Konsekutive fungale und bakterielle Biokonversion zur Herstellung von Fermentaten mit anti-gramnegativer Aktivität



Koordinierung	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle(n):	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL), Quakenbrück Dr. Volker Heinz/PD Dr. Christian Hertel
	Universität Hannover Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Dr. Ralf Günter Berger/Dr. Franziska Ersoy
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:	€ 496.253,--

Ausgangssituation

Gramnegative Bakterien, wie *Salmonella enterica* und *Escherichia coli*, sind bei rohen Fleischwaren bzw. rohen, nicht durchgegarten Wurstwaren nach wie vor Auslöser von Rückrufen und Lebensmittelinfektionen. Die Salmonellose war 2023 mit über 10.000 Fällen die zweithäufigste meldepflichtige bakterielle gastrointestinale Krankheit in Deutschland. Zum Erhalt der Lebensmittelsicherheit werden häufig Konservierungsmittel, wie organische Säuren, Salz oder Nitrit, verwendet. Allerdings werden bei höheren pH-Werten höhere Konzentrationen dieser Stoffe benötigt, um eine ausreichende Konservierung zu erhalten. Dies kann mit unerwünschten Beeinträchtigungen der sensorischen Qualität der Produkte oder bei Nitrit und Salz unter Umständen auch mit negativen gesundheitlichen Aspekten verbunden sein. Außerdem werden diese Konservierungsmittel zunehmend von den Verbrauchern abgelehnt, was den anhaltenden Clean-Label-Trend, d. h. eine Konservierung durch lebensmitteleigene Stoffe, begründet. Natürliche antimikrobielle Stoffwechselprodukte der Milchsäurebakterien können eine Alternative darstellen, wie das Beispiel das Bakteriozin Nisin von *Lactococcus lactis* zeigt, das bei anderen Lebensmitteln, wie z. B. Schmelzkäse und gereiftem Käse, bestimmten Puddings, Mascarpone und pasteurisiertem Flüssigei, als Zusatzstoff (E 234) eingesetzt wird.

Eine der größten Herausforderungen bei der Lebensmittelkonservierung stellt die hohe Toleranz gramnegativer Bakterien gegenüber vielen antimikrobiellen Substanzen dar. Ein Grund hierfür ist die Barrierewirkung der äußeren Membran. Eine Destabilisierung der äußeren Membran durch Chelatbildung von zweiwertigen Kationen könnte die Wirkung antimikrobieller Substanzen verbessern. Der Chelatbildner Ethylendiamintetraacetat (EDTA) ist zwar als Zusatzstoff (E 385) zugelassen, aber nur für bestimmte Lebensmittel; außerdem ist E 385 ein Chemosyntheseprodukt. Derzeit existieren keine

natürlichen Chelatbildner in Lebensmittelqualität, die als Alternative für E 385 dienen könnten. Bestimmte Phenolsäuren destabilisieren nicht nur die äußere Membran, sondern haben auch eine antimikrobielle Aktivität gegenüber gramnegativen Bakterien. Vorarbeiten der Forschungsstellen in einem Fleischmodell zeigten nicht nur eine antimikrobielle Wirkung der Verbindungen 3-Hydroxyphenylessigsäure und 3-Phenylpropionsäure gegen *E. coli* und *Salmonella*, sondern auch eine synergistische Wirkung dieser Verbindungen mit Nisin, das eigentlich nur gegen grampositive Bakterien wirkt. Eine fermentative Herstellung solcher natürlichen antimikrobiellen Verbindungen und Chelatbildner aus phenolreichen agro-industriellen Nebenströmen könnte eine wirtschaftliche interessante Option zur Wertschöpfung dieser Nebenströme eröffnen.

Ziel des Forschungsvorhaben war es, ein zweistufiges, konsekutives Biokonversionsverfahren zur Umwandlung von niederwertigen, agro-industriellen Nebenprodukten in ein hochwertiges Fermentat mit anti-gramnegativer und antioxidativer Aktivität zu entwickeln.

Forschungsergebnis

Dieses Projekt untersuchte die Aufwertung von lignozellulosehaltigen agroindustriellen Nebenprodukten für die Produktion von natürlichen antimikrobiellen Stoffen gegen gramnegative Bakterien und deren Anwendung in der Produktion von fermentierten Rohwürsten gegen gramnegative Bakterien. Dies sollte durch eine zweistufige Fermentation mit Basidiomyceten und Milchsäurebakterien erreicht werden, um die potenzielle synergistische Wirkung von Phenolsäuren und Bakteriocinen aus Milchsäurebakterien zu nutzen. Die Phenolsäuren, die durch die enzymatische Hydrolyse des Ligninanteils des Nebenprodukts während des ersten Fermentationsschritts entstehen, würden die Membranen der gramnegativen Bakterien durch die chelatbildende Wirkung von zweiwertigen Ionen destabilisieren und so die Aktivität der im zweiten Fermentationsschritt produzierten Bakteriozine der Milchsäurebakterien verstärken.
Zu Beginn des Projekts wurde gezeigt, dass eine physikalische Vorbehandlung des lignozellulosehaltigen Nebenprodukts Weizenkleie entweder mit hydrothermaler Spaltung oder mit High Pressure Processing (HPP) die Konzentration fermentierbarer, löslicher Kohlenhydrate erhöhen kann, was ein schnelles Wachstum der Basidiomyceten ermöglicht und das Potenzial für eine verstärkte enzymatische Hydrolyse von Lignin während des ersten Fermentationsschritts erhöht. Zusätzlich wurden Vorbehandlungen mit 2-Naphthol bzw. Resorcin und Schwefelsäure getestet. Darauffolgende Fermentationen der vorbehandelten Weizenkleien mit verschiedenen Basidiomyceten zeigten eindeutig, dass der Ligninabbau hin zu Phenolsäuren nur in Abwesenheit von Laccasen sowie auf vorbehandelter Weizenkleie erfolgreich war.
Außerdem zeigte sich, dass das Pilzfermentat (1. Fermentationsschritt) das Wachstum und die Bakteriozinproduktion der meisten getesteten Milchsäurebakterienstämme unterstützt, vorbehaltlich der Verfügbarkeit von fermentierbaren Kohlenhydraten wie Glucose, die möglicherweise extern zugeführt werden muss. In-vitro-Versuche zeigten, dass die Zugabe von Bacteriocin-haltigen Fermentaten zu Phenolsäurelösungen in Konzentrationen unterhalb der jeweiligen Minimalen Hemm-Konzentration zu einer Hemmung von Salmonellen führte. Diese Aktivität war jedoch auf einen additiven Effekt der Aktivitäten der einzelnen antimikrobiellen Stoffe zurückzuführen und nicht auf einen synergistischen Effekt. Dabei wurden sowohl kommerziell erhältliche als auch aus dem Ligninabbau durch Basidiomyceten freigesetzte sowie mit Hilfe von natürlichen eutektischen Systemen aus agroindustriellen Nebenströmen extrahierte Phenolsäuren getestet.
Es zeigte sich, dass die Verträglichkeit verschiedener Phenolsäure/Bacteriocin-Kombinationen mit kommerziellen Starterkulturen für fermentierte Würste hauptsächlich von der Zusammensetzung der Starterkulturen abhängt. Dies wurde auf die hemmende Wirkung der verschiedenen Bakteriozine auf die in der Starterkultur vorhandenen säurebildenden Mikroorganismen zurückgeführt. Eine Kombination aus Sakacin A-haltigem Fermentat und 3-Phenylpropionsäure erwies sich unter den verschiedenen untersuchten Kombinationen als die verträglichste antimikrobielle Lösung für die Fermentation von Teewurst. Die potenzielle Schutzwirkung dieser Kombination gegen Salmonellen in einem

Teewurstmodell während der Fermentation und der anschließenden Lagerung bei 4 °C wurde in einem Challenge-Test ermittelt. Die Ergebnisse deuteten auf eine leichte Schutzwirkung während der Fermentation hin, die sich am Ende der Lagerung bei 4 °C noch verstärkte und sich in einer Verringerung der Salmonellen um > 0,5 $\log_{10}$ KBE/g im Vergleich zu Kontrollwürsten ohne den antimikrobiellen Stoff äußerte. Allerdings zeigte sich auch ein negativer Effekt auf die sensorischen Eigenschaften der Teewurst, der auf die Adstringenz der Phenolsäure zurückgeführt wurde. Dies legt den Schluss nahe, dass weitere Forschungen über Technologien, wie z.B. die Verkapselung, erforderlich sind, die diesen negativen Effekt abmildern könnten. Darüber hinaus würden weitere Forschungen zur Herstellung von trockenen Bacteriocin-haltigen Fermentationspräparaten mit kohlenhydratarmen Trägerstoffen eine deutliche Erhöhung der Bacteriocin-Konzentration und möglicherweise auch der antimikrobiellen Wirkung in fermentierten Würsten ermöglichen und eine Übersäuerung durch die Starterkultur verhindern.

Wirtschaftliche Bedeutung

Die deutsche Fleischwarenindustrie ist mittelständisch strukturiert; ca. 400 der insgesamt 700 in diesem Bereich produzierenden Unternehmen sind kleine und mittelständische Unternehmen (KMU). Der Nettoumsatz der Branche betrug 2019 20,7 Mrd. € und 2020 20,5 Mrd. €. Die Herstellung von Produkten mit attraktiven sensorischen Qualitäten und eine hohe Produktsicherheit stehen für Fleischwarenproduzenten gleichermaßen an oberster Stelle. Ein vorrangiges Ziel der Hersteller von streichfähiger Rohwurst (Zwiebelmettwurst, Teewurst) ist es dabei, die Zahl pathogener Bakterien während des Herstellungsprozesses zu minimieren. Dies erfolgt über den Einsatz von Starterkulturen, häufig mit Bakteriozin-bildenden Milchsäurebakterien, und durch die Zugabe von Nitrit und Salz und/oder von Milchsäure. Dennoch können unter bestimmten Umständen insbesondere gramnegative Bakterien, wie *Salmonella* und *E. coli*, den Herstellungsprozess überleben.

Für die Fleischwarenindustrie sind die Ergebnisse dieses Projekts hoffnungsvoll, was die Sicherheit gegen gramnegative Krankheitserreger in rohen fermentierten Produkten angeht. Vor allem für die kleinen und mittleren Unternehmen (KMU), für die die Anwendung von ressourcenintensiven, vollständigen Sicherheits- und Qualitätsmanagementsystemen eine große Herausforderung darstellt, bietet die Anwendung natürlicher antimikrobieller Stoffe ein höheres Maß an mikrobiologischer Sicherheit für ihre Produkte, ohne auf synthetische Konservierungsstoffe zurückgreifen zu müssen. Da die Verbraucher zunehmend natürliche Inhaltsstoffe und Clean Label bevorzugen, können KMU diesen Trend für sich nutzen, indem sie natürliche antimikrobielle Mittel als Verkaufsargument einsetzen und so möglicherweise neue, gesundheitsbewusste Kunden gewinnen. Außerdem können sich KMU als Nischenanbieter auf dem Markt positionieren und Verbraucher bedienen, die speziell nach natürlich konserviertem Fleischprodukten suchen. Die Ergebnisse dieses Projekts sind aber auch für die Zutatenindustrie, die Zulieferer für die Fleischwarenindustrie sind, von hohem Wert, da sie gezeigt haben, dass eine natürliche anti-gramnegative Lösung für die Konservierung von streichfähiger Rohwurst, die auf der kombinierten Wirkung von Phenolsäuren und Bacteriocinen aus Milchsäurebakterien basiert, grundsätzlich möglich ist. Durch weitere Forschung, Optimierung und Diversifizierung in Bezug auf die kombinierbaren Phenolsäuren und Bacteriocine wird dies eine Erweiterung ihres Produktportfolios bedeuten. Darüber hinaus ist es denkbar, dass die in diesem Projekt entwickelte Produktart als Bestandteil antimikrobieller Mischungen mit anderen Zutaten und Zusatzstoffen in Betracht gezogen werden könnte, was zu einer verbesserten antimikrobiellen Wirksamkeit und Effektivität in verschiedenen Lebensmittelanwendungen führt.

Auch wenn der Einsatz von Fermentaten auf europäischer Ebene noch nicht harmonisiert ist und in Deutschland Fermentate kaum Anwendung finden, sind die europäischen Exportmärkte und Weltmärkte auch für die Fleischwarenindustrie und Gewürzindustrie von zunehmender Bedeutung. Letztlich ist die Notwendigkeit der Entwicklung innovativer bioökonomischer Lösungsansätze für den Bereich der Lebensmittelsicherheit ein aktuelles Thema, das den Verbraucherwünschen nach natürlichen Produkten und Clean Labelling entgegenkommt.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2024.
2. Garbe, M.: Stabilisierung von basidiomycetischen Enzymen durch natürliche tief eutektische Systeme. Leibniz Universität Hannover. DOI: 10.15488/18484 (2025).
3. Garbe, M., Lehmann, L. T., Berger, R.G. & Ersoy, F.: Improvement in the stability and enzymatic activity of Pleurotus sapidus lipoxygenase dissolved in natural deep eutectic solvents (NADES). Life, 14(2):271 (2024).
4. Garbe, M., Lutz, L. U., Lehmann, L. T., Strotmann, T., Berger, R. G. & Ersoy, F.: Improving the stability and activity of a dye-decolorizing peroxidase using NADESs. RSC sustain. 2, 1058-1066 (2024).
5. Jahresbericht des DIL e.V., S. 54/55 (2021).
6. Jahresbericht des DIL e.V., S. 96/97 (2022).

Weiteres Informationsmaterial

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL)
Prof.-von-Klitzing-Straße 7, 49610 Quakenbrück
Tel.: +49 5431 183-232
Fax: +49 5431 183-200
E-Mail: v.heinz@dil-ev.de

Universität Hannover
Institut für Lebensmittelchemie
Callinstraße 5, 30167 Hannover
Tel.: +49 511 762-4582
Fax: +49 511 762-4547
E-Mail: rg.berger@lci.uni-hannover.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: © Anthony Leopold - Fotolia.com #27920643

Stand: 18. Februar 2026