



Lenkung von ernährungs-
physiologisch erwünschten
Eigenschaften in fermentierten
Milchprodukten durch den
Einsatz von Mikroorganismen

Inhaltsverzeichnis:

Kohlenhydrate	3
Milchsäure	3
Laktase	4
Exopolysaccharide	4
Fett	5
Konjugierte Linolsäure	5
Cholesterin	6
Protein	6
Bacteriocine	7
Bioaktive Peptide	8
Biogene Amine	9
Vitamine	10
Antimutagene Wirkung	11
Probiotische Keime	12
Schluss	13
Literatur	13

Titelbild:

Bildung von CLA durch Propionsäurebakterien (siehe S. 6)

Überarbeitete Fassung eines Vortrages anlässlich des FAM-Kolloquiums vom 8.2.2001

Impressum:

Herausgeber:

FAM
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
Liebefeld
CH-3003 Bern
Telefon +41 (0)31 323 84 18
Fax +41 (0)31 323 82 27
<http://www.admin.ch/sar/fam>
e-mail info@fam.admin.ch

Autor:

Robert Sieber

Kontaktadresse für Rückfragen:

Dr. Robert Sieber
e-mail robert.sieber@fam.admin.ch
Telefon +41 (0)31 323 81 75
Fax +41 (0)31 323 82 27

Erscheinungsweise:

In unregelmässiger Folge mehrmals jährlich.

Ausgabe:

November 2001, Nr. 428

Lenkung von ernährungsphysiologisch erwünschten Eigenschaften in fermentierten Milchprodukten durch den Einsatz von Mikroorganismen

R. Sieber

Eidgenössische Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft (FAM),
Liebefeld, CH-3003 Bern

Auf dem Weg von der Milch zu den fermentierten Milchprodukten finden, bedingt durch den Einsatz und die Wirkung von Milchsäurebakterien¹, verschiedene Veränderungen an den Inhaltsstoffen der Milch wie Kohlenhydraten, Fetten, Proteinen, Vitaminen statt. Neben technologischen und sensorischen Eigenschaften werden auch Eigenschaften im Endprodukt verändert, die für die Ernährung relevant sein können. Im Folgenden soll der von D. Michel verfasste Interne Bericht (1) durch die Betonung auf ernährungsphysiologisch erwünschte Eigenschaften in Milchprodukten ergänzt werden. Dabei besteht aber nicht die Absicht, eine umfassende Übersicht zu erarbeiten.

Kohlenhydrate

In der Milch ist als wichtigstes Kohlenhydrat die Laktose vorhanden. Ihr Gehalt beträgt ungefähr 5 g/100 g Milch (2).

Milchsäure

Bei der Herstellung von fermentierten Milchprodukten wird als erstes die Laktose vergoren, sie dient den Milchsäurebakterien als Substrat. Dabei entsteht als wichtiges Stoffwechselprodukt die Milchsäure, die in zwei Isomeren D(-) und L(+) vorliegen kann (3). In der Naturheilkunde wird den beiden Milchsäure-Isomeren ein grosser Unterschied zugesprochen. Da im menschlichen Organismus bei den

Stoffwechselprozessen nur die rechtsdrehende L(+)-Milchsäure entsteht, nicht aber die linksdrehende D(-)-Milchsäure, soll letztere wertlos sein, da kein entsprechendes Enzym zum Abbau vorhanden sei (4). Untersuchungen in den 80er Jahren haben aber gezeigt, dass die D(-)-Milchsäure wohl im Stoffwechsel umgesetzt wird, aber nur langsamer (5).

Die Milchwirtschaft ist aber durchaus in der Lage, den Wünschen der Konsumenten nach einem erhöhten L(+)-Milchsäuregehalt durch die Auswahl von geeigneten Milchsäurebakterien zu entsprechen. Nach Untersuchungen an der FAM anfangs der 70er Jahre kann nämlich die Bildung der Milchsäure-Isomeren durch die Mikroorganismen gesteuert werden (6, 7). Dabei zeigte sich eine stammspezifische Milchsäurebildung (Tabelle 1). Im weiteren bildeten die *Str. thermophilus*-Stämme 1187, 2481, 2452, 2453 bei einer Bebrütungsdauer von 4 bis 48 Stunden 100 % L(+)-Milchsäure, die *L. helveticus*-Stämme 1182 und 1149 nach 4 h 75 bzw. 90 %, nach 8 h 89 bzw. 83 %, nach 24 und 48 h 66 % L(+)-Milchsäure (8).

Auf die unterschiedliche Verwendung von Milchsäurebakterien bei der Herstellung von fermentierten Milchprodukten ist auch der unterschiedliche L(+)-Milchsäuregehalt zurückzuführen. So enthalten saurer Halbrahm, Quark, Cottage cheese mehr als 90 % L(+)-Milchsäure, da diese vornehmlich mit *Str. cremoris*, *Str. lactis*, *Leuc. citrovorum*, *Leuc. paracitrovorum* fermentiert werden (8).

¹Abkürzungen der aufgeführten Bakterien:
B. = *Bifidobacterium*
Ent. = *Enterococcus*
L. = *Lactobacillus*
Lc. = *Lactococcus*
Leuc. = *Leuconostoc*
Str. = *Streptococcus*

Tabelle 1:
Bildung von L(+)-
Milchsäure durch
verschiedene
Milchsäurebakte-
rien (8)

Stamm	Nr.	L(+)-Ms. %	Stamm	Nr.	L(+)-Ms. %
<i>Str. lactis</i>	1503	92,4	<i>L. bulgaricus</i>	7	0,7
	1197	98,7		8	0,6
<i>Str. cremoris</i>	1620	99,2		1416	4,2
<i>Str. thermophilus</i>	1187	99,8	<i>L. helveticus</i>	1182	69,3
	2481	99,7		1149	67,9
	2451	99,7	<i>L. lactis</i>	1183	0
	2453	99,7		13	0
<i>Str. faecalis</i>	1525	99,4		1960	0
<i>Leuc. citrovorum</i>	1622	99,6	<i>L. casei</i>	1185	94,6
				1269	97,4
			<i>L. acidophilus</i>	1450	59,7
				1459	58,9

Laktase (= β -Galaktosidase)

Die Milchsäurebakterien bauen während der Fermentation die Laktose mit Hilfe des Enzyms Laktase ab. So steigt die Laktaseaktivität während den ersten vier Stunden der Joghurtfermentation auf 8 Einheiten/g an, um sich dann nach 8 Stunden bei 3 Einheiten/g zu stabilisieren (9). Das Vorhandensein einer mikrobiellen Laktase ist eine wichtige Voraussetzung dafür, dass Sauer Milchprodukte von laktoseintoleranten Personen gut vertragen werden (10, 11).

Exopolysaccharide

Die meisten lebensmitteltauglichen Mikroorganismen wie Milchsäure-, Propionsäure- und Bifidobakterien sind in der Lage, Exopolysaccharide zu bilden. Es handelt sich dabei um Homo- und Heteropolysaccharide (Tabelle 2). Die von den Bakterien synthetisierten Exopolysaccharide werden durch die Membran in die Umgebung der Zelle ausgeschieden (so genannte Schleim-Exopolysaccharide) oder verbleiben an der Zelle angehaftet (so genannte Kapsel-Exopolysaccharide) (12, 13). Durch Milchsäurebakterien werden Exopolysaccharide in Konzentrationen

von etwa 0,1 bis 1,5 g/l gebildet, für den Einsatz als Zusatzstoff ist jedoch zehnmal mehr erforderlich.

Nach Frengova et al. (14) wird während der Joghurtherstellung von *Str. salivarius* ssp. *thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* eine maximale Konzentration an Exopolysacchariden von 720 bis 860 mg/L gebildet. Einzeln in Milch inkubiert bildeten die thermophilen Streptokokken 230 bis 270 mg/L und die Laktobazillen 400 bis 540 mg/L. Die monomere Struktur dieses Polysaccharides besteht aus Galaktose und Glukose (1:1) mit kleinen Anteilen an Xylose, Arabinose und/oder Mannose. Aus skandinavischen Sauer Milchprodukten isolierte *L. lactis* ssp. *lactis*- und *cremoris*-Stämme produzierten in Magermilch schleimige Exopolysaccharide (15). Fadenziehende Milch kann auch bei der Herstellung von Ice cream eingesetzt werden, da die in der Milch vorhandenen Exopolysaccharide als Stabilisatoren wirken (16). Der Einsatz von Exopolysaccharide-bildenden Kulturen bei der Fabrikation von Mozzarella wie auch von fettarmem Mozzarella wurde bereits mehrfach untersucht (17, 18, 19, 20, 21). Dabei zeigte sich ein erhöhter Wassergehalt und vor allem ein positiver Einfluss auf die Schmelzeigenschaften wie auch die Textur dieses Käses.

Tabelle 2:
Klassifizierung der
Exopolysaccharide
mit den daran be-
teiligten Milchsäu-
rebakterien (12)

Polysaccharide	Vertreter	Milchsäurebakterien
Homo-	α -D-Glukane: Dextrane Alternane Mutane β -D-Glukane Fruktane Polygalaktane	<i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> <i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i> <i>Leuc. mesenteroides</i> <i>Str. mutans</i> , <i>Str. sobrinus</i> <i>Pediococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Str. salivarius</i> <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> mesophile: <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. sake</i> , <i>L.</i> <i>rhamnosus</i> thermophile: <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Str.</i> <i>thermophilus</i>
Hetero-		

Damit liegt hier ein Beispiel vor, bei dem die technologischen Eigenschaften bedeutungsvoller oder besser untersucht sind als etwa die ernährungsphysiologischen. Doch können einige Polysaccharide einen Beitrag zur Gesundheit leisten, sei es als nicht-verdaubare Fraktion, eigentlich wie die Nahrungsfasern, oder auf Grund ihrer Antikrebs-, Antimagengeschwür-, immunomodulierenden oder auch cholesterinsenkenden Aktivität (12).

Fett

Bei den Fettbestandteilen, die während der Fermentierung der Milch durch den Einsatz von Mikroorganismen verändert werden können, sind die konjugierten Linolsäuren und das Cholesterin zu erwähnen. Ist bei der ersteren Substanz eher eine Erhöhung des Gehaltes erwünscht, wäre bei der letzteren Substanz eher eine Verminderung wünschenswert.

Konjugierte Linolsäure

Konjugierte Linolsäuren (CLA) entstehen bakteriell im Pansen von Wiederkäuern. Dort hydriert das Bakterium *Butyrovibrio fibrisolvens* partiell die im Futter enthaltenen hochungesättigten Fettsäuren wie die Linolsäure. Sie kommt damit vor allem in der Milch und im Fleisch vor (22, 23). Neuere Forschungsergebnisse der FAM zeigen, dass die Milch, die auf Alpwiesen produziert wird, mehr CLA enthält als solche, die im Talgebiet gewonnen wurde (24). Den CLA werden eine Reihe günstiger physiologischer Wirkungen nachgesagt: bei Mäusen und Ratten deutliche Reduzierung des Krebsrisikos durch Fütterung mit einem CLA-haltigen Futter, Reduktion der LDL-Konzentration und des LDL:HDL-Verhältnisses sowie bei Mäusen, Ratten, Schweinen Erhöhung des Proteinansatzes bei gleichzeitiger Reduzierung der Fettdepots. Als weitere physiologische Effekte sind die Minderung von Diabetes sowie eine verminderte Neigung zur Plättchenaggregation zu erwähnen (25). Für Deutschland wird

eine tägliche Aufnahme von 350 mg bei Frauen und von 430 mg für Männer geschätzt, wobei der Hauptanteil aus Milch und Milchprodukten stammt (26).

Der Einsatz von CLA-Isomeren in Functional Food wurde von Rickert und Steinhart (26) bereits in Diskussion gebracht. So könnte der Gehalt in Joghurt durch eine geeignete Auswahl von Starterkulturen erhöht werden. Aber die Untersuchungen von Jiang et al. (27) zeigten, dass verschiedene Laktobazillen wie *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *Lc. lactis*, *Str. salivarius* ssp. *thermophilus* bei Vorhandensein von verschiedenen Linolsäurekonzentrationen im MRS (de Man-Rogosa-Sharpe)-Medium kein CLA bildeten. In einem mit Magermilch angereichertem Medium waren nach Lin et al. (28) jedoch *L. acidophilus* (CCRC14079), *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (CCRC14009), *L. delbrueckii* ssp. *lactis* (CCRC14078), *Lc. lactis* ssp. *cremoris* (CCRC12586), *Lc. lactis* ssp. *lactis* (CCRC10791), and *Str. salivarius* ssp. *thermophilus* (CCRC12257) in der Lage, CLA zu bilden. Bei Anwesenheit von 1000 µg Linolsäure pro ml konnte eine CLA-Konzentration von 63 bis 106 µg/ml nachgewiesen werden. Wenn die Menge an Linolsäure auf 5000 µg/ml erhöht und die Inkubationsdauer von 24 auf 48 h verlängert wurde, konnte keine zusätzliche CLA-Bildung festgestellt werden. Nach Jiang et al. (27) sind aber drei von sechs Propionsäurebakterien-Stämmen (*Propionibacterium freudenreichii* ssp. *freudenreichii* ATCC 6207 [PFF], *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *freudenreichii* Propioni-6 [PFF6], *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* 9093 [PFS]) in der Lage, CLA zu bilden. Der *P. freudenreichii* ssp. *freudenreichii*-Stamm Propioni-6 Wiesby produzierte beim Vorhandensein von 750 µg Linolsäure/ml im MRS-Medium mit 265 µg/ml am meisten CLA. In sterilisierter Magermilch wurden bei 100 mg Linolsäure/ml etwa 60 bis 90 % der freien Linolsäure in CLA umgewandelt (siehe Titelbild). Diese Fähigkeit der Propionsäurebakterien-Stämme

dürfte sich am ehesten beim Emmentaler Käse auswirken, doch ist zu bedenken, dass die Milch nur einen geringen Linolsäuregehalt – etwas mehr als 1 g/100 g Fett (29) – aufweist.

Cholesterin

Cholesterin in tierischem Fett wird von vielen immer noch als „Bösewicht“ angesehen, obwohl die Lipidtheorie immer mehr in Frage gestellt wird (30). Desto trotz ist die Versuchung gross, mit Hilfe von chemischen (Fest-Flüssig-Extraktion, Komplexbildung), physikalischen (Destillation, Kristallisation, superkritische Lösungen) sowie biologischen Verfahren (enzymatisch, Mikroorganismen) das Cholesterin aus Lebensmitteln zu entfernen. Verschiedene Patente sind vorhanden (31), aber eine praktische Anwendung im industriellen Massstab hat sich – so scheint es jedenfalls – auch heute noch nicht durchgesetzt.

Aus *Nocardia erythropolis*, *Nocardia rhodochrous*, *Rhodococcus equi* oder *erythropolis* und *Streptomyces* sp wurden Cholesterinoxidasen isoliert. Dabei produziert der aus Butter isolierte *Rhodococcus equi*-Stamm No. 23 mehr extrazelluläre Cholesterinoxidase als der aus Speck isolierte Stamm No. 33. Damit könnte über eine Oxidation der Cholesteringehalt eines Lebensmittels vermindert werden (31). Doch sind die Produkte der Cholesterinoxidation physiologisch nicht erwünscht (32, 33) und zudem handelt es sich bei *Rhodococcus equi* um einen wichtigen pathogenen Stamm (34).

Protein

Am Protein vollziehen sich während der Fermentierung verschiedene Umwandlungen, die zu verschiedenen Substanzen führen können. Aus diesen sollen hier die Bacteriocine, die bioaktiven Peptide und die biogenen Amine besprochen werden.

Bacteriocin	Produzent	Aktivitätsspektrum
Nisin Diplococcin Lactostrephine	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	Gram-positive Bakterien <i>Lactococcus</i> sp. <i>Lactococcus</i> sp., β -hämolytische Streptokokken, <i>L. helveticus</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Clostridium</i> sp.
Bac	<i>Lactococcus</i> sp.	<i>Lactococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Ent. faecalis</i> , <i>Pediococcus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Clostridium</i> sp.
Bac Lactacin 481	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>L. helveticus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Lactococcus</i> sp., <i>L. helveticus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Str. thermophilus</i> , <i>C.tyrobutyricum</i>
Lactococcin A Lactocin 27 Helveticin J Bac Lactacin B	<i>Lc. cremoris</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. fermenti</i> <i>L. acidophilus</i>	<i>Lactococcus</i> sp. <i>L. helveticus</i> , <i>L. acidophilus</i> <i>L. helveticus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> <i>Lactobacillus</i> sp. <i>L. leichmanii</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. casei</i>
Lactacin F	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. leichmanii</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>Ent. faecalis</i>
Caseicin 80 Brevicin 37	<i>L. casei</i> <i>L. brevis</i>	<i>L. casei</i> <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp.

Tabelle 3:
Aktivitätsspektrum von Bacteriocinen, die durch Milchsäurebakterien gebildet wurden (nach 35)

Bemerkungen: In dieser Tabelle wurden die von *L. plantarum*, *L. sake*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici* gebildeten Bacteriocine nicht berücksichtigt.

Bacteriocine

Bacteriocine sind kleine, einzelne oder komplexe Proteine oder proteinhaltige Substanzen, die gegenüber einem beschränkten Bereich von Organismen eine bakteriozide Aktivität ausüben. Meist sind diese eng verwandt mit dem Produzenten. Sie sind seit langer Zeit bekannt und es ist eine Vielzahl von Bacteriocinen nachgewiesen. Bacteriocine können auf zwei Arten in ein Lebensmittel gelangen: als reine Verbindung wie das Nisin oder im Falle der fermentierten Produkte durch die Verwendung von Milchsäurebakterien, die das Bacteriocin bilden. Nach Piard und Desmazeaud (35) sind die

meisten von Milchsäurebakterien gebildeten Bacteriocine gegenüber der eigenen Milchsäureflora aktiv (Tabelle 3). Daneben werden von Milchsäurebakterien noch weitere antimikrobielle, nicht-proteinartige Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht produziert wie beispielsweise das von *L. reuteri* gebildete Reuterin, bei dem es sich um β -Hydroxypropionaldehyd handelt. Bacteriocine sind potenzielle Lebensmittelzusatzstoffe, da sie zum biologischen Schutz von Lebensmitteln eingesetzt werden können und in der Lage sind, das Wachstum von pathogenen Bakterien in Lebensmitteln zu kontrollieren (36).

Aus 289 Proben von Kuh-, Schaf- und Ziegenmilch wurden 82 Bacteriocinproduzenten isoliert und als *L. lactis* ssp. *lactis* (59 Isolate), *L. lactis* ssp. *cremoris* (2 Isolate), *L. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* (6 Isolate), *Ent. faecalis* (7 Isolate), *Ent. faecium* (1 Isolate), *L. paracasei* ssp. *paracasei* (4 Isolate), *L. plantarum* (1 Isolat) und *Leuconostoc* spp. (2 Isolate) identifiziert. Es finden sich also einige Stämme darunter, die in der Milchwirtschaft eingesetzt werden. Als Bacteriocine wurden Nisin, Lacticin 481 und Enterocin AS-48 charakterisiert (37). Über eine Anwendung eines bacteriocinproduzierenden Stammes bei der Käseherstellung haben irische Forscher (38) berichtet. Sie haben aus Kefirkörnern den *Lc. lactis*-Stamm DPC3147 isoliert, der das Bacteriocin Lacticin 3147 mit einem breiten Hemmungsspektrum produziert. Mit diesem sowie mit dem *Lc. lactis* ssp. *cremoris*-Stamm DPC4268, dem die genetische Determinante für dieses Lacticin übertragen wurde, wurden Cheddar Käse hergestellt. Es konnte festgestellt werden, dass beide Bacteriocinproduzierenden Stämme Milchsäure in Konzentrationen bilden, die vergleichbar mit kommerziell erhältlichen Stämmen sind. Der Gehalt an Lacticin blieb über die 6 Monate Reifung konstant und korrelierte mit einer signifikanten Reduktion in der Anzahl an Nicht-Starter-Milchsäurebakterien. In Taleggio wurde von *Ent. faecium* 7C5 ein Bacteriocin gebildet, das gegenüber Listerien wirkt und das bis am Ende der Reifung stabil war (39). Cheddar Käse, produziert mit dem Nisinproduzierenden *Lc. lactis* ssp. *cremoris*-Stamm JS102, enthielt zwischen 400 und 1200 IU Nisin/g Käse und dessen Einsatz in Schmelzkäse verlängerte die Lagerfähigkeit (40). Daraus liesse sich die Vision für ein „Super“-Milchsäurebakterium ableiten, das auf dem Genom sämtliche Eigenschaften besäße, um die ernährungsphysiologischen Eigenschaften bei der Fermentierung von Milch durch die verwendeten Mikroorganismen in erwünschter Weise verändern zu können. Dass dies realisierbar sein könnte, ist mit den heutigen Möglichkeiten der

Gentechnik durchaus möglich, ob auch erwünscht, ist eine andere Frage.

Die Vorteile des Einsatzes von Bacteriocinen liegt darin, dass diese nicht toxisch und spezifisch für Rezeptoren für Bakterien sind, dass „Bacteriocin-Cocktails“ für eine spezifische Bekämpfung existieren und dass sie als „natürliche“ und „biologische“ Konservierungsmittel gelten. Als Probleme sind zu bezeichnen: häufig enger Wirtsbereich, Hemmung von Starterkulturen, mögliche Entstehung von Resistenzen bei fortgesetztem Einsatz, Stabilität im Lebensmittel (41).

Bioaktive Peptide

Als Übergang von den Bacteriocinen zu den bioaktiven Peptiden können die antimikrobiellen Peptide bezeichnet werden. Neben dem Laktoferrin und basischen Glykoproteinen, die bakterizid gegen verschiedene Stämme von *Staphylococcus aureus* wirken, gehören hierher Casecidin (Chymosinverdauung von Kasein bei neutralem pH), Casocidin, Isracidin und Lactoferricin. Zu den bioaktiven Peptide zählen blutdrucksenkende, antithrombotische, Caseinophospho-, immunomodulierende und Opioid-Peptide. Diese bioaktiven Peptide enthalten interessante ernährungsphysiologische Eigenschaften (42). Neuestens wurde auch über das Vorhandensein eines antioxidativen Peptides in mit *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953 fermentierter Milch berichtet (43).

Blutdrucksenkende Peptide

Gobbetti und Mitarbeiter (44) haben mit *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* und *Lc. lactis* ssp. *cremoris* fermentierten Milchprodukten verschiedene Peptide nachgewiesen, die das Angiotensin umwandelnde Enzym (ACE) hemmen. Alle diese Kaseinfragmente haben einen hohen Anteil an hydrophoben Resten (mehr als 60 %). Einmal gebildet, waren diese hemmenden Peptide gegenüber einer weiteren Proteolyse während der Verarbeitung oder durch Trypsin und Chymotrypsin

resistent. In einem Joghurt-ähnlichen Produkt, fermentiert mit dem *L. helveticus* CPN4-Stamm, wurde ein blutdrucksenkendes Peptid nachgewiesen, das jedoch eine geringe Aktivität gegenüber dem ACE-Enzym aufweist (45).

Fermentierte Milchprodukte, die den Blutdruck senken sollen, sind bereits auf den Markt gebracht worden: in Japan eine Sauer Milch mit dem Namen „Calpis“, die mit *L. helveticus* und *Saccharomyces cerevisiae* hergestellt wird und die Tripeptide β -CN 74-76 (Ile-Pro-Pro) und 84-86 (Val-Pro-Pro) (46, 47) enthält, und in Finnland ein durch die Firma Valio fermentiertes Milchprodukt mit dem Namen „Evolus“ (48). Auch in Käsen (Parmesan, Gouda, Gorgonzola, Cheddar, Emmentaler, Blauschimmelkäse, Camembert, Edamer, Havarti) (49, 50) oder in Molke (hergerufen durch die Wirkung der Proteinase K) (51) wurden schon Peptide mit ACE-hemmender Aktivität nachgewiesen: in Gouda die zwei antihypertensiven Peptide Arg-Pro-Lys-His-Pro-Ile-Lys-His-Gln (α_{s1} -Kasein, 1-9) und Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asn (β -Kasein, 60-68) (49). Dagegen hat die Verwendung von Ropy-Milch- (*Lc. lactis* ssp. *lactis*, ssp. *cremoris*, ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*), Joghurt- (*Str. salivarius* ssp. *thermophilus*, Bifidobakterien, *L. acidophilus*) und Sauer Milch- (wie Ropy-Milch + *Leuc. mesenteroides* ssp. *cremoris*) Starter-Kulturen zur Vergärung von Molke und Kasein zu keiner ACE-Hemmungsaktivität geführt, eine solche wurde erst nach der Hydrolyse mit Pepsin und Trypsin nachgewiesen (52). In einem Kaseinhydrolysat, das durch eine extrazelluläre Proteinase von *L. helveticus* CP790 produziert wurde, konnte ebenfalls ein blutdrucksenkendes Peptid identifiziert werden (53).

Casomorphine

In Edamer Käse wurde β -Casomorphin 3 in einer Konzentration von etwa 35 mg/100 g nachgewiesen, nicht aber β -Casomorphin 5 und Morphiceptin (54), aus Brie wurde β -Casomorphin 7 (55) und aus Milch, die mit einer Mutante

von *L. helveticus* (X-Prolyl-Dipeptidyl-Amino peptidase fehlend) fermentiert wurde, β -Casomorphin 4 isoliert (56). Dagegen konnte in enzym-modifiziertem Käse – zerkleinerter Cheddar Käse wurde mit Na_2HPO_4 und Wasser gemischt, erhitzt und mit Neutrase (neutrale Protease), einem Rohextrakt von *L. casei* oder Debitrase (Peptidasemischung) inkubiert – nur in der mit Neutrase-behandelten Probe ein β -Casomorphin 7 gefunden werden (57). Von diesen Autoren wird die Abwesenheit von β -Casomorphin in den beiden anderen Proben damit erklärt, dass diese Substanz durch die proteolytische und peptidolytische Aktivität des *Lactobacillus* abgebaut wird oder dass die Konzentration unter der Nachweisgrenze liegt. Dies würde auch mit den Befunden von Muehlenkamp und Warthesen (58) übereinstimmen.

Es scheint, dass unter den bioaktiven Peptiden einzig die blutdrucksenkenden Peptide über den Einsatz von Milchsäurebakterien zu steuern sind.

Biogene Amine

Eine zu starke Bildung von biogenen Aminen ist in Lebensmitteln unerwünscht, weil nach dem Verzehr eines solchen Lebensmittels toxische Wirkungen möglich sind. Aber im Grunde handelt es sich bei den biogenen Aminen um natürliche Vergärungsprodukte. An deren Entstehung ist eine Vielzahl an Mikroorganismen beteiligt: in Käse sind bereits *L. buchneri* (59), *Bacillus macerans* (60) wie auch *L. brevis*, *Ent. faecalis*, *Ent. faecium* und *Ent. durans* als biogene Amin-Bildner bekannt (61). Es kann davon ausgegangen werden, dass die traditionellen Starter keine oder nur eine geringe Bildung von biogenen Aminen aufweisen.

Demgegenüber sind aber auch Mikroorganismen bekannt, die biogene Amine abbauen können: *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Aspergillus*, *Bacillus*, *Candida*, *Claviceps*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Fusarium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*,

Monascus, Mycobacterium, Penicillium, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia (62). Ob solche Mikroorganismen bei der Käseherstellung zum Abbau von biogenen Aminen eingesetzt werden, ist eher unwahrscheinlich. Bei einigen unter ihnen dürfte auch ein Einsatz fraglich sein.

Vitamine

Bereits 1960 wurde von Peter (63) über die Bildung von Vitaminen durch Laktobazillen berichtet. Nach Reddy et al. (64) ist in fermentierten Milchprodukten ein höherer Gehalt an Folsäure, Niacin, Biotin, Pantothenensäure, Vitamin B₆ und B₁₂

vorhanden als in Milch. Es ist also durchaus möglich, den Vitamingehalt in fermentierten Milchprodukten durch Milchsäurebakterien zu erhöhen, aber dies gilt nicht generell für alle Vitamine. In einer neueren Arbeit von japanischen Forschern (65) wurde über die Synthese von Vitamin K durch Milchsäurebakterien wie Laktobazillen, Streptokokken, Bifidobakterien, Laktokokken, Leuconostoc und Enterokokken berichtet. Diese Stämme wurden in rekonstituierter Magermilch oder in einem Sojadrink-Medium gehalten und je nach Stamm zeigte sich eine unterschiedliche Vitamin-K-Bildung (Tabelle 4). Die Fähigkeit, Vitamin K₂ zu bilden, beschränkt sich vor allem auf Laktokokken und Leuconostoc.

Tabelle 4:
Vitamin-K₂-Bildung durch Milchsäurebakterien (65)

Spezies oder Subspezies	Stamm ¹	K ₂ /g lyophil. Zellen ²	K ₂ /g Milch ³ nmol	K ₂ /g Sojadrink ⁴
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	YIT 2002	110		
	YIT 2007	362/348		0,99
	YIT 2011	297/534	2,19	2,58
	YIT 2012	600/467	0,70	1,51
<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	YIT 2003	53		
	YIT 2008	150		
	YIT 2016	259		
	YIT 2027	230/717		0,75
	YIT 2052	125		
<i>Lc. plantarum</i>	YIT 2061	30		
<i>Lc. raffinolactis</i>	YIT 2062	648		
<i>Leuc. lactis</i>	YIT 3001	44/173		2,60
<i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	YIT 3003	123		
<i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i>	YIT 3028	nd		
<i>Ent. faecalis</i>	YIT 2031	194		
<i>L. acidophilus</i>	YIT 0168	nd		
<i>L. casei</i>	Shirota	nd		
<i>L. mali</i>	YIT 0243	11		
<i>Str. thermophilus</i>	YIT 2001	nd		
<i>B. bifidum</i>	Yakult	nd		
<i>B. breve</i>	Yakult	nd		

¹ Registrierungsnummer der Kulturensammlung des Yakult Central Institute for Microbial Research, Tokyo

² TLC-/HPLC-Bestimmung; nd = nicht nachgewiesen

³ fermentierte, rekonstituierte Magermilch-Kultur

⁴ fermentierte Sojadrink-Medium-Kultur

Verschiedene Milchsäurebakterien wie *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *L. acidophilus* und *B. longum* sind in fermentierter Milch der Lage, Folsäure zu bilden. Doch zeigt sich hier das Phänomen, dass sich der Gehalt dieses Vitamins während der Lagerung vermindert (Tabelle 5). Am meisten Folsäure bilden die Bifidobakterien (66). Die Joghurtbakterien *Str. thermophilus* und *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* können in rekonstituierter Magermilch bei einem Zusatz von 2 % Laktose nach einer Bebrütungsdauer von 18 Stunden den Folsäuregehalt um 12 bis 198 % erhöhen (67).

Bifidobakterien können noch andere Vitamine synthetisieren. Als Beispiel kann hier Sojadrink erwähnt werden, der mit *B. infantis* wie auch *B. longum* vergoren und bei dem die Veränderungen der Vitamine Niacin, Riboflavin und Thiamin verfolgt wurden. Niacin nimmt in der beobachteten Zeit deutlich ab, was darauf

hinweist, dass die Mikroorganismen dieses Vitamin für ihr Wachstum benötigen. Beim Riboflavin ist eine signifikante Erhöhung festzustellen. Thiamin erhöht sich von 0,33 auf 0,38 bei *B. infantis* und von 0,33 auf 0,37 mg/100 ml bei *B. longum* (beide statistisch signifikant verschieden) (68).

Antimutagene Wirkung

In der Milchwirtschaft eingesetzte Mikroorganismen sind in der Lage, eine antimutagene Wirkung auszuüben. Eine solche konnte schon in fermentierter Milch wie auch in Käse nachgewiesen werden. Da zu diesem Thema kürzlich eine umfassende Übersicht erschienen ist (69, 70), wird hier auf weitere Ausführungen verzichtet.

Stamm	am Anfang		Folsäuregehalt nach 6 Std. Wachstum		nach 3 Wochen Lagerung	
<i>Str. thermophilus</i> 573	22,8	1,5	46,7	5,0	38,7	2,1
<i>Str. thermophilus</i> MC	23,3	2,1	59,6	2,3	51,1	0,1
<i>L. acidophilus</i> N1	20,7	0,4	63,9	5,2	41,8	1,2
<i>L. acidophilus</i> 4356	22,4	1,8	53,9	4,6	46,5	1,5
<i>L. bulgaricus</i> 449	22,8	1,4	62,8	2,1	39,8	1,6
<i>L. bulgaricus</i> 448	22,9	3,9	68,5	1,8	53,2	3,1
<i>B. longum</i> B6	22,2	1,7	99,2	3,8	74,3	1,5
<i>B. longum</i> ATCC 15708	22,5	3,9	75,8	6,5	57,5	2,9

Tabelle 5:
Folsäureakkumulation durch Milchsäurebakterien nach 6 Stunden Inkubation bei 37 °C und Folsäurestabilität in fermentierter Milch nach dreiwöchiger Lagerung bei 4 °C (mg/l) (66)

Probiotische Keime

Wenn hier schon von durch Mikroorganismen hervorgerufenen ernährungsphysiologischen Eigenschaften berichtet wird, muss zum Schluss doch noch ein Wort zu den probiotischen Keimen gesagt werden. Denn diesen werden vielfältige physiologische Wirkungen zugesprochen, die jedoch nur teilweise belegt sind (Tabelle 6). Im folgenden soll das Verhalten des probiotischen Keimes *L. paracasei* NFBC 364 während der Käsereifung vorgestellt werden.

Irische Forscher haben mit fünf Milchsäurebakterienstämmen, die zuvor aus dem menschlichen Darm isoliert wurden und bezüglich ihres probiotischen Potenzials charakterisiert wurden, Cheddar-Käse

hergestellt (71). Es wurden mit drei *L. salivarius*- (NFBC 310, 321, 348) und zwei *L. paracasei*-Stämmen (NFBC 338 oder 364) Käse im Labormassstab mit 25 Liter pasteurisierter Milch wie auch Pilot-Plant-Versuche mit 450 Liter pasteurisierter Milch durchgeführt. Die Auszählung dieser Stämme im reifen Käse wurde durch die hohe Zahl an Nicht-Starter-Milchsäurebakterien gestört. Mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden konnte gezeigt werden, dass die beiden *L. paracasei*-Stämme wuchsen und eine hohe Anzahl an lebenden Keimen im reifen Käse vorhanden waren, während die Zahl der *L. salivarius*-Keime während der Reifung abnahm. Aroma, Textur und Aussehen wurden nicht beeinflusst, wohl aber die freien Aminosäuren.

Tabelle 6:
Vorteilhafte Wirkungen und therapeutische Anwendungen von Probiotika für den Menschen (72, 73)

Vorteilhafte Wirkungen

- Aufrechterhaltung der normalen Mikroflora im Darm sowie im Urogenitaltrakt
- Verbesserung der Laktoseintoleranz
- Reduktion des Serumcholesterinspiegels
- Antikarzinogene Wirkung
- Stimulierung der Immunsystems
- Aufwertung des Nährwertes von Lebensmitteln

Therapeutische Anwendungen

- Prävention von Infektionen des Urogenitaltraktes
 - Linderung der Verstopfung
 - Schutz gegenüber Reisenden-Durchfall
 - Verhütung von Durchfall bei Kindern
 - Reduktion von Antibiotika-induziertem Durchfall
 - Verhütung von Hypercholesterinämie
 - Schutz vor Dickdarm- und Gallenblasenkrebs
 - Reduktion der Nebenwirkungen von Leberencephalopathie
 - Hilfe in Fällen von Hypo- und Hyperchlorhydrie
 - Prävention der Osteoporose
-

Schluss

Nach diesen Ausführungen können durch den Einsatz von Milchsäurebakterien zur Fermentierung von Milch ernährungsphysiologisch erwünschte Eigenschaften erzielt werden. Es handelt sich dabei um das Auftreten von neuen Substanzen wie der Milchsäure, den Exopolysacchariden, den Bacteriocinen, bioaktiven Peptiden oder um eine Anreicherung bereits in der Milch vorhandener Substanzen wie den Vitaminen.

An verschiedenen Beispielen wurde aufgezeigt, dass Mikroorganismen, im Speziellen Milchsäurebakterien, in der Lage sind, verschiedene ernährungsphysiologisch erwünschte Verbindungen zu bilden. Doch muss gesagt sein, dass eine solche Fähigkeit nicht bei allen Milchsäurebakterien vorkommt und meist stammespezifisch ist. Es sei beispielsweise an die CLA-Bildung erinnert oder auch an die antimutagene Wirkung der Milchsäurebakterien. Auch ist noch nicht gesagt, dass eine in vitro festgestellte Bildung von ernährungsphysiologisch erwünschten Eigenschaften auch wirklich bei der Fermentierung von Milch vonstatten geht und damit zu dessen Auftreten in Milchprodukten führt.

Literatur

- 1 Michel D.: Möglichkeiten zur Erzielung spezifischer, technologisch oder ernährungsphysiologisch erwünschter Eigenschaften mit Gärungsorganismen bei der Herstellung von Hart- und Halbhartkäse. FAM Interner Bericht 1, 1-36 (2001)
- 2 Sieber R., Badertscher R., Bütikofer U., Nick B.: Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung von schweizerischer pasteurisierter und ultrahocherhitzter Milch. Mitt. Lebensm. Hyg. 90, 135-148 (1999)
- 3 Steffen C.: Enzymatische Bestimmungsmethoden zur Erfassung der Gärungsvorgänge in der milchwirtschaftlichen Technologie. Lebensm.-Wiss. u. -Tech. 8, 1-6 (1975)
- 4 Frangenberg U.: Gesund, schlank und schön mit Molke. Kuren für Herz, Kreislauf, Magen, Darm und Leber: mit Molke Blutdruck, Cholesterin und Stoffwechsel normalisieren. Südwest Verlag, München (1999)
- 5 Barth C.A., de Vrese M.: D-Laktat im Stoffwechsel des Menschen - Fremdstoff oder physiologischer Metabolit? Kieler Milchwirt. Forschungsber. 36, 155-160 (1984)
- 6 Steffen C.: Methoden zur Bestimmung der Gesamtmilchsäure und der Lactatkonfiguration in Käse und Milch. Schweiz. Milchzeitung 97, 1073-1078 (1971)
- 7 Steffen C., Nick B., Blanc B.: Die gärungstechnische Rolle von Lactose, Glucose und Galactose in der Fabrikation von Emmentalerkäse. Schweiz. Milchwirt. Forsch. 4, 16-22 (1975)
- 8 Steffen C., Nick B., Blanc B.H.: Konfiguration der Milchsäure verschiedener Milchsäurebakterienstämme in Abhängigkeit fabrikationstechnischer Bedingungen. Schweiz. Milchwirt. Forsch. 2, 46-52 (1973)
- 9 Kilara A., Shahani K.M.: Lactase activity of cultured and acidified dairy products. J. Dairy Sci. 59, 2031-2035 (1976)
- 10 Sieber R., Stransky M., de Vrese M.: Laktoseintoleranz und Verzehr von Milch und Milchprodukten. Z. Ernährungswiss. 36, 375-393 (1997)
- 11 Sieber R.: Lactose intolerance and milk consumption. Mljekarstvo 50, 151-164 (2000)
- 12 de Vuyst L., Degeest B.: Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 23, 153-177 (1999)
- 13 Ricciardi A., Clementi F.: Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structure, production and technological applications. Ital. J. Food Sci. 12, 23-45 (2000)
- 14 Frengova G.I., Simova E.D., Beshkova D.M., Simov Z.I.: Production and monomer composition of exopolysaccharides by yogurt starter cultures. Can. J. Microbiol. 46, 1123-1127 (2000)
- 15 Yang Z.N., Huttunen E., Staaf M., Widmalm G., Tenhu H.: Separation, purification and characterisation of extracellular polysaccharides produced by slime-forming *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* strains. Int. Dairy J. 9, 631-638 (1999)
- 16 Christiansen P.S., Madeira A.I.M.R., Edelsten D.: The use of ropy milk as stabilizer in the manufacture of ice cream. Milchwissenschaft 54, 138-140 (1999)
- 17 Perry D.B., McMahon D.J., Oberg C.J.: Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat mozzarella cheese. J. Dairy Sci. 80, 799-805 (1997)
- 18 Perry D.B., McMahon D.J., Oberg C.J.: Manufacture of low fat Mozzarella cheese using exopolysaccharide-producing starter cultures. J. Dairy Sci. 81, 563-566 (1998)
- 19 Low D., Ahlgren J.A., Horne D., McMahon D.J., Oberg C.J., Broadbent J.R.: Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture

- retention. Appl. Environ. Microbiol. 64, 2147-2151 (1998)
- 20 Bhaskaracharya R.K., Shah N.P.: Texture characteristics and microstructure of skim milk mozzarella cheeses made using exopolysaccharide or non-exopolysaccharide producing starter cultures. Aust. J. Dairy Tech. 55, 132-138 (2000)
 - 21 Petersen B.L., Dave R.I., McMahon D.J., Oberg C.J., Broadbent J.R.: Influence of capsular and ropy exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on Mozzarella cheese and cheese whey. J. Dairy Sci. 83, 1952-1956 (2000)
 - 22 Sieber R.: Konjugierte Linolsäuren in Lebensmitteln: eine Übersicht. Ernährung 19, 265-270 (1995)
 - 23 Dufey P.A.: Fleisch ist eine CLA-Nahrungsquelle. Agrarforschung 6, 177-180 (1999)
 - 24 Collomb M., Bütikofer U., Sieber R., Bosset J.O., Jeangros B.: Conjugated linoleic acid and trans fatty acid composition of cow's milk fat produced in lowlands and highlands. J. Dairy Res. 68, 519-523 (2001)
 - 25 MacDonald H.B.: Conjugated linoleic acid and disease prevention: A review of current knowledge. J. Amer. Coll. Nutr. 19, 111S-118S (2000)
 - 26 Rickert R., Steinhart H. Bedeutung, Analytik sowie Vorkommen von konjugierten Linolsäureisomeren (CLA) in Lebensmitteln. Ernährungs-Umschau 48, 4-7 (2001)
 - 27 Jiang J., Björck L., Fondén R.: Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. J. Appl. Microbiol. 85, 95-102 (1998)
 - 28 Lin T.Y., Lin C.W., Lee C.H.: Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. Food Chem. 67, 1-5 (1999)
 - 29 Collomb M., Eyer H., Sieber R.: Chemische Struktur und physiologische Bedeutung der Fettsäuren und anderer Bestandteile des Milchfettes. FAM-Information 410, 1-27 (2000)
 - 30 Ravnkov U.: The cholesterol myths exposing the fallacy that saturated fat and cholesterol cause heart disease. New Trends Publ., Washington (2000)
 - 31 Sieber R.: Cholesterol removal from animal food - can it be justified? Lebensm.Wiss. u. -Technol. 26, 375-387 (1993)
 - 32 Sieber R.: Oxidiertes Nahrungscholesterin - eine Primärursache der Arteriosklerose? Eine kritische Literaturübersicht. Ernährung 10, 547-556 (1986)
 - 33 Sieber R., Rose-Sallin C., Bosset J.O.: Le cholestérol et ses produits d'oxydation dans les produits laitiers: aspects analytiques, technologiques et conséquences nutritionnelles. Sci. Aliments 17, 243-252 (1997)
 - 34 Doig C., Gill M.J., Church D.L.: *Rhodococcus equi* - an easily missed opportunistic pathogen. Scand. J. Infect. Dis. 23, 1-6 (1991)
 - 35 Piard J.C., Desmazeaud M.: Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. Lait 72, 113-142 (1992)
 - 36 Schillinger U., Geisen R., Holzapfel W.H.: Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. Trends Food Sci. Tech. 7, 158-164 (1996)
 - 37 Rodriguez E., González B., Gaya P., Nuñez M., Medina M.: Diversity of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from raw milk. Int. Dairy J. 10, 7-15 (2000)
 - 38 Ryan M.P., Rea M.C., Hill C., Ross R.P.: An application in cheddar cheese manufacture for a strain of *Lactococcus lactis* producing a novel broad-spectrum bacteriocin, lacticin 3147. Appl. Environ. Microbiol. 62, 612-619 (1996)
 - 39 Giraffa G., Picchioni N., Neviani E., Carminati D.: Production and stability of an *Enterococcus faecium*

- bacteriocin during Taleggio cheese-making and ripening. *Food Microbiol.* 12, 301-307 (1995)
- 40 Zottola E.A., Yezzi T.L., Ajao D.B., Roberts R.F.: Utilization of Cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods. *Int. J. Food Microbiol.* 24, 227-238 (1994)
- 41 Scherer S.: Biologische Bekämpfung von Krankheitserregern in Lebensmitteln: Option oder Fiktion? *Dt. Molkerei-Ztg. Lebensmittelindustrie Milchwirt.* 116, 432-439 (1995)
- 42 Sieber R.: Über die Bedeutung der Milchproteine in der menschlichen Ernährung. *Schweiz. Milchwirt. Forsch.* 25, 25-32 (1996)
- 43 Kudoh Y., Matsuda S., Igoshi K., Oki T.: Antioxidative peptide from milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Tech.* 48, 44-50 (2001)
- 44 Gobbetti M., Ferranti P., Smacchi E., Goffredi F., Addeo F.: Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3898-3904 (2000)
- 45 Yamamoto N., Maeno M., Takano T.: Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4. *J. Dairy Sci.* 82, 1388-1393 (1999)
- 46 Takano T.: Fermented milk and anti-hypertension. *Bull. Int. Dairy Federation* 353, 17-21 (2000)
- 47 Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K., Okubo A., Yamazaki S., Takano T.: Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J. Dairy Sci.* 78, 777-783 (1995)
- 48 NN: Erstes funktionelles Lebensmittel aus Europa zur Senkung des Blutdruckes kommt aus Finnland. *Schnellinformationen VDM* 2 (44) (2000)
- 49 Saito T., Nakamura T., Kitazawa H., Kawai Y., Itoh T.: Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *J. Dairy Sci.* 83, 1434-1440 (2000)
- 50 Smacchi E., Gobbetti M.: Peptides from several Italian cheeses inhibitory to proteolytic enzymes of lactic acid bacteria, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948 and to the angiotensin I-converting enzyme. *Enzyme Microb. Tech.* 22, 687-694 (1998)
- 51 Abubakar A., Saito T., Kitazawa H., Kawai Y., Itoh T.: Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion. *J. Dairy Sci.* 81, 3131-3138 (1998)
- 52 Pihlanto-Leppälä A., Rokka T., Korhonen H.: Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *Int. Dairy J.* 8, 325-331 (1998)
- 53 Maeno M., Yamamoto N., Takano T.: Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J. Dairy Sci.* 79, 1316-1321 (1996)
- 54 Sabikhi L., Mathur B.N.: Qualitative and quantitative analysis of β -casomorphins in Edam cheese. *Milchwissenschaft* 56, 198-200 (2001)
- 55 Jarmolowska B., Kostyra E., Krawczuk S., Kostyra H.: beta-casomorphin-7 isolated from Brie cheese. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1788-1792 (1999)
- 56 Matar C., Goulet J.: β -casomorphin 4 from milk fermented by a mutant of *Lactobacillus helveticus*. *Int. Dairy J.* 6, 383-397 (1996)
- 57 Haileselassie S.S., Lee B.H., Gibbs B.F.: Purification and identification of potentially bioactive peptides from enzyme-modified cheese. *J. Dairy Sci.* 82, 1612-1617 (1999)
- 58 Muehlenkamp M.R., Warthesen J.J.: β -Casomorphins: analysis in cheese and susceptibility to pro-

- teolytic enzymes from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*. J. Dairy Sci. 79, 20-26 (1996)
- 59 Sumner S.S., Speckhard M.W., Somers E.B., Taylor S.L.: Isolation of histamine-producing *Lactobacillus buchneri* from Swiss cheese implicated in a food poisoning outbreak. Appl. Environ. Microbiol. 50, 1094-1096 (1985)
- 60 Rodriguez-Jerez J.J., Giaccone V., Colavita G., Parisi E.: *Bacillus macerans* - a new potent histamine producing microorganism isolated from Italian cheese. Food Microbiol. 11, 409-415 (1994)
- 61 Sieber R., Bilic N.: Über die Bildung der biogenen Amine im Käse. Schweiz. Landwirtschaftl. Forsch. 31, 33-58 (1992)
- 62 Beutling D.M.: Biogene Amine und Mikroben. In Beutling D.M.: Biogene Amine in der Ernährung. Springer Verlag Berlin 59-103 (1996)
- 63 Peter A.: Die Bildung von extracellulär nachweisbaren B-Vitaminen durch *Lactobacillus bifidus*, *Escherichia coli* und *Aerobacter aerogenes*. Vitamine Hormone 8, 421-430 (1960)
- 64 Reddy K.P., Shahani K.M., Kulkarni S.M.: B-complex vitamins in cultured and acidified yogurt. J. Dairy Sci. 59, 191-195 (1976)
- 65 Morishita T., Tamura N., Makino T., Kudo S.: Production of menaquinones by lactic acid bacteria. J. Dairy Sci. 82, 1897-1903 (1999)
- 66 Lin M.Y., Young C.M.: Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. Int. Dairy J. 10, 409-413 (2000)
- 67 MeeiYn L., ChungMing Y.: Biosynthesis of folates by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. J. Food Drug Anal. 8, 195-199 (2000), zitiert nach Dairy Sci. Abstr. 63, 339 (2001)
- 68 Hou J.W., Yu R.C., Chou C.C.: Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. Food Res. Int. 33, 393-397 (2000)
- 69 Sieber R., van Boekel M.A.J.S.: Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien. Teil 1: Milch, Milchprodukte und Milchinhaltsstoffe. Mitt. Lebensm. Hyg. 92, 68-89 (2001)
- 70 Sieber R., van Boekel M.A.J.S.: Antimutagene Wirkung von Milchprodukten und von in der Milchwirtschaft verwendeten Bakterien. Teil 2: Milchsäurebakterien und andere Bakterien. Mitt. Lebensm. Hyg. 92, 197-217 (2001)
- 71 Gardiner G., Ross R.P., Collins J.K., Fitzgerald G., Stanton C.: Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. Appl. Environ. Microbiol. 64, 2192-2199 (1998)
- 72 O'Sullivan M.G., Thornton G., O'Sullivan G.C., Collins J.K.: Probiotic bacteria: myth or reality? Trends Food Sci. Technol. 3, 309-314 (1992)
- 73 Lee Y.K., Salminen S.: The coming of age of probiotics. Trends Food Sci. Technol. 6, 241-245 (1995)