

Lactobacillus – Mikrobe des Jahres 2018

Unser täglich Brot: Helfer in der Lebensmittelfermentation

CHARLES M. A. P. FRANZ¹, MAREIKE WENNING², WILHELM BOCKELMANN¹, HORST NEVE¹, KNUT J. HELLER¹

¹ INSTITUT FÜR MIKROBIOLOGIE UND BIOTECHNOLOGIE DES MAX RUBNER-INSTITUTS, KIEL

² LEHRSTUHL FÜR MIKROBIELLE ÖKOLOGIE, ZIEL – INSTITUTE FOR FOOD & HEALTH, TU MÜNCHEN, FREISING

Lactobacilli are involved in fermentation of milk-, plant-, or meat-based food products. They metabolize hexose sugars to lactic acid during fermentation, leading to a decrease in the pH. This preservative effect contributes to the digestibility of the raw material and improves the organoleptic properties of the product. Food fermentations are widely utilized in modern food production, with lactobacilli as defined starter cultures, specifically in the production of fermented raw sausages or milk products.

DOI: 10.1007/s12268-018-0886-9
© Springer-Verlag 2018

■ Vor etwa 2,5 Milliarden Jahren fand die „große Sauerstoffkatastrophe“ statt: Das Erscheinen freien Sauerstoffs (O₂) in den Gewässern der Erde und in der Erdatmosphäre war für die damaligen anaeroben Lebewesen giftig. Zu diesem Zeitpunkt trennten sich die anaeroben Clostridien, die aeroben oder fakultativ anaeroben Bazillen und die Milchsäurebakterien. Vor etwa 1,8 Milliarden Jahren spalteten sich die Milchsäurebakterien weiter von den Staphylokokken und Bazillen ab. Wahrscheinlich veränderte sich die Gattung *Lactobacillus* im weiteren Sinne zunehmend mit der Entstehung und Entwicklung eukaryotischer Organismen, mit denen sie sich teilweise verbündeten [1]. Die Entstehung der Lactobacillales steht im Zusammenhang mit einem umfangreichen Verlust von Genen der Urahnmikroorganismen. Im Vergleich zum Vorfahren der Bacilli, der etwa 2.700 bis 3.700 Gene besaß, verlor der gemeinsame Vorfahre der Lactobacillales etwa 600 bis 1.200 Gene und damit 20 bis 30 Prozent seines Genoms [2].

Als Mitglied der „Milchsäurebakterien“ ist *Lactobacillus* phylogenetisch in der Abstammungslinie der Firmicutes, Klasse Bacilli und der Ordnung der Lactobacillales einzuordnen.

Die Gattung *Lactobacillus* umfasst inzwischen mehr als 200 Spezies und überschreitet damit die phylogenetische und metabolische Diversität einer typischen Bakterienfamilie [1, 3].

Die evolutionäre Entwicklung der Laktobazillen ist verbunden mit der Anpassung an nährstoffreiche Lebensräume. Dabei gingen Gene für die Biosynthese wichtiger Kofaktoren (wie Häm, Molybdän-Koenzym und Pantothenat) verloren, die unter frei lebenden Bedingungen eine wichtige Rolle für den Stoffwechsel der Mikroorganismen spielen. Kofaktor-Transportergene kamen hingegen dazu, um Kofaktoren aus den komplexen Lebensmittelsubstraten zu gewinnen. Im Zuge dieser Anpassung erweiterte sich die Genausstattung durch Genduplikation oder horizontalen Gentransfer um Proteasen sowie verschiedene Enzyme und Transporter für den Zucker- und Aminosäurestoffwechsel, um diese Nährstoffe aus den Lebensmitteln aufzunehmen und die eigene Synthese dieser Substanzen einzusparen [4, 5].

Laktobazillen lieben Zucker!

Als nährstoffsprichsvolle Bakterien sind Laktobazillen extrem weit in nährstoffreichen Ökosystemen verbreitet: Sie leben in und auf

Lebens- und Futtermitteln, Pflanzen, wirbellosen Tieren, Wirbeltieren und eben auch dem Menschen. R. M. Duar und Kollegen [1] untersuchten die Evolution der Laktobazillen auf der Basis phylogenomischer Daten (Analysen zu evolutionären Verwandtschaften aufgrund von Genomanalysen) und verknüpften diese mit Metadaten zu Habitat, Phylogenie und Stoffwechselfähigkeiten. Sie fanden hochgradig konservierte Nischen innerhalb der phylogenetischen Gruppen der Gattung, in denen sich verschiedene Lebensstile von frei lebend über nomadisch bis hin zu strikt symbiotisch bildeten. Dies passt zu einem Modell, nach dem die an einen Wirt angepassten *Lactobacillus*-Linien sich aus frei lebenden Vorfahren entwickelten und die heutigen Arten breite Variationen in Bezug auf die Abhängigkeiten von ökologischen Nischen und den Grad der Wirtsspezifität aufweisen [1].

Weil *Lactobacillus* gezielt Nischen besiedelte, etwa in den Habitaten Lebensmittel oder menschlicher Darm, wurde er ein enger und langfristiger Wegbegleiter des Menschen. Von großer Bedeutung ist hier seine Fähigkeit, aus Zucker durch Gärung Milchsäure zu bilden. Dies erlaubte das Haltbarmachen von Lebensmitteln durch Fermentation, beispielsweise in Form von Sauerkraut oder fermentierten Milchprodukten wie Käse, Joghurt und Kefir (**Tab. 1**). Weiterhin zeigen spezifische *Lactobacillus*-Stämme probiotische Aktivität, das heißt sie sind direkt im menschlichen Organismus aktiv und tragen dort zur Gesundheitsförderung bei. Besonders bedeutend für den Menschen ist deren Einsatz in Lebensmitteln, um diese nicht nur haltbar und sicher, sondern auch besser verdaulich und hochwertiger – hinsichtlich Geschmack, Textur und Aroma – zu machen.

Milchsäurebakterien bauen Zucker entweder durch homo- oder heterofermentative Milchsäuregärung ab (**Abb. 1**). Homofermentative Laktobazillen setzen Glukose nahezu vollständig zu Milchsäure um, wobei der Abbauweg bis zum Pyruvat der Glykolyse entspricht. Die dabei verbrauchte Energie wird in Form von Reduktionsäquivalenten NAD⁺

Tab. 1: *Lactobacillus* spp. in fermentierten Lebensmitteln in Europa. Hintergrundfoto: Anja Störiko.

Fermentiertes Lebensmittel (Herkunft)	An der Fermentation beteiligte Laktobazillen und ggf. andere Milchsäurebakterien und Hefen
Milchprodukte	
Schweizer /italienischer Käse	<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Joghurt	<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Sauermilchkäse	<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> (+ Hefen)
Fermentierte probiotische Milcherzeugnisse	<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i>
Kefir	<i>Lb. kefirii</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> (+ Hefen)
Kumys (Russland, Mongolei)	<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. salivarius</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> (+ Hefen)
Fermentierte Fleischprodukte	
Rohwurst	<i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. curvatus</i>
Fischprodukte	
	<i>Lb. alimentarius</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>C. piscicola</i>
Fermentierte Gemüse	
Sauerkraut	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>L. mesenteroides</i>
Oliven	<i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>L. mesenteroides</i>
Eingelegtes Gemüse	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>L. mesenteroides</i> , <i>P. cerevisiae</i>
Andere fermentierte Gemüse	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
Sauerteig	<i>Lb. sanfranciscensis</i> , <i>Lb. farciminis</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. amylovorus</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Lb. panis</i> , <i>Lb. alimentarius</i> , <i>W. cibaria</i>
Reiswein	<i>Lb. sakei</i>

B.: *Bifidobacterium*, L.: *Leuconostoc*, Lb.: *Lactobacillus*, P.: *Pediococcus*, S.: *Streptococcus*, W.: *Weissella*

wiedergewonnen, indem zwei Wasserstoffatome von $\text{NADH} + \text{H}^+$ auf Pyruvat unter Bildung von Laktat übertragen werden (**Abb. 1A**). Heterofermentative Laktobazillen spalten nach Bildung von 6-Phosphoglukonat ein CO_2 -Molekül ab und produzieren damit Gas, das bei Käse zur erwünschten Lochbildung oder bei Kefir zu einem prickelnden Mundgefühl führt. Der entstandene Pentosezucker Ribulose-5-phosphat wird zunächst in Xylulose-5-phosphat umgewandelt und dann asymmetrisch gespalten. Das drei C-Atome enthaltende Spaltprodukt wird – wie auch im homofermentativen Weg – zu Laktat umgesetzt, während der zwei C-Atome enthaltende Molekülrest unter normalen anaeroben Bedingungen zu Ethanol reduziert wird, um die benötigten NAD^+ -Moleküle zu regenerieren (**Abb. 1B**).

Herstellung fermentierter Lebensmittel

Die Milchsäuregärung durch Laktobazillen in Lebensmitteln und die damit verbundene Ansäuerung hemmt pathogene Bakterien und Verderbskeime und hat somit eine wichtige konservierende Wirkung, die Lebensmittel sicher und länger haltbar macht. Weiterhin

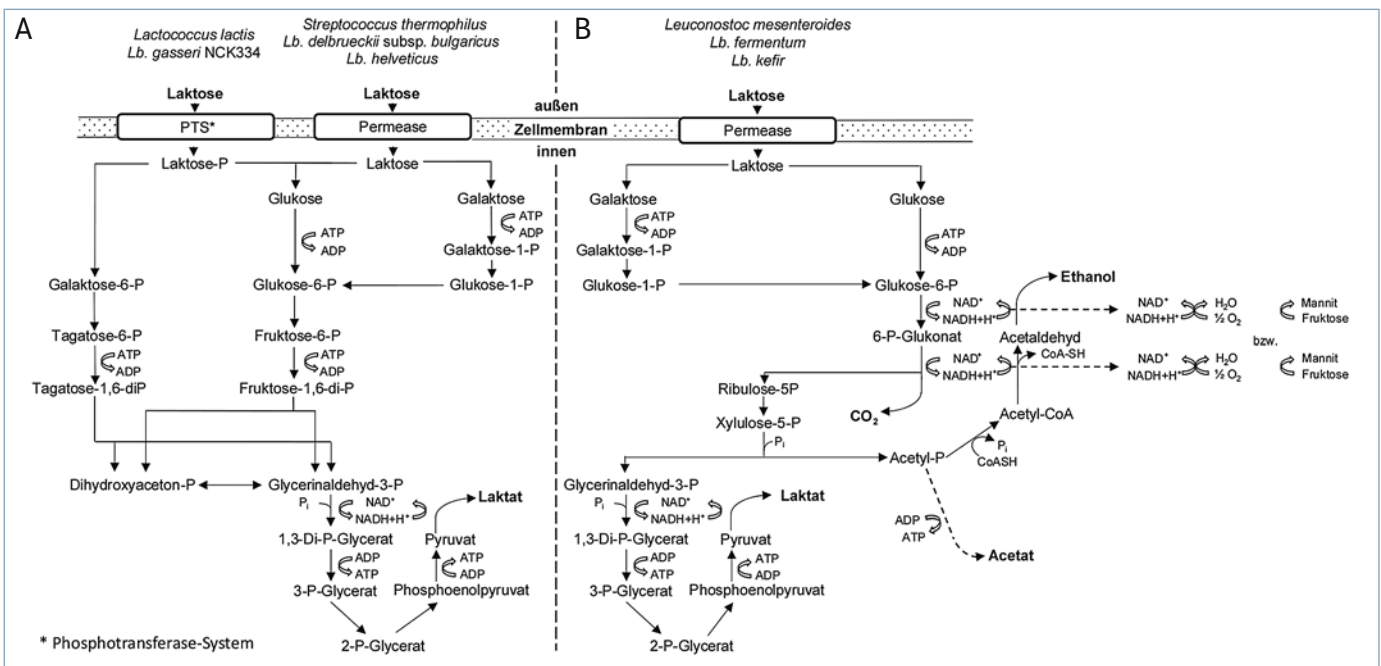
bilden Laktobazillen eine Vielzahl von antimikrobiellen Wirkstoffen, die Bakteriocine, die zu dieser Schutzfunktion beitragen. Bakteriocine sind kleine Peptide (vier bis sechs Kilodalton), die gegen eng verwandte, sensitive Bakterien durch Porenbildung in der Zellmembran antimikrobiell wirken sowie gegen weiter verwandte Gram-positive pathogene Keime wie *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* oder *Staphylococcus aureus*.

Die Bakteriocinbildung ist stammspezifisch und für bestimmte *Lactobacillus*-Spezies bereits gut beschrieben. So bildet *Lactobacillus sakei* (**Abb. 2A**) Sakacine oder *Lb. plantarum* Plantaricine. Solche Bakteriocin-bildende Stämme werden in der Lebensmittelkonservierung als „Schutzkulturen“ eingesetzt, um unerwünschte Mikroorganismen zu hemmen. Menschen fermentieren bereits seit Tausenden von Jahren Lebensmittel, um ihre Nahrungsversorgung abzusichern. Ausgrabungen in der Schweiz zeigen, dass Sauerteigbrot schon vor über 5.000 Jahren zur typischen Ernährung des Menschen zählte. Archaische Texte aus Uruk/Warka (Irak) vor rund 5.200 Jahren erwähnen bereits die Herstellung von Käse, Butter und Joghurt. Natürlich entstanden diese frühen Fermentationen

aus Versuch, Irrtum und Erfahrung, denn die Mikroorganismen und deren Stoffwechselprozesse waren unbekannt. Es etablierten sich Traditionen zum Hantieren und Lagern der Rohstoffe, sodass Lebensmittel mit verbesserter Qualität und Haltbarkeit entstanden. Diese Kenntnisse wurden in kleineren Gemeinden, Klöstern und Feudalstaaten von Generation zu Generation weitergegeben. Die industrielle Revolution Mitte des 19. Jahrhunderts führte zu einer Konzentration von Menschen in Ballungsräumen und zu einer erhöhten Nachfrage nach industrialisierten Herstellungsprozessen für fermentierte Lebensmittel. Mit dem Aufblühen der Mikrobiologie als Wissenschaft ab etwa 1850 wurden auch die mikrobiologischen Zusammenhänge verstanden, und dieses Wissen führte zur Herstellung von Starterkulturen und zur Etablierung kontrollierter und effizienter Fermentationen [6].

Starterkulturen im industriellen Maßstab

Weltweit werden heutzutage etwa 5.000 verschiedene Lebensmittel und alkoholische Getränke aus so unterschiedlichen Rohstoffen wie Getreide, Gemüse und Bambus-



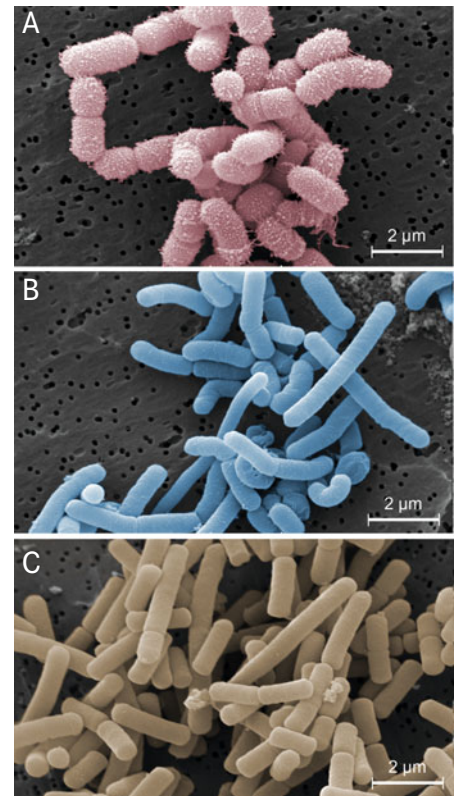
▲ **Abb. 1:** Homofermentativer (A) und heterofermentativer (B) Laktoseabbau.

sprossen, Leguminosen, Wurzeln und Knollen, Milch, Fleisch und Fisch fermentiert [6]. Verschiedene *Lactobacillus*-Arten sind für Lebensmittelfermentationen relevant, und häufig sind auch Stämme mehrerer Spezies an der Herstellung eines bestimmten Produktes beteiligt (**Tab. 1**). Die Fermentation von Milchprodukten und Rohwurst basiert in industriellen Prozessen meist auf der Beimpfung des Rohmaterials mit einer hohen Anzahl von Bakterien. Verschiedene Hersteller liefern sie als Starterkulturen in gefriergetrockneter und hochkonzentrierter Form. Sie werden aufgrund ihrer hohen metabolischen Aktivität dem Rohmaterial direkt zugesetzt. Als Beispiel zeigt **Abbildung 3** rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer thermophilen Starterkultur mit Zellen von *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus* in Sauermilchkäse, wobei die Laktobazillen eng assoziiert sind mit aromagebenden Hefezellen und mit diesen charakteristische Mikrokonsortien bilden.

Kleinere Betriebe produzieren auch handwerklich hergestellte fermentierte Lebensmittel, bei denen auf Starterkulturen verzichtet wird. Auch bei Gemüsefermentationen werden überwiegend keine Starterkulturen eingesetzt, sondern es wird dabei auf die natürlich vorkommenden Mikroorganismen (autochthone Mikrobiota) der Rohware vertraut. Bestimmte Fermentationsbedingungen (Temperatur, sauerstoffarme Bedin-

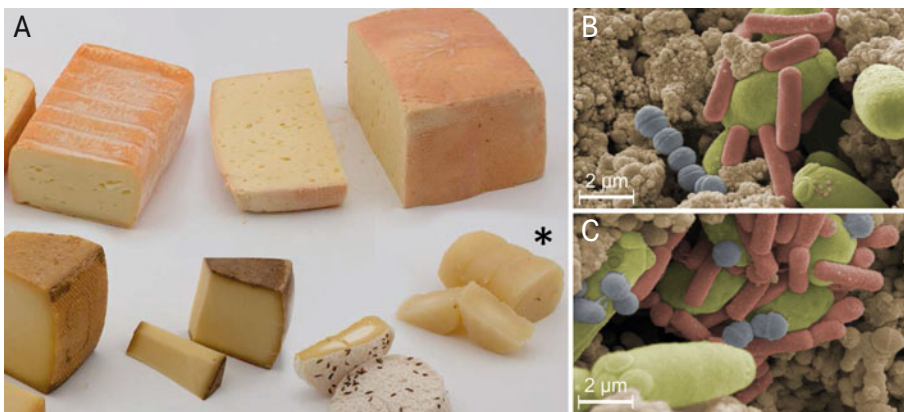
gungen, Zugabe von Salz oder Zucker) fördern das Wachstum der Laktobazillen und anderer Milchsäurebakterien. Aus der Vielzahl an Rohmaterialien, Zusätzen und Fermentationsbedingungen entsteht ein großes und vielfältiges Spektrum an fermentierten Produkten, das eine Bereicherung für unseren Speiseplan darstellt (**Tab. 1**).

Die am häufigsten in der milchverarbeitenden Industrie vorkommenden *Lactobacillus*-Arten sind *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. paracasei* (**Abb. 2B**) und *Lb. plantarum*, die meist kommerziell als Starterkulturen gezüchtet werden. Fermentierte Gemüseprodukte sind die ältesten fermentierten Lebensmittel, und die am häufigsten vorkommenden Spezies in diesen Fermentationen sind *Lb. brevis*, *Lb. fermentum* (**Abb. 2C**), *Lb. pentosus*, *Lb. paraplantarum* und *Lb. plantarum*. In Fleischfermentationen sind *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* und *Lb. sakei* (**Abb. 2A**) die wichtigsten *Lactobacillus*-Arten. Das weitverbreitete Vorkommen von *Lb. plantarum* in verschiedenen Lebensmitteln (Milch, Gemüse, Fleisch und Fisch) kann auf das relativ große Genom (3,3 Megabasenpaare) dieser Spezies zurückgeführt werden. *Lb. plantarum* kann ein breites Spektrum an Zuckern fermentieren und besitzt beispielsweise Gene für 25 Zuckertransport-Phosphotransferase-Systeme. Im Gegensatz zu *Lb. plantarum* haben Laktobazillen, die ihren Lebensraum an ein bestimmtes Lebensmittel angepasst haben, ein kleines Genom. Beispielsweise besitzt



▲ **Abb. 2:** Kolorierte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Laktobazillen-Kulturen. A, *Lactobacillus sakei*; B, *Lactobacillus paracasei*; C, *Lactobacillus fermentum*. Bilder: © Horst Neve, Max Rubner-Institut.

Lb. sakei, der in Rohwurstfermentationen vorkommt, nur Gene für sechs Zuckertransport-Phosphotransferase-Systeme [7] auf dem 1,8 Megabasenpaare umfassenden Genom und



▲ **Abb. 3:** Verschiedene Mikroorganismen sind an der Fermentation von Lebensmitteln beteiligt. **A,** Unterschiedliche oberflächengereifte Käsesorten. Der Stern markiert den Harzer Käse. **B, C,** Kolorierte rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen vom Harzer Käse mit *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (rot), *Streptococcus thermophilus* (blau) und der Hefe *Kluyveromyces marxianus* (grün) (© Wilhelm Bockelmann (A), Horst Neve (B, C), Max Rubner-Institut).

fermentiert daher nur wenige Zucker. Gleichzeitig kann dieses Bakterium mit Ausnahme von Asparagin und Glutamin alle Aminosäuren selbst herstellen (auxotroph).

Tonnenweise Milchsäurebakterien für unsere Lebensmittel

Wir Menschen nehmen Milchsäurebakterien in großen Mengen auf, hauptsächlich über fermentierte Lebensmittel. Nach Angaben der *International Dairy Federation* (IDF) konsumiert jeder Mensch in Europa etwa 22 Kilogramm fermentierte Milchprodukte pro Jahr; insgesamt sind dies etwa 8,5 Milliarden Kilogramm pro Jahr. Ausgehend von 10^8 Bakterien pro Gramm oder Milliliter Lebensmittel ergibt sich eine Gesamtaufnahme von $8,5 \times 10^{20}$ Zellen, was einer Menge von 3.400 Tonnen Milchsäurebakterien entspricht, die allein in Form von Milchprodukten verzehrt werden. Ob frei lebend, nomadisch oder nischenadaptiert: Als Wegbegleiter des Menschen über Tausende von Jahren und mit der Aufnahme in großen Mengen in der Nahrung spielen Laktobazillen eine wichtige Rolle für die Ernährung und Gesundheit des Menschen – sie sind somit auch ein bedeutender wirtschaftlicher Faktor. Einige Spezies sind für die Haltbarmachung und die Herstellung von sicheren und schmackhaften Lebensmitteln unverzichtbar, als Probiotika werden bestimmte *Lactobacillus*-Stämme im Zusammenhang mit gesundheitsfördernden Eigenschaften in Verbindung gebracht. In diesem Sinne sind sie Freunde des Menschen. ■

Literatur

- [1] Duar RM, Lin XB, Zheng J (2017) Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiol Rev* 41:27–48
- [2] Cai Y, Pang H, Kitahara M et al. (2012) *Lactobacillus nasuensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from silage, and emended description of the genus *Lactobacillus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 62:1140–1144

- [3] Sun Z, Harris HMB, McCann A et al. (2015) Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nat Commun* 6:8322
- [4] Makarova KS, Koonin EV (2007) Evolutionary genomics of lactic acid bacteria. *J Bacteriol* 189:1199–1208
- [5] Caplice E, Fitzgerald GF (1999) Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol* 50:131–149
- [6] Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH (2016) Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Front Microbiol* 7:377
- [7] Chaillou S, Champomier-Verges MC, Cornet M et al. (2005) The complete genome sequence of the meat-borne lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* 23K. *Nat Biotechnol* 23:1527–1533

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Charles M. A. P. Franz
Max Rubner-Institut
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie
Hermann-Weigmann-Straße 1
D-24103 Kiel
Tel.: 0431-609-2340
charles.franz@mri.bund.de
www.mri.bund.de

AUTOREN



Charles M. A. P. Franz

1985–1994 Biologiestudium an der University of the Witwatersrand, Johannesburg, Südafrika. 1998 Promotion an der University of Alberta, Kanada. 2008 Habilitation für das Fach Mikrobiologie an der Universität Karlsruhe (jetzt Karlsruher Institut für Technologie, KIT). Seit 2014 Leiter des Instituts für Mikrobiologie und Biotechnologie des Max Rubner-Instituts in Kiel.



Mareike Wenning

1995–2000 Ökotoxikologiestudium, 2004 Promotion in der Lebensmittelmikrobiologie an der TU München. Seit 2004 wissenschaftliche Mitarbeiterin und Gruppenleiterin am Lehrstuhl für mikrobielle Ökologie, TU München. Seit 2013 im Vorstand der Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene der VAAM und DGHM.



Wilhelm Bockelmann

1978–1984 Biologiestudium an der Universität Kiel. 1984–1987 Dissertation am Max Rubner-Institut (MRI, damals Bundesanstalt für Milchforschung), Kiel. Seit 1988 Leiter der Arbeitsgruppe „Nutzbakterien und Biotechnologie“ am Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie des MRI in Kiel. Seit 2013 stellvertretender Leiter des Instituts für Mikrobiologie und Biotechnologie am MRI.



Horst Neve

1975–1982 Biologiestudium an der Universität Kiel. 1985 Dissertation am Max Rubner-Institut (MRI, damals Bundesanstalt für Milchforschung), Kiel. Seit 1985 Leiter der Arbeitsgruppe „Bakteriophagen und Elektronenmikroskopie“ am Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie des MRI. Seit 2013 im Vorstand der Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene der VAAM und DGHM.



Knut J. Heller

1968–1973 Biologiestudium an der Universität Münster, 1977 dort Dissertation. 1985 Habilitation für die Fächer Mikro- und Molekularbiologie an der Universität Tübingen. 1987–1992 Professor an der Universität Konstanz. 1992–2014 Leiter des Instituts für Mikrobiologie und Biotechnologie des Max Rubner-Instituts in Kiel. Seit 2014 im Ruhestand.