

# Potenzielle Starterkultur-Stämme für Schweizer Rohwürste

Isolierung und technologische Eigenschaften von Milchsäurebakterien- und Staphylokokken-Stämmen aus spontan fermentierten Rohwürsten

Von Dino Isolini, Cora Weishaupt, Charlotte Egger, René Badertscher und Ruedi Hadorn

## Schlüsselwörter

- ▶ Rohwurst
- ▶ Starterkultur
- ▶ Laktobazillen
- ▶ Staphylokokken
- ▶ Isolierung
- ▶ Nitrit/Nitrat
- ▶ Säuerung

Im Hinblick auf die Entwicklung von neuen Fleisch-Starterkulturen wurden von 23 Rohwürsten unterschiedlicher Art und aus unterschiedlichen Regionen der Schweiz insgesamt 122 Isolate von Milchsäurebakterien und 19 Staphylokokken-Stämmen isoliert, die mit den in kommerziellen Fleisch-Starterkulturen vorkommenden Spezies übereinstimmten. Die anschließende Untersuchung von relevanten technologischen Eigenschaften wie Wachstum und Säuerung, Einfluss von Nitrat und Nitrit für das Wachstum, Nitritabbau (alle für Milchsäurebakterien) sowie Nitrat-Reduktase-Aktivität (für Staphylokokken) zeigte eine vergleichsweise große Variation bei den Isolaten, die aus den spontan fermentierten Rohwürsten stammten. Darin enthalten waren auch Stämme, die mit kommerziellen Starterkulturen vergleichbar sind. Einige Stämme von *L. curvatus* und *L. sakei* bauten deutlich mehr Nitrit ab als die anderen, während vier Staphylokokken-Stämme (inkl. ein kommerzieller) über keine Nitrat-Reduktase-Aktivität verfügten. Aus den vorliegenden Ergebnissen wurde gefolgert, dass die untersuchten technologischen Merkmale als Selektionsmerkmale für die Entwicklung von Fleisch-Starterkulturen geeignet sind, für deren definitive Ausgestaltung jedoch noch weitere Kriterien wie z.B. Aromaeigenschaften, Bacteriocinbildung, Antibiotikaresistenz, Reduktion von biogenen Aminen und Lyophilisationseignung zu überprüfen sind.

Fleisch-Starterkulturen gelangen meistens für die Fermentation von Rohwürsten zum Einsatz, die nach dem Stoßen des Brätes in natürliche oder künstliche Därme während mehrerer Wochen an der Luft gereift werden (Abb. 1). Hingegen gestaltet sich deren Einsatz in Rohpökelfleisch aufgrund der kompakten Muskelstruktur des Ausgangsmaterials als wesentlich schwieriger. In kleineren Fleisch verarbeitenden Betrieben wird oft auf den Einsatz von Starterkulturen verzichtet; in diesen steht ausschließlich die natürlich vorhandene „Betriebsflora“ zur Verfügung (TALON et al., 2007a und b).

Fleischstarter-Kulturen bestehen üblicherweise aus Milchsäurebakterien- und *Micrococcaceae*-Stämmen (TOLDRA et al., 2001; LEROY et al., 2006). Von der Systematik her stammen die meisten Vertreter der Milchsäurebakterien von den Gattungen der Lactobazillen und Pediokokken, wobei die Stämme *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum* und *P. pentosaceus* in Fleisch-Starterkulturen am häufigsten vertreten sind. Sie sind vor allem verantwortlich für die während der Reifung erwünschte pH-Absenkung im Fleisch, die zu einer Verlängerung der Haltbarkeit, einer

besseren Farbgebung sowie einer verbesserten Textur führt. Einzelne Milchsäurebakterien-Stämme produzieren zudem Bacteriozine gegen gram-positive Bakterien, wobei vielfach eine antilisteriale Wirkung im Vordergrund steht. Die Verwendung von *Micrococcaceae*, meistens Stämme von Koagulase-negativen Staphylokokken wie *S. carnosus* und *S. xylosus* bzw. von *Kocuria* (ex *Micrococcus*), ist im Zusammenhang mit deren Nitrat-Reduktase-Aktivität von Bedeutung (Abb. 2). Mit Hilfe des Enzyms Nitrat-Reduktase wird in länger gereiften Fleischprodukten das zugegebene Nitrat zu Nitrit reduziert, was die Ausbildung der Pökelfarbe überhaupt erst ermöglicht (GØTTERUP et al., 2008). Einige Staphylokokken-Stämme vermögen auch den Gehalt an biogenen Aminen zu reduzieren (GARDINI et al., 2002). Beide, Milchsäurebakterien und Staphylokokken, sind über ihre proteolytischen und/oder lipolytischen Enzymaktivitäten zudem an der Ausbildung des typischen „Pökelaromas“ von Rohwürsten und Rohpökelfleisch maßgeblich beteiligt. Überdies vermögen sie die Verbreitung von pathogenen Keimen und weiteren Kontaminanten mittels Konkurrenz zu unterbinden bzw. zu reduzieren.

ISOLINI und HADORN (2004) bestimmten in einer früheren Arbeit die Zusammensetzung von 13 handelsüblichen Fleisch-Starterkulturen, die damals auf dem Schweizer Markt verfügbar waren. Dabei wurden die folgenden Spezies gefunden: *L. sakei* (5x), *L. plantarum* (4x), *P. pentosaceus* (6x), *S. carnosus* (9x) und *S. xylosus* (7x). KASTNER et al. (2006) zeigten in ihrer Studie über die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen einerseits, dass diese in handelsüblichen Fleisch-Starterkulturen weit verbreitet sind. Andererseits wurde festgestellt, dass Stämme aus Käse-Starterkulturen, die bereits in den 60er Jahren isoliert wurden, frei von besonderen phänotypischen Resistenzen waren und sich bei diesen auch keines der bekannten Resistenzgene zeigte.

Dies führte – basierend auf den bisherigen mikrobiellen Kompetenzen aus dem Käsebereich der Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP – zur Idee, die bereits bestehende Stammsammlung um wilde Gärungsorganismen aus fermentierten Fleischerzeugnissen zu erweitern. Ziel dabei ist es, in einzelnen Regionen der Schweiz noch Stämme für zukünftige Fleisch-Starterkulturen zu finden, bei welchen Antibiotikaresistenzen nicht bzw. noch weniger vorhanden sind bzw. die über zusätzlich nützliche Eigenschaften (z.B. Bacteriocinbildner, Aroma, Reduktion an biogenen Aminen) verfügen. Zu diesem Zweck wurden 23 spontan fermentierte Rohwürste unterschiedlicher Art aus verschiedenen Regionen der Schweiz bezogen, um aus diesen in



Abb. 1: Diverse Rohwürste während der Reifung  
Fig. 1: Different raw sausages during ripening

Eingegangen: 8. September 2009 | geprüft: 11. September 2009 | überarbeitet: 8. Dezember 2009 | akzeptiert: 10. Dezember 2009

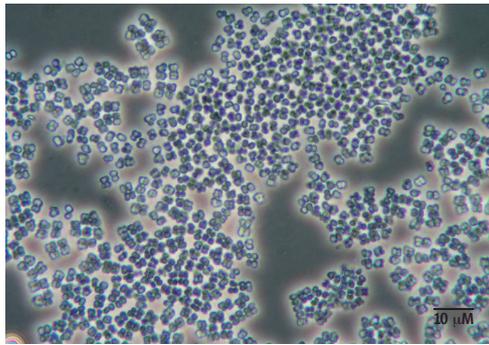


Abb. 2: *Staphylococcus carnosus* (lichtmikroskopische Phasenkontrast-Aufnahme)

Fig. 2: *Staphylococcus carnosus* (lightmicroscope phase contrast image)

schließlich Produkte untersucht werden, bei deren Herstellung keine kommerziell erhältlichen Starterkulturen zugegeben wurden. Aus diesem Grund wurden die folgenden Spezies aus kommerziellen Kulturen ebenfalls mit untersucht: *L. plantarum*, *L. sakei*, *P. pentosaceus*, *S. carnosus* und *S. xylosus*.

**Material und Methoden**

► **Rohwürste**

Die in der vorliegenden Untersuchung eingesetzten 23 Rohwurst-Spezialitäten stammten aus verschiedenen Regionen der Schweiz und wurden gemäß Angaben der jeweiligen Herstellerbetriebe ohne Zugabe von Fleisch-Starterkulturen hergestellt: Bauernsalsiz (Graubünden), Pantli (Appenzell), Hirschwurst und Lauchwurst (Wallis), Saucisse d'Ajoie (Jura), Saucisson vaudois (Waadt), Mortadella cruda, Luganiga, Codegotto, Salame, Salamino und Bio-Salamino (Tessin).

► **Isolierung und Identifizierung**

Für die Isolierung der Stämme wählte man folgende Bedingungen aus: fakultativ heterofermentative Laktobazillen auf MRS-Agar mit 50 mg/L Vancomycin, pH 5,4; Pediokokken auf MRS-Agar mit 1 mg Ampicillin/L; Staphylokokken auf Mannit-Salz-Agar und auf Baird-

einem ersten Schritt die vorhandenen Stämme von Milchsäurebakterien und *Micrococceae* zu isolieren und diese bezüglich für die Fleischfermentation relevanter, technologischer Eigenschaften zu überprüfen. Mit der Begrenzung auf spontan fermentierte Rohwürste sollen ausschließlich

Parker-RPF-Agar. Sämtliche Platten wurden 3 Tage bei 30 °C bebrütet (Milchsäurebakterien anaerob, Staphylokokken aerob). Die Identifikation der Stämme erfolgte durch die partielle Sequenzierung des 16SrRNS-Gens.

► **Technologische Eigenschaften**

Die Milchsäurebakterien wurden bezüglich des Wachstums und der Säuerung in einem Modellmedium, des Wachstums in Anwesenheit von Nitrit und Nitrat sowie des Abbaues von Nitrit untersucht. Bei den Staphylokokken stand der Nachweis der Nitrat-Reduktase-Aktivität im Vordergrund.

**Wachstum und Säuerung in einem Modellmedium:** Nach der Reaktivierung der Konserven in standardisiertem MRS-Medium (1%, 30 °C, 22 h) wurden die Stämme für die spätere Prüfung der Wachstumsgeschwindigkeit und der Säuerungsaktivität in ein modifiziertes MRS-Medium (8 g Pepton aus Casein, 5 g Hefeextrakt, 5 g Glukose, 0,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, 0,2 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,1 g MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, 1000 ml dest. Wasser, pH 6,0) überimpft (1%, 30 °C, 18 h). Zur Bestimmung der beiden Merkmale wurde ein Nährmedium eingesetzt, welches bezüglich pH-Wert und des Gehaltes an NaCl, NaNO<sub>2</sub> und Laktat ähnliche Bedingungen, wie sie in Rohwürsten vorherrschen, charakterisiert wird (DOSSMANN et al., 1996). Die Bebrütung des beimpften Mediums erfolgte bei 25 °C. Die optische Dichte (578 nm) und der pH-Wert wurden alle 4 Stunden und bis nach 32 Stunden gemessen. Die Wachstumskurven wurden in logarithmischer Form aufgezeichnet und für die Berechnung der Generationsdauer (g) die exponentielle Phase der logarithmischen Kurve verwendet. Als Lag-Phase wurde die Zeitspanne zwischen dem Beginn der Inkubation und dem Start des exponentiellen Wachstums definiert.

**Wachstum in Anwesenheit von Nitrit und Nitrat:** Für den Test wurden zum obgenannten, modifizierten MRS-Medium, welches als Kontrollmedium diente, zusätzlich 150 mg/l NaNO<sub>2</sub> bzw. 250 mg/l NaNO<sub>3</sub> zugegeben. Die Medien (pH-Wert: 5,8) wurden schließlich sterilfiltriert. Nach der Reaktivierung der Konserven wurden die Stämme für die weitere Prüfung des Wachstums ins MRS-Medium überimpft (1%, 30 °C, 18 h). Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C und die optische Dichte (OD, 578 nm) wurde alle zwei Stunden gemessen.

**Abbau von Nitrit:** Als Medium diente das obgenannte modifizierte MRS-Medium (pH-Wert: 5,8), welchem zusätzlich 150 mg NaNO<sub>2</sub>

pro Liter zugegeben und welches sterilfiltriert wurde. Nach der Reaktivierung der Konserven wurden die Stämme in standardisiertes MRS-Medium überimpft (1%, 30 °C, 18 h). Diese Kulturen dienten als Inoculum (1%) für je 100 ml des oben beschriebenen Mediums und wurden während 22 Stunden bei 30 °C bebrütet. Anschließend wurde die OD bei 578 nm ermittelt (Wachstum) und in allen Kulturen sowie in drei unbeimpften Flaschen die Nitrit-Konzentration analysiert. Letztere wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von 538 nm nach der Griess-Reaktion bestimmt, bei welcher das Nitrit durch Zugabe von Sulfanilsäureamid und N-(1-Naphthyl)-Ethylen-diamin-Dihydrochlorid eine rote Färbung bildet. Der Nitritgehalt

Tab. 1: Wachstum und Säuerung mehrerer Stämme von verschiedenen Milchsäurebakterien-Spezies in einem Medium mit ähnlichen Bedingungen wie in Rohwürsten

Tab. 1: Growth and acidification of several strains from different lactic-acid-bacteria species in a medium with similar conditions compared to raw sausages

Spezies	N		Generationsdauer (Stunden)	lag-Phase (Stunden)	pH nach 12 Stunden	pH nach 32 Stunden
<i>L. plantarum</i>	20	Mittelwert	2,6	7,5	5,1	4,0
		Standardabweichung	0,5	2,6	0,3	0,3
		Minimum/Maximum	1,5/3,4	4/12	4,55/5,57	3,87/5,14
<i>L. paraplantarum</i>	12	Mittelwert	3,0	8,0	5,2	4,1
		Standardabweichung	0,5	2,4	0,3	0,1
		Minimum/Maximum	2,5/3,8	4/12	4,73/5,70	4,01/4,31
<i>L. sakei</i>	66	Mittelwert	2,9	7,8	5,4	4,5
		Standardabweichung	0,8	2,4	0,3	0,1
		Minimum/Maximum	1,2/5,8	0/12	4,54/5,80	4,18/4,74
<i>L. curvatus</i>	16	Mittelwert	2,6	6,8	5,1	4,4
		Standardabweichung	0,7	2,4	0,3	0,1
		Minimum/Maximum	1,9/4,3	4/12	4,65/5,56	4,24/4,75
<i>P. pentosaceus</i>	8	Mittelwert	3,9	13,3	5,2	4,4
		Standardabweichung	0,9	6,3	0,3	0,3
		Minimum/Maximum	2,2/5,3	8/23	4,81/5,60	4,23/5,01

Quelle: ISOUNI et al.

Fleischwirtschaft 2/2010

Potenzielle Starterkultur-Stämme für Schweizer Rohwürste

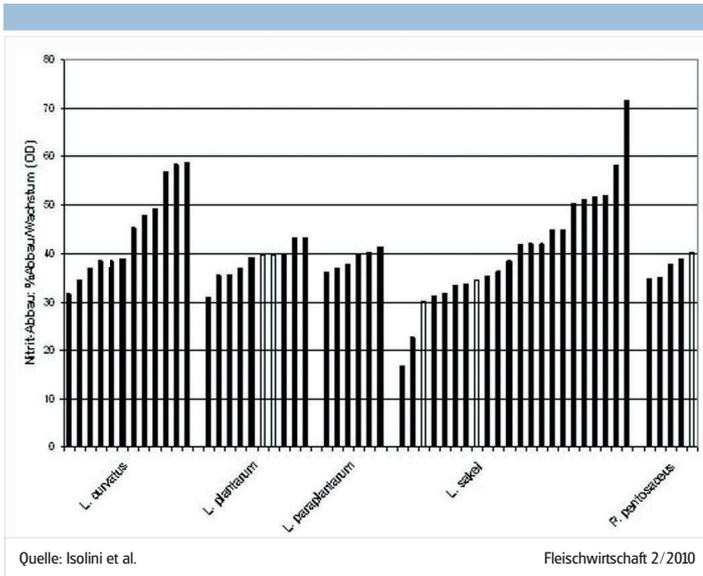


Abb. 3: Prozentualer Nitritabbau durch mehrere Stämme von verschiedenen Milchsäurebakterien-Spezies in Relation zu deren Wachstum (kommerzielle Stämme sind als nicht ausgefüllte Balken dargestellt)

Fig. 3: Relative degradation of nitrite by several strains of different lactic acid bacteria species related to their growth rate (commercial strains are shown in non-filled bars)

der Proben wurde schließlich mittels Vergleich der gemessenen Absorptionen mit denjenigen einer Reihe von Standard-Natriumnitritlösungen ermittelt.

**Nitrat-Reduktase-Aktivität:** Nach der Reaktivierung der Konserven wurden die Stämme in YT-Medium (10 g Trypton, 5 g Hefeextrakt, 1000 ml dest. Wasser, pH 7,0) während 18 Stunden bei 30 °C bebrütet. Diese Kulturen wurden in YT-Medium mit einem Zusatz von 1 g KNO<sub>3</sub>/l (das Medium wurde sterilfiltriert) 1% überimpft und bei 30 °C während 18 Stunden bebrütet. Die Nitrat-Reduktase-Aktivität wurde anschließend aus einem Bakterienlysat mittels Griessreaktion bestimmt: Nach dem Wachstum im nitratthaltigen Medium erfolgte eine Inkubation der Bakterien unter Luftabschluss, um so das bakterielle Enzym Nitrat-Reduktase zu aktivieren. Die Bakterien wurden dann sedimentiert, in einem nitratthaltigen Reaktionspuffer aufgenommen und mit einem Aceton-/Toluolgemisch permeabilisiert. Bei Anwesenheit von Nitrat-Reduktase wird aus dem im Puffer vorkommenden Nitrat Nitrit gebildet. Letzteres wurde über die Griess-Farbreaktion quantitativ bestimmt. Die Nitrat-Reduktase Aktivität wurde dann aus dem entstandenen Nitrit pro Zeit und pro eingesetzten Proteinmenge berechnet.

**Ergebnisse und Diskussion**

► **Wachstum und Säuerung im Modellmedium**

Zwischen den untersuchten Milchsäurebakterien-Spezies traten im Wachstum und in der Säuerung nur geringfügige Unterschiede auf (Tab. 1), die als nicht relevant zu beurteilen sind. Davon ausgenommen sind jedoch

die *Pediococcus*-Isolate, die sich durch eine durchschnittlich höhere Lag-Phase bzw. Generationsdauer abhoben. Aber auch innerhalb der einzelnen Spezies traten zwischen den einzelnen Isolaten deutliche Unterschiede bezüglich lag-Phase, Generationszeit und Säuerungsaktivität auf, wie dies anhand der Standardabweichungen bzw. Minima und Maxima klar ersichtlich ist.

Bei den Stämmen aus kommerziellen Kulturen (Tab. 2) zeigte sich, dass die Werte für die untersuchten Parameter durchaus im Bereich derjenigen der Isolate aus den spontan fermentierten Rohwürsten liegen. Der pH-Wert nach 12 Stunden erwies sich bei den kommerziellen Stämmen tendenziell als höher als der mittlere pH-Wert bei den Rohwurst-Isolaten. Dies weist auf eine weniger rasch verlaufende Säuerung beim Einsatz der Handelskulturen hin. Gerade im Zusammenhang mit dem bei Rohwürsten in der Praxis bekannten Qualitätsfehler der Übersäuerung, der sich vor allem negativ auf den Geschmack auswirken kann, muss diesem Aspekt ausreichend Beachtung geschenkt werden. Umgekehrt zeigen die Maxima in Tabelle 1 aber auch, dass es durchaus Isolate bei den spontan fermentierten Rohwürsten gibt, die bezüglich der Geschwindigkeit der pH-Absenkung im Bereich der Handelskulturen liegen und damit auch technologisch von Interesse sein könnten.

► **Einfluss von Nitrit und Nitrat auf das Wachstum**

Wie sich in Tab. 3 zeigt, scheint Nitrat das Wachstum der untersuchten Milchsäurebakterien-Stämme nicht zu beeinflussen; nur bei

**Tab. 2: Wachstum und Säuerung von Isolaten aus kommerziellen Kulturen in einem Medium mit ähnlichen Bedingungen wie in Rohwürsten**  
 Tab. 2: Growth and acidification of isolates from commercial meat starter cultures in a medium with similar conditions compared to raw sausages

Isolat aus kommerziellen Kulturen	Generationszeit (Stunden)	lag-Phase (Stunden)	pH nach 12 Stunden	pH nach 32 Stunden
<i>L. sakei</i> 12 RM52/3	3,2	8	5,65	4,56
<i>L. sakei</i> OST3	3,6	8	5,54	4,49
<i>L. plantarum</i> TD66/3	2,9	8	5	4,15
<i>L. plantarum</i> GE01	3,9	12	5,52	4,09
<i>P. pentosaceus</i> GER1	3,1	23	5,37	4,26

Quelle: ISOLINI et al. Fleischwirtschaft 2/2010

**Tab. 3: Wachstum mehrerer Stämme von verschiedenen Milchsäurebakterien-Spezies in Anwesenheit von Nitrit und von Nitrat (% im Vergleich zum Kontrollmedium ohne Nitrat bzw. Nitrit)**  
 Tab. 3: Growth of several strains of different lactic-acid-bacteria species in the presence of nitrite and nitrate (% compared to the control medium without nitrate or nitrite, respectively)

Spezies	N		Wachstum (% in Vergleich zum Kontrollmedium)			
			Nitrit 8 h	Nitrit 24 h	Nitrat 8 h	Nitrat 24 h
<i>L. curvatus</i>	16	Mittelwert	99,4	94,7	100,4	102,6
		Standardabweichung	8,6	7,7	4,1	5,4
		Minimum/Maximum	80/111	80/106	93/111	93/110
<i>L. plantarum</i>	13	Mittelwert	80,8	86,1	100,9	102,6
		Standardabweichung	8,5	8,4	3,8	2,8
		Minimum/Maximum	72/95	70/96	93/108	99/103
<i>L. paraplantarum</i>	9	Mittelwert	82,3	87,8	100,1	102,1
		Standardabweichung	8,6	8,2	3,2	3,7
		Minimum/Maximum	73/98	79/104	94/104	94/106
<i>L. sakei</i>	38	Mittelwert	89,2	85,1	101	100
		Standardabweichung	8,1	10,9	3,5	4,7
		Minimum/Maximum	72/103	57/114	91/110	82/112
<i>P. pentosaceus</i>	4	Mittelwert	80,0	72,1	100,8	98,6
		Standardabweichung	7,5	6,2	0,3	2,7
		Minimum/Maximum	69/86	63/76	100/101	96/102

Quelle: ISOLINI et al. Fleischwirtschaft 2/2010

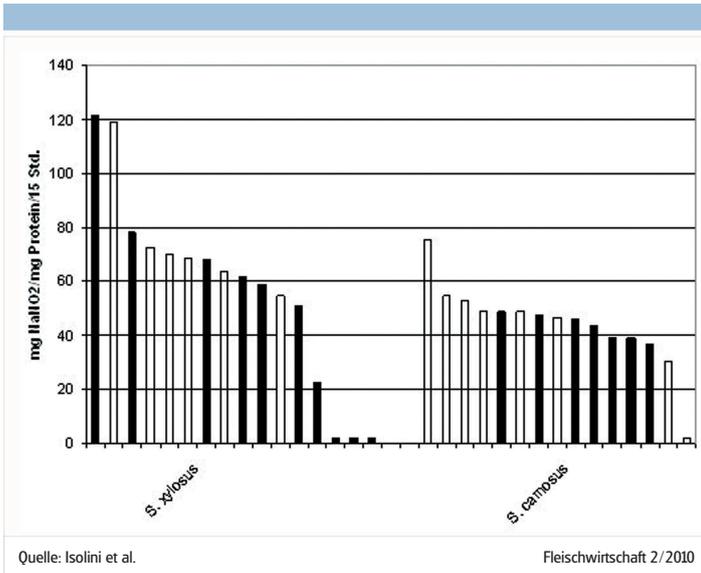


Abb. 4: Nitrat-Reduktase-Aktivität verschiedener Staphylokokken-Stämme (kommerzielle Stämme sind als nicht ausgefüllte Balken dargestellt)

Fig. 4: Nitrate-reductase-activity of different *Staphylococcus* strains (commercial strains are shown in non-filled bars)

► Nitrat-Reduktase-Aktivität

Auch bezüglich der Nitrat-Reduktase-Aktivität ließen sich innerhalb der beiden Spezies *S. carnosus* und *S. xylosois* beträchtliche Differenzen beobachten (Abb. 4). Die Werte für die kommerziellen Stämme lagen wiederum im Bereich derjenigen der Isolate aus den spontan fermentierten Rohwürsten. Entgegen den Erwartungen zeigte ein kommerzieller Stamm von *S. carnosus* jedoch keine Aktivität. Dasselbe Ergebnis resultierte auch bei drei Stämmen von *S. xylosois*. Tendenziell scheint die Aktivität der Stämme von *S. carnosus* etwas tiefer als diejenige von *S. xylosois* zu sein.

Schlussfolgerungen

Aus 23 spontan fermentierten Rohwürsten unterschiedlicher Art und aus unterschiedlichen Regionen der Schweiz stammend wurden insgesamt 122 Isolate von Milchsäurebakterien und 19 Staphylokokken-Stämme isoliert und mit entsprechenden Isolaten, die aus kommerziell erhältlichen Fleisch-Starterkulturen gewonnen wurden, verglichen. Dabei zeigte sich erwartungsgemäß, dass sich in den spontan fermentierten Rohwürsten dieselben Spezies finden lassen, die auch in den Handelskulturen zum Einsatz kommen. Die eingehendere Untersuchung einzelner technologischer Merkmale ergab, dass die Variation innerhalb der Isolate aus den spontan fermentierten Rohwürsten wesentlich größer ist als diejenige bei den kommerziellen Kulturen. Dabei konnten auch Stämme gewonnen werden, welche mit kommerziellen Starterkulturen durchaus vergleichbar sind. Somit zeigte sich, dass die gewählten technologischen Kriterien wie Wachstum und Säuerung, Einfluss von Nitrat und Nitrit für das Wachstum, Nitritabbau (alle für Milchsäurebakterien) sowie Nitrat-Reduktase-Aktivität (für Staphylokokken) sich durchaus als Selektionskriterien für die Entwicklung von zukünftigen Fleisch-Starterkulturen eignen.

Bedeutung für die Praxis

Die in der vorliegenden Untersuchung beschriebenen Stämme stellen für die Entwicklung von Fleisch-Starterkulturen ein gewisses Potenzial dar, zumal dabei auch Stämme gewonnen werden konnten, die noch nicht in kommerziellen Kulturen enthalten sind. Bevor die Stämme jedoch in technologischen Versuchen eingesetzt werden können, sind noch zusätzliche Untersuchungen bezüglich weiterer Kriterien wie z.B. Aromaeigenschaften, Bacteriocinbildung, Resistenz gegenüber diversen Antibiotika, Reduktion von biogenen Aminen und Lyophilisationseignung durchzuführen.

Danksagung

Unser Dank geht an alle an der Untersuchung beteiligten ALP-Mitarbeiter für ihre Unterstützung bei den mikrobiologischen und chemischen Analysen.

Literatur

1. DOSSMANN, M.U., R.F. VOGEL und W.P. HAMMES (1966): Mathematical description of the growth of *Lactobacillus sake* and *Lactobacillus pentosus* under conditions prevailing in fermented sausages. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46, 334–339. – 2. GARDINI, F., M. MARTUSCELLI, M.A. CRUDELE, A. PAPPARELLA und G. SUZZI, (2002): Use of *Staphylococcus xylosois* as a starter culture in dried sausages: effect on the biogenic amine content. *Meat Sci.* 61, 275–283. – 3. GÖTTERUP, J., K. OLSEN, S. KNØCHEL, K. TJENER, L.H. STAHNKE und J.K.S. MØLLER (2008): Colour formation in fermented sausages by meat-associated *staphylococci* with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Sci.* 78, 492–501. – 4. ISOLINI, D. und R. HADORN (2004): Isolierung von Gärungsorganismen für Rohwürste aus kommerziellen Kulturen. Interner Bericht, Forschungsanstalt Agroscope-Liebefeld Posieux, Bern, Switzerland (unveröffentlicht). – 5. KASTNER, S., V. PERRETEN, H. BLEULER, G. HUGENSCHMIDT, C. LACROIX und L. MEILE (2006): Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. *Systematic and Applied Microbiology* 29, 145–155. – 6. LEROY, F., J. VERLUYTEN und L. De VUYST (2006): Functional meat starter cultures

einem Stamm von *L. sakei* war das Wachstum nach 24 Stunden deutlich tiefer als bei der Kontrolle. Hingegen scheinen verschiedene Stämme aller untersuchten Spezies durch Nitrit leicht bis deutlich gehemmt zu werden, wobei dies bei den Stämmen von *L. curvatus* tendenziell weniger als bei den übrigen Spezies zutrifft. Dennoch ließ sich feststellen, dass sich die Stämme in ihrem Verhalten gegenüber Nitrit unterscheiden, was wiederum als Selektionskriterium genutzt werden könnte. Es zeigte sich auch, dass die Werte für die untersuchten Merkmale bei den Stämmen aus kommerziellen Kulturen (Tab. 4) durchaus im Bereich derjenigen der Isolate aus den spontan fermentierten Rohwürsten lagen. Im Gegensatz zu Nitrat, scheint Nitrit das Wachstum der untersuchten Milchsäurebakterien leicht zu hemmen. Dasselbe gilt ebenfalls für die kommerziellen Stämme.

► Abbau von Nitrit

Zwischen und innerhalb der einzelnen Milchsäurebakterien-Spezies war eine beträchtliche Variation in der Nitritabbaurate festzustellen (Abb. 3), die sich als weiteres Selektionskriterium für die Entwicklung von Fleisch-Starterkulturen eignen dürfte. Dabei lagen die Werte für die kommerziellen Stämme wiederum im Bereich derjenigen der Isolate aus den spontan fermentierten Rohwürsten. Der höchste Abbau war innerhalb der Stämme von *L. curvatus* und *L. sakei* zu erkennen.

Tab. 4: Wachstum einiger Isolate von verschiedenen Milchsäurebakterien-Spezies aus kommerziellen Kulturen in Anwesenheit von Nitrit und von Nitrat (% im Vergleich zum Kontrollmedium ohne Nitrat bzw. Nitrit)

Tab. 4: Growth of different strains of different lactic-acid-bacteria species from commercial meat starter cultures in the presence of nitrite and nitrate (% compared to the control medium without nitrate or nitrite, respectively)

Isolat aus kommerziellen Kulturen	Wachstum (% in Vergleich zum Kontrollmedium)			
	Nitrit 8 h	Nitrit 24 h	Nitrat 8 h	Nitrat 24 h
<i>L. plantarum</i> TD66/3	64	82	98	102
<i>L. plantarum</i> GEO1	76	90	99	100
<i>L. sakei</i> RM52/3	93	91	99	109
<i>L. sakei</i> OST3	88	81	100	103
<i>P. pentosaceus</i> GER1	78	68	102	98

Quelle: ISOLINI et al. Fleischwirtschaft 2/2010

for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 106, 270–285. – 7. TALON, R., S. LEROY und I. LEBERT (2007a): Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Sci.* 77, 55–62. – 8. TALON, R., I. LEBERT, A. LEBERT, S. LEROY, M. GARRIGA, T. AYMERICH, E.H. DROSINOS, E. ZANARDI, A. IANIERI, M.J. FRAQUEZA, L. PATARATA und A. LAUKOVA (2007b): Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science* 77, 570–579. – 9. TOLDRÀ, F., Y. SANZ und M. FLORES (2001): Meat Fermentation Technology. In: Y.H. Huy, W.K. Nip, R.W. Rogers & O.A. Young (eds.), *Meat Science and Applications* (pp. 538–561). New York: Marcel Dekker.

## ▶▶▶ Summary

### Isolation of potential starter strains from spontaneously fermented Swiss raw sausages

D. Isolini, C. Weishaupt, Ch. Egger, R. Badertscher and R. Hadom – Bern/Switzerland

**Keywords:** Raw sausage | starter culture | *Lactobacillus* | *Staphylococcus* | isolation | nitrate | nitrite | acidification | microbial growth

23 spontaneously fermented raw sausages of different types and from different Swiss regions were used for the isolation of 122 isolates of

lactic acid bacteria and 19 strains of staphylococci, which corresponded well with the species used in commercial meat starter cultures. A large variation was found in the tested technological characteristics like growth and acidification, effect of nitrate and nitrite on growth, nitrite degradation (all for lactic acid bacteria) and nitrate reductase activity (for *staphylococci*) for the isolates from the spontaneously fermented raw sausages. They also covered isolates which were comparable with those from the commercial starter cultures. Some *L. curvatus* and *L. sakei* strains degraded much more nitrite than the other lactic acid bacteria strains, whereas four *staphylococci* strains (including a commercial one) showed no nitrate-reductase activity. It was concluded from the present study that the used technological characteristics are suitable for strain selection for the development of future meat starter cultures. However, additional properties like aroma, bacteriocin production, antibiotic resistance, reduction of biogenic amines and aptitude for lyophilisation have to be considered before the definitive introduction of such meat starter cultures.

#### Anschriften der Verfasser

Lic. phil nat., Dipl.-Biologe Dino Isolini, medizinische Laborantin Cora Weishaupt, Dr. Charlotte Egger, Dipl.-Chemiker HTL René Badertscher, Dr. Ruedi Hadom<sup>1</sup>, Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Schwarzenburgstrasse 161, 3003 Bern, Schweiz; <sup>1</sup> seit 1. Januar 2010: Schweizer Fleisch-Fachverband (SFF), Steinwiesstrasse 59, 8032 Zürich, Schweiz