

## Von Schlüsseleigenschaften zur Systembiologie – am Beispiel von Starterkulturen für die Rohwurstreifung

**Prof. Dr. Rudi F. Vogel**

Technische Universität München, Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie

Die Entwicklung von Starterkulturen für Lebensmittelfermentationen basierte lange Zeit auf den Traditionen der Herstellungsprozesse und einer von Empirie getriebenen Vorgehensweise. Typische Vertreter der Mikrobiota fermentierter Lebensmittel wurden isoliert, charakterisiert, Lebensmittelrohstoffen zugesetzt und über die Sensorik des fertigen Produkts bewertet. Für die Bewertung und Auswahl von Kulturen wurden „Schlüsseleigenschaften“ herangezogen. Diese wurden entlang der Vorstellungskraft der Entwickler gewählt, als solche Eigenschaften, von denen angenommen wurde, dass sie voraussichtlich einen bedeutenden Einfluss auf das Verhalten der Stämme im Prozess und die (hygienische) Sicherheit und Sensorik des Produktes haben werden. Die Anzahl der Schlüsseleigenschaften wurde mit dem Fortschreiten der Entwicklung immer vielfältiger und umfasste z. B. die Bildung biogener Amine, Abwesenheit von übertragbarer Antibiotikaresistenz, effektive Zuckerverwertung und Säurebildung, Bildung von Bakteriozinen, Phagenresistenz, Transaminase- und Peptidaseaktivität, Autolyse oder Exopolysaccharidbildung. An Grenzen gelangt diese Strategie, wenn Stammkombinationen eingesetzt werden sollen oder Rohmaterialien verwendet werden, die nicht pasteurisiert werden können. Diese bringen ein unbekanntes Mikrobiom an autochthonen Stämmen unvermeidbar in die Fermentation ein, gegen das sich die Starterstämme behaupten sollen. Vorhersagen zu durchsetzungsfähigen Stammkombinationen oder Interaktionen von Stämmen, die maßgeblich die Struktur und Sensorik der Produkte bestimmen, entziehen sich dann einer hypothesengeleiteten Analyse entlang Schlüsseleigenschaften.

Die Systembiologie kann hier Lösungen anbieten, indem sie ganzheitliche Betrachtungen des Mikrobioms und seines Stoffwechsels ermöglicht und neue Hypothesen, die sich nicht logisch aus der Empirie ableiten ließen, generiert. Hierbei kommen insbesondere verschiedene Sequenzieretechniken zur Anwendung, mit denen sowohl Einzel- als auch Meta-Genome, -Transkriptome und -Proteome generiert werden. Mithilfe bioinformatischer Methoden können in der Folge Stämme oder auch ganze Konsortien ganzheitlich verglichen, und die Daten für die *In-silico*-Vorhersage metabolischer Netzwerke und Interaktionen unter Stämmen genutzt werden. Die dabei neu generierten Arbeitshypothesen zu Metabolismus und Interaktion verschiedener Stämme in einer Fermentation können dann zielgerichtet in biochemischen Experimenten und Lebensmittelfermentationen geprüft werden.

Eine vorrangige Eigenschaft für Starterstämme in der Rohwurstreifung ist deren Durchsetzungsfähigkeit gegenüber autochthonen Stämmen aus der zwangsläufig unpasteurisierten Rohware. Sie bestimmt letztlich die (hygienische) Sicherheit ebenso wie die gleichbleibende Sensorik. Obwohl regelmäßig Stammkombinationen aus Milchsäurebakterien und Staphylokokken eingesetzt werden, existieren keine wissenschaftlichen Entscheidungskriterien für Stammkombinationen. Zudem erscheint die Durchsetzungsfähigkeit als eine multifaktorielle Eigenschaft, die mit einfachen Arbeitshypothesen entlang Schlüsseleigenschaften kaum vorhersagbar ist.

Entlang eines Rohwurstmodells, in dem Stämme von *Lactobacillus (L.) curvatus* und *L. sakei* im Wettbewerb auf Durchsetzungsfähigkeit geprüft wurden, zeigte sich, dass sich entweder Einzelstämme oder (eher) Stammpaare innerhalb einer Stammgruppe durchsetzen. Das Weglassen eines Gewinner- oder Partnerstamms führte zu typischen Szenarien: (i) es setzt sich anstelle des Gewinner-Einzelstamms ein anderes Stammpaar durch, (ii) der verbliebene Partnerstamm kann sich ohne seinen Partner nicht durchsetzen oder (iii) er findet innerhalb der vorhandenen Stämme der

Gruppe/der autochthonen Stämme einen neuen Partnerstamm. Durch vergleichende Genomik und Ableitung von Stoffwechseleigenschaften dieser Stämme konnte *in silico* gezeigt werden, dass Einzel-Gewinnerstämme sich entweder durch Bakteriozinbildung oder ggf. auch durch Biofilmbildung gegenüber anderen durchsetzen können. Partnerstämme bilden dagegen eine stabile Kolonisierungsresistenz aus, indem sie unterschiedliche Nischen des reichen Habitats der Rohwurstmatrix besetzen, ohne sich gegenseitig Konkurrenz zu machen. In der Folge finden andere Stämme kaum Raum und Substrat für eine Vermehrung. Die Rückführung solcher Partnerschaften auf genomische Merkmale dieser Stämme offenbart, dass Partnerstämme vielfach Komplementarität im sog. Akzessorischen Genom haben (dem Teil des Genoms einer Art, das nicht in allen Stämmen dieser Art vorhanden ist). Zu diesen Eigenschaften gehören unterschiedliche Ausstattungen im Citrat-, Ribose-, Nukleotid- und Aminosäurestoffwechsel, aber auch der Bakteriozin-, Biofilm- oder Exopolysaccharidbildung, sowie in Prophagen, die lytische Eigenschaften kodieren.

Durch den Einsatz von Techniken der Systembiologie können damit ganzheitliche Profile von Starterstämmen erstellt und Marker für die wissenschaftliche Zusammenstellung durchsetzungsfähiger Stammkombinationen abgeleitet werden. Weitergehende Ansätze der Transkriptomik und Proteomik, d.h. der Bestimmung dessen, was tatsächlich in der Lebensmittelmatrix exprimiert ist, sind in der Rohwurstmatrix aufgrund der hohen intrinsischen Menge an RNA und Peptiden noch eingeschränkt. Gleichwohl ermöglichen diese Techniken tiefer gehende Einblicke in andere Lebensmittelfermentationen wie z.B. fermentierte Milchprodukte, Getränke- oder Getreidefermentationen. Zudem reicht deren Anwendung weit über Lebensmittelfermentationen hinaus in andere Bereiche der Lebensmittelherstellung, -lagerung und des -verderbs. Die Verfügbarkeit der Methoden der Systembiologie eröffnet damit eine völlig neue, ganzheitliche Sichtweise auf Mikrobiome im Lebensmittel, das die derzeitige Lebensmittelmikrobiologie in eine Lebensmittel-System-Mikrobiologie verwandeln wird.