

Gentechnologie in der Milchverarbeitung

Genetic engineering in dairy industry

M. FÜRST, R. SIEBER

Kennwörter: Gentechnologie, Milchwirtschaft, Starterkulturen, Milchsäurebakterien

Keywords: Genetic engineering, dairy industry, starter cultures, lactic acid bacteria

Zusammenfassung

M. Fürst und R. Sieber: *Gentechnologie in der Milchverarbeitung. Ernährung/Nutrition* (1988) 12, 10, S. 616–619.

Unter der Gentechnologie als einem Teilgebiet der „Neuen Biotechnologie“ versteht man die Technik, künstlich synthetisierte oder natürliche Erbsubstanz aus verschiedenen Zellen neu zu kombinieren und auf lebende Zellen zu übertragen. Dies erfolgt mit dem Ziel, die Eigenschaften dieser Empfängerzellen stabil zu verändern. An einigen Beispielen werden der heutige Stand sowie Zukunftsaussichten der Gen- und Enzymtechnologie in der Milchverarbeitung als einem Teil der Lebensmittelindustrie dargestellt.

Summary

M. Fürst and R. Sieber: *Genetic engineering in dairy industry. Nutrition/Ernährung* (1988) 12, 10, p. 616–619.

Genetic engineering is a branch of modern biotechnology. It consists in recombining natural or artificially synthesized genetic material from different cells and transferring it to living cells. The purpose of such gene transfers is to induce stable changes of the properties of the receptors. Some examples are given to show the present level of genetic and enzymatic engineering as well as future prospects.

1. Einleitung

Gentechnologie ist ein Teilgebiet der Biotechnologie. Bei letzterer handelt es sich um eine seit langer Zeit angewandte Technologie. So wurde schon im Altertum die Biotechnologie beim Bierbrauen, Brotherstellen, Weinkeltern und bei der Herstellung von Käse eingesetzt. Entsprechend dem jeweiligen Wissensstand wurde sie ständig verfeinert und angepaßt, bis in den letzten 10 bis 15 Jahren die Anwendung moderner wissenschaftlicher Erkenntnisse und Methoden zur Entwicklung der sogenannten „Neuen Biotechnologie“ führte. Maßgebend dazu beigetragen haben die großen Fortschritte auf dem Gebiete der Molekularbiologie und Gentechnologie, der Kulturen- und Zellzüchtung, der Enzymforschung und nicht zuletzt der Verfahrens-, Meß-, Regel- und Computertechnik [1]. Die praktische Anwendung der Gentechnologie hat in der Pharmaindustrie bereits in großem Stile eingesetzt, und in der Lebensmittelindustrie ist nun ebenfalls eine intensive Forschungstätigkeit festzustellen [2]. Voraussetzung für den gezielten Einsatz dieser neuen Technologie auf diesen Gebieten sind neben der Erarbeitung der notwendigen Technologien vertiefte genetische und physiologische Kenntnisse der verwendeten Zellen.

2. Grundlagen der Gentechnologie

In allen lebenden Zellen sind sämtliche für alle Lebensvorgänge notwendigen Anweisungen im Erbgut auf Chromosomen gespeichert. Seit es Leben gibt, findet in lebenden Zellen unter natürlichen Bedingungen eine ständige Um- und Neuordnung der Erbinformation statt. Sprunghafte Veränderungen in den Genen (Mutationen) wie auch der Einbau von Chromosomensegmenten, die von außen in die Zellen eingedrungen sind, oder der Ausbau solcher tragen das ihrige zur langsamen Veränderung der Lebewesen (Evolution) bei. Je nach der Art der ge-

netischen Veränderung und den aktuell herrschenden Umweltbedingungen werden in der Folge die lebensfähigen, veränderten Zellen auf natürliche Weise befähigt, sich zu vermehren und eine Nachkommenschaft mit unterschiedlichen Eigenschaften hervorzubringen. Die Gentechnologie versucht nun, diese natürlichen und zufällig ablaufenden Vorgänge zu beschleunigen und gezielt zur Förderung erwünschter Eigenschaften einzusetzen.

Ein Bakterienchromosom enthält die Information zur Bildung von bis zu 3000 unterschiedlicher Enzyme. Daneben können in einer Zelle zusätzlich noch kleinere Chromosomen, sogenannte Plasmide, mit nur einigen wenigen Genen vorkommen. Zumindest im Falle der mesophilen Streptokokken, die zur Herstellung verschiedener Milchprodukte verwendet werden, weiß man, daß auf solchen Plasmiden für die Milchverarbeitung wesentliche Informationen wie z. B. für den Milchzucker- und Eiweißabbau vorhanden sind. Da diese Plasmide nach heutiger Kenntnis nicht unbedingt lebensnotwendig sind, können sie aus bis jetzt noch nicht ersichtlichen Gründen mit ihren wichtigen Informationen verlorengehen, was zu instabilen Kulturen führt. Ob sich solche genetische Vorgänge bei den thermophilen Milchsäurebakterien, die vor allem in der Hartkäsefabrikation Verwendung finden, ebenfalls abspielen und damit für verschiedene Instabilitäten verantwortlich zeichnen, ist bis heute noch unbekannt. Extrachromosome wie Plasmide oder die Chromosomen von Bakteriophagen haben sich als sehr wertvolle Instrumente der Gentechnologie erwiesen. Sie können sich in lebenden Zellen vermehren und lassen sich auf relativ einfache Weise unbeschädigt aus diesen isolieren. Diese Eigenschaften ermöglichen es dem Molekularbiologen, sie als sogenannte Übertragungsvektoren für fremde Chromosomensegmente einzusetzen. Dabei werden die Extrachromosomen mittels geeigneter natürlicher Schneideenzyme an einer einzigen

Stelle aufgeschnitten und die zu übertragenden Chromosomensegmente mit den gewünschten Genen in diese Schnittstelle eingebaut. Solche hybriden Plasmide lassen sich dann wieder in die ursprünglichen oder in neue Bakterien übertragen, wo sie sich vermehren und ihre „neue“ Information exprimieren können (Abbildung 1).

Bei dieser, in stark vereinfachter Weise dargestellten Gentechnik handelt es sich aber um äußerst komplizierte Manipulationen; diese bieten, speziell im Falle der thermophilen Milchsäurebakterien, heute erst teilweise oder noch gar nicht gelöste Probleme.

3. Gentechnologische Anwendungsgebiete

Die bisher größten Erfolge der angewandten Gentechnologie sind im Pharmasektor zu verzeichnen. Als Beispiele einer großtechnischen Herstellung sind das Insulin, der Plasminogen-tissue-Aktivator, das Interferon, menschliche und tierische Wachstumshormone sowie verschiedene Vakzine u. a. m. zu nennen. Im Gegensatz dazu setzte die gentechnologische Forschung in der Milchindustrie aus unterschiedlichen Gründen erst viel später ein. So erhöhte sich seit dem Jahre 1972, als der Amerikaner McKay mit seiner Arbeitsgruppe [3] Plasmide in Milchsäurestreptokokken entdeckte, die Anzahl der Labors, die sich mit der Genetik von Milchsäurebakterien beschäftigen, in der ganzen Welt von fünf auf über 50 [2]. Diese gentechnologischen Arbeiten haben zum gemeinsamen Ziel, künftig mit kleinerem Risiko und geringerem Aufwand qualitativ ebenso gute oder noch bessere sowie neue Milchprodukte auf den Markt zu bringen.

Die Gentechnologie wird in der milchverarbeitenden Industrie auf zwei Gebieten angewendet:

- Veränderung der Eigenschaften von Mikroorganismen für den direkten Einsatz z. B. als Starterkulturen und
- Vermehrung gentechnologisch veränderter Mikroorganismen zur Produktion von Substanzen, wie z. B. Enzyme für die Enzymtechnologie, die traditionell nur schwer und mit großem Aufwand oder überhaupt nicht herstellbar sind.

Starterkulturen (Milchsäurebakterienkulturen)

Immer wieder muß festgestellt werden, daß verschiedene Eigenschaften von Milchsäurebakterien instabil sind oder spontan verlorengehen und damit zu Störungen im Gärverlauf führen können. Das Auftreten eines solchen unerwünschten Vorganges stellt stets einen gewissen Risikofaktor bei der Verwendung von Kulturen dar. Die Bildung von ungewollten Geschmacksabweichungen sowie die Empfindlichkeit gegenüber dem Angriff durch Bakteriophagen sind weitere Unzulänglichkeiten, welche die Zahl verfügbarer Kulturen begrenzen. All dies zwingt die Kulturenhersteller, ständig neue modifizierte Stämme einzusetzen. Die Isolierung und Selektion von brauchbaren neuen Stämmen war bis heute nur über sehr umfangreiche Screening-Programme möglich. Mit Hilfe der Gentechnologie wird es der Milchindustrie künftig möglich sein, „maßgeschneiderte“ Stämme mit genetisch stabilen und vorgeprogrammten Eigenschaften zu konstruieren. Im

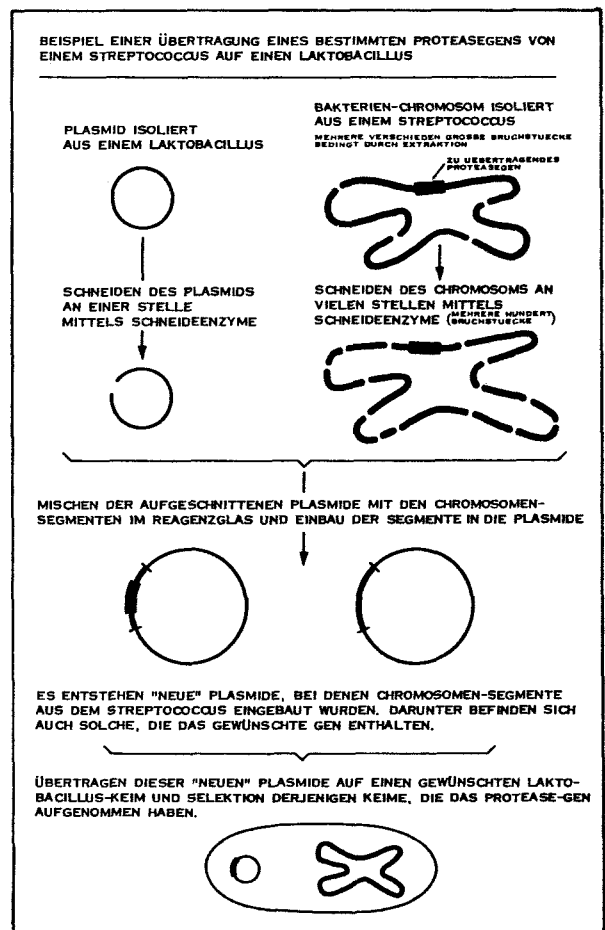


Abbildung 1: Schematische Darstellung einer theoretischen Genmanipulation bei Milchsäurebakterien: Beispiel einer Übertragung eines bestimmten Proteasegens von einem Streptokokkus auf einen Laktobazillus.

Fälle der Milchsäurestreptokokken ist es bereits gelungen, fremde Chromosomensegmente mittels verschiedener Methoden wie Protoplastentransformation, Protoplastenfusion, Konjugation und Transduktion zu übertragen [4, 5]. Das Erfüllen dieser für eine Genmanipulation notwendigen Voraussetzung läßt vermuten, daß bis 1990/95 die wissenschaftlichen Grundlagen bei diesen Keimen so weit entwickelt sein werden, daß gentechnologisch modifizierte Stämme in der Praxis Verwendung finden werden [6]. Bereits weit fortgeschritten sind ebenfalls Arbeiten zur Beeinflussung des Laktose- und des Citrat-Stoffwechsels sowie der Proteinase- und Peptidase-Aktivitäten, welche die Reifungszeit wie die Geschmacksbildung beeinflussen. Weitere gentechnologische Arbeiten zielen auf die Bildung antibakterieller Substanzen (Nisin und Bacteriocine) für die natürliche Lebensmittelkonservierung sowie auf die Schaffung phagenresistenter Starterkulturen hin [4]. Im Gegensatz zu den Streptokokken bieten die Laktobazillen, vor allem mangels geeigneter Übertragungssysteme, immer noch große Probleme.

4. Enzymtechnologie

Eine weitere biotechnologische Forschungsrichtung zielt auf den direkten Einsatz verschiedener Enzyme

Tabelle 1: Geschätzter Marktwert gentechnisch hergestellter Produkte in der Welt (Mio. US-Dollar) (nach 13)

Industrie	1980	1982	1985	1990	2000
Gesundheit	2	115	1,400	17,000	43,000
Chemie			250	1,200	8,200
Futtermittel und Nahrungsmittel		5	1,250	4,900	11,000
Landwirtschaft			500	1,900	5,300
Energie			350	10,000	75,000
Rest			5	120	2,050
Total	2	120	3,755	35,120	144,550

bei der Milchverarbeitung hin. Die Herstellung von Sauermilchprodukten oder Käse ist heute ohne die Mithilfe verschiedener Mikroorganismen kaum vorstellbar. Im Grunde genommen sind es aber nur deren Enzyme, welche die chemischen Veränderungen in diesen Produkten verursachen. Die Enzymtechnologie versucht nun (ebenfalls mittels gentechnologisch hergestellter Enzyme) die bei der Herstellung von Lebensmitteln ablaufenden biochemischen Prozesse zu steuern und zu beeinflussen. So wurden bereits Enzyme zur Laktosehydrolyse in Milch und Molke [7], zur Förderung bestimmter Geschmacksrichtungen, zur Eliminierung des Kochgeschmacks in der UHT-Milch [8] sowie zur Verhinderung der

Tabelle 2: Möglichkeiten der zukünftigen Anwendung der Gentechnologie von Starterkulturen (14)

1. Isolierung der verantwortlichen Gene für Fruchtgeschmackskomponenten aus verschiedenen Fruchtzellen von Früchten wie z. B. Ananas, Pfirsich, Aprikose, Zitrone, Banane u. a. m. und Einbau derselben in Milchsäurebakterien. Dadurch würde der Zusatz solcher Geschmacksrichtungen zu Milchprodukten überflüssig resp. würden die Tore für eine ganze Reihe neuer Milchprodukte geöffnet.
2. Konstruktion von Milchsäurebakterien mit der Fähigkeit, Molke direkt in marktgerechte Endprodukte mit verschiedenen Geschmacksrichtungen zu verarbeiten.
3. Einbau von Genen in Milchsäurebakterien mit der Fähigkeit, Proteine mit echten Süßstoffeigenschaften zu bilden, was den Zusatz von Zucker zu Milchprodukten überflüssig machen würde.
4. Entwicklung von Nahrungsmittelkeimen mit Genen zur Herstellung von Heilmitteln wie Hormonen.
5. Einbau von Genen zur Bildung von für die menschliche wie tierische Gesundheit vorteilhaften Stoffen wie Enzyme oder andere bereits heute künstlich zugesetzter Nahrungsmittelzusatzstoffen.

Fettoxidation [9] u. a. m. studiert. Solche Enzyme können in freier oder trägergebundener Form zur Herstellung von Getränken, Käse, Trockenmilchprodukten, vergorenen Milcherzeugnissen und in der Molkenverwertung eingesetzt werden.

Da die Lagerungszeit in der Käseproduktion einen nicht unwesentlichen ökonomischen Faktor darstellt, werden weltweit große Forschungsanstrengungen unternommen, die Käsereifung zu beschleunigen [10, 11]. Dazu stehen verschiedene Methoden, wie Anwendung erhöhter Temperatur, Zugabe von an der Käsereifung beteiligten Enzymen direkt zur Milch, in verkapselter Form oder direkt zum Bruch, genetisch modifizierte Starterkulturen sowie Zugabe von vorinkubiertem Bruch zur Verfügung, die sich in ihren Vor- und Nachteilen unterscheiden. Damit die Qualität des Endproduktes in keiner Weise beeinträchtigt wird, sind aber genaueste Kenntnisse über Wirkungsweise und Art der an der Käsereifung beteiligten Enzyme von grundlegender Bedeutung.

In letzter Zeit ist es verschiedenen Forscherteams gelungen, die Gene für die Synthese von Lab aus Kälbermagenzellen zu isolieren und in Chromosomen von Bakterien und Hefen einzubauen, die in der Lebensmittelindustrie bereits Verwendung finden und somit in jeder Beziehung unbedenklich sind. Die so veränderten Keime vermögen in Fermentern jede gewünschte Menge an reinem Lab zu produzieren. Erste Versuche, Edamer und Tilsiter Käse mit gentechnologisch gewonnenem Rinder-Chymosin herzustellen, wurden bereits durchgeführt [12]. Unter Umständen ist in Kürze mit deren praktischer Verfügbarkeit zu rechnen.

5. Zukunftsaussichten der Gentechnologie für die Milchwirtschaft

Eine Vorhersage über die praktische Anwendung der Gentechnologie in größerem Umfang ist recht schwierig, da sich erfahrungsgemäß mit jedem neuen Erfolg weitere, bis dahin noch kaum vorstellbare Möglichkeiten plötzlich realisieren lassen. Für das weltweite Marktpotential gentechnologisch hergestellter Produkte werden dennoch recht hohe Zuwachsraten prognostiziert (Tabelle 1).

Die Milchwirtschaft (wie auch die gesamte Lebensmittelindustrie) wird sich künftig infolge der auf absehbare Zeit noch größer werdenden ökonomischen Probleme vermehrt der „Neuen Biotechnologie“, so auch der Gentechnologie, bedienen müssen. Die heutigen großen Forschungsanstrengungen durch staatliche wie private Institute werden bei den Milchsäurebakterien und den Propionibakterien sowie bei der industriellen Enzymherstellung sicherlich noch verstärkt werden und zur Schaffung genmanipulierter Ein- und Mehrstammkulturen mit klar definierten Fähigkeiten (u. a. genetisch stabile Phagenresistenzen, Bildung gewünschter Geschmacks-eigenschaften von Milchprodukten, stabile Säuerungseigenschaften) und zur Herstellung neuer Milchprodukte führen. Diese Ziele sind aus heutiger Sicht kurz- bis mittelfristig zu erreichen; daneben wird bereits über heute noch als spekulativ gel-

tende und sicher nur langfristig zu erreichende Ziele laut nachgedacht (Tabelle 2).

Nach dem gegenwärtigen Wissensstand gelten die in traditionellen Starterkulturen verwendeten Keime für Mensch, Tier und Umwelt als unbedenklich. Um dies auch bei gentechnologisch behandelten Milchsäurebakterien beizubehalten, müssen alle bei einer Genmanipulation übertragenen genetischen Elemente ausschließlich von Mikroorganismen bzw. Zellen höherer Lebewesen stammen, die bereits in der Lebensmittelindustrie zugelassen oder zumindest in jeder Beziehung unbedenklich sind. Auch sollten Antibiotikaresistenzgene, wenn immer möglich, vermieden werden. Trotz all dieser Sicherheitsauflagen muß jeder neu konstruierte Stamm wie auch jedes gentechnologisch hergestellte Produkt wie z. B. Enzyme vor dem praktischen Einsatz strengste Prüfungen auf gesundheitliche Unbedenklichkeit und biologische Sicherheit durchlaufen und vom Gesetzgeber bewilligt werden.

Neben der Konstruktion veränderter Mikroorganismen mit klar definierten Eigenschaften für den direkten Einsatz gewinnt die Enzymtechnologie durch die Möglichkeit, in zunehmendem Maße Enzyme gentechnologisch herzustellen, immer mehr an Bedeutung. Bereits heute werden eine ganze Reihe von Enzymen auf diesem Wege hergestellt. So werden den Herstellern von Milchprodukten dank der Gentechnologie eine größere Anzahl von preiswert produzierten Enzymen zur Verfügung stehen. Die Anwendung trägergebundener Enzyme muß als eine Möglichkeit in Betracht gezogen werden, nicht nur die Milch zum Gerinnen zu bringen, sondern auch spezifische Vorläufer des Aromas von Milchprodukten zu bilden. Auf dem Gebiet der beschleunigten Käsereifung wird die Suche nach Proteasen und anderen Enzymen weitergehen, die frei oder in verkapselter Form der Käse- oder Käsebruchmilch beigegeben werden können. Ob diese Verfahren aber in absehbarer Zeit größere praktische Verwendung finden ist noch unklar, da die gentechnologische Herstellung von „Super“-Starterkulturen ihre Anwendung möglicherweise überflüssig macht.

Das bereits vorhandene Know-how auf dem Gebiete der Gentechnologie, speziell bei den Milchsäurebakterien, sowie die bereits erzielten Anwendungen bei der Milchverarbeitung weisen darauf hin, daß ebenfalls in der Milchindustrie der praktische Einsatz gentechnologisch hergestellter Keime und Produkte im Verlaufe der nächsten Jahre oder Jahrzehnte in größerem Umfang erfolgen könnte.

Literatur

- [1] Rehm, H. J.: Industrielle Mikrobiologie. Springer, Berlin (1980).
- [2] Teuber, M.: Kieler Milchwirt. Forschungsber. (1987) 39, 265.
- [3] McKay, L. L., Baldwin, K. A., Zottola, E. A.: Appl. Microbiol. (1972) 23, 1090.
- [4] Teuber, M.: Dt. Milchwirt. (1987) 38, 278.
- [5] Sandine, W. E.: FEMS Microbiol. Rev. (1987) 46, 205.

ISM – Internationale Süßwarenmesse Köln 1989

8. bis 12. Februar, Rheinhallen

Die Internationale Süßwarenmesse Köln 1989 – ISM – präsentiert sich in einem verschönerten Umfeld. Der Messeplatz und der Eingangsbereich zu den Rheinhallen wurden mit Natursteinen, Grünanlagen und Wasserspielen einladend umgestaltet. Glasüberdachte Fußgängerverbindungen zum Messebahnhof Deutz und zur Anlage der Rheinfähre bieten Ausstellern und Besuchern einen noch bequemen Zugang als bisher. Vom 8. bis 12. Februar 1989 zeigen ca. 900 Unternehmen aus ca. 40 Ländern dem internationalen Fachpublikum ihre Erzeugnisse. Die ISM 1989 belegt in den Rheinhallen 1, 2, 3 und 5 eine Bruttoausstellungsfläche von 60.000 m². Das komplette internationale Angebot – es gilt als das weltgrößte – umfaßt die Warengruppen Kakao, Schokolade und Schokoladerzeugnisse, Dauerbackwaren, Knabbererzeugnisse, Zuckerwaren, Eiscreme und Rohmassen.

- [6] Gasson, M. J., Davies, F. L.: in Davies, F. L., Law, B. A.: Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elsevier Applied Science Publ., London, (1984) 99.
- [7] Mahoney, R. R.: in Fox, P. F.: Developments in dairy chemistry 3. Elsevier Applied Science Publ., London – New York, (1985) 69.
- [8] Swaisgood, H. E., Janolino, V. G., Patrick, P. S.: J. Dairy Sci. (1975) 58, 796.
- [9] Green, M. L.: Milk Ind. (1980) 82, 25 (3).
- [10] Law, B. A.: in Davies, F. L., Law, B. A.: Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elsevier Applied Science Publ., London (1984) 209.
- [11] El Soda, M.: J. Food Protect. (1986) 49, 395.
- [12] Prokopek, D., Meisel, H., Frister, H., Krusch, U., Reuter, H., Schlimme, E., Teuber, M.: Kieler Milchwirt. Forschungsber. (1988) 40, 43.
- [13] Biotechnology News (1982); zitiert nach Hülsemeyer, F.: in Scheiber, E.: Zukunftschance Biotechnologie, Österreichische Gesellschaft für Land- und Forstwirtschaftspolitik (1985) 110.
- [14] McKay, L. L.: in Harlander, S. K., Labuza, T. P.: Biotechnology in food processing, Noyes Publications, Park Ridge, (1986) 145.

Adresse der Autoren:

Dr. M. Fürst und Dr. R. Sieber
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Schwarzenburgstr. 161
CH-3097 Liebfeld-Bern