

## Entwicklung und Einsatz von Exopolysaccharid-bildenden Starterkulturen in Fleischwaren

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie FG Lebensmittelphysik und Fleischwissenschaft Prof. Dr. Jochen Weiss
<b>Forschungsstelle II:</b>	Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie Prof. Dr. Rudi F. Vogel
<b>Industriegruppe:</b>	Bundesverband der Deutschen Fleischwarenindustrie e.V. (BVDF), Bonn
	Projektkoordinator: Dr. Tim Martin Seibert Chr. Hansen GmbH, Pohlheim
<b>Laufzeit:</b>	2015 - 2018
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 498.850,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

In Deutschland werden rund 50 % des Fleisches in Form von verarbeiteten Fleischwaren konsumiert. Ein erheblicher Anteil des Umsatzes wird dabei im Export erzielt, nicht nur in den EU-Raum, sondern auch in Drittländer. Insbesondere vor diesem Hintergrund ist die Entwicklung neuer Produktionsverfahren nötig, um deutschen Unternehmen technologische Wettbewerbsvorteile zu eröffnen. Von besonderem Interesse sind dabei neue produktklassenübergreifende Prinzipien, die die Qualität oder Haltbarkeit der Produkte verbessern, Produktionskosten minimieren oder die Herstellung neuer Produkte ermöglichen. Solche transformativen Entwicklungen kommen in jüngster Zeit nicht nur aus dem Anlagenbau und der Verfahrenstechnik, sondern zunehmend auch aus dem Bereich der Lebensmittelmikrobiologie.

Ein neuer Ansatz, der im Fokus des vorliegenden Forschungsvorhabens stand, ist die Entwicklung und der Einsatz von Exopolysaccharid (EPS) bildenden Mikroorganismen in Fleischwaren. Während in der Milch- und

Getreidetechnologie derartige Kulturen bereits verwendet werden, finden sich im Fleischwarenbereich bislang kaum Studien, die sich mit der Nutzung derartiger Kulturen beschäftigt haben.

Im Fokus der Arbeiten standen dabei:

- die Klärung und Nutzbarmachung des Zusammenhangs von EPS-Bildung und Stressantwort in Fleischmatrices,
- die Klärung des Zusammenhangs zwischen den Fermentations- bzw. Bildungsbedingungen der EPS und deren makromolekularer Struktur sowie
- die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der makromolekularen Struktur der EPS und der Qualität von Fleischwaren (Koch- und Formschinken sowie Teewurst).

### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Vorhabens wurden durch Screening-Versuche von 77 Milchsäurebakterienisolaten aus fermentierten (hauptsächlich fleischbasierten) Lebensmittelprodukten

12 Homopolysaccharid (HoPS) und 12 mutmaßlich Heteropolysaccharid (HePS) bildende Stämme identifiziert, die basierend auf Untersuchungen zum Wachstum und zur Überlebensfähigkeit in einem Rohwurst-Simulationsmedium (RSM) bzw. einem speziell entwickelten Schinken-Pökel-Medium für den Einsatz zur Herstellung von Koch- und Formschinken oder (fettreduzierter) Teewurst ausgewählt wurden. Um deren Unbedenklichkeit hinsichtlich übertragbarer Antibiotika-Resistenzen bzw. der Bildung biogener Amine zu garantieren, wurden darüber hinaus antimikrobielle Empfindlichkeitstests bzw. ein Screening auf einem Decarboxylierungs-Agar durchgeführt.

Die chromatographische Untersuchung der monomeren Zusammensetzung der im Simulationsmedium gebildeten EPS zeigte, dass es sich bei den Homopolysaccharid (HoPS) bildenden Stämmen ausschließlich um Glukan-Bildner handelte, während die gebildeten Heteropolysaccharide (HePS) überwiegend aus Glucose, Rhamnose und/oder Galactose aufgebaut waren. Untersuchungen zum Einfluss von Kältestress oder osmotischem Stress auf das Wachstum und die EPS-Struktur ausgewählter Stämme ergaben, dass *L. sakei* TMW 1.411 bei Kältestress (10 °C) bis zu 4 x erhöhte Mengen an Dextran bilden konnte, welches hinsichtlich Molekulargewicht und Radius zudem deutlich vergrößert war. Im Gegensatz dazu war die Dextran-Bildung bei osmotischem Stress durch NaCl (9,5 %) stark inhibiert, was sich auch in dessen Struktur widerspiegelte, die auf ein deutlich verkleinertes Makromolekül hindeutete. Durch weitere Experimente im Rohwurstsimulationsmedium (1,5 % Saccharose, 25 °C) konnte jedoch gezeigt werden, dass niedrigere Salzgehalte (< 3 % Nitritpökelsalz (NPS)) sich noch nicht negativ auf EPS-Bildung und Struktur auswirken, sondern diese im Gegenteil sogar noch begünstigen. Eine Reduktion des Saccharose-Gehalts auf 0,3 % (25 °C) führte hingegen zu einer stark verringerten Dextran-Produktion, wobei die Partikelgrößen nicht beeinflusst wurden. Durch eine angepasste Abkühlung von 25 °C auf 10 °C war es im Labormaßstab zudem möglich, die Ansäuerung des Mediums durch Laktat-Bildung zu reduzieren, ohne die gebildete EPS-Menge merklich zu beeinflussen. Durch eine vergleichende Proteomik konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass weder Kälte-Stress (10 °C) noch osmotischer Stress (9,5 % NaCl) einen Ein-

fluss auf die Expression der für die EPS-Bildung entscheidenden Dextranucrase von *L. sakei* TMW 1.411 hatten. Im Gegensatz dazu konnten zahlreiche differentiell exprimierte Proteine identifiziert werden, die zu bekannten Mechanismen der Stress-Resistenz (z. B. Anreicherung von Osmolyten bei osmotischem Stress bzw. veränderte Fettsäure-Synthese bei Kälte-Stress) gehören.

Basierend auf den Screening- und Folgeuntersuchungen, wurden je nach Produkt spezifische EPS-bildende Milchsäurebakterien auf die Fähigkeit zur EPS-Bildung in Fleischmatrices und deren Auswirkungen auf die Produktqualität untersucht. Der Nachweis einer EPS-Bildung in Kochschinken-Modellsystemen wurde initial über konfokale Lasermikroskopie erbracht (qualitativer Nachweis) und im Verlaufe der Untersuchungen im Koch- bzw. Formschinken sowie in der Teewurst durch eine quantitative Bestimmung via HPLC ersetzt. Alle ausgewählten Stämme waren in der Lage, in den untersuchten Fleischwaren (Koch- und Formschinken sowie Teewurst) EPS zu bilden, wobei die EPS-Mengen in Abhängigkeit des gewählten Produkts, des Herstellungsverfahrens und der eingesetzten Kultur variierten. Zwischen Kontrollprodukten und Modellsystemen bzw. Fleischwaren, die mit einer EPS-bildenden Kultur hergestellt wurden, konnten strukturelle Unterschiede im Vergleich zu Kontrollprodukten ohne entsprechende Kulturen festgestellt werden. Obwohl die Ergebnisse zur EPS-Bildung in Kochschinken-Modellsystemen vielversprechend waren (in Anwesenheit der untersuchten HoPS- oder HePS-bildenden Stämme und bei zeitgleichem Vorhandensein geeigneter Zucker, wie Dextrose oder Saccharose, konnte eine starke Zunahme an EPS in den Kochschinken-Modellsystemen verzeichnet werden), führte der Einsatz der ausgewählten Stämme *L. plantarum* TMW 1.1478 und TMW 1.1308 (HePS) sowie *L. sakei* TMW 1.411 (HoPS) bei der Koch- oder Formschinkenherstellung zu keinen signifikanten Verbesserungen des Serumbindevermögens (Ausbeute). Dies konnte auf die relativ geringe Konzentration an EPS zurückgeführt werden, welche innerhalb der Tumble- und Ruhezeit bei Temperaturen von etwa 2°C gebildet wurden. Im Gegensatz dazu führte der Einsatz der HoPS-bildenden Kultur *L. sakei* TMW 1.411 zu einer signifikanten Verbesserung der Streichfähigkeit und Textur von fettreduzierter Teewurst und ermöglichte sogar eine Fett-

reduktion von bis zu 50 %. Die Ergebnisse ließen sich auf die gebildeten EPS-Mengen zurückführen, welche im Fall von Teewurst um ein Vielfaches höher waren als bei der Produktion von Kochschinken. Erste Untersuchungen, die auf eine Reduzierung des pH-Wertes des leicht verderblichen Produkts Zwiebelmettwurst bei gleichzeitigem Erhalt der Streichfähigkeit abzielten, waren ebenfalls vielversprechend.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Seit dem Jahr 2000 hat sich der Nettoumsatz der deutschen Fleischwarenindustrie von 12,2 Mrd. € auf 18,8 Mrd. € im Jahr 2016 verbessert, was vor allem auf den Export von Fleischerzeugnissen ins Ausland zurückgeführt werden kann (Anstieg der Exportquote von 3,3 % auf 15,5 %). Dennoch steht die deutsche Industrie, insbesondere der Mittelstand, vor großen Herausforderungen, da die Abhängigkeit von China sehr groß geworden ist, die Konkurrenz auf dem Weltmarkt stärker wird und auch innerhalb der EU die Konkurrenz um Drittlandsexporte stetig größer wird (z. B. aus Spanien). Insbesondere vor diesem Hintergrund ist die Entwicklung neuer innovativer Produkte oder Produktionsverfahren nötig, um mittelständischen deutschen Unternehmen national und international technologische Wettbewerbsvorteile zu bieten.

Die Anwendung EPS-bildender Starterkulturen eröffnet der Fleischwarenindustrie ein neues Anwendungsfeld, was vor allem beim Einsatz dieser Kulturen in Teewurst deutlich gezeigt werden konnte. Ein besonderer wirtschaftlicher Nutzen ergibt sich auch aus der Tatsache, dass keine (zusätzlichen) deklarierbaren Zusatzstoffe, wie Carrageenan, eingesetzt werden müssen, und die Produkte somit den zunehmend von Verbrauchern geforderten Clean-Labeling-Anforderungen ge-

nügen. Dies ist insbesondere für Produkte im Premium-Bereich des Marktes, in denen die größten Profitmargen erzielt werden, von Bedeutung.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2018.

#### Weiteres Informationsmaterial:

Universität Hohenheim  
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie  
FG Lebensmittelphysik und Fleischwissenschaft  
Garbenstraße 25, 70599 Stuttgart  
Tel.: +49 711 459-24415  
Fax: +49 711 459-24446  
E-Mail: j.weiss@uni-hohenheim.de

Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW  
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie  
Gregor-Mendel-Straße 4  
85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-3663  
Fax: +49 8161 71-3327  
E-Mail: rudi.vogel@wzw.tum.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

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

gefördert durch/via



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