

# **Einflussfaktoren auf Auskeimen und Wachstum von Clostridium tyrobutyricum in Hartkäse aus silofreier Milch**

Autor(en): **Bachmann, Hans-Peter**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **90 (1999)**

Heft 1

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-981773>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Einflussfaktoren auf Auskeimen und Wachstum von *Clostridium tyrobutyricum* in Hartkäse aus silofreier Milch\*

Hans-Peter Bachmann, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM),  
Liebefeld, Bern

## Einleitung

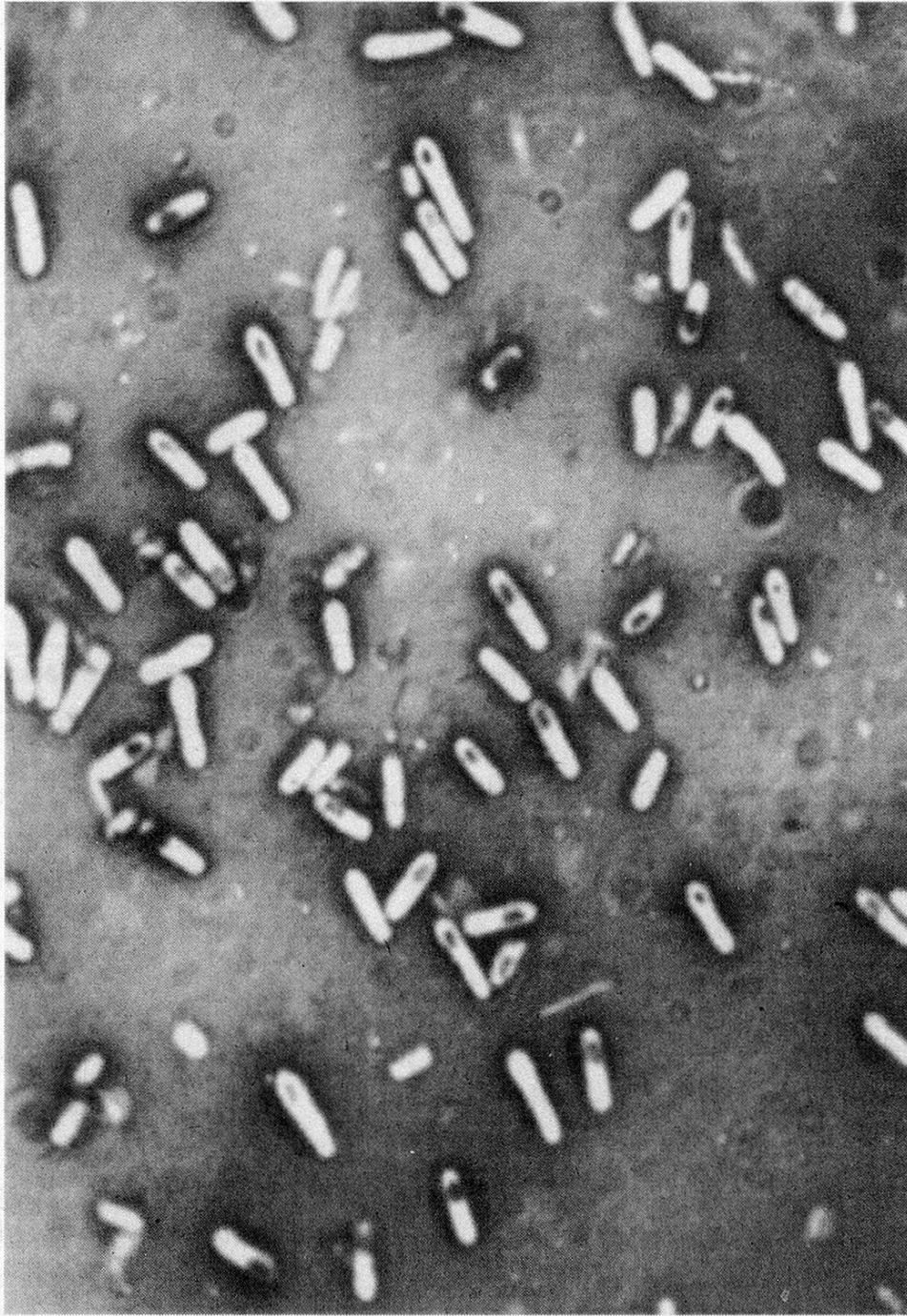
In den letzten Jahren mussten bei den Käsesorten Emmentaler und Gruyère im Vergleich zum langjährigen Durchschnitt vermehrt Fälle von Buttersäuregärung festgestellt werden. Im Gegensatz zum bekannten Bild dieser Fehlgeruchbildung, auch Spätblähung genannt, waren viele dieser Fälle atypisch, weil die Gärungen nur sporadisch auftraten. Ausgelöst wird die Buttersäuregärung durch Buttersäurebakterien (strikt anaerobe Sporenbildner der Spezies *Clostridium tyrobutyricum*, Abb. 1). Dabei wird Milchsäure zu n-Buttersäure, Essigsäure, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> vergoren. Die starke Blähung (H<sub>2</sub>) und das Fehlgeruch (n-Buttersäure) führen zu einer vollständigen Verderbnis des Käses (Abb. 2). Das natürliche Reservoir der Buttersäurebakterien-Sporen ist der Boden. Über verschmutztes Futter gelangen sie in die Kuh. Sie werden mit dem Kot ausgeschieden und gelangen über Kontaminationen während dem Melken in die Milch. Es gibt deshalb drei primäre Gefahrenbereiche:

- verschmutztes Futter
- Vermehrung im Futter (Silage oder silageähnliche Zustände)
- Kontaminationen beim Melken

Als sekundärer Gefahrenbereich gilt die gesamte Umgebung, die mit Erde und Kot verschmutzt ist (1). Die grosse Gefahr, die von der Silage ausgeht, hat in der Schweiz zur Errichtung einer Siloverzichtszone geführt.

Für die Zunahme der Fälle von Buttersäuregärung gibt es prinzipiell zwei mögliche Ursachen: höherer Sporengehalt in der Milch oder bessere Bedingungen für Auskeimen und Wachstum im Käse. Eine generelle Zunahme des Sporengehaltes in der Milch konnte bis anhin nicht zweifelsfrei bewiesen werden. Erschwerend ist dabei, dass bereits 50 Sporen pro Liter Milch genügen können, um einen Hartkäse zu

\* Vortrag gehalten an der 31. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Zürich, 19. November 1998

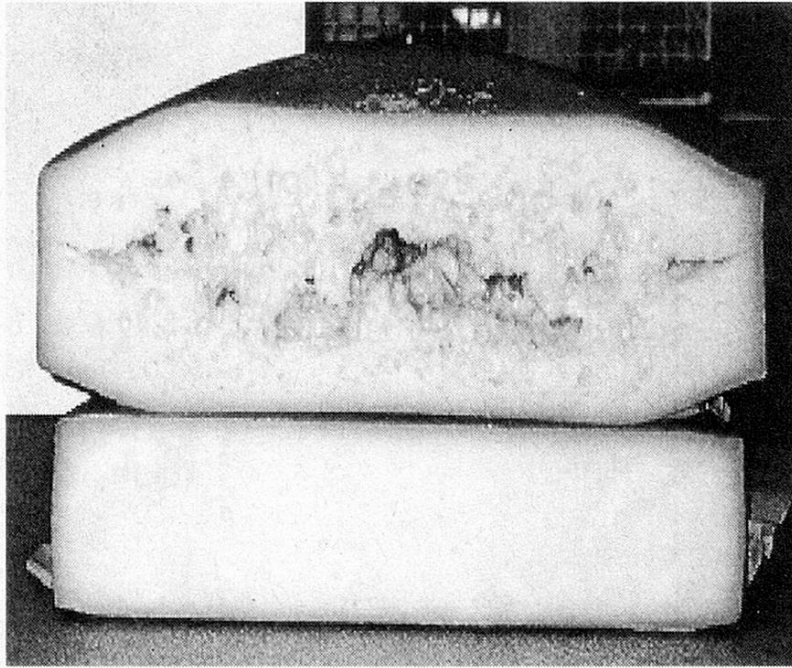


---

Abbildung 1 **Mikroskopisches Bild von Buttersäurebakterien (*Clostridium tyrobutyricum*)**  
– zum Teil besitzen sie Sporen (dunkle Einschlüsse am Ende der Bakterien)  
– einzelne Sporen liegen auch frei vor

---

blähen. Der quantitative Nachweis solch kleiner Keimzahlen ist mit einer grossen Unsicherheit behaftet (MPN-Methoden). Da es schwierig ist, eine generelle Zunahme des Sporengehaltes nachzuweisen, wurden in der Folge gezielt neue Techniken bei der Milchproduktion auf eine mögliche Gefahrenzunahme hin bewertet. Diese scheinen aber bei der Zunahme der Fälle von Buttersäuregärung höchstens eine Nebenrolle zu spielen (2–4).



**Abbildung 2 Modell-Gruyère ohne (unten) und mit sehr starker Buttersäuregärung (oben)**

Der vorliegende Artikel fasst die Arbeiten zusammen, die zum Ziel hatten abzuklären, ob sich die Bedingungen für Auskeimen und Wachstum der Buttersäurebakterien-Sporen im Käse verbessert haben.

## Methoden

### *Käsefabrikation und Analytik*

Bei der Herstellung von Modell-Gruyère-Käse wurden 100 l Milch mit 1 ml Sporensuspension (wässrige Ausschüttelung von verdorbener Grassilage) versetzt, was einem mittleren Gehalt von 500 Sporen/l entsprach. Nach der Zugabe von 2 % Starterkultur (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii spp. lactis*) wurde auf 31 °C erwärmt und bei dieser Temperatur während 30 Minuten vorgereift. Nach der Erwärmung auf 32 °C wurden 13 ml Labextrakt zugegeben, die eine Gerinnung innerhalb von 40 Minuten bewirkten. Nach der Bruchbereitung (Bruchkorngrosse 3–6 mm) von 20 Minuten wurde innerhalb von 30 Minuten auf 56 °C erwärmt, bei dieser Temperatur während 20 Minuten ausgerührt und anschliessend in Pressformen abgefüllt. Der Pressdruck betrug 8 bar während 6 h und anschliessend 4 bar während 14 h, die Temperatur des Pressschranke wurde dabei innerhalb von 7 h von 55 °C linear auf 35 °C abgekühlt. Die Käse wurden anschliessend für 1 Tag ins Salzbad gelegt und während 90 Tagen bei 14–16 °C und 93 % r.F. gereift. Im Unterschied dazu betrug beim Modell-Emmentaler-Käse die Milchmenge 120 l (+ 10 l Wasser), die Brenntemperatur 53 °C und die Ausrühdauer 40 Minuten. Die Reifung erfolgte bei 21–23 °C während 60 Tagen und 11–13 °C während 30 Tagen jeweils bei 75–80 % r.F.

Die Bestimmung der Sporenzahl wurde durch Beimpfen von Reagenzgläsern mit Dextrose-Kartoffel-Agar in hoher Schicht nach der MPN-Methode (3fach Reihe) durchgeführt. Zum Herstellen der Anaerobiose wurde zudem mit Wasseragar überschichtet. Nach dem Beimpfen wurden die vegetativen Keimformen und die übrige Begleitflora durch Pasteurisation eliminiert. Danach erfolgte die Inkubation bei 37 °C während 8 Tagen. Die Gasbildung in den Reagenzgläsern wurde als Indiz für die Anwesenheit von anaeroben gasbildenden Clostridien gewertet. Die konkrete Sporenzahl wurde mit Hilfe der McCrady-Tabelle ermittelt (5).

Die flüchtigen Fettsäuren (C1 – C6) wurden gaschromatographisch mit Flammenionisations-Detektion nach Wasserdampfdestillation in schwefelsaurem Milieu und Veresterung mit Bortrifluorid/Propanol bestimmt (6).

### *Experimental Design und statistische Auswertung*

Die Modellversuche wurden jeweils parallel in 8 «Kessi» in der Form multifaktorieller  $2^k$ -Versuche durchgeführt, wobei der Block-Faktor auf die Interaktion des höchsten Grades gelegt wurde. Die Auswertung erfolgt über das GLM-Modul von Systat 7.0 (Varianzanalyse) (7).

## **Resultate und Diskussion**

### *Herkunft der n-Buttersäure im Käse*

Der Gehalt an n-Buttersäure im Käse stammt aus drei potentiellen Quellen: Proteolyse, Lipolyse und Buttersäuregärung. Regressionsberechnungen aus einem Praxisversuch beim Gruyère Käse erlauben, den Anteil an n-Buttersäure, der potentiell aus einer Buttersäuregärung stammt, zu schätzen:

$$n\text{-Buttersäure}_{\text{aus Buttersäuregärung}} = n\text{-Buttersäure}_{\text{gesamt}} - i\text{-Buttersäure} - 3(n\text{-Capronsäure})$$

Die i-Buttersäure ist dabei ein indirektes Mass für die Proteolyse und die n-Capronsäure für die Lipolyse. Diese Formel erlaubt nach den Erfahrungen der FAM eine recht zuverlässige Schätzung und sie ist zudem auch für andere Hart- und Halbhartkäse gültig.

### *Unterschied zwischen Gruyère und Emmentaler Käse*

Von den gewerblich fabrizierten Käsesorten aus silofreier Milch sind vor allem der Emmentaler und der Gruyère Käse betroffen: Im Winter treten beim Emmentaler Käse regelmässig vermehrt Probleme mit Buttersäuregärung auf (Abb. 3). Die Gründe dafür sind das Füttern von Futtermitteln, die entweder verboten (Silage) oder verdorben (stark verschmutzt oder silageähnliche Gärungen) sind. Beim Gruyère Käse hingegen ist das Auftreten von Buttersäuregärung nicht von der Jahreszeit abhängig. Es gibt keinerlei Anhaltspunkte, dass unter den Milchproduzenten die Fütterungsdisziplin im Gruyère-Produktionsgebiet anders wäre als im Emmentaler Produktionsgebiet. Daraus kann gefolgert werden, dass es einen unbe-

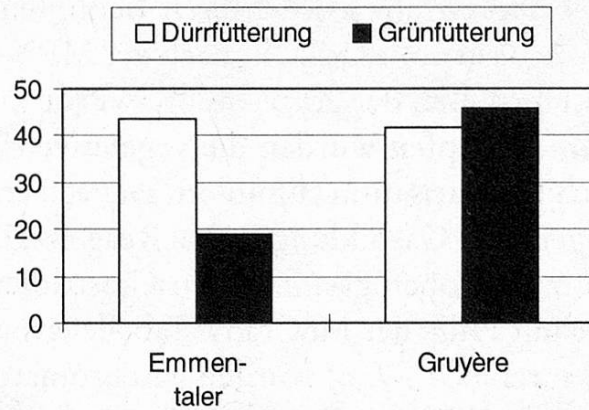


Abbildung 3 Gutachten der FAM pro Jahr mit Befund Buttersäuregärung (Durchschnitt 1993–1997)

kannten oder bisher unterschätzten Faktor gibt, der beim Gruyère das Absinken der Fälle von Buttersäuregärung im Sommer verhindert bzw. ausgleicht. Aus der Tatsache, dass beim Gruyère mehr Fälle vermerkt werden müssen als beim Emmentaler Käse, dies obschon es nur etwa halb so viele Betriebe gibt, lässt sich folgern, dass Gruyère Käse generell stärker gefährdet ist.

In einem Modellversuch wurden aus der gleichen, mit einer Sporensuspension versetzten Milch sowohl Gruyère wie Emmentaler Käse fabriziert. Dabei zeigte es sich, dass der Gehalt an n-Buttersäure im Modell-Gruyère viel grösser war (Abb. 4). Bei der Technologie von Gruyère Käse gibt es demnach einen Faktor, der das Auskeimen oder das Wachstum der Buttersäurebakterien-Sporen fördert.

#### Zeitpunkt des Auskeimens der Sporen im Käse

Der Gehalt an n-Buttersäure im 20tägigen Käse (Abb. 5) erlaubt eine gute Prognose für den Gehalt im 90tägigen Käse ( $R = 0,66; p < 0,001$ ). Dies bedeutet einerseits,

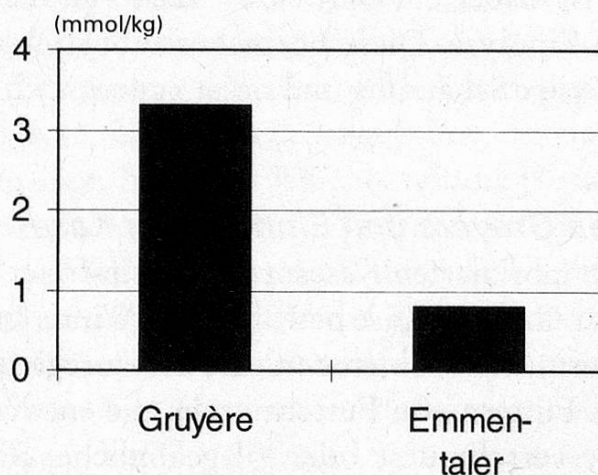


Abbildung 4 Mittlerer Gehalt an n-Buttersäure aus Buttersäuregärung (mmol/kg) in 20 Tage alten Modell-Gruyère- und Modell-Emmentaler-Käse, die aus der gleichen Milch (mit Zugabe von Sporensuspension) hergestellt wurden ( $n = 8$ )

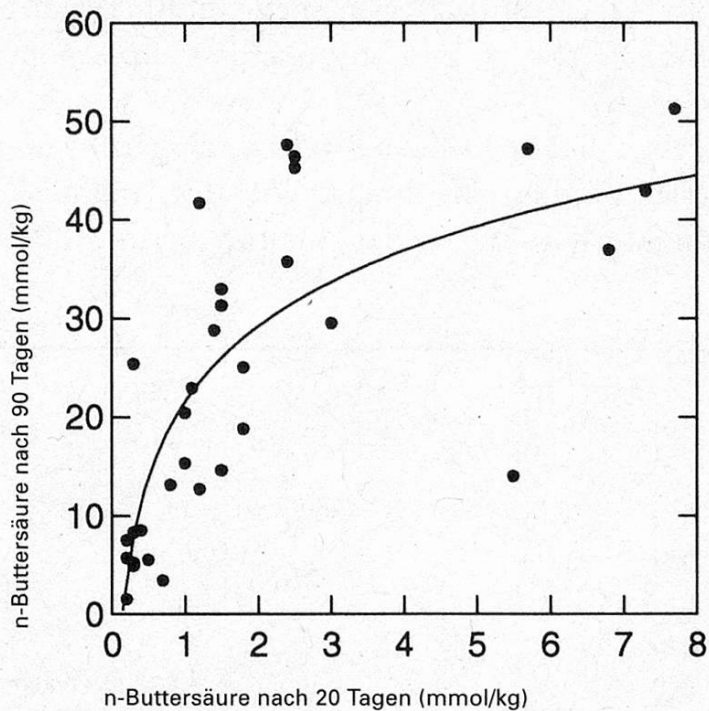


Abbildung 5 **Gehalt an n-Buttersäure aus Buttersäuregärung (mmol/kg) in Modellkäsen, die aus Milch mit Zugabe von Sporensuspension hergestellt wurden, nach 20 und 90 Tagen**

dass die Sporen im Käse rascher auskeimen als bisher vermutet wurde und andererseits, dass der technologische Faktor, der für die Unterschiede zwischen Gruyère und Emmentaler Käse verantwortlich ist, schon vor der Reifung zu suchen ist. Die beiden Technologien unterscheiden sich dabei in drei wesentlichen Punkten: Brenntemperatur, Säuerungsverlauf und Salzgehalt im Käse (Tabelle 1).

Tabelle 1  
**Relevante Unterschiede bei der Technologie von Emmentaler und Gruyère Käse**

<i>Technologischer Schritt</i>		<i>Gruyère</i>	<i>Emmentaler</i>
Brenntemperatur	°C	55–59	52–53
Säuerungsverlauf	pH nach 24 h	5,10–5,25	5,20–5,35
Salzbaddauer	Tage	1–2	1–2
Salzgehalt	g/kg	10,0–20,0	3,0–8,0

### *Einfluss von Brenntemperatur und Salzgehalt*

In einem ersten Versuch in der Modellkäserei der FAM wurde der Einfluss der Brenntemperatur (53, 55, 57, 59 °C) und der Salzbaddauer (0,5, 1, 1,5, 2 Tage) auf den Gehalt an n-Buttersäure in Gruyère Käse aus Milch mit Zusatz von Sporensuspension geprüft. Dabei zeigte es sich, dass

- eine höhere Brenntemperatur das Auskeimen von Buttersäurebakterien-Sporen im Käse beschleunigt (Abb. 6) und zu höheren Gehalten an n-Buttersäure im Käse führt und dass
- ein höherer Salzgehalt die Intensität der Buttersäuregärung im Käse verlangsamt. Es war aber unklar, ob dies eine direkte Wirkung (Initialisierung des Auskeimens) oder eine indirekte Wirkung (verlangsamte Säuerung, höherer Wassergehalt) war.

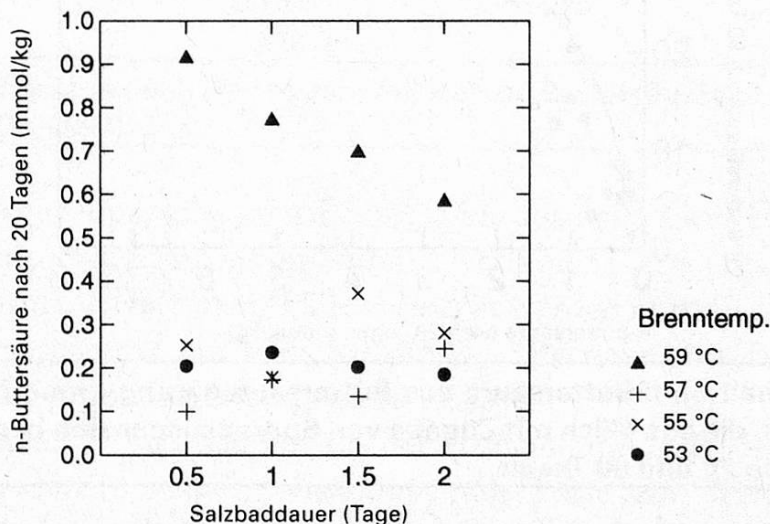


Abbildung 6 Einfluss der Brenntemperatur und der Salzbaddauer auf den Gehalt an n-Buttersäure aus Buttersäuregärung (mmol/kg) in den 20 Tage alten Modell-Gruyère-Käsen

### *Einfluss von Brenntemperatur und Säuerungsverlauf*

In einem zweiten Versuch wurde deshalb abgeklärt, ob die Wirkung direkt oder indirekt erfolgt. Zu diesem Zweck wurde der Säuerungsverlauf mit verschiedenen technologischen Massnahmen beeinflusst (Tabelle 2). Der Säuerungsverlauf wurde dabei in den Käsen mit einer kleinen Zusatzmenge von Starterkulturen und in den Käsen mit einer hohen Brenntemperatur ziemlich genau gleich verlangsamt. Trotzdem wies nur der Käse mit einer höheren Brenntemperatur deutlich mehr n-Buttersäure auf (Abb. 7). Dies bedeutet, dass

- eine hohe Brenntemperatur das Auskeimen von Buttersäurebakterien-Sporen im Käse direkt initialisieren (auslösen) kann und dass
- ein langsamer Säuerungsverlauf nicht zu einer generellen Beschleunigung der Buttersäuregärung führt.

Dieser Versuch zeigte auch, dass ein verlängertes Ausrühren (= Heisshalten bei Brenntemperatur) das Auskeimen der Sporen fördert, wenn auch nicht so stark wie eine hohe Brenntemperatur.

Brenntemperaturen von über 57 °C können demnach das Auskeimen der Buttersäurebakterien-Sporen eindeutig fördern. Hohe Brenntemperaturen wurden beim Gruyère Käse eingeführt, um eine unerwünschte Propionsäuregärung (=



Tabelle 2

**Säuerungsverlauf in den Modell-Gruyère-Käsen (Mittelwerte)**

Faktoren	Stufen	N	pH-Wert			
			2 h- (10 cm ab Rand)	4 h (10 cm ab Rand)	6 h (10 cm ab Rand)	24 h (10 cm ab Rand)
Zusatzmenge	0,8 ‰	16	6,36	6,31	6,15	5,17
Starterkulturen	2,5 ‰	16	6,24	6,14	6,03	5,21
Vorreifen	5 min	16	6,34	6,28	6,18	5,19
	45 min	16	6,27	6,17	5,99	5,19
Brenntemperatur	54 °C	16	6,26	6,14	6,00	5,18
	58 °C	16	6,35	6,31	6,17	5,20
Ausrührzeit	5 min	16	6,30	6,24	6,12	5,18
	30 min	16	6,31	6,22	6,05	5,20

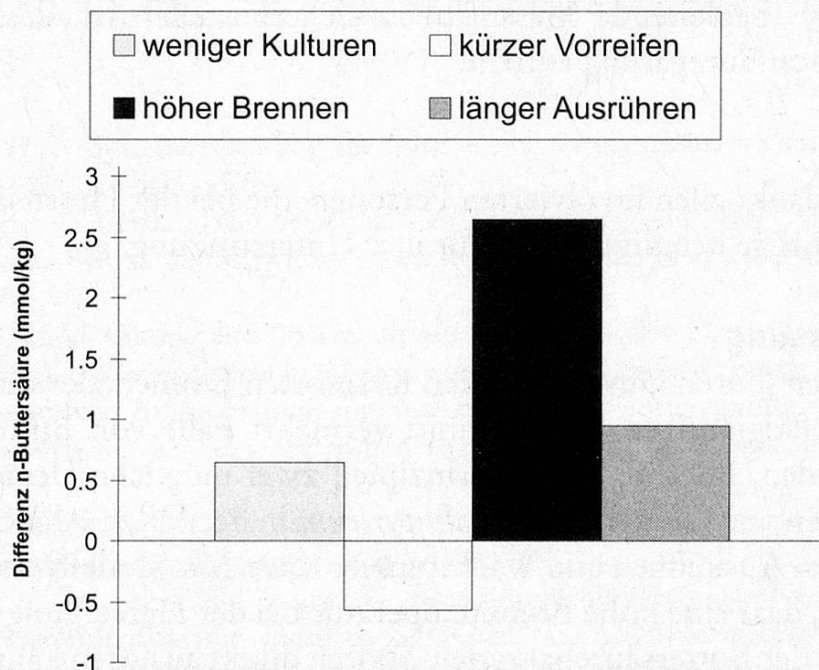


Abbildung 7 Einfluss von

- weniger Kulturen (0,8 statt 2,5 ‰)
- kürzer Vorreifen (5 statt 45 Minuten)
- höher Brennen (58 statt 54 °C)
- länger Ausrühren (30 statt 5 Minuten) (Ausrühren = Heisshalten bei Brenntemperatur) auf den Gehalt an n-Buttersäure aus Buttersäuregärung (mmol/kg) in den 90 Tage alten Modell-Gruyère-Käsen (Differenz zwischen den beiden Stufen)

Nachgärung) zu bekämpfen. Diese Massnahme darf als erfolgreich bezeichnet werden. Es ist deshalb darauf zu achten, dass wegen tieferen Brenntemperaturen nicht

wieder vermehrt Fälle von Nachgärung auftreten. Tiefere Brenntemperaturen müssen deshalb unbedingt von weiteren Massnahmen begleitet werden:

- gute Milchqualität: möglichst wenig Propionsäurebakterien
- verlängertes Ausrühren (nicht länger als 20 Minuten, da das Ausrühren das Auskeimen der Sporen tendenziell ebenfalls fördert)
- Salzgehalt von mehr als 13 g/kg.

Auch ein tiefer pH-Wert, ein hoher Kupfergehalt, eine tiefere Reifungstemperatur und eine nicht zu starke Proteolyse in die Tiefe (Milchqualität, Kulturen) verringern das Risiko des Auftretens von Nachgärung.

### **Schlussfolgerung**

Die höhere Brenntemperatur ist hauptverantwortlich für die Tatsache, dass Gruyère Käse einen viel höheren Gehalt an n-Buttersäure (aus Buttersäuregärung stammend) hat im Vergleich zu Emmentaler Käse, der aus der gleichen mit Sporensuspension versetzten Milch fabriziert wurde. Eine hohe Brenntemperatur kann bei der Herstellung von Hartkäse das Auskeimen der Buttersäurebakterien-Sporen direkt initialisieren. Von Brenntemperaturen oberhalb von 57 °C ist deshalb abzusehen, wobei über begleitende Massnahmen sicherzustellen ist, dass keine unerwünschte Propionsäuregärung auftritt.

### **Dank**

Der Autor dankt allen involvierten Personen, die bei der Herstellung und Prüfung der Modellkäse beteiligt waren, für ihre Unterstützung.

### **Zusammenfassung**

In den letzten Jahren mussten bei den Käsesorten Emmentaler und Gruyère im Vergleich zum langjährigen Durchschnitt vermehrt Fälle von Buttersäuregärung festgestellt werden. Hierfür gibt es prinzipiell zwei mögliche Ursachen: höherer Gehalt an Sporen von *Clostridium tyrobutyricum* in der Milch oder bessere Bedingungen für deren Auskeimen und Wachstum im Käse. Mit Modellversuchen konnte gezeigt werden, dass eine hohe Brenntemperatur bei der Herstellung von Hartkäse das Auskeimen der Buttersäurebakterien-Sporen direkt auslösen kann. Von Brenntemperaturen oberhalb von 57 °C ist deshalb abzusehen, wobei über begleitende Massnahmen sicherzustellen ist, dass keine unerwünschte Propionsäuregärung auftritt.

### **Résumé**

Au cours des dernières années, le nombre de fromages à pâte dure des types Emmentaler et Gruyère sujet à une fermentation butyrique a augmenté. Il y a à cela deux explications possibles: une teneur en spores de *Clostridium tyrobutyricum* plus élevée dans le lait ou de meilleures conditions pour leur germination et leur croissance dans le fromage. Au moyen de fromages modèles, il a été démontré qu'une tempéra-

ture de chauffage élevée lors de la fabrication peut déclencher la germination des spores butyriques. Il est donc judicieux de ne pas appliquer des températures de chauffage supérieures à 57 °C et de prendre des mesures pour éviter une fermentation propionique indésirable.

### **Summary «Germination and Growth of *Clostridium tyrobutyricum* in Hard Cheese Manufactured from Non-silage Milk»**

In Switzerland the amount of hard cheeses spoiled by butyric acid fermentation increased in the last years distinctly. Two main reasons are discussed: higher counts of spores of *Clostridium tyrobutyricum* in milk or better conditions for germination and growth in cheese. Trials with model cheeses allowed to show that high cooking temperatures in the manufacturing process can release the germination of spores. It is advisable to avoid cooking temperatures above 57 °C, but additional measures have to be taken for evading problems with an undesired propionic acid fermentation.

### **Key words**

Cheese, Late blowing, *Clostridium tyrobutyricum*, Germination, Spores

### **Literatur**

- 1 *Bachmann, H.P.*: Buttersäuregärung im Käse – eine Literaturzusammenfassung. Agrarforschung 2 (11–12), 523–526 (1995).
- 2 *Van der Maas, J.*: Einfluss von verschiedenen Laufhoftypen auf den Clostridiengehalt der Milch. Diplomarbeit an der Schweizerischen Ingenieurschule für Landwirtschaft, Zollikofen (1995).
- 3 *Müller, S.*: Anbindehaltung und Boxenlaufstall: Einfluss auf den Clostridiengehalt der Milch. Diplomarbeit an der Schweizerischen Ingenieurschule für Landwirtschaft, Zollikofen (1996).
- 4 *Frey, R.*: Einsatz von Ammoniumdipropionat zur Konservierung von feuchten Heurundballen. Diplomarbeit an der Schweizerischen Ingenieurschule für Landwirtschaft, Zollikofen (1997).
- 5 *Dalla Torre, M.*: Nachweis und Zählung der gasbildenden anaeroben Sporenbildner (Buttersäurebazillen). Standardsarbeitsanweisung FAM (1997).
- 6 *Badertscher, R., Liniger, A. und Steiger, G.*: Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Käse aus dem Wasserdampfdestillat mit «Headspace-/GC/FID». FAM-Information 272 (1993).
- 7 *Mc Nulty, D., Skeie, S., Banks, J., Rüegg, M., Bachmann, H.P., Mc Sweeney, P.L.H. and Grappin, R.*: Guidelines for experimental design and data analysis in studies on cheese. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, ISBN 92-828-2313-X (1998).

Dr. Hans-Peter Bachmann, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft,  
Liebfeld, Schwarzenburgstrasse 161, CH-3003 Bern