



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Kulturen aus dem Liebefeld – Eine zukunftsorientierte Tradition bei fermentierten Milchprodukten

Emmanuelle Arias-Roth

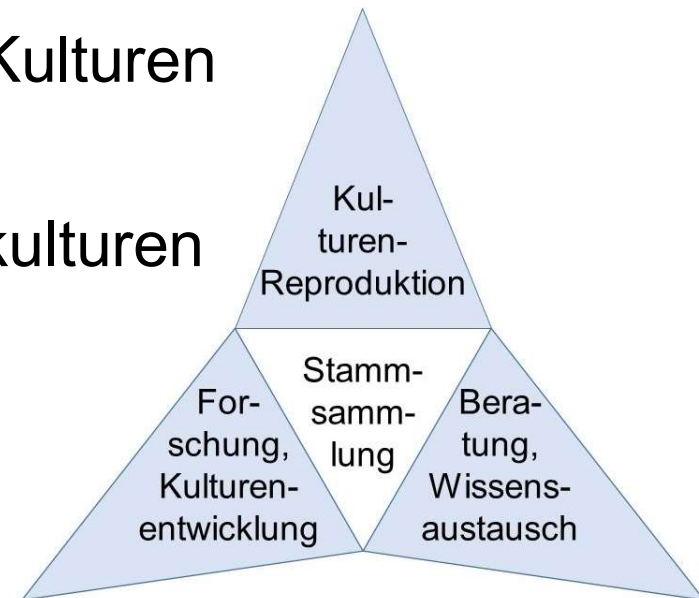
22.11.2018

www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt



Kennzahlen der Agroscope Liebefeld Kulturen

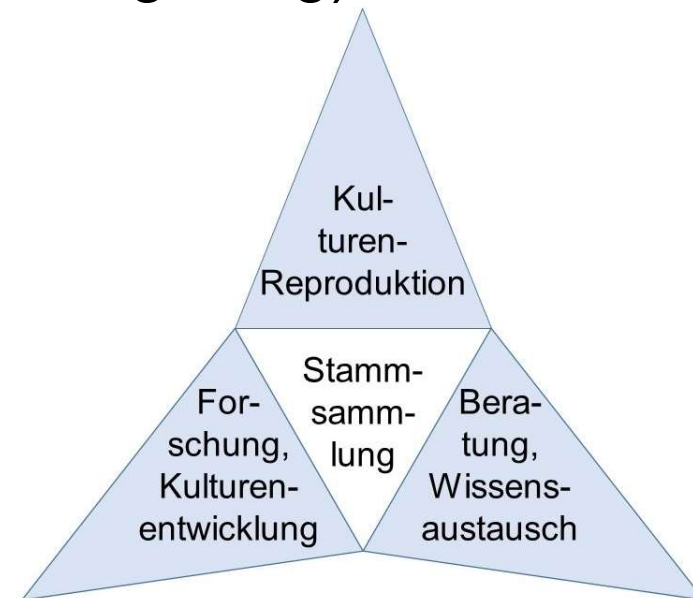
- Seit 100 Jahren
- > 90 % der gewerblich hergestellten Schweizer Käse
> 90 % der exportierten Schweizer Käse
- Sortiment: 40 verschiedene Kulturen
 - Umsatz von 2.6 Mio. CHF
 - 90'000 Fläschchen Flüssigkulturen
 - 115'000 Sachets gefriergetrocknete Kulturen





Anwendungen beim Käse

- Starterkulturen (rohe und definierte Mischungen)
- Kulturen für Loch- und Aromabildung (Propionsäuregärung, Citrat-Vergärung)
- Oberflächenkulturen
- Herkunftsnachweiskulturen



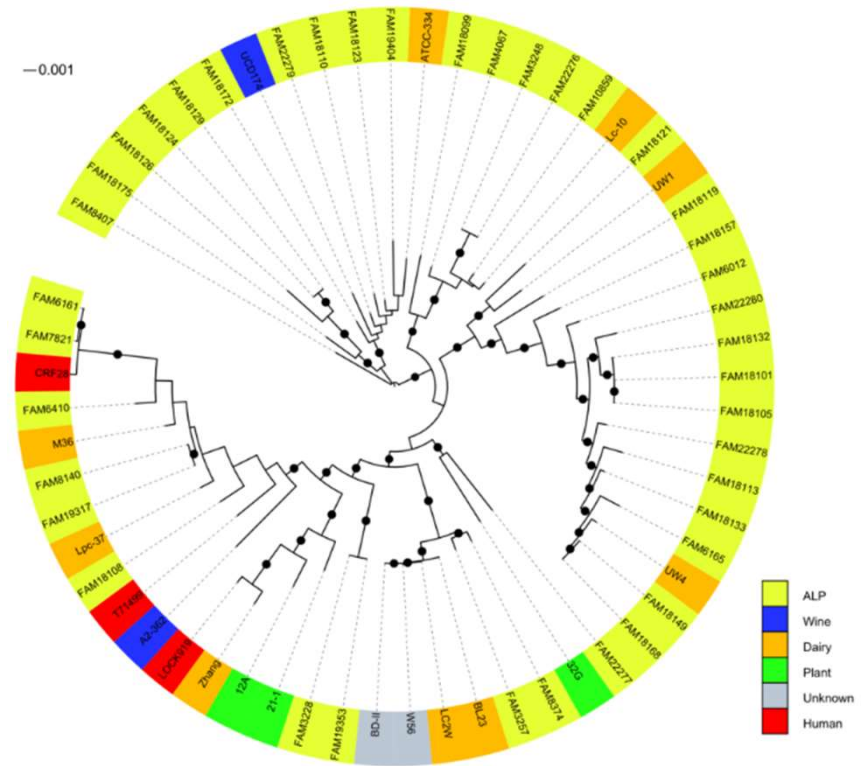
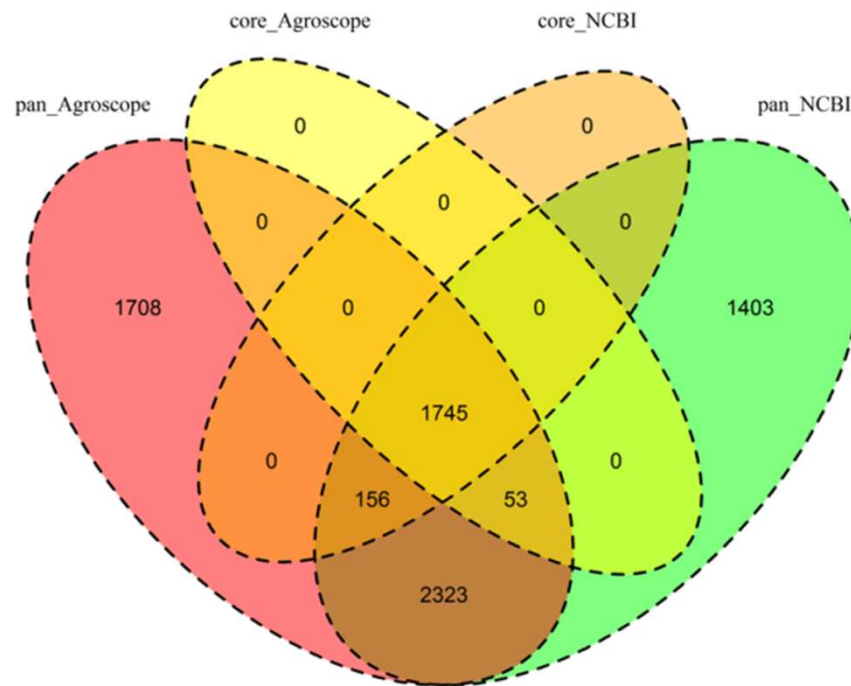


Agroscope hat eine einzigartige Stammsammlung

- Mehr als 10'000 Stämme
- Sehr alte Stämme, da schon von mehr als 100 Jahren mit Isolieren, Identifizieren, Klassifizieren und Konservieren begonnen wurde:
 - Ursprüngliche Biodiversität
 - Frei von erworbenen Antibiotika-Resistenzen
 - Garantiert nicht gentechnisch verändert
- Vor allen Bakterien (Milchsäurebakterien)
- Weltweit einzigartig



Vollgenomsequenzierung: 40 *Lactobacillus paracasei* Stämmen aus Sammlung Agroscope





Dialact: Vollgenomsequenzen von ca. 700 Stämme aus der Agroscope-Stammsammlung

- 700 Stämme, assembliert und annotiert
- Auswahl der Stämme basierend auf Genomdaten
 - Suche nach Sequenzen (Blastn, Blastp)
 - Erkennen von Orthologen

The screenshot shows the Dialact web interface with a dark navigation bar at the top containing the following links: Dialact, Protein db, Strain information, File download, and Tools. Below the navigation bar is the heading "Bioinformatic tools". A sub-heading reads "The Dialact web interface allows four different kind of analysis". The interface is divided into three visible sections, each with a title, a description, and a "Start analysis" link:

- BLAST search with web interface**
This option allows the BLAST search of a few sequences simultaneously against the Databases of Dialact. The output will be presented in a NCBI blast like manner.
[Start analysis](#)
- Gene trait matching**
This analysis allows the identification of genes that are associated with a specific phenotype. Fisher's exact test is used to test all orthologous gene clusters for enrichment in one of the two groups of strains.
[Start analysis](#)
- Core genome based maximum likelihood tree**
This analysis searches for all genes that are present in the core genome of a list of strains that is specified by the user. The genes are aligned and a maximum likelihood tree is constructed based on the alignment.
[Start analysis](#)



Aktuelle Schwerpunkte bei der Kulturenentwicklung

- Säuerungskulturen
 - Herkunftsnachweiskulturen
 - Schutzkulturen
 - Kulturen für weitere Kundenbedürfnisse
 - Neue Verfahren für die Kulturenherstellung
 - Biologische Sicherheit der Kulturen
- } AOP Käse



Kulturen aus dem Liek
Emmanuelle Arias-Roth



Herkunftsnachweiskulturen

- Ziel: Entwicklung von neuen und Monitoring von eingeführten Herkunftsnachweiskulturen
- Teilprojekte:
 - Entwicklung einer neuen Herkunftsnachweis-Kultur für Gruyère AOP, Sbrinz AOP und Vacherin fribourgeois AOP
 - Monitoring der Wirksamkeit der eingeführten Herkunftsnachweiskultur für Emmentaler Switzerland AOP, Tête-de-Moine AOP und Appenzeller®





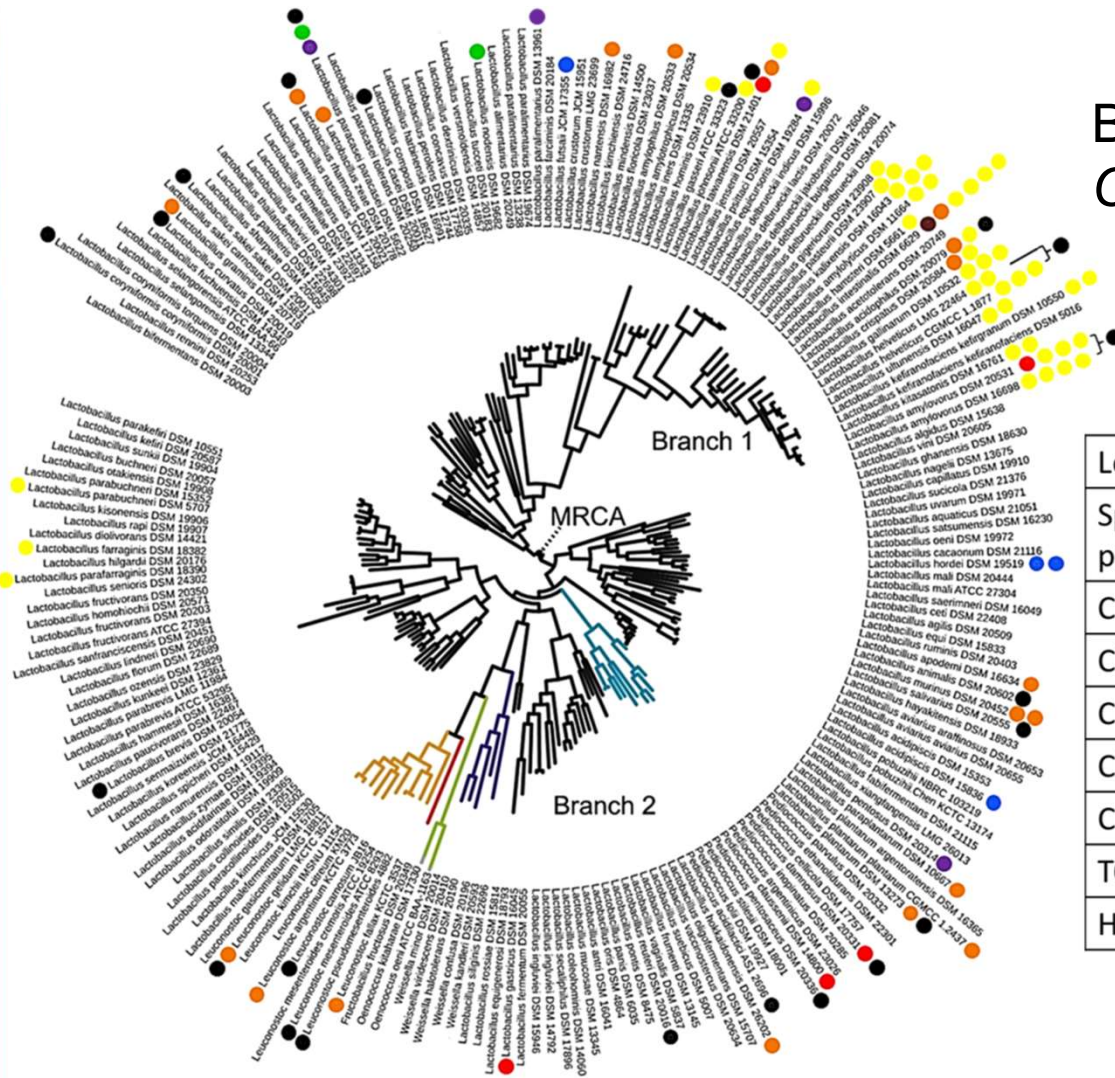
Schutzkulturen

- Ziel: Hemmung von unerwünschten Keimen mittels Schutzkulturen
- Teilprojekte (KTI-Projekte)
 - Anti-Clostridia
 - Anti-Listeria
 - Anti-E.coli





Schutzkulturen – *Lb. paracasei*



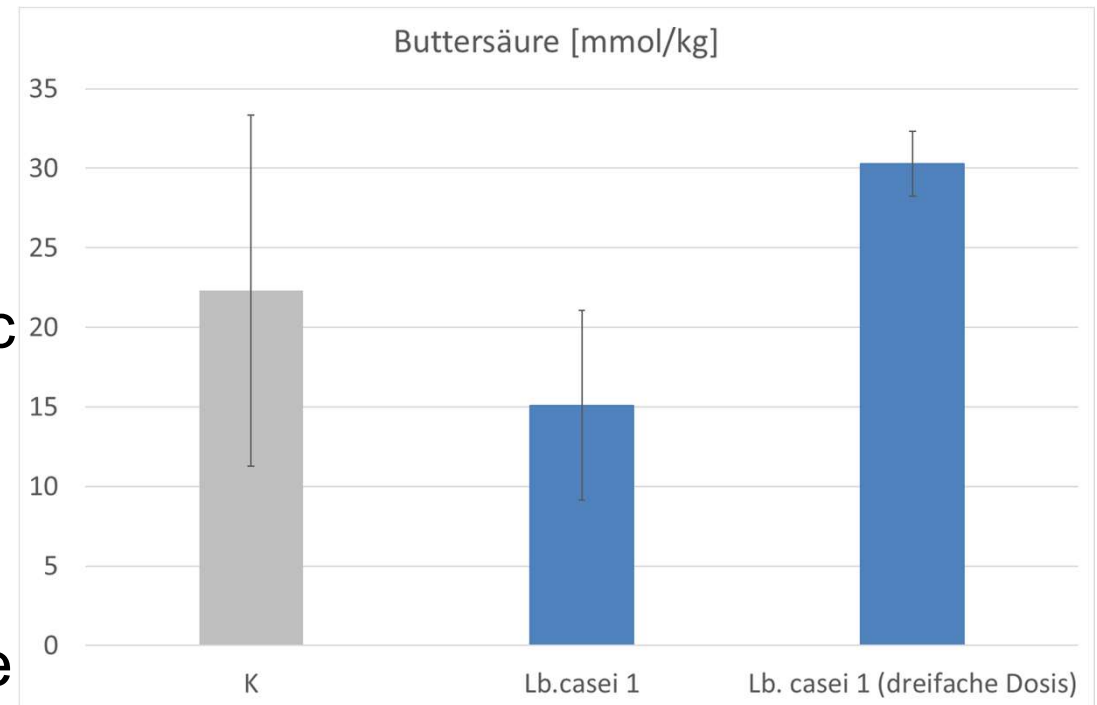
Bacteriocine von Laktobazillen
Collins et al., 2017

Legend:	
Species for which a bacteriocin has been previously characterised	●
Class I Bacteriocin	●
Class IIa Bacteriocin	●
Class IIb Bacteriocin	●
Class IIc Bacteriocin	●
Class IIId Bacteriocin	●
TOMM	●
Helveticin	●



Schutzkulturen – *Lb. paracasei*

- Genommining
 - Bacteriocin IIb, IIc
- *In vitro* Hemmung
 - Clostridia ✓
- Pilotplant-versuche
 - Wachstum nach 24h/Reifung ✓
 - Hemmung ✓
- Praxisversuche
 - 1 Charge von 6 bläht ✗



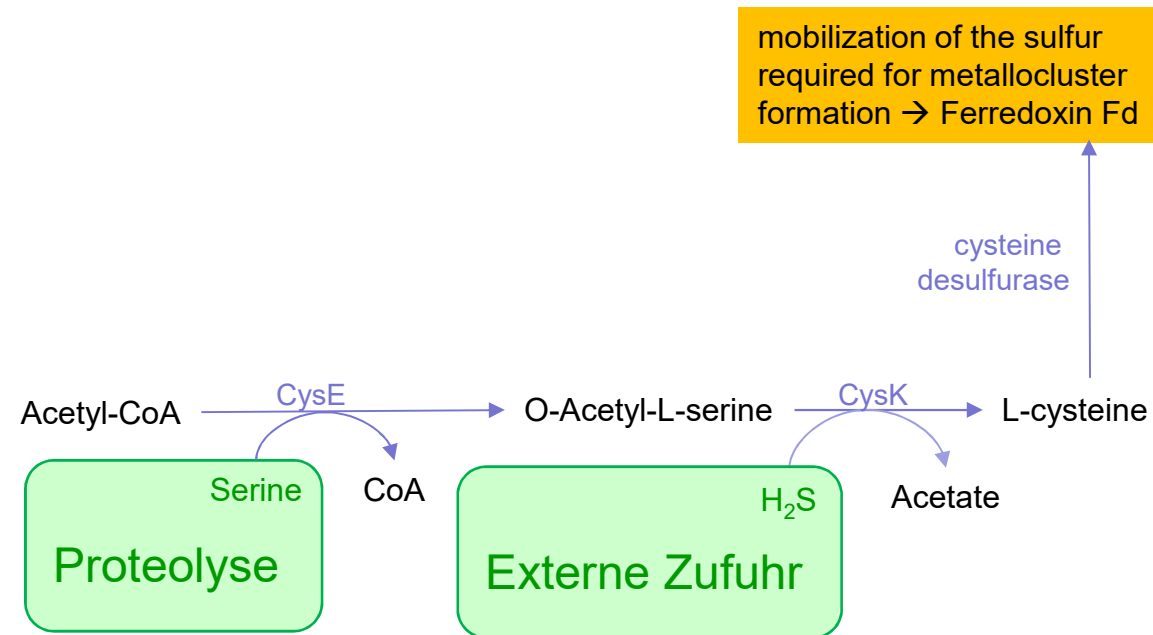


Schutzkulturen – *Lb. paracasei*

- Regel 1:
 - Das Wachstumsverhalten der zu hemmenden Spezies möglichst vorher abklären!!!
 - *Clostridium tyrobutyricum*
 - Viele offene Fragen
 - *In silico*: Nährstoffbedarf (Storari et al., 2016)
 - Biotin, PABA (Vorläufer von Folsäure)
 - *In vitro*: RNA-seq



Metabolismus *Clostridium tyrobutyricum*

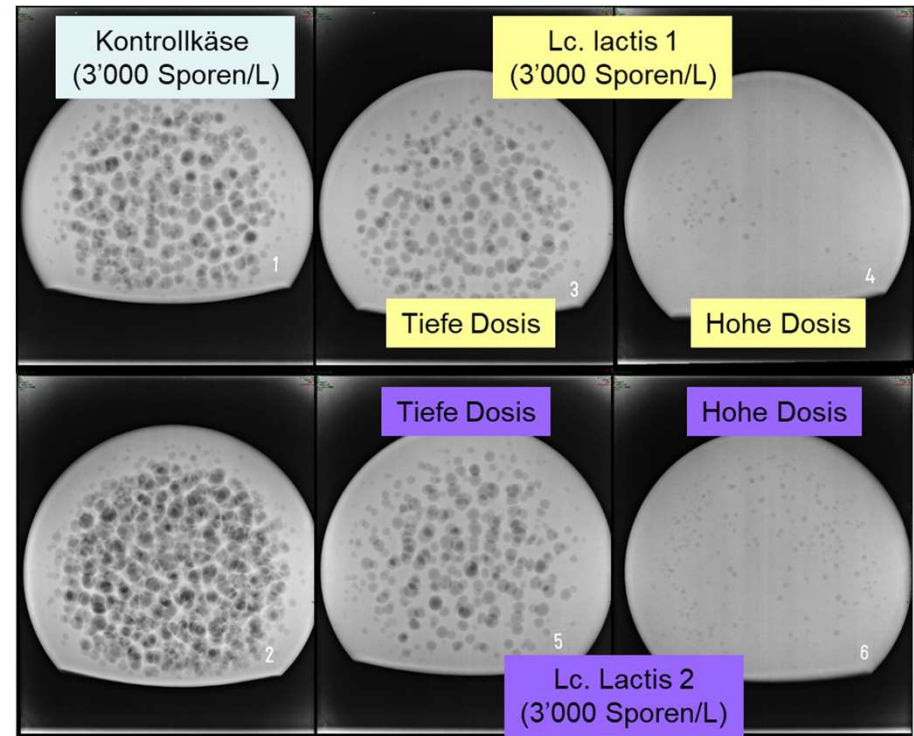


- *Lb. paracasei* Stämme mit *ctl* gene *cystathionine lyase*
 - Bogicevic, 2013
 - *ctl* → *in situ* H₂S / cysteine production
 - Wüthrich, 2018
 - mobile cluster *cysK-ctl-cysE*



Schutzkulturen – *Lc. lactis* subsp. *lactis*

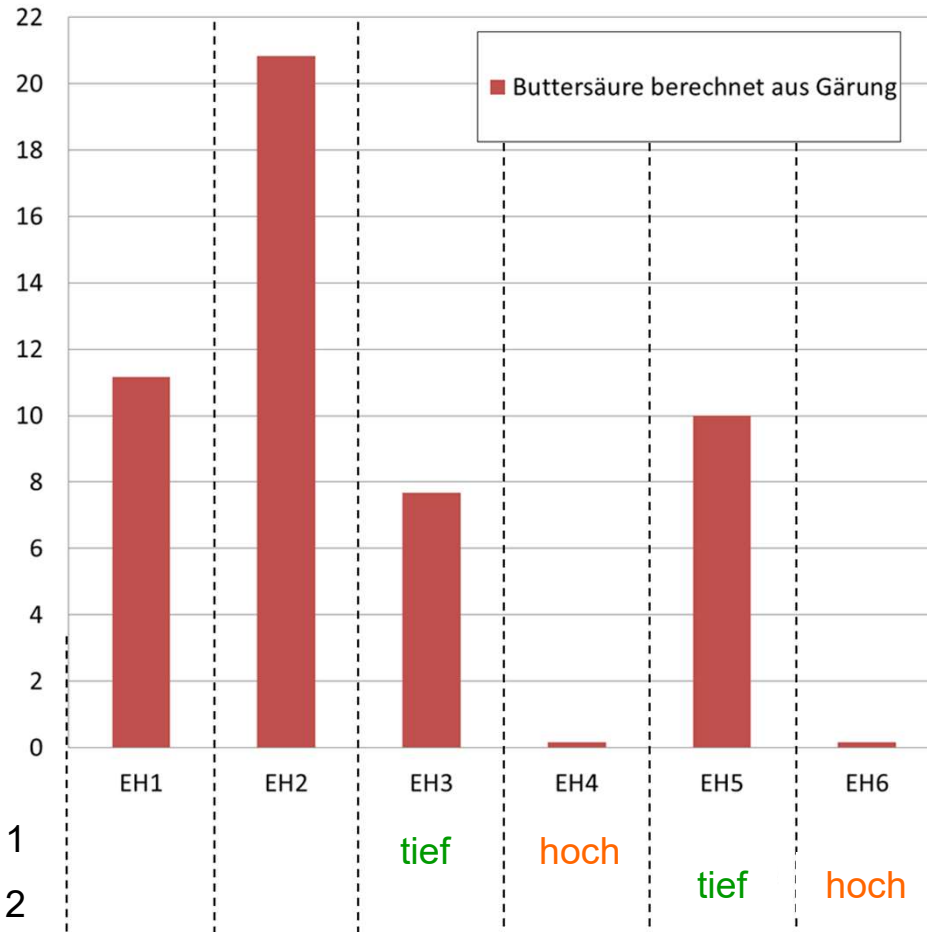
- Genommining
 - Breitspektrum Lacticins
- *In vitro* Hemmung
 - Clostridia ✓
- Pilotplant-versuche
 - Wachstum nach 24h ✓
 - Hemmung ✓
- Praxisversuche
 - Angebotsform
 - Einfluss auf die Qualität (betriebsspezifisch) ✓





Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Wirkung: Buttersäure [mmol/kg] nach 3 Monaten



Lactococcus lactis 1

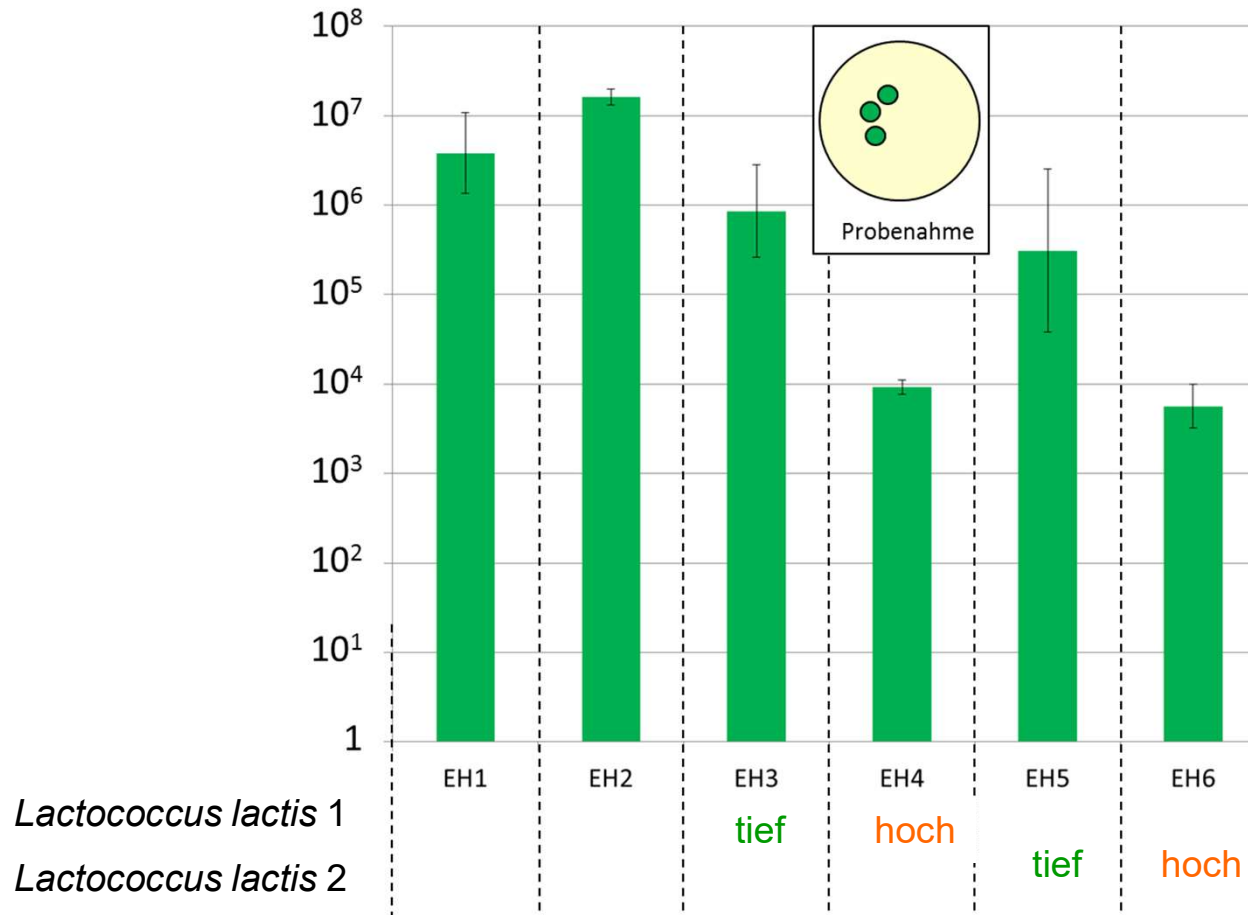
Lactococcus lactis 2

Dosis



Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Wirkung: DNS [genome equivalent per g]

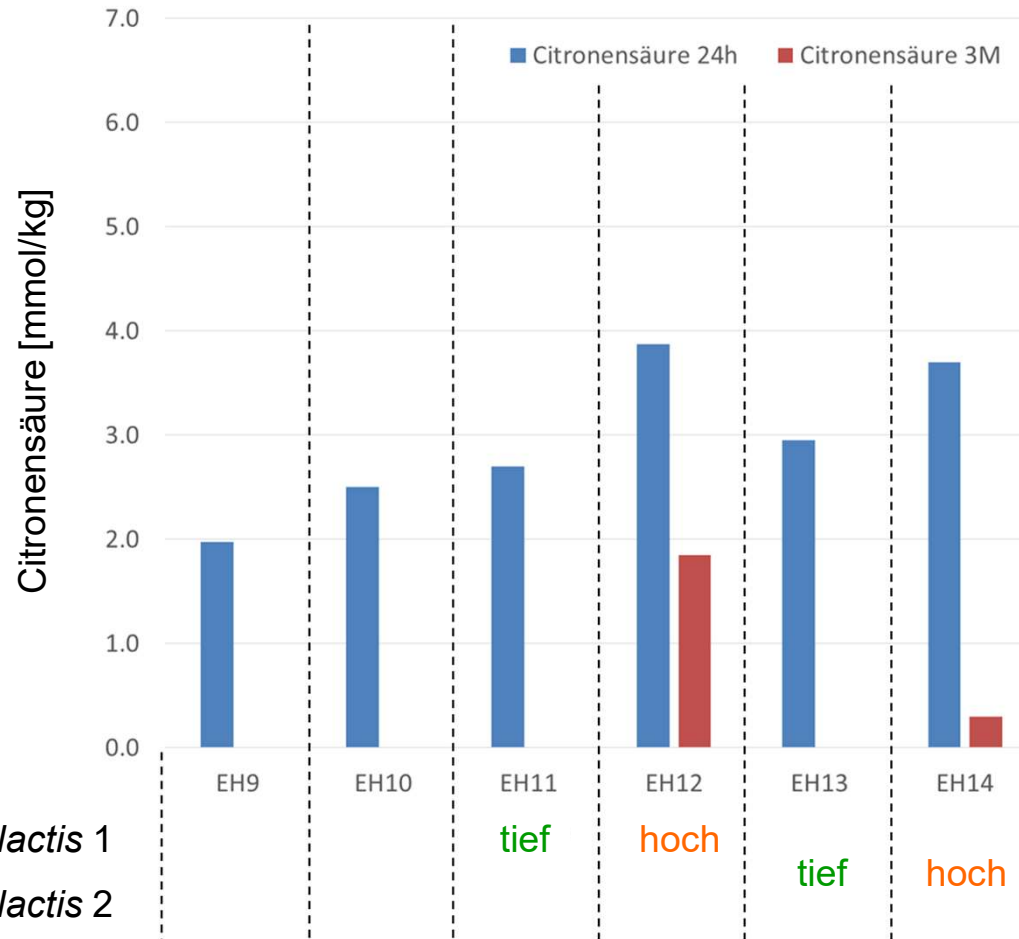


Dosis



Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Einfluss auf die Qualität: Pilotplant



Lactococcus lactis 1
Lactococcus lactis 2

Dosis

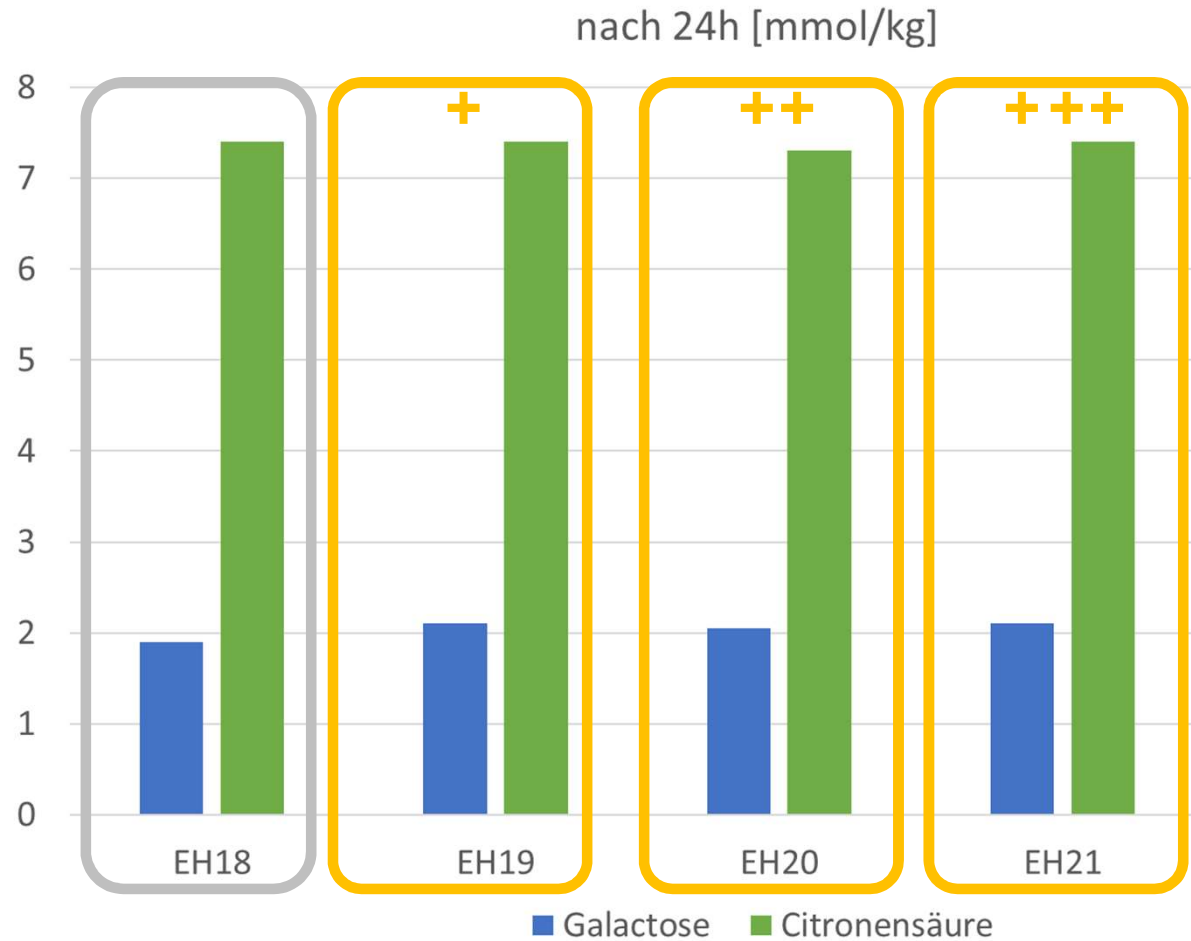


Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Einfluss auf Qualität: Praxisversuche- Betrieb 1

Kontrolle

Lc. lactis 1 - Dosis 1/2/3



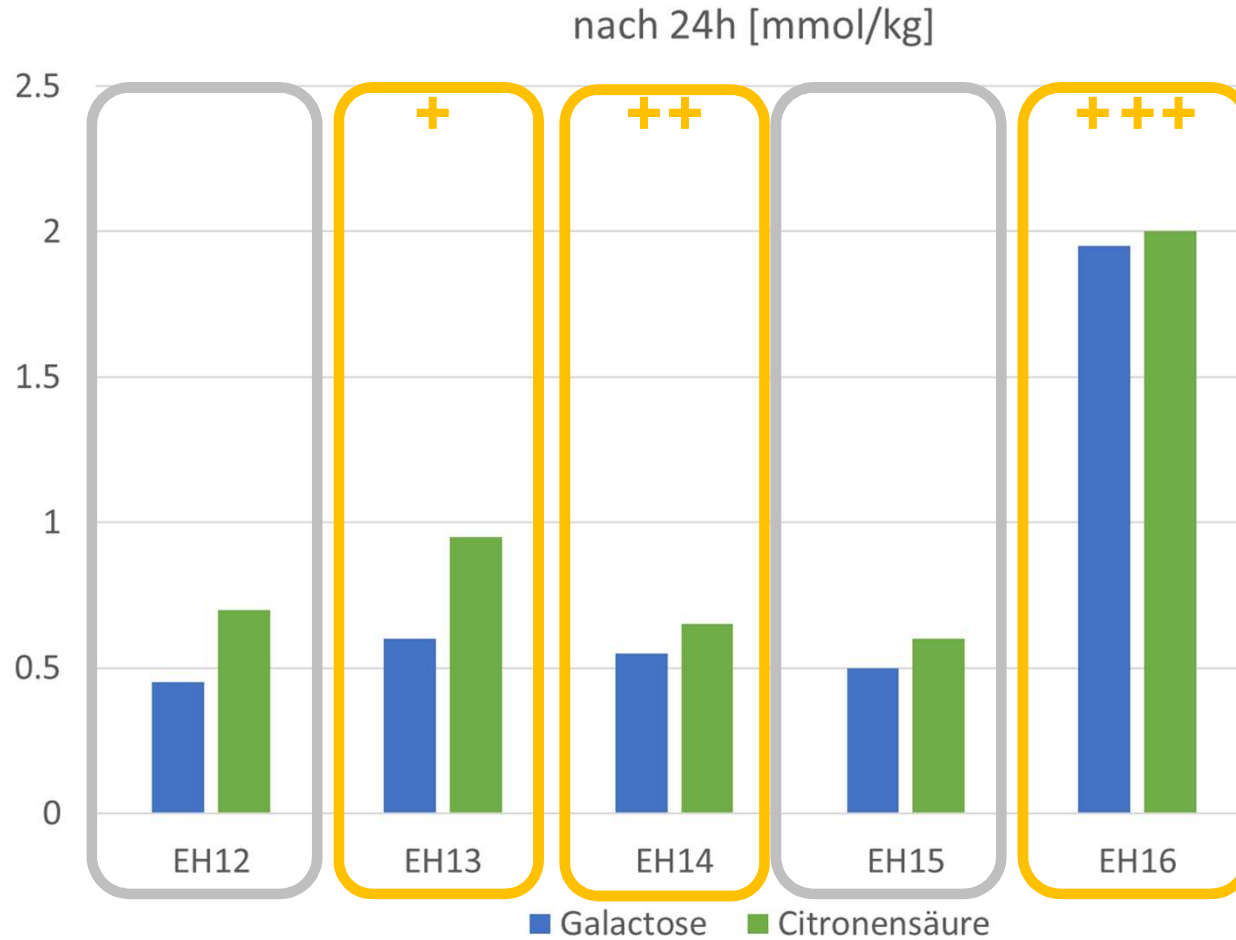


Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Einfluss auf Qualität: Praxisversuche- Betrieb 2

Kontrolle

Lc. lactis 1 - Dosis 1/2/3



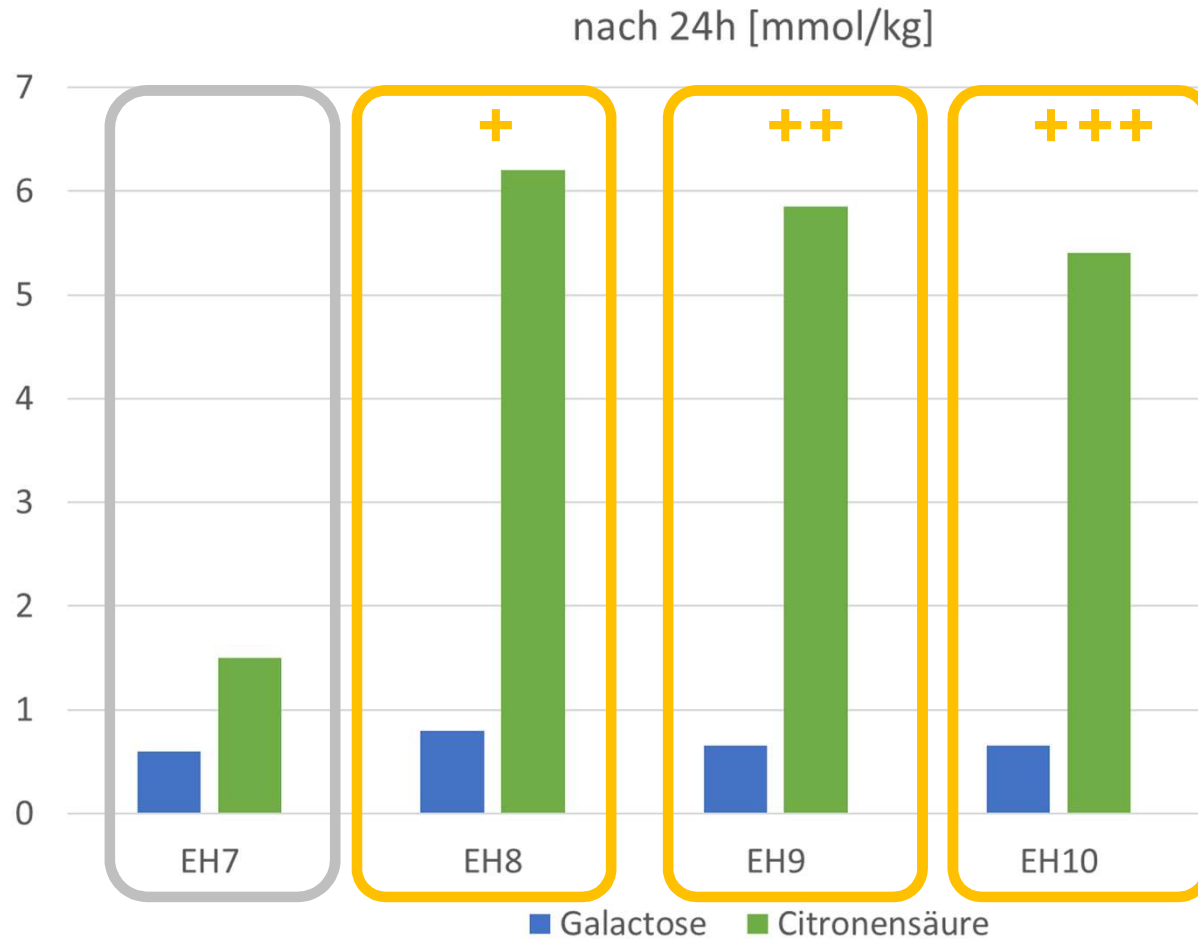


Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Einfluss auf Qualität: Praxisversuche- Betrieb 3

Kontrolle

Lc. lactis 1 - Dosis 1/2/3





Schutzkulturen – *Lc. lactis*

- Regel 2:
 - Eine Schutz**kultur** muss im Produkt wachsen und eine hohe Keimzahl erreichen, um zu wirken
 - → einen gewissen Einfluss auf die Qualität
 - Nicht akzeptabel
 - Akzeptabel
 - Positiv!
 - Erst im Endprodukt kann abgeklärt werden, ob eine SK geeignet ist (produktspezifisch, betriebsspezifisch)



Schutzkulturen – *Lb. helveticus*

- Genommining

- -

- *In vitro* Hemmung

- Clostridia ✓

- Pilotplant-versuche

- Wachstum nach 24h ✓

- Hemmung ✓

- Einfluss auf Qualität

- mehr freie Aminosäuren

- Intensiveres Aroma

- Praxisversuche

- Tendenziell → intensiveres Aroma

- Angebotsform: Betriebskultur in Beutelsystem ✓



Schutzkulturen – *Lb. helveticus*

- Mechanismus
 - Hemmsubstanz?
 - Konkurrenz für Nährstoffe
- Regel 3: Mut zum Risiko lohnt sich
 - Auch wenn keine bekannte Cluster nachweisbar sind
 - Oder wenn keine Aktivität *in vitro*
 - können Stämme im Produkt eine entscheidende Rolle spielen



Schlussfolgerungen

- Das Wachstumsverhalten der zu hemmenden Spezies möglichst vorher abklären!!!
- Eine Schutz**kultur** muss im Produkt wachsen und eine hohe Keimzahl erreichen, um zu wirken → einen gewissen Einfluss auf die Qualität wird erwartet
- Mut zum Risiko lohnt sich



Ausblick

Entwicklung Schutzkulturen

- SK Anti-Clostridia
 - cluster *cysK-ctl-cysE* als weiteres Kriterium für Stammauswahl
 - Wirkungsmechanismus *Lc. lactis*
 - RNA: Gen cluster Lacticin exprimiert?
 - *in vitro*: ✓ ; *in situ*: ?
 - Nachweis Bacteriocin in Käse (Antikörper,...)

- SK Anti-Listeria/E.coli
 - Tests von SK in Pilot-plant versuche

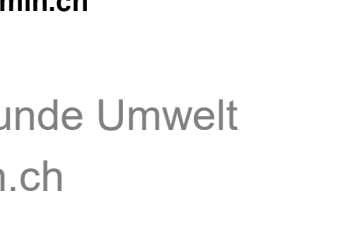
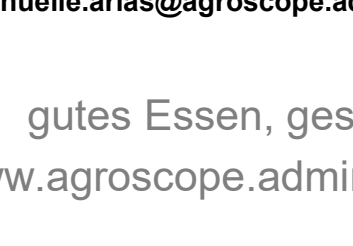
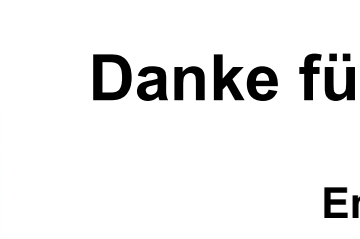


Ausblick

- SK für weitere fermentierte Lebensmitteln
 - Offen für Zusammenarbeiten

- SK für nicht fermentierte Lebensmitteln
 - Suche nach Finanzierung
 - Gemüse, Früchte (Zusammenarbeit HAFL, Uni Fribourg)

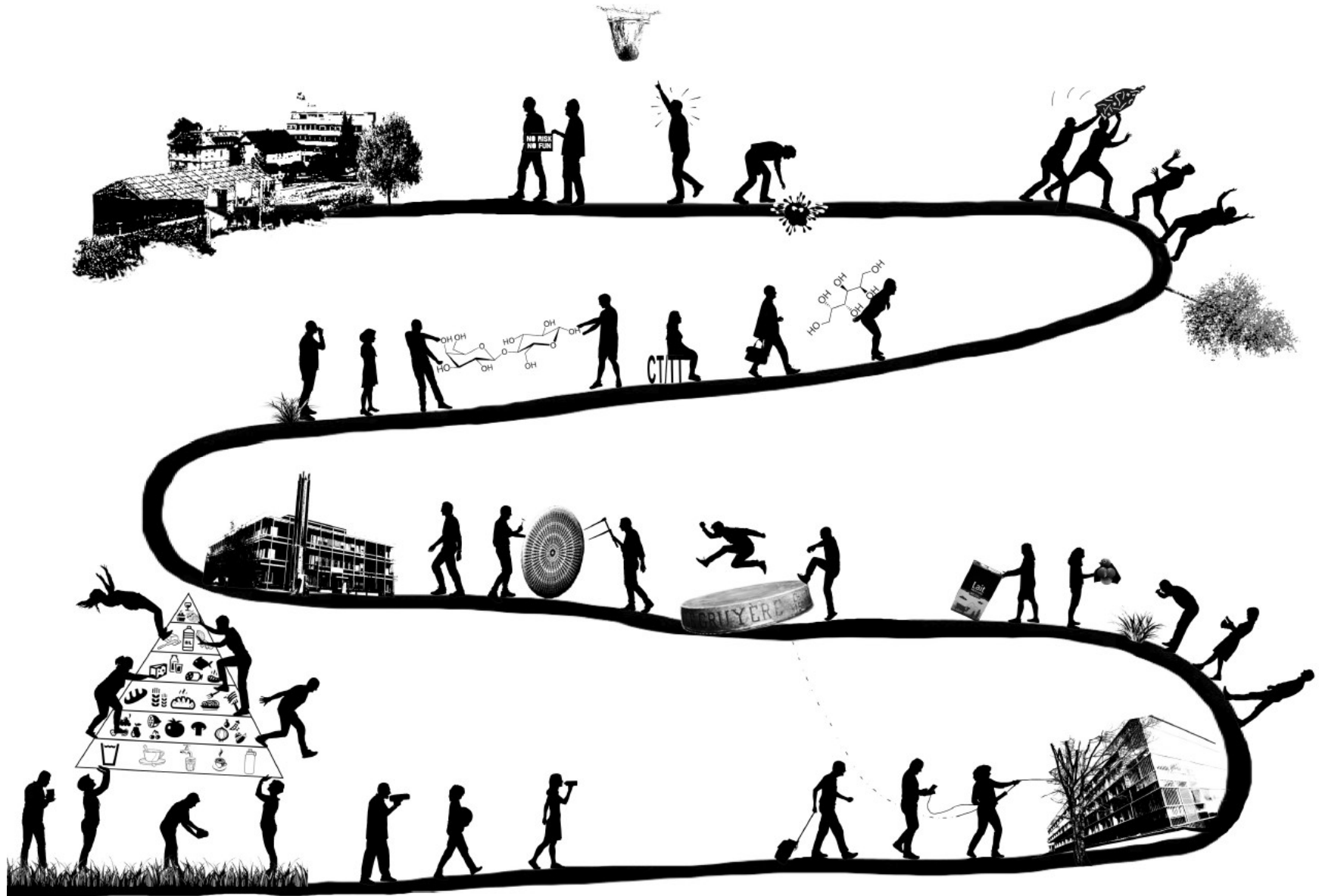
- Kulturenproduktion Public Private Partnership



Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Emmanuelle Arias-Roth
emmanuelle.arias@agroscope.admin.ch

Agroscope gutes Essen, gesunde Umwelt
www.agroscope.admin.ch





Schutzkulturen – *Lc. lactis*

Einfluss auf die Qualität: pH Kurve in Milch

