

DISS. ETH 6972

E I N F L U S S D E R R O H M I L C H F L O R A A U F  
D I E B I O C H E M I S C H E N V O R G A E N G E  
D E R K A E S E R E I F U N G - A M B E I S P I E L  
V O N R A C L E T T E - K A E S E A U S  
P A S T E U R I S I E R T E R U N D R O H E R M I L C H

ABHANDLUNG

zur Erlangung  
des Titels eines Doktors der Technischen Wissenschaften

EIDGENOSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZURICH

vorgelegt von

PETER GALLMANN

dipl.Lm.-Ing. ETH

geboren am 28. Februar 1952

von Kappel a.A.ZH und Zürich

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. Z. Puhan, Referent

Prof. Dr. J. Solms, Korreferent

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In der Schweiz werden einige Käsesorten wie zum Beispiel Raclette, Tilsiter und Vacherin Fribourgeois sowohl aus roher wie auch aus pasteurisierter Milch hergestellt. Im allgemeinen gelten die Pastmilchkäse als mild, während die Rohmilchkäse würziger und charaktvoller sind.

In der vorliegenden Arbeit werden vorerst am Beispiel von Raclette die Unterschiede zwischen den beiden Typen aufgezeigt. Anschliessend werden die Ursachen für die Unterschiede erörtert. Darauf folgen Versuche, einen Pastmilchkäse mit den charakteristischen Eigenschaften des Rohmilchkäses herzustellen.

Die untersuchten konsumreifen Käse aus dem Handel wiesen deutliche organoleptische Unterschiede zwischen "pasteurisiert" und "roh" auf. Ihre Fremdkeimflora war unterschiedlich zusammengesetzt, und bezüglich biochemischer Vorgänge während der Reifung waren Abweichungen in der Proteolyse und der Milchsäuregärung festzustellen. Da die Fabrikation dieser Käse, welche aus verschiedenen Betrieben stammten, nicht einheitlich war und in der Praxis Fabrikationsanpassungen bei der Verarbeitung pasteurisierter Milch üblich sind, konnten die beschriebenen Unterschiede nicht eindeutig mit dem Primärfaktor der Pasteurisation, d.h. der Temperatureinwirkung auf die Milch, in Verbindung gebracht werden. Erst der Ausschluss der Sekundärfaktoren durch Versuche mit unter identischen Bedingungen hergestellten Käsen aus pasteurisierter bzw. roher Milch erlaubten es, den Einfluss der Hitzebehandlung der Milch auf die Käsereifungsvorgänge und die Käsequalität zu erfassen. Dabei zeigte sich, dass die Fabrikationsunterschiede in den einzelnen Betrieben einen grossen Einfluss auf die Käsequalität und den -charakter haben. Die organoleptischen Unterschiede zwischen den Varianten der Versuchskäse waren bei weitem nicht mehr so deutlich wie bei den Produkten aus dem Handel. Chemische und biochemische Analysen ergaben bei diesen Versuchskäsen mit identischer Fabrikation vor allem Unterschiede bezüglich der Proteolyse. Dies äusserte sich in der Entstehung von zusätzlichen Spaltprodukten aus dem  $\beta$ -Kasein im Rohmilchkäse. Ausserdem wurden auch bei einigen freien Aminosäuren und deren Umwandlungsprodukten Unterschiede festgestellt. Durch Vergleich der Ergebnisse der untersuchten Proben aus dem Handel mit jenen der Versuchskäse mit identischer Fabrikation konnte die Rohmilchflora als Primärfaktor für die Unter-

schiede zwischen Pastmilchkäse und Rohmilchkäse erkannt werden. Durch Versuche mit Reinkulturen aus der Rohmilchflora gelang es, Mikroorganismen zu identifizieren, deren Zellextrakte in der Lage waren, die nur in Rohmilchkäse festgestellten Peptide aus reinem  $\beta$ -Kasein abzuspalten. Schliesslich wurden Pastmilchkäse mit Zusatz von ausgewählten Organismen der Rohmilchflora in Form von Reinkulturen und Zellextrakten hergestellt. Die Ergebnisse umfassender Analysen dieser Käse während der Fabrikation und Reifung ermöglichten es, den Einfluss von *Sc. faecalis*, *E. coli* und *Ps. fluorescens* auf die biochemischen Vorgänge während der Käsereifung sowie auf die Käsequalität abzuklären. Dabei wurde deutlich, dass die einzelnen Mikroorganismen zwar zum Teil die für den Rohmilchkäse als typisch erkannten Veränderungen hervorrufen können, dass aber der individuelle geschmackliche Charakter des Rohmilchkäses mit keiner der geprüften Keimarten allein zu erreichen ist. Vielmehr muss angenommen werden, dass erst die kombinierte Wirkung der gesamten Rohmilchflora dafür verantwortlich ist.

## Résumé

En Suisse, certains fromages sont proposés en deux variantes selon que le lait servant à la fabrication est pasteurisé ou cru; citons pour mémoire le fromage à raclette, le tilsit et le vacherin fribourgeois. En général, les fromages de lait pasteurisé sont doux, alors que les fromages de lait cru ont une saveur plus corsée, plus typée.

Le travail présent décrit tout d'abord les différences existant entre les deux types de fromages en prenant pour exemple le fromage à raclette, puis il discute des causes de ces différences. Il comprend aussi des essais visant à fabriquer du fromage de lait pasteurisé possédant les propriétés caractéristiques du fromage de lait cru.

Des fromages du commerce prêts à consommer furent examinés. Les types "pasteurisé" et "cru" présentaient des écarts organoleptiques sensibles, leur flore de contamination respective n'était pas identique. Au niveau des processus biochimiques pendant l'affinage, des différences au cours de la protéolyse et de la fermentation lactique pouvaient être remarquées.

Les différences mentionnées ci-dessus ne peuvent être mises avec certitude en relation avec l'effet premier de la pasteurisation, c'est-à-dire l'action de la température sur le lait, ceci pour deux raisons: d'une part, la fabrication n'est pas standardisée d'une fromagerie à l'autre, d'autre part une adaptation de la fabrication à la pasteurisation est une pratique courante. Des fromages à base de lait pasteurisé, respectivement de lait cru, furent fabriqués dans des conditions identiques; seule l'exclusion de tout facteur secondaire permit de tirer des conclusions quant à l'influence du traitement thermique du lait sur le cours de la maturation et la qualité du fromage qui en découle.

Il devint alors évident que l'adaptation de la fabrication exerce une grande influence sur la qualité et le caractère du fromage.

Les écarts organoleptiques entre les deux variantes expérimentales ne furent de loin pas aussi significatifs que ceux constatés entre les fromages du commerce. Les analyses chimiques et biochimiques des fromages fabriqués de façon identique mirent en évidence des divergences surtout au niveau de la protéolyse. Cela se traduisit par l'apparition de peptides supplémentaires provenant de la  $\beta$ -caséine dans le fromage "cru", ainsi que par la présence de certains acides aminés libres et de leurs dérivés. La comparaison des différences entre les produits du commerce avec celles existant entre les fromages expérimentaux

permet d'identifier la flore du lait cru comme étant la cause essentielle des caractères différents du fromage "pasteurisé" et du fromage "cru".

Des expériences faites avec des cultures isolées de la flore du lait cru permirent d'identifier des microorganismes dont l'extrait cellulaire était en mesure de produire à partir de  $\beta$ -caséine pure les mêmes peptides que ceux trouvés dans les fromages "crus".

Par la suite, des microorganismes sélectionnés de la flore microbienne du lait cru furent ajoutés au fromage "pasteurisé" sous forme de cultures pures et d'extraits cellulaires lors de la fabrication.

L'analyse de ces fromages pendant la fabrication et l'affinage permit de mettre en lumière l'influence que *Sc. faecalis*, *E. coli* et *Ps. fluorescens* exercent sur les processus biochimiques pendant la maturation du fromage et sur la qualité de celui-ci.

Il devint alors clair que, si chaque microorganisme peut être tenu pour partiellement responsable des changements typiques constatés dans le fromage "cru", aucune des souches considérées n'était capable à elle seule de produire son goût spécifique. Il faut plutôt admettre que seule l'action conjuguée de toute la flore microbienne du lait cru permet de reproduire les caractéristiques du fromage à base de lait cru.

### Summary

In Switzerland, certain types of cheeses, such as Raclette, Tilsiter or Vacherin-Fribourgeoise, are made from raw milk as well as from pasteurized milk. In general, the cheeses made from pasteurized milk are considered milder whereas raw milk cheeses have more character and are richer in taste.

In the present thesis the differences between these two types of cheeses are examined on Raclette cheese. Subsequently, the factors causing these differences are being discussed and finally, it was tried to manufacture cheese from pasteurized milk with the characteristics of a raw milk cheese.

The "pasteurized" and the "raw" type of the commercial cheeses tasted showed significant organoleptic differences. The bacteriological and the biochemical determination and analyses showed wide variation in the composition of the "non lactic acid flora", differences in the lactic acid fermentation and proteolysis. As the cheeses came from different factories and the manufacturing processes were, therefore, not identical, the deviations mentioned could not be clearly related to the pasteurization of milk as the primary factor, i.e. to the influence of temperature on the milk prior to processing. Only by excluding the secondary factors in the experiments in which cheeses from pasteurized and raw milk were made under identical conditions could the influence of heat treatment of the milk on the ripening process and quality of cheese be revealed. It became evident that even small differences in the manufacture of cheese in the various factories have a marked influence on the quality of the product. The organoleptic differences between the two types of experimental cheeses were not as much pronounced as those between the commercial cheeses from pasteurized and raw milk. However, chemical and biochemical analyses of the test cheeses with identical manufacturing procedures particularly revealed differences in the proteolysis. Additional degradation products from the  $\beta$ -casein were formed in the raw milk cheese. Moreover, differences were also found in some free amino acids and their transformation products such as amines and fatty acids.

By comparing the results of the commercial cheeses with those of the experimental cheeses with identical manufacturing process, the raw milk microorganisms were found to be the primary factor for the difference between cheeses made from pasteurized milk and raw milk cheese. In further experiments with  $\beta$ -casein model solutions it was possible to identify those microorganisms from the raw milk which could split-off peptides found exclusively in the raw milk cheese.

Finally, cheeses were made from pasteurized milk by addition of selected organisms of the raw milk microorganisms in the form of pure culture and cell extract. Detailed analyses of these cheeses during their manufacture and ripening allowed determination of the influence of *Sc. faecalis*, *E. coli* and *Ps. fluorescens* on the biochemical process during cheese ripening and on the cheese quality. Although each individual microorganism is responsible for the aforementioned differences between the two types of cheeses, the specific sensorical properties of the raw milk cheese could not be obtained with any of the tested microorganisms alone. It must, therefore, be assumed that only the combined effect of raw milk microorganisms will lead to the typical raw milk cheese flavour.