

Charakterisierung und technologische Optimierung von Joghurt-Starterkulturen zur Erzielung eines "Joghurt's" mit milder Geschmackscharakteristik

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL) Institut für Mikrobiologie, Kiel Prof. Dr. K. J. Heller
Industriegruppe:	Milchindustrie-Verband e.V., Bonn
	Projektkoordinator: R. Beduhn J. Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg
Laufzeit:	2002 – 2004
Zuwendungssumme:	€ 165.530,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Joghurt ist ein fermentiertes Milchprodukt, dessen thermophile Reifungskulturen überwiegend aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bestehen müssen. „Joghurt mild“ ist ähnlich definiert wie „Joghurt“, anstelle des *L. bulgaricus* werden jedoch andere Lactobazillen (meist *Lactobacillus acidophilus*) verwendet. Die Bezeichnung „Joghurt mild“ ist international umstritten, da das Vorhandensein einer definierten, protosymbiotischen Mikroflora bestehend aus *S. thermophilus* und *L. bulgaricus* als essentiell angesehen wird.

S. thermophilus und *L. bulgaricus* können beide zwar alleine in Milch wachsen, ihr Fermentationsvermögen und Wachstum ist in gemeinsamer Kultur jedoch deutlich stimuliert. Dieses Verhalten wird als Protosymbiose bezeichnet und ist der Hauptgrund für die Zuweisung der Bezeichnung „Joghurt“ zu fermentierten Milchprodukten, die mit aus diesen beiden Organismen bestehenden Kulturen fermentiert werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, einerseits den im Vorläuferprojekt (AiF/FEI-FV 11795 N) isolierten *L. bulgaricus* Stamm molekularbiologisch zu charakterisieren und andererseits mittels klassischer chemischer Mutagenese weitere *L. bulgaricus* Stämme zu isolieren, die Proto-

symbiose mit *S. thermophilus* zeigten, deren Nachsäuerungsvermögen und/oder deren proteolytische Aktivität nach Abschluss der aktiven Fermentation jedoch deutlich verringert war. Diese Stämme sollten ebenfalls molekularbiologisch und hinsichtlich ihrer technologischen Eigenschaften und Eignung charakterisiert werden. Darüber hinaus sollten Untersuchungen zur Stabilität und Phagenresistenz der Stämme durchgeführt werden.

Forschungsergebnis:

Es wurden zwei Selektionsverfahren entwickelt und angewandt, mit denen pH- bzw. Kältesensitive Proteolysemutanten von *L. bulgaricus*-Stamm isoliert wurden. Aus dem Selektionsverfahren zur pH-Sensitivität der Proteolyse ging schließlich eine Mutante (pH-P-11) hervor, die deutlich reduzierte proteolytische Aktivität aufwies, weiterhin Protosymbiose mit *S. thermophilus* zeigte, im Vergleich zum Wildtyp aber bereits bei einem um etwa 0,5 Einheiten höheren pH-Wert die Säuerung einstellte. Ihr Nachsäuerungsvermögen war deutlich reduziert. Selbst nach vier Wochen Kühlagerung konnten - im Vergleich zur eintägigen Lagerung - kaum Geschmacksveränderungen in mit dieser Mutante hergestellten Joghurts nachgewiesen werden. Die Joghurts entsprachen in ihren sensorischen Charakteristika "Joghurt mild" Produkten.

Die pH-P-11 Mutante wurde in umfangreichen Untersuchungen auf ihre technologische Eignung untersucht. Dazu wurde mit dieser Mutante in Kombination mit verschiedenen *S. thermophilus* Stämmen bei verschiedenen Temperaturen (36, 38, 40 und 42°C) Joghurts hergestellt und bezüglich chemischer (Acetaldehyd-Gehalt, Milchsäure-Gehalt, Nachsäuerung), mikrobiologischer (Säuerungszeit, *L. bulgaricus* und *S. thermophilus* Keimzahlen) und organoleptischer Parameter hin charakterisiert; die Reproduzierbarkeit der Charakteristika wurde nachgewiesen. Ein wichtiges technologisches Merkmal der pH-P-11 Mutante ist ihre relativ hohe Keimzahl in mit ihr hergestellten Joghurts selbst nach 4 Wochen Lagerung bei 8 °C. Dazu kommt, dass die pH-P-11 Mutante - im Gegensatz zu Kulturen mit ähnlichen Eigenschaften, die kommerziell erhältlich sind - problemlos auf Standard-Medien nachgewiesen werden kann.

Um die Stabilität der mit der Mutante hergestellten Joghurtkultur zu überprüfen, wurden Einzelkolonien nach ständiger Überimpfung der Kultur für drei Wochen isoliert und auf ihre technologischen Eigenschaften in Joghurtkultur hin überprüft. Mit je zwei aus Einzelkolonien isolierten Stämmen die am Ende der Säuerung einen hohen bzw. einen niedrigen pH-Wert aufwiesen, wurden Joghurtfermentationen durchgeführt. Die Joghurts wurden hinsichtlich der üblichen chemischen, mikrobiologischen und organoleptischen Parameter geprüft. Sie unterschieden sich in diesen Parametern nicht von Joghurts, die mit der pH-P-11 Mutante hergestellt worden waren. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Mutante über ausreichende Stabilität für die kommerzielle Anwendung verfügt. Unter diesem Aspekt ist die Tatsache, dass der Mutationsort nicht identifiziert werden konnte, von nachrangiger Bedeutung.

Im Einvernehmen mit dem Projektbegleitenden Ausschuss wurde auf die Isolierung Bakteriophagen-resistenter Derivate der Mutante zugunsten der sehr umfassenden Charakterisierung der technologischen Eigenschaften (wie oben beschrieben) verzichtet.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Der Anteil der Molkereiunternehmen mit einer verarbeiteten Milchmenge von weniger als 200.000 t pro Jahr betrug an den 118 Molkereiunternehmen in Deutschland im Jahr 2002 ca. 58 %. Nach Angaben des Milchindustrie-Verbandes wurden im gleichen Jahr in Deutsch-

land ca. 1.535.000 t Joghurt und Joghurt-erzeugnisse (auch wärmebehandelt) produziert, von denen etwa ein Viertel exportiert wurde. Im Bereich von Joghurt und Joghurtherzeugnissen stellt "Joghurt mild" das mit Abstand größte Segment dar.

Die im Projekt isolierten milden Joghurtkulturen - zusammen mit der Möglichkeit, diese als sichere und stabile Produktionskulturen einzusetzen - ermöglichen der Industrie, Joghurt mit milder Geschmackscharakteristik zu produzieren, der auch international alle Kriterien erfüllt, die an ein Produkt mit der Bezeichnung „Joghurt“ gestellt werden können. Grundsätzlich vergrößert die Entwicklung neuer Joghurt-Starter die Palette einsetzbarer Kulturen. Hierdurch lässt sich die Flexibilität der Produzenten bei der Anpassung an zukünftige Gegebenheiten des Marktes erhöhen. Die Erhaltung und Schaffung von Flexibilität ist gerade für kleine und mittlere Unternehmen von immenser Bedeutung, um im Wettbewerb bestehen zu können.

Daneben können die isolierten Kulturen zu einer erhöhten Wertschöpfung der Unternehmen beitragen, da sich die durch die Auswahl verschiedener *S. thermophilus* Stämme und der Fermentationstemperatur die Fermentationszeiten im Vergleich zu Joghurt mild Kulturen bis zu etwa drei Stunden bzw. ca. 30 % verkürzen lassen. Eine verbesserte Wettbewerbssituation ergibt sich aus der guten Nachweisbarkeit und hohen Keimzahl der verwendeten Mutante in Joghurtkultur.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2004.
2. Heller, K.J., Möller, C. und Bockelmann, W.: *Lactobacillus bulgaricus*-Kulturen zur Herstellung eines Joghurts mit mildem Geschmack. Dt. Milchwirt. 11, 422-424 (2004).

Weiteres Informationsmaterial:

Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL)
Institut für Mikrobiologie
Hermann-Weigmann-Str. 1, 24103 Kiel
Tel.: 0431/959-2340, Fax: 0431/609-2306
E-Mail: mikrobiologie@bafm.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de