



Foto: DLG

Neue Charakterisierung von Propioni-Stämmen

Martin Haarman, Frans Simons

CSK Food Enrichment hat eine umfangreiche Studie zur Charakterisierung von neuen Propioni-Stämmen und deren Einfluss auf Geschmack und Lochbild in Auftrag gegeben. Mit den aus der Studie gewonnenen Erkenntnissen zur Vielfalt von neuen Propioni-Stämmen hat der Käser die Möglichkeit, eine ideale Auswahl für seinen Käsungsprozess zu treffen. Durch die unterschiedlichen Eigenschaften der Propioni-Stämme erhält man zudem die Möglichkeit zur Differenzierung des Käse-Geschmacks.

Heutzutage werden viele Varietäten von Großlochkäse angeboten, mit jeweils typischem Geschmack und Lochbild. Die Qualität dieser Großlochkäse wird geprägt durch die unterschiedlichsten Herstellungsparameter. So werden wir immer wieder mit Fragen zur Geschwindigkeit und Intensität der Propionsäuregärung

konfrontiert. Das resultierende Lochbild ist abhängig vom pH-Wert des Käses, der Reifungstemperatur, des Salzgehaltes und vielem mehr. Auch gibt es immer wieder Fragen zur Unterdrückung einer Nachgärung. Darüber hinaus fordern die Verbraucher Geschmacks-Differenzierungen wie unterschiedliche Süße, Schärfe,

Würzigkeit und Nussartigkeit.

Einen Großlochkäse mit kontinuierlich guter Qualität zu produzieren ist nicht einfach. Durch die vielen Einflussfaktoren, die meist komplex miteinander in Zusammenhang stehen, kann es zu Qualitätsproblemen kommen. Häufig werden wir dann gebeten, Lösungsvorschläge zu erarbeiten.

Selbstverständlich ist das primäre Ziel in der Käseerei, das technische Problem möglichst einfach zu lösen, vorzugsweise über den Einsatz eines alternativen Propionistammes. Deswegen wäre es sehr hilfreich, wenn man die Möglichkeit hätte, aus einer Vielfalt von Stämmen wählen zu können.

Projektentwurf

Die Studie ist in zwei Abschnitte aufgeteilt. Im ersten Schritt sind mittels Conductimetry 20 neu identifizierte Propionistämme charakterisiert worden. Im zweiten Schritt sind mit 9 repräsentativen Isolaten, die spezielle Charakteristiken aufweisen, auf standardisierte Art und Weise Maasdamer Käse hergestellt worden. Die hergestellten Käse sind untersucht worden auf Propionsäuregärung, sowie die Bildung von Aromakomponenten und Geschmack.

Conductimetry

In der Conductimetry misst man die Wechselstrom-Leitfähigkeit von Flüssigkeiten. In der mikrobiologischen Anwendung bewertet man so das Entstehen von geladenen Metaboliten während des Wachstums, welche aufgrund der Ionisierung die Leitfähigkeit des Mediums beeinflussen. Bei dieser Methode kann man das Wachstum eines Bakteriums mittels direkter Conductimetry ermitteln. Die CO₂-Bildung lässt sich über indirekte Conductimetry feststellen, bei der sich die Leitfähigkeit einer KOH-Lösung durch gelöstes CO₂ ändert.

In Abbildung 1 sieht man ein typisches Ergebnis der Conductimetry-Messung. Anhand dieser Kurven lassen sich typische Merkmale jedes Stammes erkennen, so wie Lag-phase, maximale Wachstumsgeschwindigkeit, maximale Leitfähigkeit, aber auch Geschwindigkeit der CO₂-Produktion und maximale CO₂-Menge.

Mit Hilfe dieser Merkmale sind alle 20 Stämme statistisch eingestuft worden. In Abbildung 2 sind die wichtigsten Unterschiede aufgelistet.

Augenfällig war, dass die Lag-phase von allen Stämmen sehr niedrig war. Außerdem wurde eine Korrela-

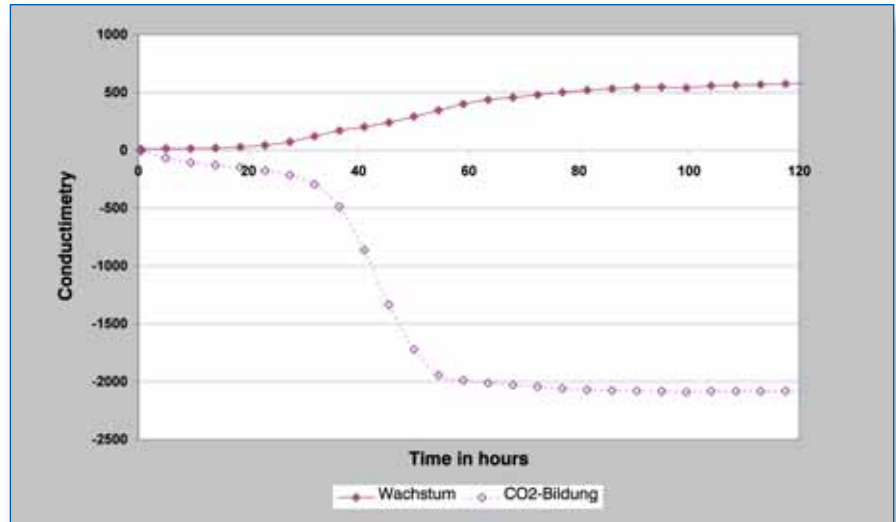


Abbildung 1: Beispiel Conductimetry

tion zwischen Wachstum und CO₂-Produktion gefunden. Zwei Stämme hatten ein extremes Profil, obwohl bei der Mehrheit der Stämme keine großen Unterschiede gefunden wurden.

Zur weiteren Analyse in Schritt 2 ist aus jeder Gruppe aus Abbildung 2 ein repräsentativer Stamm gewählt worden.

Käseproduktion

Weil eine weitere Charakterisierung der Stämme auf Laborebene nicht aussagekräftig genug war, wurde entschieden, die 9 repräsentativen Stämme mittels standardisierter Käseversuche zu vergleichen. Dazu ist nach standardisiertem Protokoll mit 3 Wiederholungen pro Stamm Maasdamer Käse hergestellt worden. Während der Produktion und der Reifung wurden chemische und mikrobiologische Daten gesammelt, um den Ablauf der Propionsäuregärung über die Intensität der Nachgärung, sowie der Bildung verschiedener Aromakomponenten beurteilen zu können. Anschließend sind die Käse von einem geschulten Sensorik-Panel beurteilt worden.

Allgemeiner Eindruck

Die 9 getesteten Stämme zeigten gute Ergebnisse bei der Herstellung von Maasdamer. Die meisten Stämme wuchsen hervorragend und verursachten eine signifikante Propionsäuregärung. Wir konnten die neun

Strain	Lag phase	μ_{max}	μ_{max, CO_2}	Max Keimzahl
8	-	++	+	++
9	-	+	0	0
3 / 11	0	0	+	+
5 / 1	0	0	+	++
7 / 12	0	+	+	++
13 / 14 / 10	0	+	++	0
15 / 16 / 4	0	0	0	0
17	0	0	0	-
2 / 18	0	-	0	-
6	+	+	0	0

Abbildung 2: Unterschiede der Propionistämme nach Conductimetry-Analyse

μ_{max} = maximale Wachstumsgeschwindigkeit;
 μ_{max, CO_2} = maximale Geschwindigkeit der CO₂-produktion; 0 = Durchschnittliche Ergebnisse; + = Ergebnisse oberhalb der Durchschnittswert; - = Ergebnisse unterhalb Durchschnittswert

Stämme in Abhängigkeit der Propionsäuregärung (C3-Bildung) im Käse in vier Gruppen einstufen:

- 10% der PSB mit 0-100 mg C3/100 Gramm Käse am Reifungsende (hoch salzempfindlich)
- 40% der PSB mit 100-200 mg C3/100 Gramm Käse
- 30% der PSB mit 200-400 mg C3/100 Gramm Käse
- 20% der PSB mit mehr als 400 mg C3/100 Gramm Käse (nicht salzempfindlich)

Propionsäuregärung

Die Propionsäuregärung wird während der Reifung registriert. Um die jeweils gebildete Propionsäure miteinander vergleichen zu können, sind

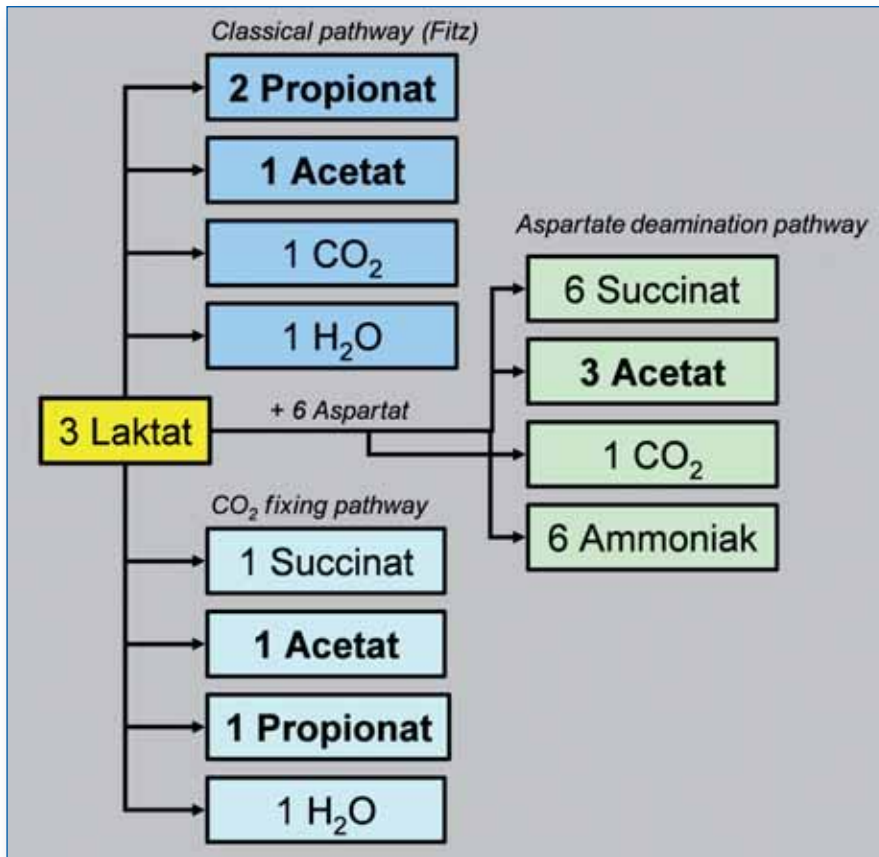


Abbildung 3: Stoffwechselwege der Propionibacteria

verschiedene Merkmale untersucht worden. Der maximale Propionsäurewert ist beispielsweise von praktischer Relevanz, weil Lochbildung und Bildung von Geschmackskomponenten linear von der Keimzahl der Propionibakterien abhängen. Je höher die gefundene Biomasse, desto mehr Gasbildung, flüchtige Fettsäuren, freie Fettsäuren und Geschmackskomponenten aus Aminosäure-Katabolismus sind zu erwarten. Abgesehen von der Stammspezifität, wird eine stärkere Propionsäuregärung auch einen stärker ausgeprägten Käse ergeben. In Abbildung 4 sieht man die Unterschiede in dem maximalen Propionsäurewert der getesteten Stämme. Insgesamt kann festgehalten werden, dass die bei der Conductimetry-Analyse gefundene Propionsäuregärung mit der Propionsäuregärung im Käse übereinstimmt. Jedoch gab es auch einige Differenzen zwischen Conductimetry und Käseversuch. Man sollte dabei aber beachten, dass das Verhalten der Stämme immer von den jeweiligen Milieubedingungen im Käse, z.B. von unterschiedlichen pH-Werten oder Salzge-

halten, abhängig ist.

Die Geschwindigkeit der Propionsäuregärung lässt große Unterschiede erkennen: von 13 bis 66 mg C3/100 g Käse/Tag. Dieser Aspekt ist wichtig, weil diese Geschwindigkeit teilweise die Anzahl und Größe der Löcher bestimmt: je schneller die Gärung abläuft, je größer ist das Volumen und geringer die Anzahl der Löcher. Es wäre wünschenswert, wenn der Käser die Geschwindigkeit der Propionsäuregärung über die Wahl der Stämme steuern könnte, falls der Käseteig zu schlechter Lochbildung führt, wie zum Beispiel aufgrund niedriger Trockenmasse, hohem Fettgehalt in der Trockenmasse, oder niedrigem Fettschmelzpunkt, usw.

Die Gasproduktion, gemessen als Volumenzunahme des Käses während der Reifung, stimmte in fast allen Fällen mit der Propionsäuregärung überein. Ein Stamm zeigte höhere CO₂-Bildung, weil eine größere Volumenzunahme pro Einheit verbrauchtes Laktat festgestellt wurde. Dies kann nicht durch ein höheres Succinat- oder Essigsäureniveau erklärt werden.

Nachgärung

Einer der häufigsten Fehler bei Großlochkäse ist die Nachgärung. Unter Nachgärung versteht man eine während der Lagerung weiterlaufende Gasbildung durch Propionsäurebakterien, welche zu Riss- oder Spaltenbildung führt. Zu diesem Thema ist es wichtig, dass die Gärung der Propionikultur stoppt, wenn der Käse im Kühllager ist. Zwei Stämme der Studie haben noch erhebliche Mengen Propionsäure gebildet, nachdem der Käse aus der Warmreife gekommen ist.

Ein zweiter Aspekt in Bezug auf Nachgärung ist die Möglichkeit der jeweiligen Stämme Aspartat zu verstoffwechseln. Bei dieser Stoffwechselaktivität wird neben einem erhöhten Anteil Acetat und Succinat auch CO₂ gebildet. Die hergestellten Käse enthielten niedrige Mengen Succinat. Dies deutet darauf hin, dass die meisten Stämme eine niedrige Aspartase-Aktivität aufweisen. Jedoch, eine signifikante Produktion von Succinat wurde bei drei Stämmen festgestellt. Dies deutet demnach auf eine stärkere Nachgärung hin. Die Empfindlichkeit zur Nachgärung wegen der Aspartat-Verstoffwechslung ist in Abbildung 4 für die getesteten Stämme gegeben.

Aromakomponenten und -vorläufer

Es gibt eine große Varietät in der lypolytischen Aktivität der verschiedenen Propionsäurebakterien. Eine niedrige Intensität wird assoziiert mit typischen Geschmackskomponenten, wie „süß“, „rahmig“ oder „buttrig“. Eine hohe Intensität dagegen wird mit mehr typischen und traditionellen Aromakomponenten, wie „seifig“, „scharf“, „beißend“ und „Stallgeschmack“ in Verbindung gebracht.

Nach der Warmreife enthielten die Käse 100-300 mg freie Fettsäuren (FFA)/100 Gramm Käse, abhängig vom jeweiligen Stamm. Die Lypolyse war abhängig von der Propionsäuregärungsintensität: je stärker die Propionsäuregärung, desto höher der Anteil FFA. Zwei Stämme aus der Studie zeigten eine sehr niedrige lypolytische Aktivität, berechnet als das FFA/C3-Verhältnis (0,2 gegen 0,95 im

Mittel), trotz einer starken Propion-säuregärung.

Isovaleriansäure (iC5) wird als ein Indikator bei der Entwicklung von Geschmackskomponente gesehen, welche beim Katabolismus von branched-chain Aminosäure gebildet werden. Die iC5-Gehalte der Käse waren im normalen Bereich und es wurden keine großen Unterschiede zwischen den jeweiligen Stämmen gefunden. Ein Stamm zeigte aber einen sehr hohen iC5-Gehalt, bezogen auf den Propionsäuregehalt (2,3 gegen 0,23 im Mittel). Stämme mit höherem iC5-Wert wurden bei der Geschmackbeurteilung eher als fruchtig bewertet.

Geschmack

Die Verkostungsdaten des geschulten Sensorik-Panels wurden statistisch bewertet. Die wichtigsten Eigenschaften waren „bitter“, „scharf, beißend“, „salzig“, „Kochgeschmack“, und „Propioniaroma“. Daneben waren „geruchsintensiv“, „fruchtig“, „cremig“ und „Stallgeschmack“ die wichtigsten Eindrücke.

Es ist bemerkenswert, dass mit den 9 verwendeten Propionistämmen ein sehr unterschiedliches Geschmacksprofil zu erzielen ist. Fast jeder Käse hatte sein eigenes typisches Aroma. Vier Stämme waren auffallend, weil es signifikante Unterschiede zum Mittelwert aller Stämme gab:

- einmal sehr niedrige Geschmacksintensität und salziger Geschmack
- einmal stark scharf beißend und Stallgeschmack
- einmal sehr fruchtiges Aroma und Abwesenheit von Bitterkeit
- einmal ein sehr geringes Propioniaroma

Schlussfolgerung

Aus der Studie lässt sich erkennen, dass wir über die Wahl der Propionsäurestämme die Käsereifung, die Nachgärung und den Geschmackvarietät beeinflussen können. Hierbei werden, neben der traditionellen Herstellung von Großlochkäse, modernste Methoden und Techniken angewendet.

Das Lochbild kann durch den Einsatz von mehr oder weniger gasbil-

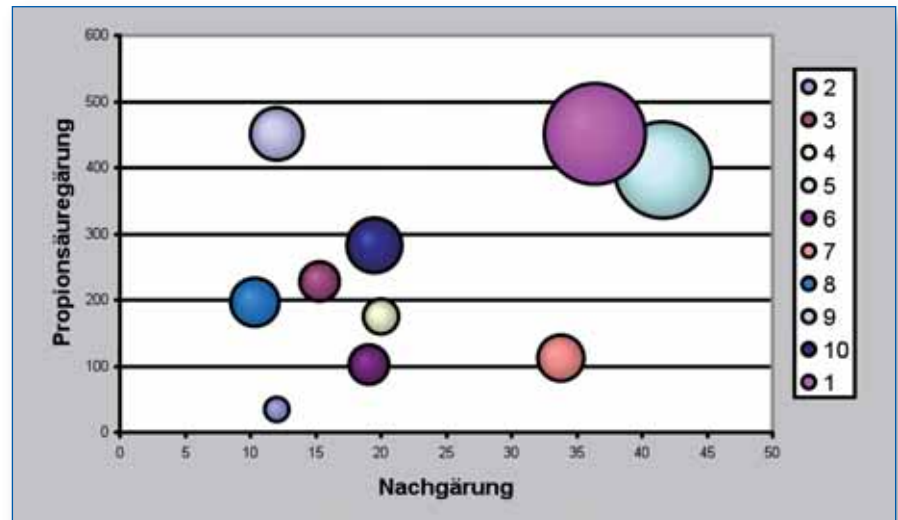


Abbildung 4: Diversität der Propionistämme

Die Abbildung stellt vertikal die Intensität der Propionsäuregärung dar. Horizontal lässt sich die Empfindlichkeit für Nachgärung ablesen. Die Blasengröße gibt einen Eindruck der stammspezifischen lypolitischen Aktivität. Je größer die Blasen sind, desto weniger lypolitische Aktivität erwartet man.

denden Stämmen beeinflusst werden. Wir sind dabei in der Lage, von jedem Stamm die Sensibilität zur Nachgärung festzustellen.

Außerdem haben diese Studien nochmals bestätigt, dass jeder Propionistamm im Käse sein eigenes typisches Geschmacksprofil entwickelt. Neben den charakteristischen Geschmackskomponenten spielen die lypolitische Aktivität des Propionistamms und die dabei entstehende freie Fettsäure eine große Rolle. Im Maasdamer ist diese lypolitische Aktivität eher nicht willkommen, wobei im Emmentaler eine leichte lypolitische Aktivität regional verwurzelt ist.

CSK hat mit Hilfe dieser Studien letztendlich marktfähige Propionistämme selektiert und diese Stämme klassifiziert. Damit wurde die bestehende Kollektion weiter aufgestockt, um so die verschiedenen Segmente und die Konsumenten Anforderungen zu bedienen.

Zukunftsperspektive

Diese Studien haben nochmals die Komplexität dieser Materie deutlich gemacht. Obwohl die einzelne Invariante, wie unter anderem Geschmackbildung, Gasbildung, Nachgärung sich relativ einfach beeinflussen und erforschen lassen, liegt die Kompliziertheit (wie Abbildung 4 zeigt) in der Verknüpfung der individuellen Parameter. Das Bestreben bleibt es auch, zukünftig mehr Propionistämme zu erforschen, die einen optimalen Geschmack und eine gute Reifung vollbringen. Die Herausforderung besteht darin, weitere Stämme zu finden mit einer hohen Propionsäuregärung, einer niedrigen lypolitischen Aktivität ohne Nachgärung. CSK wird weiter in dieses Forschungsfeld investieren.

