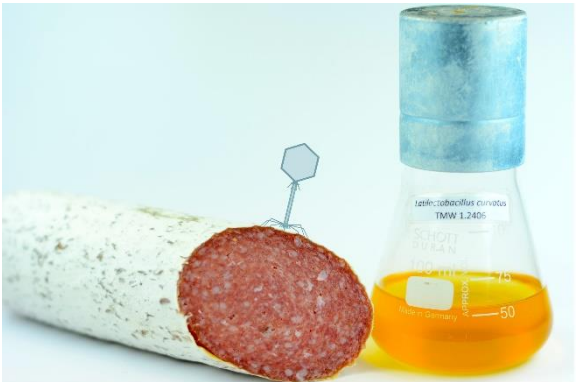
Nutzbarmachung der Bildung von und Resistenz gegen lytische Enzyme von Laktobazillen in der Rohwurstreifung



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Technische Universität München School of Life Sciences Department Molecular Life Sciences Lehrstuhl für Mikrobiologie Prof. Dr. Wolfgang Liebl/Prof. Dr. Matthias A. Ehrmann Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL), Quakenbrück Dr. Volker Heinz/PD Dr. Christian Hertel
Industriegruppe(n):	Bundesverband Deutscher Wurst- & Schinkenproduzenten e.V. (BVWS), Bonn
Projektkoordinator:	Ines Nagelschmidt The Family Butchers Nortrup GmbH & Co. KG, Nortrup
Laufzeit:	2020 – 2024
Zuwendungssumme:	€ 499.311,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation

Für die Herstellung von fermentierten Rohwürsten werden Starterkulturen eingesetzt, um den Fermentationsprozess hinsichtlich Produktsicherheit und Sensorik über die Unterdrückung der autochthonen Mikrobiota zu beherrschen. Einblicke in das Verhalten einzelner Stämme ermöglichten erstmals die abgeschlossenen bzw. laufenden AiF-Projekte 18552N bzw. 19690N. Analysen der Fermentationsmikrobiota während bzw. nach der Fermentationsphase zeigten sowohl in Rohwurstmodellen als auch in Ringversuchen der industriellen Praxis, dass die eingesetzten Stämme unterschiedliche Durchsetzungsfähigkeit haben. Hier ergaben sich Hinweise auf eine bedeutende Rolle Zellwand-lytischer Enzyme für die Durchsetzungsfähigkeit von Latilactobacillus (L.) sakei und L. curvatus. Diese Enzyme sind entweder bakterieneigene Peptidoglycan-Hydrolasen, die am Auf- und Umbau der bakteriellen Zellwand beteiligt sind oder stammen von ins Genom integrierten Prophagen, die durch Induktion aktiviert werden. In einem weiteren Projekt (AiF17803N), das sich mit dem Verderb schutzgasverpackten Fleisches befasste, hat sich gezeigt, dass darin wettbewerbsstarke Stämme von Lactococcus (Lc.) piscium vielerlei Konkurrenten, darunter auch pathogene Listerien unterdrücken können. Auch hierbei scheint eine Hemmung über lytische Enzyme an deren Zelloberfläche ein entscheidender Faktor zu sein. Dies impliziert, dass zellwandlytische Enzyme Einfluss auf die mikrobiellen Geschehnisse in der Rohwurstfermentation und den Reifungsprozess haben können.

Vor Projektbeginn war unbekannt, welche Faktoren die Induktion von Prophagen oder Bildung anderer lytischer Enzyme während der Starterpräparation oder der Rohwurstreifung auslösen oder beeinflussen, und wie sich die Bildung oder Resistenz gegenüber diesen Enzymen auf die Durchsetzungsfähigkeit von L. sakei und L.

curvatus in der Rohwurstreifung auswirkt. Dies verhinderte eine Auswahl von Starterstämmen entlang dieser Kriterien.

Forschungsergebnis

Innerhalb des Projekts gelang eine ausführliche Beschreibung der Prophagenverteilung, sowie deren Induzierbarkeit und Charakteristika innerhalb der Spezies L. sakei und L. curvatus. Dadurch konnte die Vermutung bestätigt werden, dass intakte Prophagen innerhalb dieser Spezies weit verbreitet sind. Durch diese Phagen werden lytische Gene in das genetische Erbgut der potenziellen Fleischstarterkulturen eingebracht, die nach erfolgter Prophageninduktion zu stammspezifischer Lyse führen. Anhand von Modellfermentationen, mit einem Prophagen-enthaltenden L. curvatus Wildtypstamm und dessen Prophagen-freien Stammderivat, konnte zwar Phagen verursachte Lyse nach Starterkulturzugabe in das Brät nachgewiesen werden, ein Einfluss des intakten Prophagen auf den Verlauf der Fleischfermentation wurde bis dato jedoch nicht gezeigt. Selbst nach einer Behandlung mit UV-Licht konnten die im Brät eingemischten Kulturen – durch eine zeitversetzte Lyse, innerhalb der ersten Stunden – zwar die Absenkung des pH-Wertes beeinflussen, jedoch zu keiner Veränderung innerhalb der sensorischen Eigenschaften des Endproduktes führen.

Wirtschaftliche Bedeutung

Mit dem in dieser Arbeit generierten Modellsystem, lässt sich der Einfluss von Phagen-induzierter Lyse nicht nur im Bereich der Fleischfermentation abschätzen, sondern auch in anderen Lebensmittelfermentationen (beispielsweise Kimchi), in denen L. curvatus als Starterkultur beteiligt ist.

Salamis, die mit Zugabe mechanisch aufgeschlossener Zellen hergestellt wurden, zeigten veränderte Fermentationseigenschaften und eine veränderte Sensorik. Aufgrund der induzierten Lyse würden die untersuchten Prophagen-tragenden Starterkulturen ebenfalls intrazelluläre Substanzen in die Matrix freigeben, ähnlich wie bei dem mechanischen Zellaufschluss. Nach der Behandlung mit UV-Licht zeigten die behandelten Kulturen eine induzierte Lyse nach mehreren Stunden, wobei wiederum die Absäuerung der Salami beeinflusst wurde, nicht aber die Sensorik des Endproduktes. Zusätzlich zeigte die Modellfermentationen mit einem lysogenem Wildtypstamm und einem Phagen-freien Stamm keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der Fleischfermentationen hinsichtlich Durchsetzungsfähigkeit der eingesetzten Starter oder Reifungsgeschwindigkeit der Rohwürste. Weiterhin konnten im Rohwurstmodell keine Anzeichen gefunden werden, dass L. sakei oder L. curvatus während der Reifung autolysieren oder dass Autolyse die Durchsetzungsfähigkeit beeinflusst.

Zuletzt konnte festgehalten werden, dass die Lyse der Laktobazillen, während der Fermentation, keine negativen Auswirkungen auf das Endprodukt zu haben scheint. Unter diesen Gesichtspunkten ist eine unmittelbare Berücksichtigung temperenter Phagen nach derzeitigem Wissensstand als Auswahlkriterium für Starterkulturen für Fleischfermentationen nicht gefordert. (Temperente) Phagen sind ein natürlicher Bestandteil einer Mikrobiota und weit verbreitet innerhalb der hier untersuchten Spezies, sowie unter Laktobazillen im Allgemeinen. Im Projekt konnte eine Freisetzung von Phagen während der Reifung durch den gewählten Modellorganismus nachgewiesen werden. Eine generelle Gefahr durch Phagen(partikel) für den menschlichen Organismus ist zum heutigen Stand nicht nachgewiesen und auch nicht zu erwarten (Łusiak-Szelachowska et al. 2020). Bei der Auswahl von möglichen Starterkulturen kann unter der Berücksichtigung von entdeckten lytischen Eigenschaften festgehalten werden, dass keine negativen Beeinträchtigungen bei der Fermentation und Reifung zu erwarten sind. Der Einsatz dieser Kulturen zeigt eher den gegenteiligen Effekt und begünstigt die Geschwindigkeit der Absäuerung positiv, sowie das Wachstum anderer vorliegender Mikroorganismen. Eine Inkludierung temperenter Phagen in die bisherigen Auswahlkriterien für Fleischstarterkulturen kann erforderlich werden, falls (temperente) Phagen entdeckt werden, die einen signifikanten Einfluss auf die sensorischen Eigenschaften des Endproduktes zeigen, oder nachgewiesen wird, dass die während einer Rohwurstfermentation durch lysogene Starterkulturen freigesetzten Phagen zu gesundheitlichen Bedenken führen könnten.

Die Ergebnisse geben den Herstellern und Anwendern von Starterkulturen in der fleischverarbeitenden Industrie Sicherheit. Insbesondere KMU können auf die aufwendige und kostenintensive Untersuchung von Starterstämmen hinsichtlich des Vorhandenseins von Prophagen und des Autolyse-Verhaltens verzichten. Im Gegenteil, mit den Erkenntnissen aus diesem Projekt können sie die möglichen Vorteile der Verwendung phagentragender Stämme in Starterkulturen ins Visier nehmen und ihren Produktionsprozess bzw. ihre optimieren.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2024.
2. Ambros, C. L. & Ehrmann, M. A.: Distribution, inducibility, and characterisation of prophages in Latilactobacillus sakei. BMC Microbiol. 22(1):267, DOI: 10.1186/s12866-022-02675-y (2022).
3. Ambros, C. L. & Ehrmann, M. A.: Distribution, inducibility, and characteristics of Latilactobacillus curvatus temperate phages. Microbiome Res. Rep. 2 (4), DOI: 10.20517/mrr.2023.18 (2023).
4. Merz, M., Schiffer, C., Klingl, A. & Ehrmann, M. A.: Characterization of the major autolysin (AtlC) of Staphylococcus carnosus. BMC Microbiol. 24(1):77, DOI: 10.1186/s12866-024-03231-6 (2024).
5. Bardischewski, T., Vallo, S., Nitzsche, R., Kuropka, B., Rodríguez-Rojas, A. & Hertel, C.: Prophage-mediated endolysis of Latilactobacillus sakei TMW 1.1290 and TMW 1.2292 induced by exogenous technologies. Appl. Environ. Microbiol. 25:435 (2024).
6. Ambros, C. L. & Ehrmann, M. A.: Fate, inducibility, and behavior of Latilactobacillus curvatus temperate phage TMW 1.591 P1 during sausage fermentation. J. Appl. Microbiol. 135 (7): lxae175 (2024).
7. Jahresbericht des DIL e.V. 19/20, S. 68-69 (2021).
8. Jahresbericht des DIL e.V. 20/21, S. 92-93 (2022).
9. Jahresbericht des DIL e.V. 2022, S. 101 (2023).
10. Jahresbericht des DIL e.V. 2023, S. 60-61 (2024).

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität München
School of Life Sciences
Department Molecular Life Sciences
Lehrstuhl für Mikrobiologie
Emil-Ramann-Str. 4, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-3301
Fax: +49 8161 71-3327
E-Mail: m.ehrmann@wzw.tum.de

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL)
Prof.-von-Klitzing-Straße 7, 49610 Quakenbrück
Tel.: +49 5431 183-142
Fax: +49 5431 183-114
E-Mail: c.hertel@dil-ev.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

… ein Projekt der ***Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)***

Gefördert durch:

Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

FORSCHUNGSKREIS DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

INDUSTRIELLE GEMEINSCHAFTSFORSCHUNG

Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: © *Conrad Ambros (eigene Aufnahme)*

Stand: 24. Februar 2026