

Beitrag der milchsäuren Fermentation zur Lebensmittelsicherheit in Afrika südlich der Sahara

W.H. Holzapfel¹, V.M. Kimaryo, G.A. Massawe, N.A. Olasupo

Lebensmittelfermentation und ihre Entwicklung stehen in engem Zusammenhang mit der menschlichen Kultur- und Überlebensgeschichte. Zur Haltbarmachung oder Konservierung wurden Lebensmittel bereits seit frühesten Zeiten entweder getrocknet, gesalzen oder fermentiert. Dabei wurden über einen Zeitraum von mindestens 6000 Jahren die ehemals empirischen Fermentationen nach und nach optimiert. Auf der Basis biowissenschaftlicher Erkenntnisse und technischer Entwicklungen seit Ende des 19. Jahrhunderts entstand letztlich daraus die heutige moderne Biotechnologie. Dennoch sind traditionelle Fermentationen noch keine Seltenheit geworden; vielmehr spielen sie eine überlebenswichtige Rolle in der Ernährung und der Sozioökonomie vieler Staaten und Regionen. Das trifft in besonderem Maße für Afrikastaaten südlich der Sahara zu, wo milchsauer fermentierte Lebensmittel häufig eine zentrale Rolle in der täglichen Diät einnehmen. Auf Grund heutiger Erkenntnisse wissen wir, dass die Lebensmittelfermentationen eine wesentlich umfassendere Bedeutung für die menschliche Ernährung haben als bisher angenommen, und einen oder mehrere der folgenden günstigen Effekte – je nach Produkt und Fermentationsart – mit sich bringen können:

1. Konservierung, z.B. durch Milchsäure, Alkohol, Essigsäure und auch alkalische Fermentationen.
2. Verbesserung/Anreicherung der menschlichen Diät durch die Bildung von Geschmacks- und Aromastoffen und der Textur des Produktes.
3. Biologische Anreicherung mit Eiweiß, essentiellen Aminosäuren, essentiellen Fettsäuren und Vitaminen.
4. Detoxifizierung während des Fermentationsprozesses (Abbau antinutritiver Faktoren oder von natürlichen Toxinen und Mykotoxinen).
5. Verbesserung der Verdaulichkeit / Reduzierung der Zubereitungszeit und des Energiebedarfs.

Nicht allein tragen diese traditionell fermentierten Erzeugnisse täglich zur Lebensqualität und Sicherheit in vielen Entwicklungsändern bei, sondern sie dienen gleichzeitig als wertvolle Forschungsmodelle zum besseren Verständnis komplexer mikrobiologischer Stoffwechselfvorgänge und Wechselwirkungen in diesen Produkten. Ganz besonders dienen Untersuchungen in den letzten 10 Jahren dazu, traditionelle Fermentationen zu optimieren, und die Sicherheit und Qualität der Endprodukte zu verbessern. Diese sind nach wie vor Zielsetzungen der FAO und WHO, wobei die FAO einen besonderen Akzent auf die Entwicklung von Starterkulturen für mittel- und kleinbetriebliche Fermentationsverfahren in Entwicklungsländern setzt.

Dank EU-Förderungen konnten verschiedene Forschungsprojekte zur breiten Thematik der Lebensmittelfermentation, und mit dem Ziel der Verbesserung der Lebensmittelsicherheit und -Qualität, der Armutsbekämpfung und des „Capability Building“, mit mehreren Partnerinstituten in Afrika durchgeführt werden. Somit konnten zum Teil neue Erkenntnisse über die Mikrobiologie traditioneller fermentierter Produkte in Afrika und vorteilhafte Stoffwechseleinstellungen assoziierter Milchsäurebakterien gewonnen werden.

Aktuellen Statistiken nach, sterben jährlich ca. 5 Millionen Kinder < 5 Jahren in Entwicklungsländern an der Folge lebensmittelbedingter Durchfallerkrankungen. Ein Teil der Durchfallerkrankungen ist auch heute noch auf nicht ausreichend fermentierte Lebensmittel zurückzuführen, die ansonsten als „sicher“ gelten und die auch häufig als Hauptnahrung für Kleinkinder dienen. Die Tatsache, dass Lebensmittelfermentationen in Afrika breite Akzeptanz genießen und auf der anderen Seite in vielen Regionen auf Haushalts- und kleinbetrieblicher Ebene praktiziert werden, unterstreicht deren sozio-ökonomische Bedeutung und das Potenzial für positive Ansätze zur Armutsbekämpfung und Ernährungssicherung.

Die in Tabelle 1 zusammengetragene Information verdeutlicht die Vielfalt und Komplexität der verschiedenen Arten von Lebensmittelfermentationen im Zusammenhang mit den Rohprodukte bzw. Substraten.

Forschungsarbeiten zur Mikrobiologie und Sicherheit mehrerer dieser Produkte haben zu neuen Erkenntnissen geführt und dazu beigetragen, die komplexen Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen und Lebensmittelsubstrat besser zu verstehen und dieses Potenzial auch im Sinne der Ressortforschung zu nutzen. Dazu zählen u.a. folgende Aspekte:

¹ Institut für Hygiene und Toxikologie, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe (im Forschungsverbund Produkt- und Ernährungsforschung). E-mail: wilhelm.holzapfel@bfe.uni-karlsruhe.de
Hiermit wird die finanzielle Unterstützung der EU-Kommission und der Alexander von Humboldt-Stiftung dankend erwähnt.

- Verbesserte mikrobiologische Sicherheit durch Antagonismus von erwünschten Milchsäurebakterien gegen Krankheitserreger schon im frühen Stadium einer aktiven und richtig gesteuerten Fermentation. Dies stellt auch die Basis dar für moderne Absätze zur Biokonservierung mit ausgewählten Schutzkulturen (Olasupo *et al.*, 2001).
- Antinutritive Komponenten können gesundheitsschädliche Auswirkungen besonders bei einer unausgewogenen Ernährung, besonders auf der Basis von Zerealien, haben, wie es oft der Fall in Entwicklungsländern ist. Zu solchen Faktoren zählen z.B. Enzym-Inhibitoren wie Protease- und Amylase-Inhibitoren, aber auch Polyphenole einschließlich Tannine (in Hirse und Sorghum), während Lectin verwandte Haemagglutinin-Aktivitäten in Leguminosen die Verfügbarkeit von Eiweiß und Stärke einschränken können. Darüber hinaus kann Phytat (Phytinsäure), das typisch in Zerealien vorkommt, die Bioverfügbarkeit von Mineralien wie Calcium, Eisen und Zink stark beeinträchtigen und ebenfalls zu einer Unterernährung in Entwicklungsländern beitragen. Auf der anderen Seite wurde in mehreren Arbeiten gezeigt, dass Fermentation den Nährwert von Zerealien durch eine Reduzierung antinutritiver Faktoren beitragen kann (Chavan und Kadam, 1989; Lorri, 1993; Mbugua *et al.*, 1992; Holzapfel, 1997).
 - In einem Versuchsansatz wurde der Abbau von Trypsin-Inhibitor (TI) durch ausgewählte Stämme von Milchsäurebakterien, die aus einem Maisteig („Aflata“) in Ghana stammen, auf ihre Fähigkeit untersucht, TI abzubauen. Es zeigte sich (Tab. 2), dass ca. 50 % der TI-Aktivität von Stämmen wie *Lactobacillus plantarum* Stamm 91 und *Leuconostoc* sp. Stamm 106 abgebaut wurden. Eine kinetische Untersuchung zeigte, dass mit *Leuconostoc mesenteroides* Stamm 92 ein signifikanter Abbau erst während der stationären Wachstumsphase erfolgte.
 - Verarbeitungsschritte auf Haushaltsebene (wie Essential Einweichen, Auskeimen und milchsäure Fementation) tragen zum Abbau antinutritiver Faktoren (wie Phytinsäure) in vielen Zerealien bei, z.B. bei weißem Sorghum (Svanberg und Sandberg, 1988). Die Fähigkeit Phytinsäure abzubauen ist eine Seltenheit bei den Milchsäurebakterien; trotzdem konnten positive Ergebnisse mit wenigen Stämmen von *Lb. plantarum* erzielt werden (Holzapfel, 1997, 2002).
 - Raffinose, Stachyose und Verbascose sind Oligosaccharide, die typisch mit Leguminosen und Zerealien assoziiert sind, und die Flatulenz, Durchfall und Verdauungsstörungen verursachen können. Die α -D-Galactosid-Bindungen sind gegen Kochen und Verarbeitung resistent, können aber von α -Galactosidasen einiger Bakterien und Schimmelpilze hydrolysiert werden, darunter auch einige Milchsäurebakterien, die mit fermentierten Lebensmitteln und dem Verdauungstrakt des Menschen assoziiert sind. Bei Milchsäurebakterien-Arten wie *Leuc. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* und ssp. *dextranicum* sowie *Weissella paramesenteroides* werden α -Galactosidasen entweder nur variierbar (Milliere *et al.*, 1989), bei *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. cellobiosus* und *Lb. salivarius* konstitutiv (Mital *et al.*, 1973) und bei *Lb. plantarum* (z.B. Stamm ATCC 8014) nur konstitutiv (Ahme und Molin, 1991) gebildet. *Lb. plantarum*-Stämme, die aus fermentierten Mais-Erzeugnissen in Ghana isoliert wurden, konnten Raffinose und Stachyose stark fermentieren, während für Stämme von *Ped. acidilactici* und *Ped. pentosaceus* diese Fähigkeit nicht nachgewiesen werden konnte (Holzapfel, 1997; 2002).

Tabelle 1: Beispiele traditioneller fermentierter Lebensmittel typisch für Afrika

Kategorien				
A	B	C	D	E
Ogi ^{1,2,3}	Kenkey	Dawadawa ⁵	Palmweine ¹³	
Uji ^{1,2,3,4}	Uji ^{1,2}	Soumbala ⁵	Traditionelle Biere ^{1,2,3}	Enjera ^{1,2,3}
Mawe ¹		Ugba ⁵		
Mahewu ¹		Ogiri ¹¹	Tej ¹²	Kisra ³
Gari ⁴ , Kivunde ⁴		Okpehe ⁵	Sherbote ¹⁴	Kocho ⁹
Ergo ¹⁰			Mwenge ³⁺¹⁵	
Laban rayeb ¹⁰				Kishk ¹⁰⁺⁷

A = Einzelschritt, milchsäure Fermentationen (Milchsäurebakterien); B = Einweichen mit anschließender milchsäuren Fermentation; C = Alkalische, bakterielle Fermentation; D = Milchsäure / alkoholische Misch-Fermentation; E = Teig, dominiert von Milchsäurebakterien
 Rohwaren: 1 = Mais; 2 = Hirse; 3 = Sorghum; 4 = Cassava (Maniok); 5 = Leguminosen; 6 = Tef; 7 = Weizen;
 8 = Gemüse; 9 = Ensete Pflanzen; 10 = Milch; 11 = Wassermelonensamen; 12 = Honig;
 13 = Palmsaft; 14 = Datteln; 15 = Bananen

Tabelle 2: Abbau von Trypsin-Inhibitor (TI) durch ausgewählte Stämme von Milchsäurebakterien die aus einem Maisteig („Aflata“) in Ghana isoliert wurden. Der Versuchsansatz wurde modellhaft in einem synthetischen Flüssigmedium mit 5 mg TI/ml durchgeführt. Inkubation: 5 Tage bei 30°C. Die TI-Konzentration wurde unter Einsatz von Benzoyl-DL-Arginin-*p*-Nitro-anilid als Substrat bestimmt (Holzapfel, 1997).

Isolat (Stamm-Nr.)	Abnahme der TI-Konzentration (in mg)	% Reduktion
<i>Lb. plantarum</i> 91	2,41	48,0
<i>Lb. fermentum</i> 103	1,22	24,4
<i>Pediococcus</i> sp. 90	0,89	17,8
<i>Pediococcus</i> sp. 19	1,08	21,6
<i>Leuconostoc</i> sp. 106	2,68	53,6
<i>Lactobacillus</i> sp. 41	0,65	13,0
<i>Lactobacillus</i> sp. 17	1,86	37,2
<i>Lactobacillus</i> sp. 62	1,34	26,8

Tabelle 3: Einfluss der Fermentation auf den Gehalt an cyanogenen Glucosiden (mg/kg Trockengewicht) in Cassava während der Verarbeitung zu „Kivunde“, ein traditionelles Produkt aus Tansania. Die Daten repräsentieren die Mittelwerte aus drei unabhängig durchgeführten Versuchen. Die Starterkultur enthielt 4 Stämme von *Lactobacillus plantarum*, die aufgrund ihrer enzymatischen Aktivitäten ausgewählt wurden (Kimaryo et al., 2000).

Fermentationsperiode (Tage)	Initiierung der Fermentation		
	Spontan	„Back-slopping“	Starterkultur
0 (frischer Cassava)	175,9	176,8	176,3
1	94,6	132,6	144,7
2	67,2	89,3	62,5
3	45,9	62,4	38,9
4	43,5	47,7	12,6
5	39,1	32,9	8,1
Kivunde (getrocknet)	17,8	26,5	6,3

- Cassava (Maniok) ist Grundnahrung von 300 bis 400 Millionen Menschen in Entwicklungsländern. Unter den natürlich vorkommenden Toxinen haben jedoch die cyanogenen Glucoside wie Linamarin und Lotaustralin aufgrund der häufig auftretenden Intoxikationen durch Verzehr von unverarbeitetem, bitterem Cassava eine herausragende Bedeutung (Holzapfel, 1997). Eine effektive Detoxifikation kann durch Fermentation herbeigeführt werden; sie beruht hauptsächlich auf mikrobiellen Aktivitäten (Westby und Choo, 1994), vor allem von *Lactobacillus* spp. (Amoa-Awua et al., 1996; Olasupo et al., 1997), *Bacillus* spp. (Ejiofor und Okafor, 1981; Essers et al., 1995; Amoa-Awua und Jakobsen, 1996) und Hefen und Schimmelpilzen (Hahn, 1989; Essers et al., 1995). In einem an der BFE in Karlsruhe und am Institut „TIRDO“ in Dar-es-Salaam/Tansania gemeinsam durchgeführten und von der EU geförderten Projekt wurde die spontane „traditionelle“ Fermentation von Cassava mit einer durch sog. „Back-slopping“ und einer mit ausgewählten Stämmen von *Lb. plantarum* initiierten Fermentation verglichen. Alle drei Fermentationsansätze trugen eindeutig zu einer Reduzierung der cyanogenen Glucoside über einen Zeitverlauf von 5 Tagen bei. Eine signifikante Detoxifikation mit einer Reduzierung des Linamarins bis unterhalb des von der CODEX TAN 151-1985 vorgeschlagenen regionalen Standards von 10 mg CN-Äquivalenten /kg TG konnte innerhalb dieses Zeitraums jedoch nur unter Einsatz der erwähnten *Lb. plantarum*-Starterkultur erreicht werden (Kimaryo et al., 2000) – s. Tabelle 3. Es zeigte sich gleichzeitig, dass die Einleitung der Fermentation mit einer Beimpfung zu einer erfolgreichen Unterdrückung der *Enterobacteriaceae* („Coliforme“) unter der Nachweisgrenze von 10 KBE/ml führte (Kimaryo et al., 2000).

Schlussfolgerungen

Dank verstärkter Forschungsförderung nehmen Kenntnisse über traditionelle Lebensmittelfermentationen ständig zu. Neue Erkenntnisse dienen dem Zweck der gezielten Problemlösung, z.B. zur Verbesserung der Sicherheit und Qualität bei traditionellen Fermentationsprozessen in Entwicklungsländern. Gleichzeitig tragen die wissenschaftlich fundierten Informationen zu einem besseren Verständnis der komplexen Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen und Lebensmittelökosystemen bei und dienen somit auch wesentlichen Zielsetzungen der Ressortforschung. Dazu dienen vor allem Untersuchungen zur mikrobiologischen Dynamik, substrat-relevante Wechselwirkungen und Stoffwechselaktivitäten verschiedener Mikroben, sowie deren Schlüsselenzymen und ihre Funktionen in Verbindung mit technischen und anderen Prozessparametern. Neben der Handhabung von HACCP-

Prinzipien und von guten Verarbeitungspraxen (GMP), sieht z.B. auch die FAO einen wichtigen zukünftigen Ansatz zur Verbesserung der Qualität und Sicherheit von fermentierten Lebensmitteln in der Einführung multifunktionaler Starterkulturen, auch für kleinbetriebliche Herstellungsverfahren. Dieser Ansatz stellt eine große Herausforderung dar.

Literatur

- Ahrné S, Molin G (1991) Spontaneous mutations changing the raffinose metabolism of *Lactobacillus plantarum*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 60: 87-93.
- Amoa-Awua WK, Appoh FE, Jakobsen M (1996) Lactic acid fermentation of cassava dough into *agbelima*. *Int. J. Food Microbiol.* 31: 87-98.
- Amoa-Awua WK, Jakobsen M (1996) The role of microorganisms in the fermentation of *agbelima* cassava dough. In Halm M, Jakobsen M (Eds.) *Traditional Fermented Food Processing. The Third Biennial Seminar on African Fermented Food*. Ghana, July 1996; ISBN 87-87047-23-3.
- Chavan JK, Kadam SS (1989) Nutritional improvement of cereals by fermentation. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 28: 349-400.
- Ejirofor MAN, Okafor N (1981) Comparison of pressed and unpressed cassava pulp for gari making. In Terry ER, Oduro KA, Caveness F (Eds.) *Tropical Root Crops: Research Strategies for the 1980's*, Ottawa, Canada IDRC, 154-158.
- Essers AJA, Jurgens CMGA, Nout MJR (1995) Contribution of selected fungi to the reduction of cyanogen levels during solid substrate fermentation of cassava. *Int. J. Food Microbiol.* 26: 251-257.
- Hahn SK (1989) An overview of African traditional cassava processing and utilization. *Outlook on Agric.* 18: 110-118.
- Holzappel WH (1997) Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* 8: 241-258.
- Holzappel WH (2002) Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology* 75: 197-212.
- Kimaryo VM, Massawe GA, Olasupo N.A, Holzappel WH (2000) The use of starter culture in the fermentation of cassava for the production of „kivunde“, a traditional Tanzanian food product. *International Journal of Food Microbiology* 56, 179-190.
- Lorri WSM (1993) *Nutritional and Microbiological evaluation of Fermented Cereal Weaning Foods*. Ph.D.-Thesis, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden.
- Milliere JB, Mathot AG, Schmitt P, Divies C. (1989) Phenotypic characterisation of *Leuconostoc* species. *J. Appl. Bacteriol.* 67: 529-542.
- Mital BK, Schallenger RS, Steinkraus KH (1973) Alpha-galactosidase activity of lactobacilli. *Appl. Microbiol.* 26: 783-788.
- Mbugua SK, Ahrens RH, Kigutha HN, Subramanian V (1992) Effect of fermentation, malted flour treatment and drum drying on nutritional quality of Uji. *Ecol. Food Nutr.* 28, 271-277.
- Olasupo NA, Olukoya DK, Odunfa SA (1997) Identification of *Lactobacillus* species associated with selected African fermented food. *Zeitschrift für Naturforschung C-J Biosci.* 52: 105-108.
- Olasupo NA, Schillinger U, Holzappel WH (2001) Studies on some technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from nigerian fermented foods. *Food Biotechnology* 15(3), 157-167.
- Svanberg U, Sandberg A-S (1988) Improving iron availability in weaning foods through the use of germination and fermentation. In: *Improving young child feeding in Eastern and Southern Africa: Household level Food Technology*", ed. Aldwick D, Moses S, Schmidt OG: *Proceedings of a Workshop: Nairobi, Kenya, Oct. 1987*, pp. 366-373. IDRC-265e, Ottawa, Canada.
- Westby A, Choo BK (1994) Cyanogen reduction during the lactic fermentation of cassava. *Acta Horticulturae* 376: 209-215.