat zum Ziel, die zwei Beobachtungsgruppen optimal zu trennen. Bei einer signifikanten Gruppendiskriminanz (Mittelwertsunterschied zwischen den Gruppen) werden in einem stufenweisen Selektionsverfahren die Variablen (Analysenmethoden) mit trennendem Einfluss entsprechend ihrer Wichtigkeit herausgefunden (vgl. Abb. 4). In einem ersten Schritt wird die Variable mit der grössten Trennwirkung selektioniert. In einem zweiten Schritt von den restlichen Variablen diejenige ausgewählt, die den zusätzlich grössten Diskriminanzbeitrag leistet. Anschliessend werden alle relativ bedeutenden Variablen ermittelt. Dabei ist zu beachten, dass eine Variable für sich allein eine bestimmte trennende Wirkung besitzen kann, jedoch wegen ihrer Korrelation zu stärker trennenden Variablen nicht ins Diskriminanzsystem eingeht. Nach jedem Schritt wird ferner geprüft, ob eine der vorgängig einbezogenen Variablen ihren Einfluss nachträglich verloren hat und deshalb wieder ausgeschieden werden muss. Bei der Interpretation der Variablenselektion einer Diskriminanzauswertung muss die Variablenabhängigkeit stets beachtet werden (16).

Die Diskriminanzanalyse wurde am Zahlenmaterial aller Analysen (ausgenommen Fabrikationsdaten, bakteriologische Resultate, Vitamine und Aminosäuren) durchgeführt. Die Aminosäuren (19) wurden nicht in die Auswertung einbezogen, weil eine sehr starke Korrelation der wichtigsten Aminosäuren im Käse zum p-Benzochinonwert (35) besteht.

Abbildung 5 zeigt schematisch das Vorgehen bei der Diskriminanzanalyse. Im vorliegenden Fall sind die F-Werte als Mass für die Gruppendiskriminanz zu betrachten.

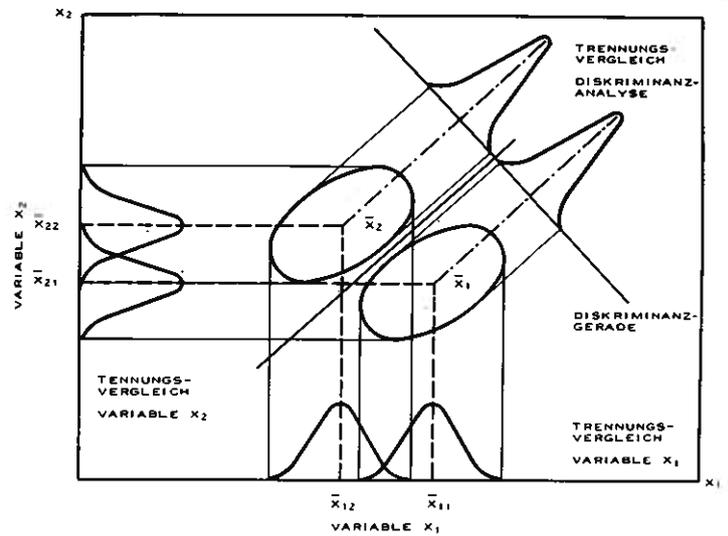


Abb. 4: Gegenüberstellung der Wirksamkeit der Zweigruppen-diskriminanz und der einfachen Mittelwertsvergleiche im Fall zweier Variablen (16)

DISKRIMINANZ-ANALYSE VARIABLE	SCHRITT 0	SCHRITT 1	SCHRITT 2
	DISKRIMINIERTE VARIABLEN	P-BENZOCHINON F = 52,53	P-BENZOCHINON F = 39,32 ACETAT F = 19,52
WASSERSORPTION	30		
WASSERAKTIVITÄT	10		
PUFFERKAPAZITÄT	10		
TITRATIONSWERT pH 9,0	10		
MILCHSÄURE	10		
PYRUVAT	10		
SUCCINAT	20		
ACETAT (ENZYMATISCH)	40		
P-BENZOCHINON	50		
GLUTAMAT (ENZYMAT.)	50		
β-GALACTOSIDASE	20		
LDH	20		
MDH	20		
TEIGHÄRTE	20		
pH	10		
WASSER	10		
KOCHSALZ	10		
NICHTPROTEIN N	40		
KUPFER	10		
FREIE ESSIGSÄURE	10		
FREIE PROPIONSÄURE	10		

Abb. 5: Schematische Darstellung der F-Werte einiger ausgewählter Variablen in der Diskriminanzanalyse

Der p-Benzochinonwert erlaubt die bestmögliche Trennung mit nur einer Variablen zwischen Käse mit und ohne Nachgärung. Anhand dieses Merkmals können jedoch die beiden Gruppen nicht vollständig auseinandergelassen werden, wie Abb. 6 verdeutlicht.

Als zweite Variable geht die enzymatische Acetatbestimmung in die Diskriminanzanalyse ein. Auch diese Variable zeigt keine genügende Trennwirkung (siehe Abbildung 7). Abbildung 8 zeigt, dass der Trenneffekt der beiden Variablen p-Benzochinon und Acetat gemeinsam wesentlich wirkungsvoller ist, wenn die Aussage beider Variablen gemeinsam angewendet wird.

Die Diskriminanzanalyse ergab, dass die folgenden Methoden die beste Trennung ermöglichen:

- 1. Trennschritt: p-Benzochinonwert
- 2. Trennschritt: Acetat
- 3. Trennschritt: Titrationswert auf pH 9,0

Mit dem p-Benzochinonwert werden indirekt die freien Aminosäuren gemessen. Bei der Diskriminanzanalyse gehen deshalb verschiedene den Eiweissabbau charakterisierende Methoden, wie z. B. Nicht-Protein-Stickstoff,

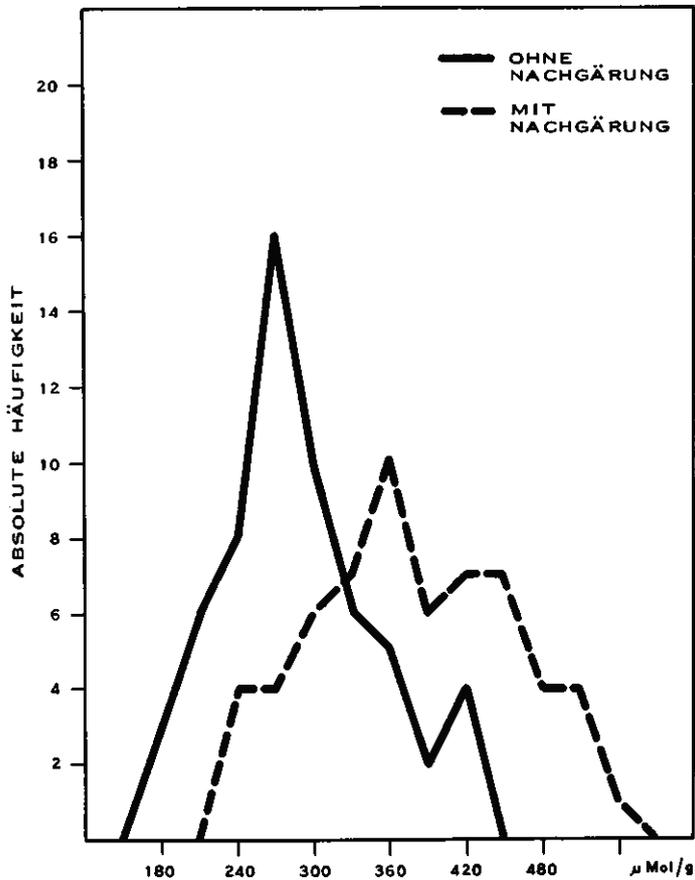


Abb. 6: Häufigkeitsverteilung der p-Benzochinonwerte in Käsen mit und ohne Nachgärung

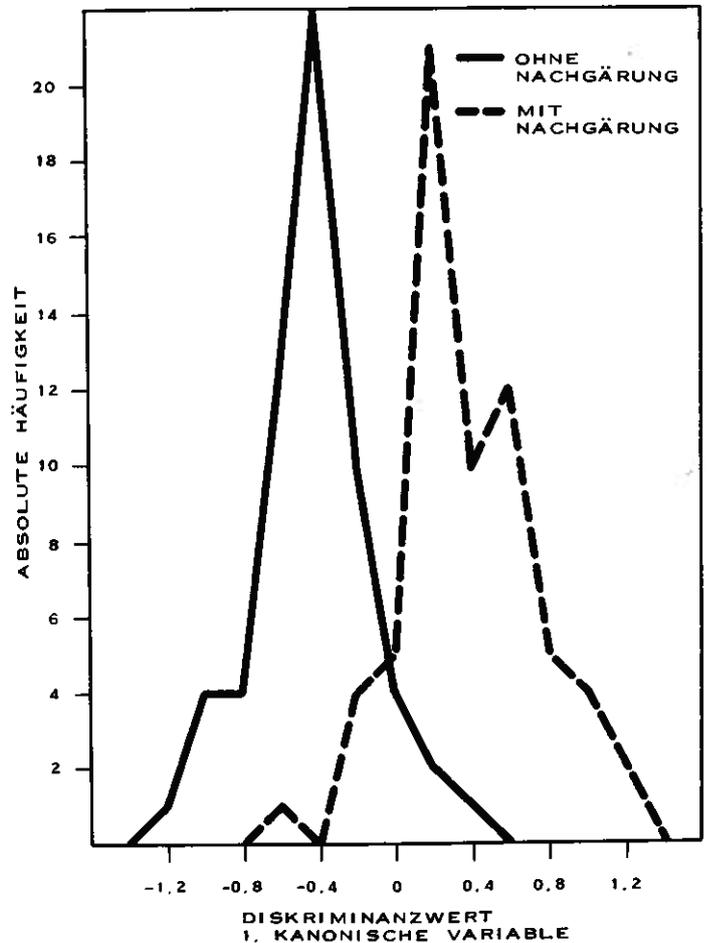


Abb. 8: Trennungvergleich nach gemeinsamer Berücksichtigung der p-Benzochinon- und Acetatwerte

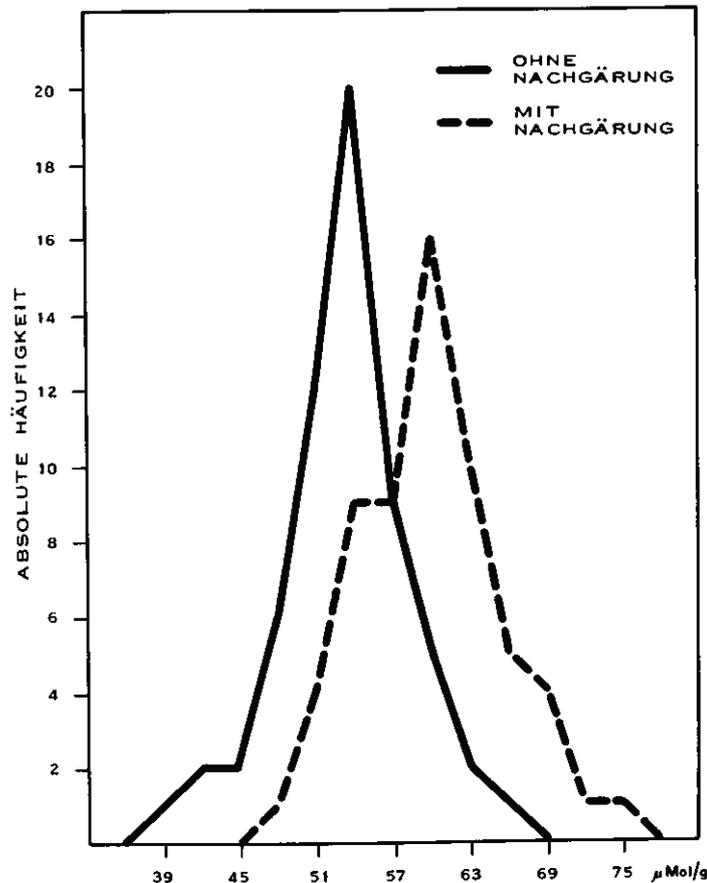


Abb. 7: Häufigkeitsverteilung der Acetatwerte in Käsen mit und ohne Nachgärung

nicht in das Trennverfahren ein, wegen ihrer hohen Korrelation zum p-Benzochinonwert. Auch ist das Acetat stellvertretend für verschiedene Variablen im Trennverfahren (z. B. Milchsäure, freie Fettsäuren). Eine vollständige Trennung der Käsegruppen mit und ohne Nachgärung kann auch mit mehr als drei Variablen nicht erreicht werden. Es stellt sich deshalb die Frage ob bei der Käseauswahl wirklich nur typische Vertreter der einen oder anderen Gruppe ausgewählt worden waren. Dieser Zweifel blieb bei der nochmaligen Durchsicht sämtlicher Schnittbilder bestehen. Es gilt dabei aber zu beachten, dass die Uebergänge zwischen Käse mit und ohne Nachgärung unscharf sind. Unter diesen Umständen kann keine vollständige Gruppentrennung erreicht werden.

Résumé

Essais comparatifs dans le fromage d'Emmental avec et sans fermentation secondaire

1. Prélèvement d'échantillons, exploitation statistique et données de fabrication

60 fromages d'Emmental avec fermentation secondaire et 60 fromages de bonne qualité ont été caractérisés au cours d'une année dans des essais comparatifs qui ont porté sur plus de 80 paramètres.

L'analyse des discriminants a prouvé que les méthodes donnant les meilleurs informations et permettant le mieux de différencier les deux groupes de fromage sont la détermination du taux de p-benzoquinone (pour mesurer l'intensité de la protéolyse) et la détermination enzymatique de

l'acétate (pour mesurer l'intensité de la fermentation propionique).

L'exploitation des données de fabrication fournies par les fromageries ont relevé que pour améliorer l'ouverture le fromager ne devrait pas centrifuger une trop grande partie du lait de chaudière. Pour combattre la fermentation secondaire il convient également d'éviter que les durées du brassage avant le feu et du brassage final ne soient extrêmement courtes et que les fromages ne soient déplacés trop tôt de la cave de salage à la cave de maturation.

Summary

Comparative tests in Emmental cheese with and without late fermentation

1. Sampling, statistical evaluation and manufacturing data

Comparative tests have been made over a year's period to characterize 60 Emmental cheeses with late fermentation and 60 cheeses of good quality. Over 80 parameters have been tested.

As showed the discriminant analysis, determination of the p-benzoquinone level (to measure the intensity of proteolysis) and enzymatic determination of acetate (to measure the intensity of propionic acid fermentation) are the methods that give most information and are best suited to differentiate between both cheese groups.

The evaluation of manufacturing data from cheese factories showed that to improve the openness the cheesemaker should not centrifugate too much vat milk. To combat late fermentation it is also necessary to avoid extremely short curd preparation and stirring out times as well as an untimely removal of the cheeses from the brine bath to the warm curing room.

Literatur

- 1 BLANC, B. H., RUEGG, M., BAER, A., CASEY, M. und LUKES, A., in Vorbereitung
- 2 DIXON, W. J., «BMDP, Biomedical Computer Programs», University of California Press, Los Angeles (1975)
- 3 FLUECKIGER, E., MONTAGNE, D. H. und STEFFEN, C., Schweiz. Milch. Forsch., 7, 4 (1978)
- 4 FLUECKIGER, E. und WALSER, F., Schweiz. Milchzeitung, 103, 640 (1977)
- 5 FLUECKIGER, E. und WALSER, F., Schweiz. Milchzeitung, 103, 733 (1977)
- 6 FLUECKIGER, E. und WALSER, F., Schweiz. Milch. Forsch., 7 (1), 9—14 (1978)
- 7 FLUECKIGER, E., WALSER, F. und STEFFEN, C., Schweiz. Milchzeitung, 104, 592 (1978)
- 8 FLUECKIGER, E. und ZUERCHER, H., Schweiz. Milchzeitung, 84, 465 (1958), WB-Nr. 59
- 9 GEHRIGER, G., BLANC, B. H., RUEST, P. und STEFFEN, C., Schweiz. Milchzeitung, 100, 131 (1974)
- 10 GEHRIGER, G., KURMANN, J. L. und KAUFMANN, H., Schweiz. Milchzeitung, 100, 573 (1974)
- 11 GRAF, U., STANGE, K. und HENNING, H. J., «Formeln und Tabellen der math. Statistik» Springer, Berlin (1966)
- 12 HAMMOND, D. G. und REINBOLD, G. W., J. Dairy Sci., 48, 739 (1965)
- 13 HETTINGA, D. H., REINBOLD, G. W. und WEDAMUTHU, E. R., J. Milk Fd. Techn., 37, 322 (1974)
- 14 KIELWEIN, G., Alimenta, Sonderausgabe, 39 (1970)
- 15 KIELWEIN, G., Deutsche Molkezeitung, 46, 1514 (1975)
- 16 KREUTER, U., «Multivariate Kontrolle in der Qualitätssteuerung», Bern (1975)
- 17 KURMANN, J. L. und WUETHRICH, A., Schweiz. Milchzeitung, 101, 1 (1975)
- 18 LAVANCHY, P., BUEHLMANN, C. und BLANC, B. H., XX. Int. Milch. Kongr., 522 (1978)
- 19 LAVANCHY, P., BUEHLMANN, C. und BLANC, B. H., Schweiz. Milch. Forsch., 8 (1979), in Vorbereitung
- 20 MARRIOTT, F. H. C., «The Interpretation of Multiple Observation», Academic Press, New York (1974)
- 21 NIE, H. W., BENT, D. H. und HULL, C. H., «SPSS-Statistical Package for the Social Science», Mac Graw Hill, New York (1975)
- 22 PARK, H. S., REINBOLD, G. W. und HAMMOND, D. G., J. Dairy Sci., 50, 589 (1967)
- 23 PARK, H. S., REINBOLD, G. W. und HAMMOND, D. G., J. Dairy Sci., 50, 820 (1967)
- 24 RITTER, P., Kieler Milchwirtschaftl. Forsch. Berichte, 16/17, 439 (1964/65)
- 25 RITTER, P. und SCHWAB, H., Schweiz. Milchzeitung, 94, 977 (1968), WB-Nr. 117
- 26 SCHWAB, H., Diss. Nr. 4813, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (1972)
- 27 STEFFEN, C., Diss. Nr. 4630, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (1971)
- 28 STEFFEN, C., Schweiz. Milch. Forsch., 5 (1), 43 (1976)
- 29 STEFFEN, C., Schweiz. Milchzeitung, 103, 334 (1977)
- 30 STEFFEN, C., in Vorbereitung
- 31 STEFFEN, C. und BLANC, B. H., Schweiz. Milchzeitung, 97, 1079 (1971)
- 32 STEFFEN, C. und FLUELER, O., Schweiz. Milchzeitung, 104 (1978)
- 33 STEFFEN, C., NICK, B. und FIECHTER, H., Schweiz. Milchzeitung, 101, 123 (1975)
- 34 STEFFEN, C., NICK, B. und GLAETTLI, H., Schweiz. Milch. Forsch., 8 (1979), in Vorbereitung
- 35 STEFFEN, C. und PUHAN, Z., Schweiz. Milch. Forsch., 5, 51 (1976)
- 36 STEIGER, G., in Vorbereitung
- 37 STEIGER, G. und FLUECKIGER, E., Schweiz. Milch. Forsch., 8 (1979), in Vorbereitung
- 38 SCHWEIZ. KAESEUNION AG, Persönliche Mitteilungen

Vergleichende Untersuchungen in Emmentalerkäsen mit und ohne Nachgärung

von P. Lavanchy, C. Bühlmann, B. Blanc
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern
Eingereicht am 14. 12. 1978

II. Aminosäuren

Bei dieser Arbeit wurden je 60 reife Emmentalerkäse mit und ohne Nachgärung untersucht. Der Käse mit Nachgärung hat eindeutig mehr freie Aminosäuren, was einerseits auf eine verstärkte Proteolyse hinweist und andererseits die erhöhte CO₂-Produktion erklären kann.

Weitere Untersuchungen zeigten, dass ein Teil der freien Aminosäuren in andere umgelagert oder weiter abgebaut werden. Dabei spielen Reaktionen aus dem Citratzyklus, Decarboxillierungen und Transaminierungen eine wesentliche Rolle.

Die Ursache der Nachgärung muss anderswo gesucht werden, nämlich bei den verwendeten Bakterienkulturen. Dabei sollte fabrikationstechnisch kontrollierbaren Parametern die nötige Beachtung geschenkt werden.

1. Einleitung

Unter der Käsereifung verstehen wir die Vorgänge, die während der Lagerung in der Käsemasse vor sich gehen. Die chemischen Veränderungen betreffen im wesentlichen die 3 Hauptbestandteile: Eiweiss, Fett und Kohlenhydrate (45, 63). Diese Arbeit geht nur auf die Veränderung des Proteins ein, hauptsächlich auf die Entstehung freier Aminosäuren.

Sehr früh schon wurde die Bedeutung der freien Aminosäuren im Reifungsprozess des Emmentalerkäses erkannt. Bereits Ende des neunzehnten Jahrhunderts wurde die Ansicht vertreten, die in der Milch und damals im Lab vorhandenen Bakterien seien für den Gärverlauf von primärer Bedeutung (44, 10), und durch verschiedene Fermente dieser Bakterien würde das Eiweiss gespalten. Damals wurde freies Leucin, Tyrosin und Phenylalanin in reifen Emmentalerkäsen bestimmt und dabei auf viele unbekannte wasserlösliche Eiweissfragmente hingewiesen (63, 51, 2, 4). Erste Untersuchungen an geblähten Emmentalerkäsen deckten aber keine chemischen Unterschiede auf (2, 9, 51). Um die Jahrhundertwende konnten freies Glycin, Alanin, sowie freie Asparaginsäure und Glutaminsäure im Emmentaler bestimmt werden.

Zwischen 1904 und 1906 entdeckten FREUDENREICH und JENSEN (21, 11) die Propionsäuregärung. Sie stellten dabei fest, dass Casein durch diese Bakterien nicht nennenswert angegriffen wird. Ihre Untersuchungen zeigten zweierlei:

- auch andere Bakterien können CO₂ bilden
- ohne Propionsäurebakterien ist eine Lochbildung nur beschränkt möglich.

Ihrer Meinung nach sollte *Bazillus casei* Σ [*Lactobazillus helveticus* (3)] und *Bazillus casei* α [*Lactobazillus casei* (3)] bevorzugt freie Aminosäuren bilden.

Ab 1912 (7) wurde auch das Gas untersucht, welches bei der Käsereifung entsteht.

Erstmals tauchte zwischen 1925 und 1930 die Bezeichnung Nachgärung auf (6). In verschiedenen Arbeiten wurde dieses Phänomen, das damals als plötzlich wieder einsetzende Propionsäuregärung galt, untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass es sich bei dem entstehenden Gas um reines CO₂ handelt (31, 18). Damit konnte mit Sicherheit ein Gärungstyp ausgeschlossen werden, bei dem Wasserstoff entsteht.

Grundlegende Arbeiten über die proteolytischen Enzyme der Milchsäurebakterien und über die Käsereifung wurden von VIRTANEN (61) durchgeführt. Er untersuchte vor allem die Enzymsysteme des *Bazillus casei* Σ [*Lactobazillus helveticus* (3)]. Er wies drei verschiedene proteolytische Enzymsysteme nach: Proteinasen, Polypeptidasen und Dipeptidasen.

Diese Enzyme scheinen auch nach der Autolyse der Bakterien über längere Zeit ihre Aktivität zu behalten. Die Proteinase besitzen ein pH-Optimum bei pH 6,0 und einem Temperaturoptimum von 42 °C. Ihnen wurde bei 5 °C noch 20% der Aktivität nachgewiesen. Der Einfluss des pH-Wertes ist im Bereich von 5,5—5,8 extrem stark [Abb. 1 (61)].

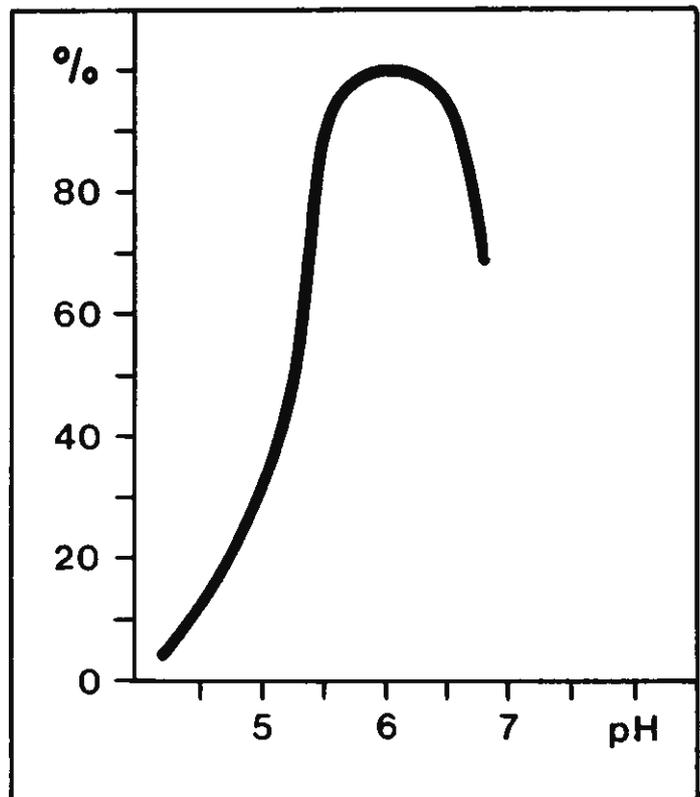


Abb. 1: pH-Optimum einer Protease aus *Lactobazillus helveticus* nach Virtanen (65)

Durch diese Untersuchungen gewann die Aminosäureanalyse, die damals noch mittels Papierchromatographie durchgeführt wurde, zusehends an Bedeutung (58, 32, 28, 39, 42, 43). SCHORMUELLER (45) weist darauf hin, dass die Aminosäuren einerseits Endprodukt der Proteolyse, andererseits die Ausgangsstoffe für eine Reihe weiterer Reaktionen sind, bei welchen CO₂ und Ammoniak entste-

hen können. Je nach Reaktionstypus entstehen auch Fettsäuren, Oxysäuren (22), Ketonensäuren (1) aliphatische und aromatische Amine.

Die Aminosäuren können einer Transaminierung (46) unterliegen. Diese Reaktionen sind durch verschiedene Faktoren beeinflussbar. So verändert z. B. Kochsalz die Aktivität der Milchsäurebakterien (23). Geringe Mengen ein-

Tabelle 1: Gehalt an freien Aminosäuren in Käse mit und ohne Nachgärung (NG)

Variable /µMol/100 g	Mittelwert		Standardabweichung		Irrtumswahrscheinlichkeit	
	ohne NG	mit NG	ohne NG	mit NG	zwischen mit + ohne NG	zwischen Teilversuche
Glutaminsäure	2547,2	3490,5	707,7	876,4	***	-
Leucin	2204,4	2803,1	427,9	482,1	***	-
Lysin	1792,8	2436,1	457,9	587,7	***	-
Prolin	1758,6	2681,9	568,6	844,0	***	-
Ammoniak	1603,1	1861,3	320,5	338,1	***	●
Valin	1413,0	1973,7	376,5	446,3	***	-
Phenylalanin	1159,8	1497,1	260,7	305,7	***	-
Alanin	878,0	1123,2	188,7	284,7	***	-
Isoleucin	626,6	1074,8	239,6	371,1	***	-
Ornithine	623,8	741,5	144,5	188,6	***	-
Threonin	586,9	859,1	184,8	218,2	***	-
Glycin	567,0	845,8	190,7	246,0	***	-
Serin	510,4	784,6	169,1	277,0	***	-
Glutamin	460,1	771,2	264,0	408,0	***	-
Methionin	371,1	503,5	90,4	114,1	***	-
Histidin	370,4	566,8	175,4	251,8	***	-
Phosphoserin	359,8	443,2	90,1	92,0	***	●
Tyrosin	265,5	348,6	123,0	204,2	**	-
Citrullin	246,3	341,4	121,2	205,8	**	●
Asparagin	185,7	712,9	258,1	967,3	***	-
Asparaginsäure	101,7	140,8	42,7	51,2	***	●

Irrtumswahrscheinlichkeit (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wird von signifikanten Unterschieden gesprochen).

*** = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$

** = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,01$

* = Irrtumswahrscheinlichkeit $0,01 < p < 0,05$

● = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$

- = keine Signifikanz

zelter Umsatzprodukte können einen wesentlichen Anteil an der Reifung haben, indem sie als Aktivatoren oder Inhibitoren enzymatisch gesteuerte Reaktionen beeinflussen.

Nach der Einführung der Ionenaustauschchromatographie (36, 52) war es erstmals möglich, genaue quantitative Analysen aller Aminosäuren durchzuführen. An verschiedenen Käsesorten untersuchte man nun den Konzentrationsverlauf der Aminosäuren während der Reifung (62, 20, 47, 48, 49, 50). 1966 führte unsere Anstalt eine umfassende Arbeit über die freien Aminosäuren in gutem Emmentaler- und Greyerzertkäse durch (41). Die Untersuchungen zeigten, dass Asparaginsäure und Arginin durch weitere Reaktionen abgebaut werden.

Erst zu Beginn der 70-er Jahre wurde die Aminosäureanalyse zur Erforschung der Nachgärung eingesetzt. Besonders KIELWEIN (23, 24, 25, 26) und RITTER (40) versuchten die Rolle einzelner Aminosäuren bei der Nachgärung abzuklären. Nach KIELWEIN (27) spielt vor allem die Glutaminsäure, nach RITTER das Arginin und Tyrosin die bedeutende Rolle bei der Nachgärung.

An unserer Anstalt wurde die CO₂-Produktion im Verlaufe der Reifung gemessen (13). Ein Teil dieses Gases könnte durch den Abbau der Aminosäuren entstanden sein (53, 15, 33). Weitere Untersuchungen (54) zeigten, dass der Eiweissabbau und die Teigeigenschaften des Käses vorwiegend von den zugesetzten Milchsäurebakterien abhängig sind. Durch die Bestimmung der freien Aminosäuren im reifen Käse ist es uns in letzter Zeit möglich, Kulturen zu erkennen, die häufig Nachgärungskäse produzieren (33). Die folgenden Untersuchungen (55) sollen nun zeigen, inwiefern durch solche Bestimmungen der Eiweissabbau charakterisiert werden kann und in welchem Masse die freien Aminosäuren für die verstärkte CO₂-Produktion im Nachgärungskäse verantwortlich sind.

2. Experimenteller Teil

In einer früheren Arbeit (55) wurde das Probematerial genau definiert. In diesen Käseproben haben wir die freien Aminosäuren bestimmt (34, 35, 8). Die Analysen wurden mit einem Aminosäureanalysator D-500 von DURRUM durchgeführt.

Zusätzlich wurde bei zwei guten Emmentalerkäsen im Alter von 2 und 360 Tagen (beide mit der gleichen Milchsäurebakterienkultur hergestellt) das gesamte Protein hydrolysiert und die Totalaminosäuren analysiert (37).

3. Resultate

Freie Aminosäuren

In Tabelle 1 (S. 10) sind die Resultate für die freien Aminosäuren zusammengestellt. Ausser den aufgeführten wurden zusätzlich noch β -Alanin, γ -Aminobuttersäure und Arginin bestimmt. Die Werte dieser Variablen sind sehr klein, d. h. sie unterscheiden sich nicht signifikant von Null. Da auch keine Unterschiede zwischen den Käseproben mit und ohne Nachgärung nachgewiesen wurden, fehlen diese Aminosäuren in der Tabelle.

Zur besseren Uebersicht sind die Differenzen der beiden Gruppen in Abbildung 2 graphisch dargestellt, zusammen mit den wichtigsten, den Eiweissabbau charakterisierenden Variablen (56, 57).

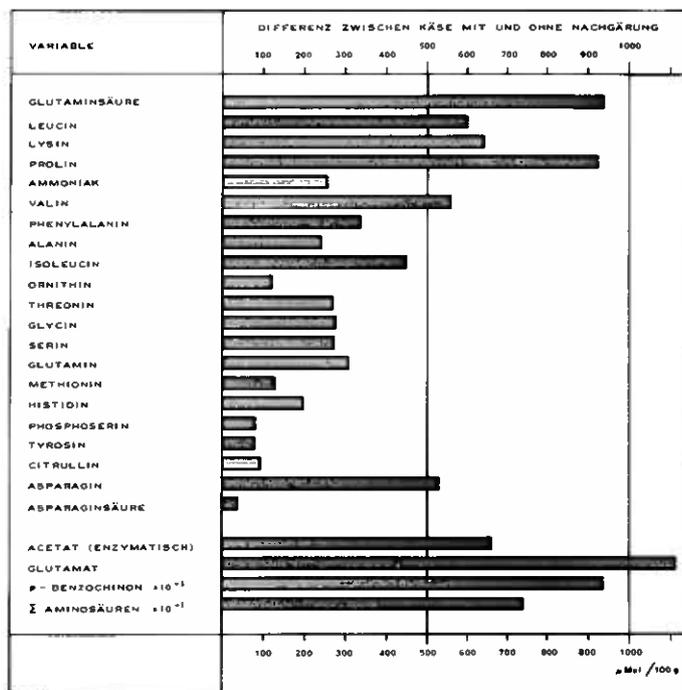


Abb. 2: Differenz im Aminosäuregehalt zwischen Käse mit und ohne Nachgärung (NG)

Gesamt-Aminosäuren

In Tabelle 2 (S. 12) sind die Resultate von je 9 Analysen dargestellt. Es handelt sich um die Proben von je einem Emmentalerkäse ohne Nachgärung im Alter von 2 Tagen und 360 Tagen.

4. Diskussion

Bei den Resultaten fällt auf, dass Käse mit Nachgärung bedeutend mehr freie Aminosäuren besitzt als Käse ohne Nachgärung. Diese freien Aminosäuren können praktisch nur aus dem Casein der Käsemasse gebildet werden (45). Nachgärungskäse zeigt auch eine abnormale Teigbeschaffenheit, die von einem Eiweissabbau in die «Tiefe» herrührt (54, 53). Unsere Untersuchungen bestätigen dies. Die «Tiefe» des Eiweissabbaues kann aber auch durch den p-Benzochinonwert (56) oder den Nichtproteinstickstoffgehalt (57) oder auch durch den Gehalt der meisten Aminosäuren angegeben werden. Die Werte dieser Variablen korrelieren untereinander sehr stark. Asparagin, Asparaginsäure, Arginin, Citrullin, Ornithin und Tyrosin zeigen zu den oben genannten Variablen keine hohe Korrelation (Korrelationskoeffizient $< 0,6$).

Aus Tabelle 2 geht die Menge der einzelnen Aminosäuren im Casein hervor (60). Wie die Resultate der freien Aminosäuren zeigen (Tab. 1), wurden Asparaginsäure, Arginin, Glutaminsäure und Tyrosin nicht in den erwarteten Konzentrationen gefunden.

Es stellt sich nun die Frage:

- werden diese Aminosäuren bei der vorangehenden Spaltung des Caseins durch Proteasen und Peptidasen nicht abgespalten
- werden sie bevorzugt weiter abgebaut
- werden sie durch Transaminierungen zu andern Aminosäuren umgelagert.

Tabelle 2: Gesamt-Aminosäuren im Käse ohne Nachgärung (NG) (Durchschnitt aus 9 Proben)

Aminosäuren %	2 Tage alt		360 Tage alt		Δ	Signifikanz	Casein % (60)
	Mittelwert	s	Mittelwert	s			
Glutaminsäure	20,81	0,14	21,35	0,22	+ 0,54	***	20,4
Prolin	10,99	0,19	10,77	0,17	- 0,22	*	10,3
Leucin	9,41	0,13	9,61	0,14	+ 0,20	**	8,4
Lysin	7,74	0,11	7,81	0,11	+ 0,07	-	7,4
Phenylalanin	6,78	0,09	6,80	0,06	+ 0,02	-	4,6
Valin	5,94	0,09	6,33	0,06	+ 0,39	***	6,6
Tyrosin	5,78	0,06	5,46	0,07	- 0,32	***	5,8
Asparaginsäure	5,49	0,09	5,00	0,08	- 0,49	***	6,5
Serin	5,45	0,13	5,46	0,05	+ 0,01	-	5,8
Isoleucin	4,66	0,07	4,84	0,05	+ 0,18	***	5,6
Arginin	3,59	0,07	2,81	0,07	- 0,78	***	3,7
Threonin	3,58	0,06	3,41	0,03	- 0,17	***	4,5
Alanin	2,81	0,05	2,90	0,04	+ 0,09	***	2,7
Histidin	2,72	0,25	2,84	0,29	+ 0,12	-	2,8
Methionin	2,59	0,09	2,58	0,09	- 0,01	-	2,5
Glycin	1,79	0,02	1,89	0,02	+ 0,10	***	2,5
Total g/100 g	26,957	0,568	29,391	0,737	+ 2,434	***	

Irrtumswahrscheinlichkeit (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wird von signifikanten Unterschieden gesprochen).

- *** = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,001$
- ** = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,01$
- * = Irrtumswahrscheinlichkeit $0,01 < p < 0,05$
- = Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$
- = keine Signifikanz
- s = Standardabweichung
- Δ = (Käse mit NG) - (Käse ohne NG)

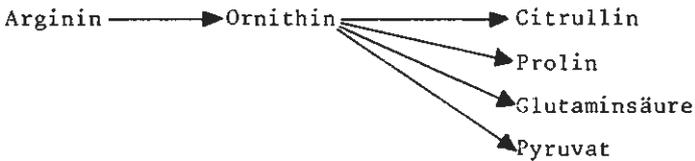
Um diese Frage beantworten zu können, wurde eine Bilanz der Total-Aminosäuren im Käse von 2 und 360 Tagen gemacht (Tabelle 2). Die Werte im 2tägigen Käse entsprechen praktisch den Werten des Caseins (60). Nach 360 Tagen Reifungszeit verändern sich folgende Aminosäuren deutlich: Glutaminsäure und Valin nehmen zu, Asparagin-

säure, Arginin und Tyrosin nehmen ab. Da nur je eine Käseprobe untersucht wurde, darf diesen Unterschieden nur qualitative Bedeutung beigemessen werden. Im Zusammenhang mit Tabelle 1 bestärkt sich die Vermutung, dass einzelne Aminosäuren durch Reaktionen umgewandelt werden, die noch zu diskutieren sind (46, 62, 47, 58):

- Arginin → Ornithin + α -Ketoglutarat ↔ Glutaminsäure + Glutamatsemialdehyd
- Glutamat + Oxalacetat ↔ α -Ketoglutarat + Asparaginsäure
- Pyruvat → α -Acetolacetat → Valin

Die Tyrosingehalte der einzelnen Proben schwanken sehr stark (Werte zwischen 66 und 616 μ Mol/100 g in Käse ohne Nachgärung, zwischen 0 und 1024 μ Mol/100 g in Käse mit Nachgärung). Auf welche Weise das Tyrosin abgebaut wird, ist nicht klar. Möglich wäre eine Decarboxylierung, aber auch eine Transaminierung ist nicht ausgeschlossen (48, 30, 14, 19). Zudem ist Tyrosin extrem schlecht löslich. In den weissen «Tupfen» des Emmentalerkäses wurde reines Tyrosin gefunden (12).

Arginin ist nach seiner Freisetzung leicht abbaubar (58, 47, 62) und bildet dabei CO_2 und eventuell Ammoniak. Die wichtigsten Abbauprodukte sind:



Bei Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure und Glutamin scheinen Transaminierungen die Hauptrolle zu spielen. Dabei kann sowohl α -Ketoglutarat als auch Oxalacetat verbraucht oder gebildet werden (45, 5).

Bei vielen Abbaumechanismen entsteht neben CO_2 auch Ammoniak. Im Vergleich zum gebildeten CO_2 konnten wir unverhältnismässig wenig Ammoniak finden.

An den selben Käseproben wurden die folgenden, für den Aminosäureabbau wichtigen Substrate und Enzyme gemessen (56): Pyruvat, Succinat, Malatdehydrogenase und Lactatdehydrogenase. Alle diese Enzyme und Metaboliten kommen im Citratzyklus vor (38, 16, 15). Dabei wird ausschliesslich CO_2 gebildet. Ein weiteres wichtiges Zwischenprodukt dieses Zyklus, das Citrat, ist seit langer Zeit im Emmentaler bekannt (17, 59). Wie das beim Citratzyklus entstehende NADH_2 oxidiert würde, ist unbekannt. Ausschliesslich CO_2 entsteht auch bei der Decarboxylierung. Fast alle Aminosäuren können diesem Reaktionsmechanismus folgen. Dabei entstehen die entsprechenden Amine (14, 19).

5. Schlussfolgerung

- Im Vergleich mit Käse ohne Nachgärung zeigen Nachgärungskäse eine deutliche Zunahme der Variablen, die für den Eiweissabbau wichtig sind (Aminosäuren, Lactatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Succinat, usw.).
- Die Ursache für die Nachgärung darf nicht bei den Aminosäuren selbst gesucht werden. Ein erhöhtes Aminosäure- und Enzymangebot muss mehr CO_2 liefern.
- Die beiden Käsegruppen weisen ähnliche Mengen Pyruvat auf (56). Es ist also nicht der limitierende Faktor.
- Ursache für die vermehrte CO_2 -Bildung bei der Nachgärung müssen die substrat- und enzymkonzentrationserhöhenden Einflüsse sein. Die Aminosäuren werden durch Enzyme freigesetzt (Proteasen und Peptidasen), die ihrerseits bei der Autolyse der Bakterien in unterschiedlicher Konzentration in die Käsemasse abgegeben werden.
- Die primäre Ursache für die unterschiedliche Konzentration an Aminosäuren in den Käsen mit und ohne Nachgärung muss bei den verwendeten Milchsäure-

bakterienstämmen gesucht werden (34, 29). Die Fremdekeime der Kessmilch können im Zusammenhang mit den erwähnten Bakterien, wie auch allein, eine gewisse Rolle spielen.

Résumé

Essais comparatifs dans le fromage d'Emmental avec et sans fermentation secondaire

II. Acides aminés

Dans le cadre d'une étude sur la fermentation secondaire de l'Emmental, 60 fromages de bonne qualité et 60 fromages présentant cette faute ont été analysés pour leur contenu en acides aminés libres.

Les résultats obtenus montrent, que la concentration en acides aminés libres des fromages à fermentation secondaire est significativement plus élevée que celle des fromages d'Emmental de bonne qualité.

La protéolyse plus importante explique, par elle-même, la production plus élevée de CO_2 . Les acides aminés peuvent être considérés comme de simples métabolites du cycle citrique. D'autres processus cataboliques des acides aminés libres sont possibles, ce sont p. ex. la transamination et la décarboxylation.

Par contre la cause primaire de la fermentation secondaire de l'Emmental doit être recherchée ailleurs, par exemple dans les cultures de bactéries. Pour cela, il faudrait porter son attention sur des paramètres bien contrôlables, lors de la fabrication du fromage.

Summary

Comparative tests in Emmental Cheeses with and without late fermentation

In a study on late fermentation in Emmental, 60 cheeses each of good and poor quality were analysed for their free amino acid content.

The results obtained showed that the concentration of free amino acids in cheese with late fermentation was higher than that in Emmental of good quality.

The greater proteolysis in itself explains the higher production of CO_2 . The amino acids themselves can be considered as metabolites of the citric acid cycle. Other catabolic pathways for the free amino acids are possible i. e. transamination and decarboxylation.

However the main cause of late fermentation in Emmental cheese should be sought for elsewhere, namely in the culture bacteria used. Thus in the technical manufacture one must check controllable parameters.

Literatur

- 1 BASSETT, E. W. und HARPER, W. J., XII. Int. Milchw. Kongr., 2 (2), 38—45 (1956)
- 2 BENECKE, F. und SCHULZE, Landw. Jahrb. Schweiz, 16, 317—400 (1887)
- 3 BERGEY, «Manual of Determinative Bacteriology», The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 8th Edition (1974)
- 4 BONDZYNSKI, S., Landw. Jahrb. Schweiz, 8, 189—206 (1894)
- 5 BUDDECKE, E., «Grundriss der Biochemie», Walter de Gruyter and C., Berlin (1970)
- 6 BURRI, R., Landw. Jahrb. Schweiz, 213 (1930)
- 7 CLARK, W. M., U. S. Dept. Agric. Animal Industry, Bull 151 (1912)
- 8 DURRUM/DIONEX, Application Note «Fast Lithium Physiological Fluids» (1977)
- 9 FREUDENREICH, E., Landw. Jahrb. Schweiz, 4, 17—27 (1890)
- 10 FREUDENREICH, E., Landw. Jahrb. Schweiz, 5, 16—23 (1891)

- 11 FREUDENREICH, E. und JENSEN, O., Landw. Jahrb. Schweiz, 320—340 (1906)
- 12 FLUECKIGER, E. und SCHILT, P., Milchwiss., **18** (9), 437—442 (1963)
- 13 FLUECKIGER, E. und WALSER, F., Schweiz. Milchztg., **102** (66), 426—427 (1976)
- 14 GEILINGER, I., Diplomarbeit ETH, Zürich (1978)
- 15 HAENNI, H., Schweiz. Milchztg., **93**, 442—444 (1967)
- 16 HARPER, W. J. und KRISTOFFERSEN, T., J. Dairy Sci., **39**, 1773—1775 (1956)
- 17 HIETARANTA, M. und ANTILA, M., Mejeritidskr. Finl. svensk., **16** (4), 91—94 (1954)
- 18 HOSTETTLER, H., Landw. Jahrb. Schweiz, 609—618 (1932)
- 19 HULSTKAMP, J., unveröffentlichte Arbeit, (1974)
- 20 JAGER, H., Milchwiss. Ber., **8**, 19—33 (1958)
- 21 JENSEN, O., Landw. Jahrb. Schweiz, 319—405 (1904)
- 22 JARCZYNSKI, R. und KIERMEIER, F., Z. Unters. Lebensmittel, **99**, 195—199 (1954)
- 23 KIELWEIN, G., Deutsche Molkereiztg., **96** (46), 1514—1522 (1975)
- 24 KIELWEIN, G., Deutsche Molkereiztg., **96** (48), 1592—1598 (1975)
- 25 KIELWEIN, G., Deutsche Molkereiztg., **96** (49), 1625—1626 (1975)
- 26 KIELWEIN, G., Deutsche Molkereiztg., **97** (1/2), 17—24 (1976)
- 27 KIELWEIN, G., Deutsche Molkereiztg., **97** (28), 840—843 (1976)
- 28 KIURU, V. J. T., TYBECK, E. und VIRTANEN, A. I., Suomen. Kem., **26B**, 55—56 (1953)
- 29 KNAUT, T., KARNICKA, H. und USAJEWICZ, I., XVII. Int. Milchw. Kongr., D2, 515—522 (1966)
- 30 KOEHLER, P. E. und EITENMILLER, R. R., J. Food Sci., **43**, 1245—1247 (1978)
- 31 KOESTLER, G. und HOSTETTLER, H., Landw. Jahrb. Schweiz, 446—465 (1931)
- 32 KOSIKOWSKY, F. V., J. Dairy Sci., **34**, 228—235 (1951)
- 33 KURMANN, J. L. und SCHILT, P., Schweiz. Milchztg., **99**, 57—58 (1973)
- 34 LAVANCHY, P., BUEHLMANN, C. und BLANC, B. H., XX. Int. Milchw. Kongr., 522—523 (1978)
- 35 LEE, P. L. Y., Biochemical Med., **10**, 107—121 (1974)
- 36 MOORE, S. und STEIN, W. H., J. biol. Chem. **176**, 367—378 (1948)
- 37 NEEDLEMANN, S. B., «Protein Sequence Determination», Springer-Verlag (1970)
- 38 NETTER, H., «Theoretical Biochemistry», Editors Oliver and Boyd, Edinburg (1969)
- 39 PAOLIS, P. und SALERNO, A., LATTE, **30** (9), 658—659 (1956)
- 40 RITTER, W., Deutsche Molkereiztg., **97** (23), 680—684 (1976)
- 41 PITTER, W., SCHILT, P. und LOWE, A., XVII. Int. Milchw. Kongr., D. 2, 269—274 (1966)
- 42 SALERNO, A. und PAOLIS, P., LATTE, **30** (9) 663—664 (1956)
- 43 SALERNO, A. und PAOLIS, P., LATTE, **30** (9) 664—666 (1956)
- 44 SCHAFFER, F. und BONDZYNSKI, S., Landw. Jahrb. Schweiz, **2**, 29—36 (1888)
- 45 SCHORMUELLER, J., Z. Unters. Lebensmittel, **98**, 218—225 (1954)
- 46 SCHORMUELLER, J. und GELLRICH, W., Z. Unters. Lebensmittel, **98**, 200—218 (1954)
- 47 SCHORMUELLER, J., LIESE, H. und WINTER, H., Z. Unters. Lebensmittel, **98**, 347—358 (1954)
- 48 SCHORMUELLER, J., BIRN, K. J. und WINTER, H., Z. Unters. Lebensmittel, **98**, 411—424 (1954)
- 49 SCHORMUELLER, J., BIRN, K. J. und WINTER, H., Z. Unters. Lebensmittel, **99**, 96—109 (1954)
- 50 SCHORMUELLER, J., Z. Unters. Lebensmittel, **99**, 214—227 (1954)
- 51 SCHULZE, E., Landw. Jahrb. Schweiz, **1**, 59—75 (1887)
- 52 SPACKMAN, D. H., STEIN, W. H. und MOORE, S., Anal. Chem., **30**, 1190—1206 (1958)
- 53 STEFFEN, C., Schweiz. Milchw. Forsch., **5**, 43—50 (1976)
- 54 STEFFEN, C., RENTSCH, F. und MEIER, P., Schweiz. Milchztg., **101**, 606—607, 612—614 (1975)
- 55 STEFFEN, C., BUEHLMANN, C., SCHNIDER, I., SCHAER, H. und RENTSCH, F., Schweiz. Milchw. Forsch., **8** (1), 3 (1979)
- 56 STEFFEN, C., NICK, B. und GLAETTLI, H., in Vorbereitung
- 57 STEIGER, G. und FLUECKIGER, E., in Vorbereitung
- 58 STORGAERDS, T. und LINDQUIST, U., Milchwiss., **1**, 5—10 (1953)
- 59 TAYLOR, J. R., J. Ass. Off. Analyt. Chem., **52** (1), 115—116 (1969)
- 60 TOEPEL, A., «Chemie und Physik der Milch», VEB-Fachbuch-Verlag, Leipzig (1976)
- 61 VIRTANEN, A. I., Int. Milchw. Kongr., **2** (2), 206—211 (1931)
- 62 VIRTANEN, A. I., KREULA, M. S. und NURMIKKO, V., XII. Int. Milchw. Kongr., **2** (2), 268—272 (1949)
- 63 WEIDMANN, U., Landw. Jahrbücher, 587—612 (1882)
- 64 WINTERSTEIN, B., Z. Physiol. Chemie, XII, 485—506 (1904)