



Biogene Amine in Käse: Erkenntnisse aus Sensorik, Mikrobiologie und HPLC

C. Knödl, S. Helble, D. Herbolzheimer-Böttner, N. Bitomsky, M. Barthel, G. Krumm, A. Diehl
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg

Einleitung

In fermentierten Lebensmitteln wie beispielsweise verschiedenen Käsesorten (v.a. Schnitt- und Hartkäse) werden biogene Amine durch die Stoffwechselaktivität bestimmter Mikroorganismen (enzymatische Decarboxylierung von Aminosäuren beim Eiweißabbau) gebildet. Infolge der verstärkten Proteolyse nimmt der Gehalt an biogenen Aminen im Verlaufe der Reifung des Käses weiter zu. Hohe Gehalte an biogenen Aminen in Käse sind i.d.R. nicht zufallsbedingt, sondern haben meist einen betriebsspezifischen Hintergrund. Ursächlich sind Kontaminationen mit aminbildenden Mikroorganismen. Biogene Amine werden daher als Indikator für Mängel in der Milchqualität und/oder der Betriebshygiene angesehen. Darüber hinaus sind hohe Gehalte an biogenen Aminen (v.a. Histamin) oft vergesellschaftet mit geschmacklichen Abweichungen (bizzelnd, beißig-brennend) und Teigfehlern (z.B. Risse). Sie stellen somit ebenfalls einen Indikator für die Käsequalität dar [1][2].

Hintergrund

Aufgrund der regionalen Bedeutung der Käseherstellung im Regierungsbezirk Freiburg werden am Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Freiburg regelmäßig Käseproben untersucht. U.a. wurde ein Hartkäse einer lokal ansässigen Käserei als Verbraucherbeschwerde aufgrund des lt. Verbraucher auffälligen, stark bitteren Geschmacks zur Untersuchung vorgelegt. Sowohl bei der Beschwerdeprobe als auch bei einer Vergleichsprobe der gleichen Charge fielen deutliche geschmackliche Abweichungen sowie sehr hohe Gehalte an biogenen Aminen auf. Zur weiteren Verfolgung wurden regelmäßig Proben dieser Käserei zur Untersuchung vorgelegt (Tabelle 1). Es wurde eine routinetaugliche kulturelle Methode zur Identifizierung aminbildender Keime in Käse etabliert. Die Ergebnisse der sensorischen, chemisch-analytischen und mikrobiologischen Untersuchungen hinsichtlich biogener Amine in Käse werden dargestellt.

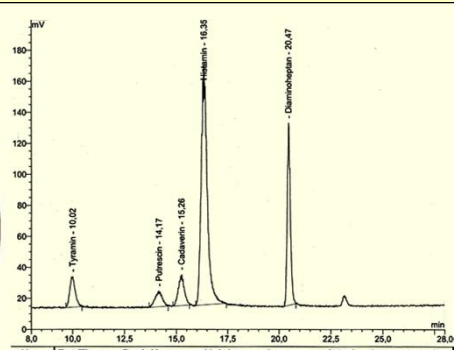
Material & Methoden

Im Jahr 2009 wurden 43 Käseproben (28 x Hart-, 11 x Schnitt-, 4 x halbfester Schnittkäse) untersucht. Dabei wurde eine sensorische Untersuchung (Aussehen, Geruch, Geschmack) durchgeführt. Parallel dazu wurde der Gehalt an biogenen Aminen (Histamin, Tyramin, Putrescin, Cadaverin) mittels HPLC gemessen.

Im Jahr 2010 wurde zusätzlich eine routinetaugliche kulturelle Methode zur Identifizierung aminbildender Keime in Käse etabliert, mit deren Hilfe Isolate von Enterokokken und Milchsäurebildnern anhand eines Decarboxylaseagars mit Histidin resp. Tyrosin (Abbildung 1: DCH-/DCT-Agar: 5 Tage, 30 °C, anaerob) auf ihre Aminbildungsfähigkeit getestet wurden [3][4]. Es wurden 63 Käseproben (30 x Hart-, 31 x Schnitt-, 2 x halbfester Schnittkäse) sensorisch, chemisch-analytisch und mikrobiologisch untersucht.



Abbildung 1: Aminbildende Mikroorganismen auf Decarboxylaseagar



No.	Ret.Time min	Peak Name	Height mV	Area mV*min	ng/20 µl	Amount mg/kg
1	10,02	Tyramin	19,733	6,020	1943,21	971,61
2	14,17	Putrescin	10,059	3,964	288,99	144,49
3	15,26	Cadaverin	19,899	6,476	880,70	440,35
4	16,35	Histamin	154,910	51,957	2116,66	1058,48
5	20,47	Diaminohexan	117,483	20,370	400,00	200,00

Abbildung 4: Ergebnisse der HPLC bei einer Beschwerdeprobe Hartkäse

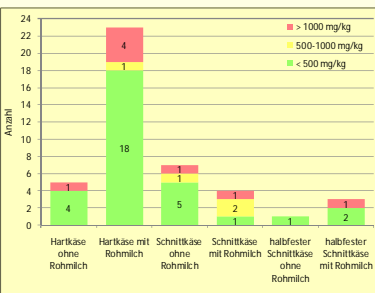


Abbildung 2: Ergebnisse der HPLC im Jahr 2009. Es wird die Summe der biogenen Amine in mg/kg angegeben

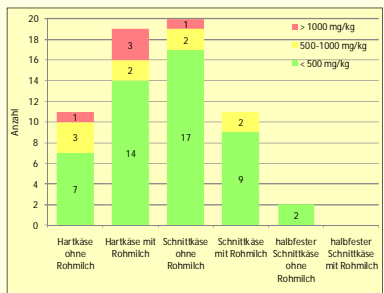


Abbildung 3: Ergebnisse der HPLC im Jahr 2010. Es wird die Summe der biogenen Amine in mg/kg angegeben

Tabelle 1: Untersuchungsergebnisse von Proben einer Käserei im Nachgang zu einer Verbraucherbeschwerde

Probenart	Probenahme-datum	Geschmack	Cadaverin (mg/kg)	Putrescin (mg/kg)	Histamin (mg/kg)	Tyramin (mg/kg)	Summe biogene Amine (mg/kg)	Enterococcus spp. (KBE/g)	Anaerobe Milchsäurebildner (KBE/g)	Aerobe Milchsäurebildner (KBE/g)
Hartkäse aus Rohmilch (Verbraucherbeschwerde)	05/2009	brennend-beißig, süßlich-fruchtig	440	144	1058	972	2614	n.d.	n.d.	n.d.
Hartkäse aus Rohmilch (Vergleichsprobe)	05/2009	stark brennend-beißig, leicht bitter, würzig	0	0	1319	627	1946	n.d.	n.d.	n.d.
Hartkäse aus Rohmilch (Nachprobe)	08/2009	leicht beißig, leicht bitter, mild-würzig	0	27	82	148	257	n.d.	1,2 x 10 ⁶	n.d.
Hartkäse aus Rohmilch (Nachprobe)	08/2009	Zentrum brennend-beißig, leicht bitter, Randbereich wenig beißig	13	27	108	93	242	n.d.	7,8 x 10 ⁷	n.d.
Hartkäse aus Rohmilch (Planprobe)	03/2010	mäßig brennend-beißig, mild-würzig	33	17	325	274	650	3,3 x 10 ⁶	5,0 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁷
Schnittkäse aus Rohmilch (Planprobe)	03/2010	milchsäuerlich, mild, leicht salzig, rahmig	0	0	0	0	0	1,7 x 10 ⁷	1,1 x 10 ⁷	1,3 x 10 ⁷
Hartkäse aus Rohmilch (Planprobe)	10/2010	brennend-beißig, würzig	46	43	723	513	1325	3,6 x 10 ⁶ Tyramin-positiv	2,8 x 10 ⁷ Histamin-positiv	1,7 x 10 ⁷ Tyramin-positiv
Hartkäse aus Rohmilch (Nachprobe)	01/2011	milchsäuerlich, mild würzig, nicht brennend	n.n.	n.n.	18	57	75	7,0 x 10 ⁶	4,6 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁷

n.d. = nicht durchgeführt n.n. = nicht nachweisbar

Ergebnisse

In 8 der 43 (18,6 %) im Jahr 2009 untersuchten Proben wurden sehr hohe Gehalte an biogenen Aminen (>1000 mg/kg) festgestellt (Abbildung 2). Übereinstimmend wiesen alle 8 Proben leichte bis starke geschmackliche Abweichungen auf (bizzelnd, beißig, brennend, bitter).

Im Jahr 2010 wurden in 5 der 63 untersuchten Proben (7,9 %) Gehalte an biogenen Aminen >1000 mg/kg nachgewiesen (Abbildung 3). In allen 5 Fällen waren geschmackliche Abweichungen auffällig. Ebenso wurden in diesen 5 Proben präsumtive aminbildende Keime (Enterococcus spp., Lactobacillus buchneri) identifiziert. Mit Hilfe des DCH- resp. DCT-Agars konnte die Tyramin- und/oder Histaminbildung bei diesen Isolaten bestätigt werden.

Bei 9 der insgesamt 13 Proben (69,2 %) mit Amingehalten >1000 mg/kg handelte es sich um Hartkäse, bei 3 Proben um Schnittkäse (23,1 %) und bei 1 Probe um halbfesten Schnittkäse (7,7 %). 9 der 13 Proben wurden mit Rohmilch (69,2 %), 4 ohne Rohmilch (30,8 %) hergestellt.

Der Maximalwert von 2614 mg/kg biogenen Aminen gesamt (Histamin: 1058 mg/kg) wurde bei dem der Verbraucherbeschwerde zugrunde liegenden Hartkäse gemessen (Abbildung 4). In regelmäßigen zeitlichen Abständen untersuchte Proben aus dieser Käserei wiesen überwiegend geringe bis mäßige Amingehalte auf (Tabelle 1). Bei einer im Herbst 2010 sensorisch, chemisch-analytisch und mikrobiologisch auffälligen Probe konnten bei weiteren Nachforschungen vor Ort bauliche Maßnahmen an der Melkanlage als wahrscheinliche Ursache einer mikrobiologisch-hygienischen Beeinträchtigung während der Produktion eruiert werden.

Schlussfolgerungen

Sehr hohe Gehalte an biogenen Aminen sind i.d.R. mit sensorischen Abweichungen assoziiert. Darüber hinaus sind in diesen Fällen Tyramin- und/oder Histaminbildner isolierbar. Es wurde folglich eine Korrelation zwischen Sensorik, Mikrobiologie und HPLC festgestellt.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass insbesondere in Hartkäsen sehr hohe Gehalte an biogenen Aminen auftreten können. Die absteigende Tendenz von Hartkäse über Schnittkäse zu halbfestem Schnittkäse spricht für eine Proportionalität zwischen Reifedauer des Käses und Amingehalt. Allerdings sind die Ergebnisse bei halbfestem Schnittkäse aufgrund der bislang geringen Probenzahl nur bedingt aussagekräftig. Bei Käsen aus Rohmilch wurden hohe Gehalte an biogenen Aminen häufiger festgestellt als bei Käsen aus wärmebehandelter Milch. Während bei Rohmilchkäse u.a. die Rohmilchflora ursächlich in Betracht gezogen werden kann, muss bei Käsen aus wärmebehandelter Milch von einer Rekontamination ausgegangen werden. Die mikrobiologischen Untersuchungsergebnisse i.V.m. den vor Ort gewonnenen Erkenntnissen lassen erkennen, dass die Betriebshygiene einen entscheidenden Einfluss auf den Gehalt an biogenen Aminen in Käse hat.

Regelmäßige sensorische Stichproben beim Hersteller (z.B. im Rahmen einer gezielten Eigenkontrolle) können dazu beitragen, abnorme Käse frühzeitig zu erkennen. Aufgrund des Anstiegs der Amingehalte durch die mikrobielle Aktivität während der Reifung, ist bei Auffälligkeiten von einer vollständigen Ausreifung abzuweichen und eine vorzeitige Verwertung der Käse anzuraten, um zu gewährleisten, dass ausschließlich qualitativ einwandfreie Käse in Verkehr gebracht werden.

Literatur:

- ALP (2009): Bedeutung biogener Amine in der Ernährung und deren Vorkommen in Schweizer Käsesorten. ALP Forum 2009 Nr. 73 d.
- BFR (2010): Bewertung von Histamin in Lebensmitteln. Stellungnahme vom 11.03.2010.
- BOVER-CID, HOLZAPFEL (1999): Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol. 53, 33-41.
- MAJALA ET AL. (1993): Formation of histamine and tyramine by some lactic acid bacteria in MRS-broth and modified decarboxylation agar. Let. Appl. Microbiol. 17, 40-43.

Anschrift der Verfasser:

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg
Am Moosweiher 2, 79108 Freiburg
e-mail: poststelle@cvuafv.bwl.de