

Mikrobiologisch-genetische Ressourcen bei Fleisch

Biodiversität und nachhaltige Nutzung bei der Herstellung von Fleisch-Erzeugnissen

Lothar Kröckel (Kulmbach)

Die mikrobiologische Vielfalt im Lebensmittel Fleisch hängt von der Produktbeschaffenheit ebenso ab wie von den Lagerungsbedingungen, der Verarbeitung und den residenten Mikroorganismen in den Herstellerbetrieben, der sogenannten „Hausflora“. Hygienefehler können diese Systeme aus dem Gleichgewicht bringen und zu frühzeitigem Verderb oder im schlimmsten Fall zu erhöhten gesundheitlichen Risiken für den Verbraucher führen. Mikroorganismen von tatsächlichem oder potenziellem Wert für die natürliche Konservierung von Fleisch, etwa als Starter- und Schutzkulturen, bzw. bestimmte Teile ihres Erbguts sind unverzichtbare mikrobiologisch-genetische Ressourcen für innovative Entwicklungen vor dem Hintergrund sich wandelnder Konsumgewohnheiten und Konsumentenansprüche.

Die heute bei Fleisch-Erzeugnissen eingesetzten Mikroorganismen-Kulturen umfassen unterschiedliche Bakteriengruppen sowie Hefen der Gattung *Debaryomyces* und Schimmelpilze der Gattung *Penicillium* (Tab. 1). Die großen Fortschritte der Lebenswissenschaften und Biotechnologie in neuerer Zeit erlauben es, zunehmend auch die komplexen ökophysiologischen Zusammenhänge und die Bedeutung der mikrobiologischen Vielfalt zu verstehen. Sie bilden die Grundlage für die verstärkte Nutzung von mikrobiologisch-genetischen Ressourcen in Forschung und Industrie.

Am Max Rubner-Institut (MRI) am Standort Kulmbach erfassen wir seit etwa 30 Jahren fleischadaptierte Bakterien, die als potenzielle Starter- und Schutzkulturen für Fleisch-Erzeugnisse von Bedeutung sein können sowie als Referenzkulturen für Untersuchungen zur Mikroorganismenflora von Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen dienen. Die rund 1000 Isolate wurden auch in der online-Datenbank MGRDEU (Genetische Ressourcen bei Mikroorganismen in Deutschland, www.genres.de/mgrdeu) dokumentiert. Die Sammlung des MRI-Instituts für Sicherheit und Qualität bei Fleisch in Kulmbach bildet eine gute Ausgangsbasis für Screening-Arbeiten zu sensorisch und gesundheitlich inter-

essanten Aspekten fleischadaptierter Milchsäurebakterien und Staphylokokken.

Tab.1: Starter und Schutzkulturen für Rohwurst und Rohschinken

<i>Lactobacillus sakei</i> ¹⁾	<i>Staphylococcus carnosus</i> ³⁾
<i>curvatus</i>	<i>xylosus</i>
<i>plantarum</i>	<i>equorum</i>
<i>pentosus</i>	<i>Kocuria varians</i>
<i>paracasei</i> ²⁾	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>pentosaceus</i>	
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Leuconostoc carnosum</i>	<i>Penicillium nalgiovense</i>

1) subspecies *carnosus*; 2) subspecies *paracasei*; 3) subspecies *carnosus*

Milchsäurebakterien als „goodies“ und „badies“

Milchsäurebakterien gehören zur natürlichen Mikroflora von Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen. Einige Arten spielen eine herausragende Rolle bei der Biokonservierung von Rohwurst. Darüber hinaus können manche Stämme als Schutzkulturen auch bei vorverpackten, kühlgelagerten Aufschnittwaren, wie Brühwurst- und Kochschinken-Erzeugnissen, die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* und anderen unerwünschten Keimen verhindern. Bacteriocin-bildende Stämme – also Stämme, die Bakterien abtötende Eiweiße produzieren – sind hier von besonderem Interesse.

Milchsäurebakterien spielen aber auch eine wichtige Rolle beim Verderb von Fleisch-Erzeugnissen durch Übersäuerung, Gas-, Peroxid- und Dextranbildung. Solche Stämme kommen als Schutzkulturen nicht in Frage. Sie sollten aber durch die eingesetzte Schutzkultur wirksam unterdrückt werden. Die Identifizierung und Charakterisierung der auf Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen vorkommenden Mikroorganismen liefert eine Grundlage für Aussagen zur Sicherheit und Qualität dieser Lebensmittel sowie für sinnvolle Innovationen in diesem Bereich.

Einen breiten Raum nimmt gegenwärtig die Diskussion gesundheitsfördernder Aspekte durch sogenannte probiotische Mikroorganismen ein. Ausgewählte Isolate mit Einsatzpotenzial bei Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen sowie fleischassoziierte Referenzorganismen werden in diesem Zusammenhang gesammelt und für künftige Projekte zur Sicherheit und Qualität bei Fleisch vorgehalten. Von solchen Sammlungen profitiert zunächst vor allem die Wissenschaft, denn dadurch wird es möglich, bisher unbekannte Mikroorganismen zu identifizieren und neue Anwendungsmöglichkeiten zu suchen. Zum Beispiel konnten wir vor wenigen Jahren durch vergleichende Untersuchungen in vorverpackten, schnell gereiften deutschen Rohwürsten ein bis dato unbekanntes Milchsäurebakterium, *Lactobacillus versmoldensis*, identifizieren und in Kooperation mit Experten aus Karlsruhe und München als neue Art beschreiben. Seitdem wurde dieser Mikroorganismus weltweit auch in anderen Lebensmitteln gefunden. Bemerkenswert ist seine hohe Salztoleranz und die Vielfalt der Lebensmittel, aus denen er isoliert wird. In ähnlicher Weise haben wir am Institut für Sicherheit und Qualität bei Fleisch des MRI kürzlich eine weitere neue *Lactobacillus*-Spezies aus einer Geflügelroh-wurst identifiziert, die man zuvor nur bei japanischem Sauergemüse kannte.

Mikroorganismen als Schutzkulturen

Die Erforschung der genetischen Diversität innerhalb der fleischadaptierten Milchsäurebakterien spielt weltweit eine immer größere Rolle für künftige Anwendungen (Abb. 1). Neue Einsatzmöglichkeiten ergeben sich unter anderem aus spezifischen Hemmwirkungen gegen potenziell pathogene Bakterien wie *Listeria monocytogenes*, die sich vor allem auf kühl gelagerter vorverpackter Aufschnittware, zum Beispiel Kochschinken, Brühwurst oder Geflügelbraten, gut vermehren können. Konkurrenzstarke, mildsäuernde Milchsäurebakte-

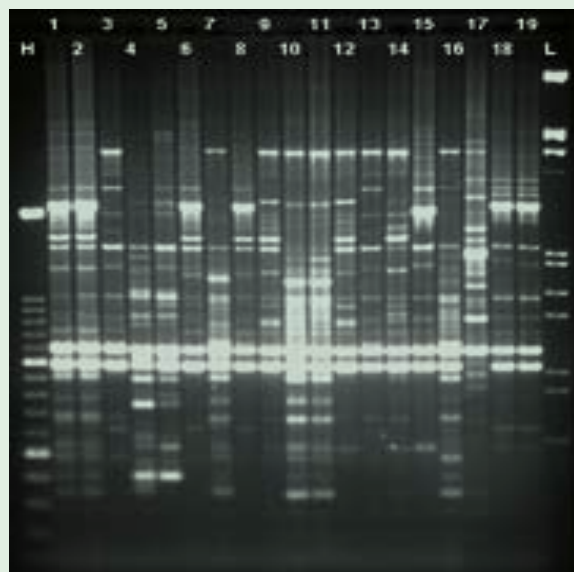
rien, die anti-listerielle Bacteriocine bilden, können als Schutzkulturen eine Alternative zur chemisch-physikalischen Konservierung bieten und so bei gleicher mikrobiologischer Sicherheit sensorisch hochwertigere Erzeugnisse ermöglichen. Interessant sind hier vor allem Stämme der Arten *Lactobacillus sakei* und *Leuconostoc carnosum*. Auch bei rohem, unter Schutzatmosphäre verpacktem Fleisch können Schutzkulturen die Vermehrung unerwünschter Mikroorganismen unterbinden. Die Sammlung fleischassoziiierter Milchsäurebakterien der Kulmbacher Fleischforschung war der Ausgangspunkt für mehrere grundlegende und angewandte Arbeiten zu den weithin bekannten Bacteriocinen Sakacin A und Sakacin P von *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus*.

Die Kulmbacher Sammlung enthält mehrere gut charakterisierte Stämme dieser Bacteriocinbildner, unter anderem auch den „Urahn“ von *L. sakei* LTH673, den Stamm Lb85. Auf der Grundlage früherer Arbeiten wurde gemeinsam mit Kollegen aus Norwegen bei den *Lactobacillus sakei*-Stämmen Lb674 und LTH673 neben dem Sakacin P ein weiteres Bacteriocin, Sakacin Q, beschrieben, das das antimikrobielle Spektrum dieser Stämme erweitert. Diese Arbeiten liefern die Grundlage für den intelligenten und innovativen Einsatz von Schutzkulturen bei Lebensmitteln. Vakuum verpackter Brühwurstaufschnitt mit anti-listeriellen Schutzkulturen wurde erstmals zur Internationalen Grünen Woche 2010 in Berlin einer breiteren Öffentlichkeit vorgestellt (Abb. 2).

Stammsammlungen als Reservoir

Aus der Zeit um 1976, als der Einsatz von Starterkulturen bei Fleisch-Erzeugnissen noch weniger verbreitet war als heute, gab es

Abb. 1: Molekulargenetische Vielfalt von *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus* Isolaten (1–16, 18, 19) aus verschiedenen erhitzten, vorverpackten Aufschnittwaren aus dem Handel



Genomischer Fingerabdruck mittels BOX-PCR: charakteristische Abschnitte des Genoms werden durch eine spezielle Polymerase-Kettenreaktion vervielfältigt und in einem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt



Abb. 2: Verkostung von innovativen Fleisch-Erzeugnissen (Brühwurst mit anti-listeriellen Schutzkulturen, Salami mit probiotischen Laktobazillen, Rohschinken hergestellt mit Starter- und Schutzkulturen) am Stand des MRI-Instituts für Sicherheit und Qualität bei Fleisch auf der Internationalen Grünen Woche 2010.

in der Mikroorganismensammlung der Kulmbacher Fleischforschung mehrere nicht näher untersuchte Milchsäurebakterien, die damals vor allem aus Rohwurst isoliert wurden. Diese Isolate wurden im Zuge der Aktualisierung der online-Dokumentation (genres/mgrdeu) einer Überprüfung und Re-Identifizierung unterzogen. Theoretisch sollten diese Isolate eine größere biologische Vielfalt aufweisen als sie heute in industriell hergestellten Salamiwürsten zu erwarten ist. Insofern stellen sie eine wichtige mikrobiologisch-genetische Ressource für künftige experimentelle Arbeiten dar.

Bakterienstämme beeinflussen den Geschmack

In Zusammenhang mit dem zunehmenden Einsatz probiotischer Bakterien auch bei Fleisch-Erzeugnissen haben wir kommerziell verfügbare Stämme sowie Stämme aus entsprechenden Rohwürsten isoliert, phänotypisch und genotypisch charakterisiert und in die Sammlung aufgenommen. Diese Arbeiten sind von Bedeutung für die Beurteilung von Lebensmitteln, die als probiotisch beworben werden, und grundlegend für die Rückverfolgbarkeit wirtschaftlich interessanter Stämme.

Für Rohwurst kommen am ehesten Stämme aus der *Lactobacillus plantarum*- sowie der *Lactobacillus casei*-Gruppe in Frage. Mit Blick auf eine nachhaltig hohe Keimzahl der probiotischen Mikroorganismen im fertigen Produkt schneidet *Lactobacillus paracasei* subsp. *casei* sogar besser ab als der seit Jahrzehnten als Rohwurststarter eingesetzte *Lactobacillus plantarum*. In herkömmlicher Salami wird *L. paracasei* weniger schnell von den fleischeigenen Milchsäurebakterien *L. sakei* und *L. curvatus* verdrängt als *L. plantarum*. Vier Wochen nach Herstellungsbeginn liegt die Keimzahl des probiotischen *L. paracasei* Stammes im Regelfall immer noch 10fach über der für eine probiotische Wirkung geforderten Mindestmenge, während *L. plantarum* die kritische Marke (1 Mio. Kolonie-bildende Einheiten pro Gramm) oft unterschreitet. Wie ein Beliebtheitsstest anlässlich der Internationalen Grünen Woche 2010 zeigte, wird die mit *L. plantarum* hergestellte Wurst eher vom männlichen („kräftiger im Geschmack“) und die *L. paracasei* Variante eher vom weiblichen („milder“) Konsumenten bevorzugt.

Rohschinken rückt ins Blickfeld

Vor dem Hintergrund gestiegener Ansprüche an die Sicherheit und Qualität von Fleisch-Erzeugnissen werden heute auch Rohschinken zunehmend mit kommerziell verfügbaren Starter- und Schutzkulturen hergestellt. Man will damit den in seiner Qualität von Charge zu Charge schwankenden Rohstoff Fleisch besser standardisieren und mikrobiell bedingte Risiken und Qualitätsabweichungen durch Lebensmittelvergifter und Fäulniserreger minimieren. Milchsäurebakterien sollen die Verarbeitungseignung des Rohstoffs (Salzaufnahme) standardisieren und bei Aufschnittware aus wenig abgetrockneten Rohschinken die mikrobiologische und sensorische Qualität während der Lagerung sichern. Staphylokokken wie *S. carnosus* und *S. equorum* sollen unter anderem die Vermehrung pathogener Staphylokokken (*S. aureus*) unterbinden.

Welche Bedeutung dabei den zugesetzten Bakterien wirklich zukommt, ist noch weitgehend unbekannt. In einem laufenden Projekt untersuchen wir, wie sich die Zugabe von Starter- und Schutzkulturen bei der Herstellung auf die mikrobiologische Qualität von Rohschinken auswirkt. ■



Max Rubner-Institut
Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel

Dr. Lothar Kröckel,
Max Rubner-Institut, Institut für
Sicherheit und Qualität bei Fleisch,

E.-C.-Baumann-Str. 20, 95326 Kulmbach.
E-Mail: lothar.kroeckel@mri.bund.de