

DFG Senatskommission
zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln

SKLM



Mikrobielle Kulturen für Lebensmittel

Endfassung vom 29.03.2010

Mitglieder und Gäste der DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln 2010

Mitglieder:

Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand (Vorsitzender), Prof. Dr. Karl-Heinz Engel,, Prof. Dr. Johanna Fink-Gremmels, Prof. Dr. Jan G. Hengstler, Prof. Dr. Thomas Hofmann, Prof. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Dietrich Knorr, Prof. Dr. Ib Knudsen, Prof. Dr. Sabine Kulling, Prof. Dr. Doris Marko, Prof. Dr. Reinhard Matissek, Prof. Dr. I.M.C.M. Ivonne Rietjens, Dr. Josef Schlatter, Prof. Dr. Peter Schreier, Prof. Dr. Dr. Dieter Schrenk, Prof. Dr. Pablo Steinberg, Prof. Dr. Rudi F. Vogel

Ständige Gäste:

Prof. Dr. Manfred Edelhäuser, Prof Dr. Alfonso Lampen, Prof Dr. Gerhard Rechkemmer, Prof. Dr. Christian Steffen, Prof. Dr. Stefan Vieths

Die Kommission dankt der Arbeitsgruppe „Lebensmitteltechnologie und –sicherheit“:

Prof. Dr. Dietrich Knorr (AG Vorsitzender), Prof. Dr. Hans-Jürgen Altmann, Dr. Lutz Dehne, Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand, Prof. Dr. Karl-Heinz Engel, Prof. Dr. Walter P. Hammes, Prof. Dr. Sabine Kulling, Dr. Oliver Schlüter, Prof. Dr. Stefan Vieths, Prof. Dr. Rudi F. Vogel für die Erarbeitung der Stellungnahme und dem SKLM Kommissionssekretariat vertreten durch Dr. Michael Habermeyer, Dr. Sabine Guth und Dr. Barbara Kochte-Clemens für die Unterstützung.

SKLM Kommissionssekretariat

Lebensmittelchemie und Toxikologie, Technische Universität Kaiserslautern,
Erwin-Schrödinger-Straße 52, 67663 Kaiserslautern

E-Mail: sklm@rhrk.uni-kl.de • Tel.: +49 631 2054200 • Fax: +49 631 2054005

In der EU gibt es keine spezifische gesetzliche Regelung für die mikrobiellen Kulturen im Lebensmittelbereich. Es gibt jedoch auf europäischer und nationaler Ebene Regelungen, die erfordern, mikrobielle Kulturen auf ihre Konformität mit gesetzlichen Vorgaben zu prüfen. Da Definitionen für mikrobielle Kulturen mit unterschiedlichen Anwendungen fehlen, bestehen Unsicherheiten in der Bewertung. Die verstärkte Bearbeitung der mikrobiellen Ökologie und die moderne Taxonomie haben Neubeschreibungen zahlreicher Spezies ermöglicht, die als Kulturen in Lebensmitteln attraktiv sind bzw. auch genutzt werden, für die aber nur wenige Erfahrungen vorliegen. Dies ist Anlass für diese Stellungnahme der SKLM, bei der Definitionen, Lücken des Kenntnisstandes und der Forschungsbedarf im Vordergrund stehen. Sie soll Erzeugern und Anwendern mikrobieller Kulturen sowie den für gesundheitlichen Verbraucherschutz verantwortlichen Behörden Unterstützung bei der Sicherheitsbewertung bieten und zur Aufklärung des Verbrauchers beitragen. Der wissenschaftliche Stand zu diesen Kulturen in der Lebensmitteltechnik, die traditionellen Wurzeln ihrer Verwendung und ihr Potenzial zur Erhaltung bzw. Weiterentwicklung der Lebensmittelvielfalt und -qualität sind bisher nicht angemessen beschrieben. Dies ist Gegenstand der vorliegenden SKLM-Stellungnahme. Außerdem werden Definitionen für Kulturen in der Lebensmitteltechnik vorgeschlagen, die zur Beurteilung auch im legalen Kontext hilfreich sein können.

Mikrobielle Kulturen für Lebensmittel

1. Einleitung

Spätestens seit Beginn der Neusteinzeit vor ca. 10 000 Jahren haben die Menschen Lebensmittelvorräte angelegt. Für die Entwicklung der Menschen und der Gesellschaft war die Verfügbarkeit von lagerbaren und hygienisch sicheren Lebensmitteln eine entscheidende Voraussetzung. Traditionelle Methoden zur Haltbarmachung wie Trocknen, Räuchern, Salzen und Fermentation sind auch noch heute in Gebrauch. Die wirksamen Prinzipien der Fermentation waren bis in die Neuzeit unbekannt; erst Louis Pasteur erkannte ihre Natur und beschrieb sie als ein (mikrobielles) „Leben ohne Luft“. Die Verursacher des Prozesses wurden Fermente genannt und in „geformte“ und „ungeformte“ unterschieden. Von Hans Buchner wurde gezeigt, dass diese den Mikroorganismen bzw. den Enzymen entsprechen. In der Folge wurden die Prozesse der Lebensmittelfermentation zunehmend optimiert und die mikrobiellen Kulturen zu wesentlichen Elementen der Erzeugung von Lebensmitteln. Sie bilden ein Kontinuum, das sich von der historisch weit zurückreichenden Verwendung von fermentierenden Lebensmittelsubstraten bis hin zu taxonomisch, physiologisch, biochemisch und genetisch charakterisierten Reinkulturen erstreckt. Aus den Kulturen mit klassischer Anwendung bei Lebensmittelfermentationen haben sich, auf der Grundlage umfassender wissenschaftlicher Studien, neue Anwendungszweige abgeleitet, die es ermöglichten,

besondere Eigenschaften der Kulturorganismen für spezifische Anwendungen zu nutzen. Die Kenntnis des historischen Bezugs sowie der wissenschaftlichen und praktischen Hintergründe der Kulturenanwendung ist kein Allgemeingut.

Die Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM) hat sich letztmalig in der Mitteilung „Starterkulturen und Enzyme für die Lebensmitteltechnik“ (SKLM, 1987) mit der Thematik mikrobieller Kulturen befasst. In dieser Schrift wurden Sicherheitsaspekte dargestellt und Empfehlungen für die Sicherheitsbewertung von nicht traditionsbewährten Kulturstämmen vor ihrer Einführung in die Praxis gegeben. Vor Verwendung von „neuartigen“ Organismen wurden Untersuchungen auf Pathogenität bzw. Infektiosität, Bildung von Antibiotika sowie Toxinen, sowie anderer potentiell toxikologisch relevanter Eigenschaften gefordert. Die Mitteilung wurde eingeleitet mit der Feststellung *„Die zurzeit in der Bundesrepublik Deutschland von der Lebensmittelwirtschaft angewendeten Starterkulturen haben nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand zu keiner gesundheitlichen Beeinträchtigung der Verbraucher Anlass gegeben. Sie haben die Produktpalette erweitert und die Herstellung gegenüber der früheren Praktik der Fermentation mit unkontrollierten Mikroorganismen-populationen wesentlich verbessert.“* (SKLM, 1987).

Dies gilt nach Meinung der SKLM auch heute noch. Jedoch haben neue Erkenntnisse auf den Gebieten der Taxonomie, Physiologie, Ökologie und Genetik der Mikroorganismen sowie der Ernährungsphysiologie, Biotechnologie und Lebensmitteltechnologie zu neuen Anwendungen geführt, die eine Aktualisierung erfordern.

2. Definitionen

Mikrobielle Kulturen und ihre Anwendung in Lebensmitteln sind zwar Gegenstand offizieller Stellungnahmen und rechtlicher Regelungen, aber eine wissenschaftsbasierte Definition, die alle mikrobiellen Kulturen mit Anwendung in Lebensmitteln umfasst und Historie sowie bestehende Praxis berücksichtigt, gibt es derzeit nicht.

2. 1. Fermentierte Lebensmittel

Die moderne industrielle Mikrobiologie definiert die Fermentation als einen Prozess der Biotransformation, der von Mikroorganismen oder deren Enzymen ausgeführt wird, unabhängig davon, ob Fermentation im klassischen Sinn (Gärung, anaerober Katabolismus

von organischen Substraten ohne Beteiligung von exogenen Elektronenakzeptoren) oder oxidative Verstoffwechselung (Atmung) zugrunde liegen.

Definition 1: Fermentierte Lebensmittel sind zum Verzehr bestimmte Produkte, die aus rohen oder erhitzten Lebensmittelrohwaren pflanzlichen oder tierischen Ursprungs erzeugt werden. Sie haben charakteristische sensorische, ernährungsphysiologische sowie Haltbarkeit, Hygiene oder Gebrauchswert bestimmende Eigenschaften, die wesentlich von Mikroorganismen und/oder Enzymen (aus der Rohware) beeinflusst wurden.

Fermentationsprozesse unter ausschließlicher Einwirkung von natürlicherweise im Substrat enthaltenen Enzymen (z. B. bei der Tee- und Tabakfermentation) sowie unter Zusatz von Enzymen aus anderen Quellen (Enzymbehandlung bzw. Enzymierung) sind grundsätzlich eingeschlossen, bleiben hier aber unberücksichtigt.

Beispiele für in Europa bekannte fermentierte Lebensmittel und die am Prozess beteiligten Mikroorganismengruppen sind in **Tabelle 1** (Anhang) aufgeführt. Etwa ein Drittel derzeit verzehrter Lebensmittel ist fermentiert. Diese fermentierten Lebensmittel zeichnen sich durch eine Reihe vorteilhafter Eigenschaften aus:

- Sie verfügen über ein hohes Maß an hygienischer Sicherheit.¹
- Ihre Haltbarkeit ist im Vergleich zur Rohware erhöht.
- Rohwaren werden veredelt durch Verbesserung qualitätsbestimmender Eigenschaften.
- Aus der Rohware stammende toxische oder das Wohlbefinden mindernde Stoffe wie Cyanide, Hämagglutinine, Goitrogene, Proteinaseinhibitoren, Phytinsäure, Oxalsäure, Glucosinolate und schwerverdauliche Zucker werden z. T. abgebaut.
- Die Herstellung erfordert nur eine einfache Technologie und geringen Energieaufwand.
- Sie entsprechen dem Wunsch nach natürlich bzw. biologisch erzeugten Lebensmitteln.

Die an der Fermentation beteiligten Organismenkulturen liegen oft in typischen Assoziationen, d. h. durch Umwelteinflüsse und Stoffwechseleigenschaften begründete Gesellschaften verschiedener Mikroorganismen, vor. Diese Assoziationen sind in den vielfältigen Lebensmitteln von unterschiedlicher Zusammensetzung und verfügen über

¹ Bier, dessen Herstellung seit über 7000 Jahren bekannt ist, war ebenso wie Wein eine Quelle für sichere, nicht verseuchte Getränke.

entsprechend unterschiedliche Stoffwechselleistungen (siehe Anhang **Tabelle 2**). Die Gruppe der Milchsäurebakterien ist an der Erzielung aller erwünschten Wirkungen beteiligt und damit das wichtigste Element der Fermentationsassoziationen. An spontanen Fermentationen sind Spezies praktisch aller Gattungen der Gruppe beteiligt. Die Gattungen können extrem artenreich sein, wie z.B. die Gattung *Lactobacillus* mit über 150 Arten, von denen die meisten Lebensmittel-assoziiert vorkommen (Hammes und Hertel, 2009). Hierauf basiert das Potential ihres gezielten Einsatzes als selektierte Organismen für Fermentationsprozesse oder als so genannte Starterkulturen.

2. 2. Starterkulturen

Definition 2: Starterkulturen sind Präparate lebender Mikroorganismen oder ihrer Ruheformen, deren Stoffwechselaktivität im Fermentationssubstrat Lebensmittel erwünschte Wirkungen hervorruft.

Die Präparate können unvermeidbare Reste des Kultursubstrates und Zusätze enthalten, die die Vitalität und technologische Funktionalität der Mikroorganismen unterstützen (z. B. Gefrierschutzmittel oder Antioxidantien).

Diese Definition schließt eine auf der Historie der Starterkulturen begründete Vielfalt an Präparaten ein. Die Entwicklung fermentierter Lebensmittel wurde davon bestimmt, dass sich ursprünglich unter dem Einfluss von im jeweiligen Substrat herrschenden ökologischen Faktoren eine spezifische mikrobielle Assoziation herausbildete. Bei der Fermentation von Sauerkraut, Oliven oder Salzgurken sind solche spontanen Prozesse noch heute Stand der Technik. In anderen Bereichen wurde fermentierendes Substrat zur Beimpfung von neuen Fermentationsansätzen verwendet. Heute noch üblich ist dies z. B. als alt-neu Beimpfung (bei Käse) oder Anfrischen (bei Sauerteig) (engl. *back shuffling* oder *back slopping*). Auch Essig wird auf diese Weise erzeugt. Das so gewonnene und vielfach weitergeführte Impfmateri al erfährt einen hohen Grad an Organismenselektion und ist praktisch gleichzusetzen mit Starterkulturen. Solche „**undefinierten Kulturen**“ sind auch noch heute in Gebrauch, z. B. „Flora Danica“, eine Milchstarterkultur aus über 100 *Leuconostoc*- und *Lactococcus*-stämmen, oder „Reinzuchtsauer“ als Sauerteigstarterkultur. Sie unterliegen in ihrer Zusammensetzung einem kontinuierlichen Wandel, weil Stämme verschwinden oder mutieren bzw. nach Phagenattacken ihre Eigenschaften verändern können.

Einen höheren Grad an Kontrolle des Fermentationsablaufs erlaubte die Einführung von „**definierten Kulturen**“. Man unterscheidet (Mäyrä-Mäkinen und Bigret, 1998):

- **Einzelstammkulturen:** sie enthalten nur einen Stamm einer Spezies;
- **Mehrstammkulturen:** sie enthalten unterschiedliche Stämme einer einzigen Spezies;
- **Mehrstamm-Mischkulturen:** sie enthalten unterschiedliche Stämme aus unterschiedlichen Spezies.

Die unterschiedlichen Kulturen finden Anwendung bei der Fermentation von Milch, Fleisch, Wein, Obst und Gemüse sowie Cerealien. Übersichtsarbeiten informieren über die Charakterisierung von Starterkulturen für unterschiedliche Lebensmittelgruppen (Milchprodukte: Teuber, 2000; Fleischprodukte: Hammes, W. P. und Hertel, C. 1998; Sauerteig: Hammes W. P. und Vogel, R. F. 1997; Wein: Lonvaud-Funel, 1997; Krieger-Weber, 2009; Bier: Bohak et al., 1998; Obst- und Gemüsesäfte sowie fermentierte Gemüse: Buckenhüskes, 2001). Zum Erhalt ihrer Stabilität, Wirksamkeit und Anwendbarkeit werden sie präpariert, verpackt, gekühlt, gefroren oder lyophilisiert. Die Anwendung solcher Starterkulturen bringt eine Reihe von Vorteilen wie

- Erzeugung von Lebensmitteln auf einem gleichmäßigen und qualitativ hohen Niveau
- Kontrolle der Fermentationszeit
- Ökonomische Prozessführung durch Verkürzung der Prozesszeit und/oder Verbesserung des Substratumsatzes
- Reduktion hygienischer Risiken
- Zugang zu neuen Produkten, die nicht durch spontane Fermentation erzeugt werden können.

Der taxonomische Status ist für die Charakterisierung der Starterkulturen eine Grundvoraussetzung, er ist aber häufig lücken- bzw. fehlerhaft. Neben diesen Starterkulturen existieren vielfältige, taxonomisch kaum erfasste Kulturen, die „in Haus“ propagiert werden oder von biotechnisch ausgerichteten Unternehmen für Anwender erzeugt werden. Die Kenntnisse der Kulturorganismen beschränken sich deshalb im Wesentlichen auf die kommerziell verfügbaren Kulturen. Von diesen ist bekannt, dass sie grundsätzlich Bakterien, Hefen und Schimmelpilze enthalten können. Bei den Bakterien handelt es sich fast ausschließlich um Gram-positive Organismen, da diese, insbesondere im Vergleich zu den Gram-negativen Bakterien, erheblich leichter präpariert werden können.

Der höchst entwickelte Stand in der Anwendung von Starterkulturen wurde in der Milchwirtschaft erreicht. Die Herstellung fermentierter Milchprodukte aus pasteurisierter und damit sehr keimarmer Milch ist ohne Kulturen praktisch unmöglich. Bei Verwendung von Rohmilch oder „in Haus“-Kulturen werden jedoch auch qualitativ hochwertige Käse erzeugt.

Die wissenschaftliche Bearbeitung der Mikrobiologie fermentierter Lebensmittel lässt erkennen, dass kontinuierlich neue Organismen in die Kulturen eingefügt werden bzw. neue Kulturen den Zugang zur Praxis finden. Besondere physiologische Eigenschaften und ihr genetischer Hintergrund werden zunehmend charakterisiert, um spezifische Leistungen definierter Stämme zu nutzen bzw. nachteilige Wirkungen zu minimieren. So hat sich z. B. gezeigt, dass der Prozess des „alt-neu“ Beimpfens das Risiko der Selektion von Listerien in Rotschmierkäsen wie Tilsiter, Harzer, Romadour, Münster mit sich bringt. Mikrobiologisch-ökologische Untersuchungen von Rotschmiere-Assoziationen lassen neue Möglichkeiten zur Reduktion des Vorkommens von Listerien durch Einsatz einer Vielfalt neu beschriebener, startertauglicher Organismen erkennen (Bockelmann et al., 2005). Der Zusatz von mesophilen Laktobazillen wie *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* und *L. curvatus* ist ein Beispiel für die Anwendung so genannter sekundärer Kulturen, bzw. „Culture Adjuncts“ in Käseereikulturen (Chamba und Irlinger, 2004). Ein solcher Zusatz von grundsätzlich den Starterorganismen zuzurechnenden Spezies zur „klassischen“ Kultur beeinflusst den Prozessablauf und die Sensorik nicht, wie die klassische Kultur in der Kesselmilch, sondern erst in der zweiten Fermentationsstufe, der Käsefermentation bzw. -reifung. Ein weiteres Beispiel ist die Anwendung von Kulturen bei der Malzerzeugung, um das Auswachsen der Keimwurzeln und damit einen Malzverlust zu verringern (Schehl et al., 2007). Gleichzeitig lässt sich das Risiko der Mycotoxinbildung im Mälzprozess reduzieren (Laitila et al., 2002). Auf der Grundlage der vertieften wissenschaftlichen Bearbeitung solcher Starterkulturen haben sich aus diesen die so genannten Probiotika und die Schutzkulturen entwickelt.

2. 3. Probiotika

Die FAO/WHO hat bereits 2001 eine Definition von Probiotika² abgegeben.

² Die Anwendung von Probiotika in der Tierernährung, als Pharmazeutika, Kosmetika oder Nahrungsergänzungsmittel wird in der vorliegenden Stellungnahme nicht berücksichtigt.

Definition 3:

Probiotika sind lebende Mikroorganismen, die nach Anwendung in angemessener Keimzahl eine gesundheitsförderliche Wirkung auf den Menschen ausüben (FAO/WHO, 2001)

Probiotische Mikroorganismen sind in der Regel nicht am mikrobiellen Fermentationsprozess in Lebensmitteln beteiligt. Dabei ist nicht ausgeschlossen, dass auch klassische Lebensmittel-Fermentationsorganismen im Gastrointestinaltrakt stoffwechselaktiv und probiotisch sein können. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass lebenden Mikroorganismen zugeschriebene probiotische Effekte oftmals auch durch Zell(wand)fraktionen dieser Organismen ausgelöst werden können. Auch wenn Übergänge zu therapeutischen Effekten gelegentlich fließend sind, werden die Probiotika als funktionale Lebensmittel aufgefasst. Die Bewertung funktioneller Lebensmittel war Gegenstand einer umfassenden Stellungnahme durch die SKLM (SKLM, 2004). Eine Anleitung für den Nachweis vielfältig gesundheitsförderlicher Effekte von Probiotika wurde aktuell in einem Workshop erarbeitet (ILSI 2010).

In probiotischen Lebensmitteln des europäischen Marktes sind ausschließlich Milchsäurebakterien und Bifidobakterien vorhanden. In einer Übersichtsarbeit (Mercenier et al., 2003) werden 30 Stämme der Gattungen *Bifidobacterium* (7), *Enterococcus* (1), *Lactobacillus* (19), *Lactococcus* (1) und *Streptococcus* (2) aufgelistet. Von erheblicher Marktbedeutung sind fermentierte, Joghurt ähnliche Milchprodukte die insbesondere *Lactobacillus casei*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* bzw. *Bifidobacterium animalis* enthalten. Auch Frühstückscerealien, Müsli, Eiscreme, Käse, diverse Getränke und Rohwürste sind als probiotische Lebensmittel im Angebot. Anders als solche enthalten probiotische Nahrungsergänzungsmittel eine große Vielfalt an Organismengruppen, beispielsweise *Bacillaceae* (z. B. *B. coagulans*, *B. subtilis*), Enterokokken (*E. faecium*), *Propionibacterium freudenreichii* und Hefen (*Saccharomyces cerevisiae*, syn. *S. boulardii*).

Die jeweiligen Stämme wurden in der Regel aus humanen Fäces isoliert und gehören, soweit es die Laktobazillen betrifft, zu solchen Spezies, die auch an gewöhnlichen Lebensmittelfermentationen beteiligt sind. Sie sind keine „neuartigen Organismen“ im Sinn der Verordnung (EG) 258/97 (EU, 1997). Die Isolierung von Laktobazillen aus Fäces lässt nicht den eindeutigen Schluss zu, dass es sich um intestinale Keime handelt, da diese Bakteriengruppe in einem Individuum sehr stark variiert und die Organismen auch aus der Mundflora oder aus verzehrten Lebensmitteln stammen und die Magen-Darmpassage überlebt haben können. Im Rahmen einer Sicherheitsbewertung ist die Langzeiterfahrung mit diesen

Spezies, entsprechend dem QPS-Konzept (siehe unten) und die Exposition der Konsumenten sowie der besondere Status von Zielgruppen zu berücksichtigen.

2. 4. Schutzkulturen

Die Erkenntnis, dass bestimmte Stämme unter den Fermentationsorganismen auffallend wettbewerbsstark sind und insbesondere auch pathogene und toxinogene Mikroorganismen in Lebensmitteln hemmen können, eröffnete die Möglichkeit, diese Eigenschaften für die erweiterte Anwendung in Lebensmitteln allgemein zu nutzen. Für derartige Anwendungen wurde der Begriff „**Bioprotection**“ (Bech Hansen, 2002) geprägt, und die dazu verwendeten Kulturen wurden als **Schutzkulturen** (engl. Protective Cultures) bezeichnet.

Definition 4: Schutzkulturen sind aus lebenden Mikroorganismen bestehende Präparate (reine Kulturen oder Kulturkonzentrate), die Lebensmitteln mit dem Ziel zugesetzt werden, Risiken durch pathogene oder toxinogene Mikroorganismen zu reduzieren.

Sie entwickeln ihre schützende Wirkung über Stoffwechselleistungen im Lebensmittel, bestimmen in der Regel jedoch nicht die von den Starterkulturen geprägte typische Natur eines fermentierten Lebensmittels. Die in der Praxis verfügbaren Schutzkulturen enthalten praktisch dieselben Mikroorganismen wie sie auch in den Starterkulturen vorkommen. Für ihre Wirksamkeit ist ihr aktiver Stoffwechsel eine Voraussetzung und damit lassen sie sich auch als „fermentierend“ im Sinne der Definition 1 auffassen. Die Abgrenzung zwischen Schutz- und Starterkulturen liegt im Verwendungszweck.

Die Wirksamkeit von Schutzkulturen beruht auf folgenden Grundprinzipien:

- 1. Verdrängung** von Konkurrenten im Wettbewerb (englisch: competitive exclusion), z.B. durch Konkurrenz um Nährstoffe und/oder Bindungsstellen an das Substrat bzw. durch bessere Adaptation mehr oder weniger Sauerstoff.
- 2. Bildung antagonistisch wirksamer Stoffe**, z. B. bei Milchsäurebakterien Säuren (z. B. Milch-, Essig-, Propion-, Ameisen-, Benzoessäure), Ethanol, H₂O₂, CO₂, Bacteriocine (ribosomal synthetisierte Peptide, Proteine und proteinähnliche Verbindungen wie Nisin) sowie von Antibiotika bzw. anderen antagonistisch wirksamen Prinzipien mit antibakterieller oder antimykotischer Aktivität. Derartige Prinzipien lassen sich dem Spektrum der in der Lebensmitteltechnologie allgemein angewendeten Verfahren (z. B.

Trocknen, Salzen, Kühlen, Gefrieren, Sauerstoffausschluss, Säuern, chemische Konservierung) gleichrangig zuordnen (Hammes, 2010).

Besondere Bedeutung können Schutzkulturen bei der Anwendung in nicht-fermentierten Lebensmitteln mit pH-Wert im Neutralbereich und hoher Wasseraktivität ($a_w > 0.96$) erlangen, die einem erhöhten hygienischen Risiko unterliegen.

3. Rechtliche Aspekte der Anwendung von mikrobiellen Kulturen in Lebensmitteln

Es gibt keine eindeutige Zuordnung der mikrobiellen Lebensmittelkulturen zu einer der Kategorien Zutat, Zusatzstoff oder Verarbeitungshilfsstoff; vielmehr wird die Kategorisierung in den einzelnen Ländern unterschiedlich gehandhabt. Hefe zum Backen oder Brauen ist funktionsgemäß zwar eine Starterkultur, wird in der EU aber als Zutat definiert.

Aus einer Zusammenstellung von Wessels et al. (2004) geht hervor, dass in der EU nur Dänemark eine gesetzliche Vorschrift für den Einsatz von Kulturen hat (Danish order statutory on food additives of 11 January 2005, Statutory order no. 22 of 11 January 2005, Annex 5, Information to be provided in connection with the evaluation of a bacterial culture and mould or yeast fungus). Die Kulturen werden als Zusatzstoffe aufgefasst und erfordern Notifizierung und Genehmigung unter Einschluss der Dokumentation von Wirksamkeit und Sicherheit. An Mischkulturen für die Milchwirtschaft sind nur solche zugelassen, die schon vor 1973 (Beginn der Gesetzgültigkeit) auf dem dänischen Markt waren. Fermentierte Lebensmittel aus anderen EU-Staaten haben freien Marktzugang in Dänemark, auch wenn sie nicht mit Hilfe derartiger Mischkulturen erzeugt wurden.

Eine spezifische rechtliche Regelung mikrobieller Kulturen für Lebensmittel in Europa gibt es nicht. Sie müssen aber den gesetzlichen Ansprüchen der Basisverordnung (EG) 178/2002 bzw. in Deutschland dem Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) entsprechen, d. h. für ihren bestimmungsgemäßen Gebrauch sicher sein. Dies unterliegt allein der Verantwortung des Inverkehrbringers. Spezifischere rechtliche Regelungen finden sich im Anhang.

Der Ständige Ausschuss für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit der EU (SANCO, 2006) hat einen Vorschlag zur Kategorisierung der unterschiedlichen Kulturanwendungen gemacht. Danach sollen klassische Kulturen, die zum Erzielen der charakteristischen Natur

eines (fermentierten) Lebensmittels dienen und vor oder während des Prozesses eingesetzt werden, nicht als Zusatzstoffe angesehen werden. Gleiches gilt für solche Kulturen, die zugesetzt werden ohne einem technologischen Zweck zu dienen, wie zum Beispiel Probiotika. Wenn aber die Kulturen zur Erzielung eines technologischen Effektes (wie z. B. zur Konservierung) eingesetzt werden, dann sind sie als Zusatzstoffe (mit allen Konsequenzen bezüglich Zulassung, Kennzeichnung, usw.) anzusehen.

Unter diese Kategorie fielen somit auch die Schutzkulturen. Im Sinn der Definition 4 der vorliegenden Mitteilung sind diese aber eher den Starterkulturen zuzurechnen (aus denen sie sich entwickelt haben). Sie haben den Zusatznutzen, ein potentiell Risiko durch pathogene oder toxinogene Mikroorganismen zu vermindern.

Werden dagegen bei der Kulturenherstellung im Fermenter Hemmstoffe in wirksamen Konzentrationen gebildet und mit den Kulturorganismen in das Lebensmittel eingebracht, ist das Fermentat einem Zusatzstoff gleichzusetzen. Durch Erfassung des Keimgehaltes sowie des Hemmeffektes der Kulturpräparation *per se* (d. h. ohne im Lebensmittel ablaufende Fermentation) lassen sich Schutzkultur und hemmstoffhaltiges Fermentat zuverlässig unterscheiden. Für die Anwendung von „neuartigen Mikroorganismen“ als Schutzkultur, wie z. B. bestimmter Pseudomonadenstämme mit Wirkung gegen Lebensmittel-pathogene Bakterien bei Saatkeimlingen (Sprossen) bzw. verzehrsfertigen und abgepackten Frischsalaten (Wei et al., 2006; Weiss et al., 2007) ist eine umfassende Sicherheitsbewertung erforderlich.

4. Sicherheitsaspekte

Lebensmittel dürfen die Gesundheit des Verbrauchers nicht gefährden. Die Gewährleistung der Sicherheit liegt in der Eigenverantwortung des Inverkehrbringers. Die Feststellung der mikrobiologischen Sicherheit orientiert sich u. a. an der Langzeiterfahrung („History of Safe Use³“). Weit zurückreichende Erfahrung besteht für verschiedenste, spontan fermentierte Lebensmittel. Bei diesen entwickelt sich stets eine mikrobielle Assoziation, deren Zusammensetzung von den auf die Mikroorganismen einwirkenden ökologischen Faktoren⁴, die für ein spezifisches Lebensmittel charakteristisch sind, abhängt. Aus solchen mikrobiellen Assoziationen lassen sich heute mit Hilfe verfeinerter Untersuchungsmethoden bisher nicht bekannte Mikroorganismen isolieren, die teilweise als neue Spezies beschrieben werden

³ Die SKLM wird sich zu dem Konzept des „History of safe use“ in einer gesonderten Stellungnahme äußern.

⁴ Die mikrobielle Ökologie beschreibt die Wechselwirkung von Mikroorganismen mit ihrer Umwelt.

können. **Tabelle 3** (Anhang) gibt hierfür ein Beispiel aus der Sauerteigfermentation. Diese als „neu“ erkannten Stämme können aber eigentlich als traditionell und damit nicht „neuartig“ im Sinne der Gesetzgebung angesehen werden.

Solange die Langzeiterfahrung belegt, dass Lebensmittel keine gesundheitsgefährdenden Mikroorganismen enthalten, werden Mikroorganismengehalte in Lebensmitteln grundsätzlich bis zur Verderbsgrenze toleriert. Dies gilt auch für die traditionell durch spontane Fermentation erzeugten Lebensmittel. Für mit definierten Kulturen hergestellte Lebensmittel besteht aber nicht immer ausreichende Langzeiterfahrung. Bei einer Bewertung ist aber auch zu berücksichtigen, dass im Vergleich zu spontan fermentierten Lebensmitteln die Verbraucherexposition gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus erhöht sein kann. Allerdings können auch in spontanen Fermentationen einzelne Stämme durchaus vergleichbar hohe Zahlen erreichen. Diese sind die bevorzugte Ausgangsbasis für die Starterkulturentwicklung.

Für die Einführung neuartiger Mikroorganismen (unter Einschluss von GMOs) ist eine Sicherheitsbewertung obligatorisch. Auch für die undefinierten Kulturen sollte eine Sicherheitsbewertung vorgenommen werden. Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass die Stammzusammensetzung nicht konstant gehalten werden kann und diese damit auch ungeeignet ist, solche Kulturen adäquat zu charakterisieren.

4. 1. Qualified Presumption of Safety (QPS)

Auf europäischer Ebene hat die EFSA einen „generischen“⁵ Ansatz für die Sicherheitsbewertung von Mikroorganismen vorgeschlagen (EFSA, 2005a). Dieser betrifft Mikroorganismen, die von der gegenwärtigen Gesetzgebung betroffen sind und daher einer Sicherheitsbewertung bedürfen. Hierzu gehören solche, die in der Lebensmittelproduktion und der Tierernährung genutzt werden, solche, die als Pflanzenschutzmittel dienen, solche die genetischer Modifikation im Sinne der Gentechnikgesetzgebung unterworfen wurden, sowie solche die der Verordnung (EG) 258/97 (EU, 1997) unterliegen. Ferner gilt er auch für Mikroorganismen in traditionellen Lebensmitteln mit einem Erfahrungshintergrund, der eine an Bedingungen geknüpfte („qualified“) Annahme ihrer Sicherheit (QPS) zulässt.

⁵ auf gleichartige Glieder einer Gruppe basierend

QPS beruht auf den vier Säulen Pathogenität, Taxonomie, Vertrautheit und Nutzung und schließt grundlegende Kenntnis des Organismus ein (EFSA, 2005b). Die Zuerkennung eines QPS-Status erfolgt als Einzelfallentscheidung und orientiert sich an einem Entscheidungsbaum (EFSA, 2005b). Nach Ansicht des wissenschaftlichen Ausschusses (EFSA, 2007) ist für zahlreiche Spezies aus den Gruppen Milchsäurebakterien und Hefen die grundlegende Kenntnis des Mikroorganismus ausreichend, um den QPS-Status zuzuerkennen. Für mikrobielle Kulturen mit Anwendung in Lebensmitteln ist der QPS-Status kein vorgeschriebenes Erfordernis. Jedoch dürfen Organismen, die nicht in der „EFSA-Liste“ der QPS-Organismen (EFSA, 2008a) aufgeführt sind, erst als sicher angesehen werden, wenn sich dies aus einer umfassenden Bewertung ergibt. Insofern entsprechen der QPS-Status und die Praxis der Sicherheitsbewertung der Kulturen mit Anwendung in der Lebensmitteltechnik grundsätzlich dem Inhalt einer früheren SKLM-Stellungnahme (SKLM, 1987).

Milchsäurebakterien in Lebensmitteln und humanen Schleimhäuten sowie Intestinalien gelten als sichere Organismen, d. h. als nicht pathogen oder toxinogen. Bestimmte Milchsäurebakterienstämme haben jedoch das Potenzial zur Bildung von biogenen Aminen und sind somit als Kulturkeime ungeeignet. In wenigen Fällen ist eine Beteiligung an humanen Infektionen dokumentiert. Für diese wurde gezeigt, dass die betroffenen Personen in der Regel bereits unter einer grundlegenden Erkrankung litten bzw. immungeschwächt waren (Klein et al, 1992, Aguirre und Collins 1993, Gasser, 1994). Bei derart immungeschwächten Personen können selbst die Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) oder in Sauermilch vorkommender *Lactococcus lactis* sowie insbesondere auch die Keime der Intestinalflora Infektionen auslösen. Die ebenfalls zu den Milchsäurebakterien gehörenden Streptokokken sowie die Enterokokken (Hancock and Gilmore, 2000) können jedoch sowohl obligatorisch als auch potenziell pathogene Spezies bzw. Stämme enthalten. Die Anwesenheit eines für ein Pathogenitätsmerkmal kodierenden Gens ist jedoch nicht hinreichend, zu entscheiden, ob der entsprechende Organismus als pathogen anzusehen ist. Ein solches Merkmal (z. B. Adhärenz an das Darmepithel, Stresstoleranz) kann im Fall der Probiotika u. U. sogar zur Gesundheitsförderung durch den Mikroorganismus beitragen.

Schimmelpilze sollten kein Potenzial zur Bildung von Mycotoxinen oder Antibiotika aufweisen. Ähnliches gilt auch für die in der Fleischwarenherstellung verwendeten Kulturen oder die in Kulturen für Rotschmierekäse enthaltenen Staphylokokken (Hammes, 2009). In dieser Gattung kommen z. B. bei *Staphylococcus aureus* vielfältige Pathogenitäts- und Toxinogenitätseigenschaften vor, die für die Kulturkeime ausgeschlossen werden müssen.

4. 2. Probiotika

Im Vergleich zu fermentierten Lebensmitteln sind Probiotika relativ neue Produkte, die der Gesunderhaltung dienen und keinen therapeutischen Anspruch haben sollen. Bei Personen mit kritischer Abwehrlage sollte eine Anwendung von Probiotika nur mit Bedacht erwogen und vorgenommen werden (siehe unten und WHO-Empfehlungen). So wurden z. B. aus infizierten Personen auch Stämme isoliert, die in Probiotika enthalten sind. Übersichtsarbeiten hierzu finden sich bei Boriello et al. (2003) sowie Vankerckhoven et al. (2008). Die letztgenannte Publikation referiert Ergebnisse eines durch die Europäische Union geförderten Forschungsprojektes „Biosafety Evaluation of Probiotic Lactic Acid Bacteria used for Human Consumption“ (acronym PROSAFE). Aus diesen Publikationen lassen sich Empfehlungen ableiten, die grundsätzlich auch mit jenen der FAO/WHO (2001) übereinstimmen.

1. Die taxonomische Position des Stammes ist mit den molekularbiologischen, biochemischen und physiologischen Methoden des Standes der Technik zu bestimmen.
2. Konsumenten sind hinsichtlich ungewöhnlicher Effekte auf Gesundheit und Wohlbefinden in Verbindung mit dem Verzehr aufmerksam zu beobachten. Dies gilt besonders für potentiell vulnerable Subpopulationen (z.B. Ältere, Kleinkinder, Schwangere und Immunsupprimierte).
3. Milchsäurebakterien, die bekannte und bestätigte Virulenzgene enthalten, insbesondere Enterokokken, sollten nicht als Probiotika verwendet werden.
4. Die Stämme sollen keine übertragbaren Gene für Resistenz gegen therapeutisch verwendete Antibiotika enthalten.

4. 3. Antibiotikaresistenzen

Die Möglichkeit einer Übertragung resistenzvermittelnder Gene ausgehend von den Organismen in Kulturen mit Anwendung in Lebensmitteln findet vor dem Hintergrund der Zunahme an antibiotikaresistenten Krankheitserregern besondere Beachtung (EFSA, 2008b).

Mikrobiologische Resistenz liegt vor, wenn ein Bakterium höhere Antibiotikakonzentrationen toleriert als phänotypisch verwandte Bakterien oder Wildtyp-

Stämme, resultierend aus dem Erwerb von Resistenzmechanismen durch Gentransfer oder Mutation. Zuordnungen erfolgen durch Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) einer großen Anzahl von Stämmen einer Art und nachfolgende Definition von sog. „epidemiological breakpoints“ (ECOFFs, Vankerckhoven et al. 2008). Sie sind entscheidend für eine Beurteilung der Resistenz als erworben („acquired resistance“) oder inhärent („intrinsic resistance“). Die **inhärente Resistenz** ist eine konstitutive Eigenschaft einer **Bakterienspezies**. Beispiele hierfür sind fehlender Transport durch die Zytoplasmamembran, Fehlen eines Wirkorts oder beschleunigter Abbau bzw. Transport des Antibiotikums aus der Zelle. Solche Bakterien sind klinisch antibiotikaresistent (treffender: unempfindlich). Inzwischen liegen ECOFFs von 13 Antibiotika für 12 Milchsäurebakterien-Spezies der Gattungen *Lactobacillus*, *Pediococcus* und *Lactococcus* vor (Klare et al., 2007).

Das „Panel on Biological hazard“ der EFSA hat festgestellt, dass die Lebensmittel-assoziierten fermentierenden Bakterien, ob antibiotikaresistent oder nicht, (mit der möglichen Ausnahme der Enterokokken), kein klinisches Problem darstellen (EFSA, 2008b). Sie können aber als Reservoir von übertragbaren Resistenzgenen dienen. Stämme mit derartigen übertragbaren Genen könnten sich in der Lebensmittelkette verbreiten und die Wahrscheinlichkeit für einen Transfer auf Lebensmittel-assoziierte oder intestinale pathogene Organismen erhöhen. Ob ein derartiges Ereignis zu klinischen Konsequenzen führt, ist allerdings schwierig zu bewerten. In einer qualitativen Risikobeurteilung wurde das Ausmaß abgeschätzt, mit welchem für den Menschen Lebensmittel als Quelle der Aufnahme von Bakterien mit antimikrobieller Resistenz oder aus Mikroorganismen stammender Resistenzgene dienen. Eine Rangordnung der identifizierten Risiken wurde erstellt, und Optionen zur Reduzierung der Exposition benannt. Nach Ansicht der SKLM sollten Stämme mit übertragbaren Resistenzdeterminanten gegenüber therapeutisch eingesetzten oder Kreuzresistenzen hervorrufenden Antibiotika nicht in Lebensmitteln, Futtermitteln oder als Probiotika verwendet werden. Diese Schlussfolgerung erscheint vor dem Hintergrund des Fehlens abgesicherter Daten aus Gründen des vorsorglichen Verbraucherschutzes gerechtfertigt.

5. Schlussfolgerungen und Empfehlungen.

Der Einsatz mikrobieller Kulturen erlaubt nach Einschätzung der SKLM nicht nur die Herstellung hochwertiger Lebensmittel, sondern insbesondere eine Erhöhung der Reproduzierbarkeit ihres Herstellungsprozesses und dadurch auch der Lebensmittelsicherheit. Diese Kulturen umfassen sowohl definierte Einzel-, Mehrstamm-, und Mehrstamm-Mischkulturen als auch undefinierte Mehrstamm-Mischkulturen. Die Risikoabschätzung sollte die mikrobiellen Kulturen für Lebensmittel vergleichend zu jenen in spontanen Fermentationen bzw. aus „in Haus“-Kulturen oder im „back shuffling“-Prozess verwendeten bewerten. Diese traditionellen Methoden werden auf der Basis von Langzeiterfahrung als sicher angesehen. Undefinierte Mehrstamm Mischkulturen, die bis zur Ebene von Spezies charakterisiert sind, für die ein QPS Status gezeigt wurde, können als sicher angesehen werden. Stämme von Spezies, für die kein QPS Status gezeigt werden kann, wie z. B. Enterokokken, Laktobazillen der Risikogruppe 2 (ohne nachgewiesene Langzeiterfahrung), Staphylokokken oder Schimmelpilze bedürfen einer umfassenden Sicherheitsbewertung. Schutzkulturen sind im Einzelfall zu bewerten. Wenn die darin enthaltenen Organismen auch als Starterkulturen Anwendung finden, sollten sie aufgrund gleicher Eigenschaften als Starterkulturen angesehen werden. In Schutzkulturen enthaltene Organismen, die keine Anwendung als Starterkulturen haben, bedürfen der umfassenden Sicherheitsbewertung.

Für die Bewertung soll jeweils die größtmögliche taxonomische Einheit (z. B. Gattung > Spezies > Stamm) herangezogen werden.

Nach Ansicht der SKLM sollte die durch Fermentationstechnologie und Rohstoffe bestimmte mikrobielle Ökologie, d. h. die durch Umwelteinflüsse und Stoffwechseleigenschaften begründete Vergesellschaftung verschiedener Mikroorganismen (Assoziation) als Grundlage einer Bewertung der Neuartigkeit von neu beschriebenen Organismen herangezogen werden. Dies kann zur Folge haben, dass als „neu“ erkannte Stämme dennoch als traditionell angesehen werden können.

In Ergänzung zu den referierten Empfehlungen von WHO und EFSA empfiehlt die SKLM, dass in Lebensmittelfermentationen verwendete Schimmelpilze kein Potential zur Antibiotikabildung besitzen sollten. Weiterhin wird empfohlen, den von der EFSA vorgeschlagenen QPS-Status als ein Hilfsmittel zur Sicherheitsbewertung mikrobieller

Kulturen anzuwenden, deren Zulassung keiner formalen gesetzlichen Regelung unterworfen ist. Für die wichtigste Gruppe, die Milchsäurebakterien mit QPS-Status, kann sich die Bewertung dann auf wenige Eigenschaften beschränken, wie z. B. die Sicherstellung der Abwesenheit des Potentials zur Bildung physiologisch wirksamer biogener Amine oder übertragbarer Antibiotikaresistenz.

6. Forschungsbedarf

Forschungsbedarf besteht hinsichtlich einer adäquaten Sicherheitsbewertung bisher undefinierter Kulturen, mit der Zielsetzung, zu klären, ob derartige Kulturen auch schon durch Beschreibung auf der Spezies- oder sogar Gattungsebene hinreichend charakterisiert werden können. Sie sind durch die Langzeiterfahrung zwar als sicher anzusehen, aber beispielsweise das Potenzial zur Bildung von biogenen Aminen oder die Gegenwart von übertragbarer Antibiotikaresistenz lassen sich in einem derart komplexen Gemisch von „QPS“-Organismen nur eingeschränkt abschätzen.

Im Umfeld der Resistenzforschung sollte mehr Aufmerksamkeit dem Ziel gewidmet werden, Daten zu erheben, die es erlauben, zu einer wissenschaftlich fundierten quantitativen Risikobewertung zu kommen. Hierbei stellt die Feststellung der Anwesenheit von übertragbarer Resistenz eine große Herausforderung dar, da die Übertragbarkeit als quantitatives Ereignis aufzufassen ist und nicht übertragbare Gene bei Bakterien schwer zu definieren sind. Darüber hinaus ist die Bedeutung eines solchen Ereignisses für den Menschen nach Verzehr fermentierter Lebensmittel praktisch nicht untersucht. Dies gilt umso mehr, wenn es sich um **einen** resistenten Stamm unter vielen anderen handelt.

Weiterer Forschungsbedarf über das QPS Konzept hinaus besteht bezüglich der Definition von Pathogenitätsmerkmalen bei mikrobiellen Kulturen. Die Regulation und das Zusammenspiel derartiger Merkmale bei der Präparation sowie in Lebensmittelprozessen, aber auch in Bezug auf Mikroorganismen-Mensch-Beziehungen sollten deswegen umfassend untersucht werden und verstanden sein.

Literatur

- Aguirre, M. und Collins, M. D., 1993: Lactic acid bacteria and human clinical infection, *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 95 – 107
- Bech Hansen, E., 2002: Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future, *Intern. J. Food Microbiol.* 78, 119 -131
- Bockelmann, W., Willems, K. P. Neve, H., und Heller, K. H., 2005: Cultures for ripening of smear cheeses, *Intern. Dairy. J.*, 15, 719 – 732
- Bohak, I., Back, W., Richter, L., Ehrmann, M., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., 1998: *Lactobacillus amylolyticus* sp. nov., isolated from beer malt and beer wort. *System. Appl. Microbiol.* 21, 360-4.
- Boriello, S. P., Hammes, W. P., Holzapfel, W. Marteau, P., Schrezenmeier, M., Vaara, M., und Valtonen, V., 2003: Safety of Probiotics that contain lactobacilli or Bifidobacteria, *Clinical Infectious Diseases*, 36, 775 -780
- Buckenhüskes, H. J, 2001: Fermented vegetables, In: Doyle, M. P. et al.(eds) *Food Microbiology: Fundamental and frontiers*, 2nd edition, pp 665 - 679, ASM Press, Washington
- Chamba, J. F. und Irlinger F., 2004: In: Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. Cogan, T. M. and Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, General Aspects*, vol. 1. , p.p. 191 -206, Elsevier Academic Press, London
- EFSA, 2005a: Efsa scientific colloquium. Summary report. QPS. Qualified presumption of safety of micro-organisms in food and feed. 13 -14. December 2004, Brussels, Belgium. ISBN 92-9199-012-4.
- EFSA, 2005b: Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a generic approach to the safety assessment by EFSA of microorganisms used in food/feed and the production of food/feed additives, *The EFSA Journal* 226, 1-12
- EFSA, 2007: Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA on the introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *The EFSA Journal*, 587, 1-16
- EFSA, 2008a: Scientific opinion of the panel on biological hazards on the request fro EFSA on the maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed. *The EFSA Journal*, 928, 1 – 48
- EFSA, 2008b: Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard, *The EFSA Journal*, 765, 1 – 87
- EU, 1997: Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Januar 1997 über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten, *Amtsblatt Nr. L 043* vom 14/02/1997 S. 0001 – 0006
- FAO/WHO, 2001: Report on expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powdered milk with life lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina. http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf
- Gasser, F., 1994: Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections, *Bull. Inst. Pasteur*, 92, 45 – 67

- Hamme, W. P., 2009: Die Staphylokokken. In: H. Weber, ed. Lebensmittelmikrobiologie, p.p. 522 - 530, Behr's Verlag, Hamburg
- Hamme WP., 2010: Lebensmittelkunde. In: Biesalski HK, Bischoff S, Puchstein C, Hrsg. Ernährungsmedizin. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2010: 955-966.
- Hamme, W.P., und C. Hertel. 1998. New developments in meat starter cultures. Meat Sci. 49:S125-S138.
- Hamme W. P., und R. F. Vogel. 1997. Sauerteig. In: G. Müller, W. Holzapfel, H. Weber (eds.), Mikrobiologie der Lebensmittel, Lebensmittel pflanzlicher Herkunft. Behr's Verlag, Hamburg, p.p. 261-285
- Hamme und Hertel, 2009: "Lactobacillus" in: De Vos et al. eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 3, The Firmicutes; p.p. 465 - 511, Springer
- Hancock, L. F., und Gilmore, M. 2000: Pathogenicity of Enterococci. In V. A. Fischetti et al. ed. Gram-Positive Pathogens, p. 251 - 258, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- ILSI. 2010: Guidance for assessing the probiotics beneficial effects: how to fill the gap. J. Nutrition, Supplement. 671S - 721S
- Klare, I., Konstabel, C. Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G. Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S., Witte, W., und Goossens, H., 2007: Antimicrobial susceptibility of Lactobacillus, Pediococcus and Lactococcus human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use, J. Antimicrob. Chemotherapy, 59, 900 - 912.
- Klein, G, Bonaparte, C., und Reuter, G, 1992: Laktobazillen als Starterkulturen für die Milchwirtschaft unter dem Gesichtspunkt der sicheren Biotechnologie, Milchwissenschaft, 47, 632 – 636
- Krieger-Weber, S. 2009: Application of yeast and bacteria as starter cultures, In: König, H. et al. (eds) Biology of microorganisms on grapes, in must and wine, Chapter 27, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. in press
- Laitila, A., Alakomi, H-L., Raaska, L., Mattila-Sandholm, T., und Haikara, A., 2002: Antifungal activities of two Lactobacillus plantarum strains against Fusarium moulds in vitro and in malting of barley; Journal of Applied Microbiology, 93, 566–57.
- Lonvaud-Funel, A., 1999: Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. Antonie Van Leeuwenhoek, 76, 317-31.
- Mäyrä-Mäkinen, A und Bigret, M., 1998: Industrial use and production of lactic acid bacteria. In. Salminen, S. and von Wright, A. eds.: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. p. 73 -102. Marcel Dekker Inc., New York
- Mercenier, A., Pavan, S. und Pot, B., 2003: Probiotics as biotherapeutic agents. Present knowledge and future prospects, Current Pharmaceutical Design, 9, 175 - 191.
- SANCO, 2006 – D1(06)D/413447, Summery record of the standing Committee on the Food Chain and Animal Health, held in Brussels on 14 December 2006.
- Schehl, B., Arendt E. K. und Ulmer, H. M., 2007: The reduction of malting loss using lactobacilli. MBAA Technical Quarterly , 44, 84-92.

- SKLM, 1987: Starterkulturen und Enzyme für die Lebensmitteltechnik / DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Mitteilung XI der Senatskommission zur Prüfung von Lebensmittelzusatz- und -inhaltsstoffen, VCH Verlag GmbH, Weinheim, ISBN 3-527-27362-X
- SKLM, 2004: Functional food: safety aspects. Senate Commission on Food Safety, SKLM, (eds.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, ISBN 3-527-27765-X
- Teuber, M., 2000: Fermented Milk Products. In: Lund, B. M., Baird-Parker, T., and Gould, G. W., The Microbiological Safety and Quality of Food, vol 1. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, p.p. 535 – 589
- Vankerckhoven, V., Huys, G., Vancanneyt, M., Vael, C., Klare, I., Ramond, M-B., Entenza, J. M. Moreillon, P., Wind, R. D., Knol, J., Wiertz, E., Pot, B., Vaughan, E. E. Kahlmeter, G., und Goossens, H, 2008: Biosafety assessment of Probiotics used for human consumption: recommendations from the EU-Prosafe project, Trends in Food Science & Technology, 19, 102 – 114
- Wessels, S., Axelsson, L., Bech Hansen, E., De Vuyst, L., Lähteenmäki, L., Lindgren, S., Mollet, B., Salminen, S., und A. von Wright, 2004: The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. Trends in Food Science & Technology, 15, 498 – 505
- Wei, H., Wolf, G., und W.P. Hammes. 2006: Indigenous microorganisms from iceberg lettuce with adherence and antagonistic potential for use as protective culture. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 7, 294 - 301.
- Weiss, A. Hertel, C., Grothe, S., Diep, H., und Hammes, W. P. 2007: Characterization of the cultivable microbiota of sprouts and their potential for application as protective cultures. Syst. Appl. Microbiol. 30: 483 - 493.

ANHANG

Tabelle 1: Beispiele für fermentierte Lebensmittel des europäischen Marktes

<i>Rohmaterial</i>	<i>Produkt</i>	<i>Mikroorganismus</i>
Oliven, Kohl, Gurken, Tomaten	fermentierte Oliven, Sauerkraut, Salzgurken	Milchsäurebakterien (MSB)
Teig und Pasten aus Getreide	Sauerteig, Hefeteig, Kisra	MSB, Hefen
Malz, Koji, erzeugt aus Getreide	Bier, Sake, Spirituosen	MSB, Hefen, Schimmelpilze
Bier, Wein, Spirituosen	Essig	Essigsäurebakterien
Trauben und andere Früchte	Wein	Hefen, MSB
Soja, Johannisbrot	Sojasauce, Tempeh, Natto, Dawadawa	MSB, <i>Bacillus spp.</i> , Schimmelpilze, Hefen
Milch	Sauermilchprodukte: Dickmilch, Sauerrahm, Joghurt, Kefir, Koumiss	MSB, Hefen, Essigsäurebakterien
	Sauerrahmbutter	MSB
	Käse	MSB, Hefen, Schimmelpilze, Propionsäurebakterien
Fleisch	Rohwürste	MSB, Hefen, Schimmelpilze, Staphylokokken, Mikrokokken, <i>Streptomyces</i>
	Schinken	MSB, Hefen, Schimmelpilze, Staphylokokken
Fisch	Fischsauce, fermentierter Fisch	Staphylokokken, <i>Vibrio costicola</i> , MSB

Tabelle 2: Einflüsse von Fermentationsorganismen auf Lebensmittel

Erwünschte Wirkung	Organismengruppe	Lebensmittel
Ernährungsphysiologische Qualität	Milchsäurebakterien Hefen	Verbesserung der Verdaubarkeit, Abbau von antinutritiven Stoffen in Getreide, Hülsenfrüchten, Gemüse Vitaminanreicherung
Geschmack	Milchsäurebakterien Essigsäurebakterien	fermentierte Milchprodukte, Brot, Sauergemüse, Oliven, Rohwurst, Wein, Bier Essig
Aroma	Milchsäurebakterien Propionsäurebakterien, Staphylokokken, Hefen, Brevibakterien, Arthrobacter Staphylokokken, Kocuria ssp, Schimmelpilze	wie bei Geschmack Hart-/Schnittkäse Rotschmierekäse Rohwurst, Fischsauce Brot, fermentierte Milchprodukte, Rohwurst, Käse, Rohwurst, Sojasauce
Textur/Konsistenz/Gasbildung	Milchsäurebakterien, Hefen Schimmelpilze, Staphylokokken, Brevibakterien, Arthrobacter Propionsäurebakterien	fermentierte Milchprodukte, Käse, Rohwurst, Sauergemüse, Brot Bier, Schaumwein, Kefir, Backwaren Käse Hart-/Schnittkäse
Farbe	Milchsäurebakterien, Kocuria, Staphylokokken, Brevibakterien	Rohwurst Rotschmierekäse
Haltbarkeit	Milchsäurebakterien, Hefen, Zymomonas, Propionsäurebakterien, Essigsäurebakterien	Alle milchsauer fermentierten Lebensmittel Alkoholische Getränke Käse Essig

Tabelle 3: Mikrobielle Assoziationen in kontinuierlich geführten Sauerteigen

Milchsäurebakterien	Hefen
<i>L. acidifarinae</i> , <i>L. alimentarius</i> , <i>L. amylophilus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. crustorum</i> , <i>L. fructivorans</i> , <i>L. hammesii</i> , <i>L. mindensis</i> , <i>L. namurensis</i> , <i>L. nantensis</i> , <i>L. nodensis</i> <i>L. paralimentarius</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rossiae</i> <i>Lactobacillus</i> <i>sanfranciscensis</i> , <i>L. secaliphilus</i> , <i>L. siliginis</i> , <i>L. spicheri</i> , , <i>L. zymae</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Weissella confusa.</i> , <i>W. cibaria</i> <i>Pediococcus spp</i>	<i>Canida humilis</i> syn. <i>C. milleri</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Kasachstania exiguus</i> syn. <i>Saccharomyces exiguus</i> syn. <i>S. minor</i> , anamorph <i>Torulopsis holmii</i> syn. <i>C. holmii</i> , <i>Pichia kudriavzevii</i> syn. <i>Issatchenkia orientalis</i> , anamorph <i>C. krusei</i> , <i>C. boidii</i> , <i>Torulasporia delbruecki</i> ,

Fett: nach 2000 neu beschriebene Spezies

Anhang weitere rechtliche Regelungen

Spezifischer legt die EU Richtlinie 95/2/EG, Anhang IV fest, dass für die Herstellung von gesäuerter Milch in Säuglingsanfangsnahrung und -folgenahrung nichtpathogene L(+)-Milchsäure erzeugende Kulturen verwendet werden dürfen, d.h. hier ist nur die Milchsäurekonfiguration von Belang. Weitere rechtliche Regelungen sind:

a) die Anwendung von Milchsäurebakterien in Wein: Verordnung (EG) Nr. 1622/2000 (Anhang VIII) erlaubt für den biologischen Säureabbau die Anwendung von Spezies der Gattungen *Leuconostoc*, *Lactobacillus* und *Pediococcus*, wenn diese aus Trauben, Mosten, Weinen oder Traubenverarbeitungserzeugnissen isoliert wurden,

b) die Anwendung von mikrobiellen Präparaten in ökologischen/biologischen Erzeugnissen (Verordnung (EG) Nr. 834/2007) und

c) die Anwendung von Mikroorganismen, die nach 1997 (Inkrafttreten der Novel Food Verordnung (EG) 258/97) eingesetzt werden und vorher noch nicht in signifikanten Umfang in der EU verzehrt wurden. Für genetisch modifizierte Mikroorganismen (GMO) hat sich gegenüber der ursprünglichen Zulassung nach dieser Verordnung die Änderung ergeben, dass sie nunmehr den Verordnungen (EG) 1829/2003 und (EG) 1830/2003 unterliegen. Bis heute wurde kein Antrag auf Zulassung eines GMO-Stammes für Lebensmittelkulturen gestellt.