TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Milchwissenschaftliche Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL)

Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München

Jahresbericht 2008

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2008
über die milchwissenschaftliche Forschung
am Zentralinstitut für Ernährungs- und
Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL)
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan
der Technischen Universität München
in der Zeit vom
1. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008

51. Band 2008
Weihenstephan, März 2009

Herausgeber und verantwortlich für den Inhalt:

Univ.-Prof. Dr. Dr. Heinrich H.D. Meyer, Univ.-Prof. Dr.-Ing. U. Kulozik, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer und Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier sowie die Vereinigung der Förderer der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V.

Der „Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL)“ erscheint jährlich im Selbstverlag. Dieser steht den einschlägigen Instituten und Bibliotheken des In- und Auslandes - besonders aber im Austausch gegen andere Veröffentlichungen - zur Verfügung.

Bestellungen und Tauschsendungen werden ausschließlich an folgende Adresse erbeten:

Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier
D-85350 Freising
Deutschland ISSN 1613-7167

The Report "Dairy Research at the Life Science Centre Weihenstephan” is published annually and is available to libraries and institutions especially on exchange basis. Please, forward to the following address:

Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier
D-85350 Freising
Deutschland ISSN 1613-7167

Alle Rechte des Nachdrucks, auch das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis

Seite

Vorwort 1

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie 2
Personal 2
Ernennungen, Ehrungen 3
Forschung 4
I. Laktationsphysiologie 4
II. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt 7
III. Reproduktionsbiologie 13
IV. Bioanalytik 18
Dissertationen, Diplomarbeiten, Master- und Bachelorarbeiten 19
Vorträge 21
Tagungen des Lehrstuhls 26
Veröffentlichungen 26

Versuchsstation Veitshof 31
Personal 31
Lehre 32
Forschung 32

ZIEL – Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft 34
Personal 34
Forschung 34
Dissertationen, Master Thesis, Projektarbeit 47
Lehre 48
Vorträge 48
Medienarbeit 50
Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen 50
Veröffentlichungen 51

Seite

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie 52
Personal 52
Einführung 53
Forschung 54
Arbeitsgruppe: Identifizierung lebensmittelrelevanter Mikroorganismen 54
Arbeitsgruppe: Toxinbildung und Identifizierung von Bacillus cereus 58
Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen 62
Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln 68
Arbeitsgruppe: Anti-listerielle Hefen 72
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 76
Vorträge, Posterpräsentationen 77
Veröffentlichungen 79

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie 81
Personal 81
Vorwort 82
Auszeichnungen 83
Forschung 83
Arbeitsgruppe: Bioprozesstechnik / Aseptik 83
Arbeitsgruppe: Proteintechnologie / Membrantrenntechnik 99
Arbeitsgruppe: Rheologie und Mikrostruktur 124
ZIEL-Nachwuchsforschergruppe „Bioaktive Peptide und Proteintechnologie“ 130
Dissertationen, Diplomarbeiten und Masterarbeiten 135
Semesterarbeiten und Bachelorarbeiten 135
Vorträge 136
Posterpräsentationen 140
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 141
Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien 142
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 142
Besucher 143
Veröffentlichungen 143

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung – IVV 145
Personal 145
Forschung 145

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. 151
Verbandsinformation 151
Geförderte Exkursionen 151
Ehrungen 152
Verleihungsrichtlinien zum Preis für Diplomarbeiten 153

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 154
Vorstand 154
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 154
Beitragsordnung 156
Informationstransfer – Mitgliederinformation 156

Technischer Teil 158

Vorwort

Der Jahresbericht der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL) verfolgt das Ziel, über Forschungsarbeiten auf dem für die gesamte Lebensmittelwirtschaft so wichtigen Bereich Milch zu berichten. Der Bericht schließt aber auch Themen aus angrenzenden Bereichen der Lebensmittelforschung mit ein.

Die milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten in Weihenstephan wollen mit dieser Publikation gegenüber der Öffentlichkeit Rechenschaft über ihre Aktivitäten geben und vor allem der Milch- und Molkereiwirtschaft einen Überblick über abgeschlossene und laufende Forschungsarbeiten bieten. Darüber hinaus sollen mit dem Jahresbericht Wege erschlossen werden, die Zusammenarbeit mit den Unternehmen der Milchindustrie weiter zu verbessern. Dadurch soll die Forschung mit Schwerpunkt Milchwissenschaft an der TU München in Freising-Weihenstephan im Sinne der milchwirtschaftlichen Praxis intensiviert werden. Die milchwissenschaftliche Arbeit an den Instituten wird von der „Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaft an der TU München“ sehr engagiert unterstützt. Es ist das Ziel, sowohl der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten als auch der „Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaft an der TU München“, eine für die Milchwirtschaft essentielle, praxisrelevante Forschung am und um das Substrat Milch nicht nur zu erhalten, sondern über alle beteiligten Disziplinen hinweg auszubauen.

Vor diesem Hintergrund sollen innovative Lösungen für neue Produkte und Verfahren, Produktsicherheit, Kosten- und Qualitätsoptimierung sowie für das Marketing erarbeitet werden. Die interdisziplinären Ansätze der Weihenstephaner Milchforschung bieten dafür eine gute Basis. Deshalb sind ein möglichst hoher Informationsstand über die aktuellen Forschungsansätze und die vorhandene Infrastruktur sowie ein enger Kontakt zwischen den Produktions- sowie Forschungs- und Entwicklungsabteilungen der Unternehmen und den milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen überaus wichtig. Der Jahresbericht über die milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan soll dazu einen Beitrag leisten.

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3508
Telefax: 08161-71-4204
Internet: http://www.weihenstephan.de/fml/physio
e-mail: physio@wzw.tum.de

Personal

Leitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H.D. Meyer	71-3508
Wissenschaftler:	PD Dr. agr. Bajram Berisha	-3510
Wissenschaftler:	PD Dr. agr. Bajram Berisha	-3510
	Dr. rer. nat. Carolin Farke (ab 01.06.2008)	-4421
	Prof. Dr. Martin Kaske (bis 30.04.2008)	-4202
	Dr. vet. med. Heike Kliem	-3994
	Dr. rer nat. Vijay Paul	3994
	PD Dr. agr. Michael W. Pfaffl	-3511
	Prof. Dr. vet. med. Dieter Schams, a.D.	-3509
	Dr. rer nat. Ales Tichopad	-3508
	Dr. rer. nat. Susanne E. Ulbrich	-4429
	Dr. vet. med. Steffi Wiedemann	-4333
	Dr. med. Enrique Viturro del Rio	-4202
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Renate Schöpf	-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Inge Celler, TA	-5559
	Brigitte Dötterböck, TA	-4422
	Stefanie Dommel, TA	-4422
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	-4422
	Monika Partsch, TA (bis 30.01.2008)	-5545
	Angela Sachsenhauser, TA	-4453
	Waltraud Schmid, TA	-4422
	Anett Schröder, AzuBi	-4421
	Gabriele Schwentker, LTA (bis 31.11.2008)	-5544
	Nadine Waldschmitt, TA (ab 11.02.2008)	-5556

Gäste: Prof. Dr. Bukkaraya S. Prakash, Indian Council of Agricultural Research, National Dairy Research Institute, Deemed University, Karnal, Indien: 01.08.-25.10.2008

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Diplom-Agrar-Ingenieure: Katrin Danowski (seit 01.08.2008); Gregor Schlamberger (seit 1.06.2006); Tanja Sigl (seit 01.10.2008); Kerstin Steinke (bis 30.09.2008)

Tierärzte: Katy Arz (seit 01.05.2006); Ursula Köhler (seit 01.05.2008); Stefanie Schilffarth (seit 01.04.2007); Sonja Spiegler (seit 01.09.2007); Roland Werny (bis 31.05.2008)

Diplom-Biologen: Carolin Farke (bis 31.05.2008); Anna Gröbner (seit 01.08.2007); Helga Gruber (seit 01.02.2008); Patrick Gürtler (seit 21.07.2005); Irmgard Riedmaier (seit 01.08.2005); Jakob Müller (seit 16.01.2008)

Ernährungswissenschaft: Christiane Becker (seit 01.06.2007)

Diplom-Ökotrophologinnen: Martina Reiter (bis 31.07.2008)

Master Chemie-Ingenieur: Andréa Hammerle-Fickinger (seit 01.09.2006)

Molekular-Biotechnologen: Rainer Fürst (seit 01.06.2007); Sabine Masanetz (seit 01.10.2006); Michael Wierer (seit 01.09.2006)

Ehrungen, Ernennungen

Mit Schreiben der Regierung von Oberbayern vom 11. April 2008 wurde die Tierärztin, Frau Dr. Steffi Wiedemann, für die Dauer von drei Jahren in die Tierschutzkommission nach § 15 Abs. 1 TierSchG berufen. Die Aufgabe dieser Kommission ist es, die Regierungen bei der Entscheidung über die Genehmigung von Tierversuchen zu unterstützen. Insbesondere soll sich Frau Wiedemann zu den Fragen der Unerlässlichkeit und der ethischen Vertretbarkeit von Tierversuchen äußern.

Seminar Tierwissenschaft

Endokrinologisch-molekularbiologisches Kolloquium

Folgende Vorträge wurden von Gastreferenten übernommen:

28.05.2008: „Gentechnisch veränderte Pflanzen – Neue Entwicklungen und Sicherheitsforschung"
Referentin: Dr. Kerstin Kramer, Head of Scientific Affairs Europe/Africa, Monsanto Europe, Brüssel, Belgien

03.11.2008: „The effect of probiotics and prebiotics on intestinal formation of biogenic amines in piglets used as animal model"
Referent: Michael Hecker, Diplombiologe, Institut für Naturwissenschaften, Abtl. Tierernährung, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich

03.12.2008: „Die Rolle von Haustierparks bei der Erhaltung bedrohter alter Haustierrassen"
Referent: PD Dr. Dr. Kai Frölich, Tierpark Arche Warder, Warder

17.12.2008: „Epigenetische Reprogrammierung während der frühen Embryonalentwicklung beim Rind"
Referentin: Prof. Dr. Christine Wrenzycki, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Rinder, Hannover

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Staphylococcus aureus und *Escherischia coli* bewirken unterschiedliche mRNA Expressionsprofile von Cytokinen und Laktoferrin in Euterepithelzellen

Staphylococcus aures and Escherichia coli cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin mRNA in mammary epithelial cells

Griesbeck-Zilch, B.; Meyer, H.H.D.; Kühn, Ch.[1]; Schwerin, M.[1]; Wellnitz, O.[2]: Journal of Dairy Science 91 (2008) 2215-2224

Pathogene Bakterien, die in die Milchdrüse einwandern, aktivieren eine komplexe Signalkaskade, die zum einen zur Aktivierung des unspezifischen Immunsystems und zum anderen zu Entzündungssymptomen führt. Eine besondere Rolle spielen dabei die Euterepithelzellen, deren mRNA Expression von Cytokinen und Laktoferrin untersucht wurden. Hierzu wurden diese Zellen von 28 erstlaktierenden Holstein-Friesian Kühen in Zellkultur angezüchtet und für 1, 6 und 24 Stunden mit hitzeinaktivierten gram-positiven (*Staphylococcus aureus*) und gram-negativen (*Escherichia coli*) Bakterien infiziert. Beide Bakterien bewirkten eine verstärkte mRNA Expression von Proteinen, die an der Pathogenerkennung beteiligt sind, z.B. Toll-like Rezeptoren und Nucleus-Faktor-κ-B, wobei ein höherer Anstieg nach der Stimulati-

[1] Forschungsinstitut für die Biologie Landwirtschaftlicher Nutztiere, Dummerstorf

[2] Veterinary Physiology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Schweiz

on mit gram-negativen Bakterien gesehen wurde. Erstaunlicherweise zeigten aber die pro-inflammatorischen Cytokine Tumor-Nekrose-Faktor-alpha, Interleukine (IL) -1beta, IL-6, IL-8 und das Chemokin RANTES nach 1 Stunde eine höhere Expression durch die Stimulation mit *Staphylococcus aureus* als mit *Escherichia coli.* Nach 6 bzw. 24 Stunden kehrte sich diese Situation aber wieder um. Laktoferrin zeigte nach 1 Stunde eine höhere mRNA Expression durch die Stimulation mit *E. coli* als mit *Staph. aureus*, nach 24 Stunden wurde allerdings die höchste Expression bei der Stimulation mit *Staph. aureus* gemessen. Allein für Complement Faktor 3 konnte kein Unterschied in der mRNA Expression zwischen gram-negativen und gram-positiven Bakterien gefunden werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Euterepithelzellen eine wichtige Rolle in der unspezifischen Immunabwehr des Euters spielen. Die zumeist niedrigere mRNA Expression nach der Stimulation mit *Staph. aureus* könnte auch ein Grund für den häufig chronischen Verlauf dieser Infektion sein.

Individuelle Schwankungen von physiologischem und metabolischem Stress während der Erstlaktation bei Haltung unter gleichen Bedingungen

Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal condition

Kessel, S.; Stroehl, M.[3]; Meyer, H.H.D.; Hiss, S.[4]; Sauerwein, H.[4]; Schwarz, F.J.[3]; Bruckmaier, R.M.[2]: Journal of Animal Science 86 (2008) 2903-2912

Die Studie wurde mit Hochleistungskühen durchgeführt, um die individuelle metabolische und endokrine Anpassungsfähigkeit an die Laktation unter gleichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen zu untersuchen. 45 Kühe waren in die Studie eingebunden, die auf einem Forschungsbetrieb unter standardisierten, praxisorientierten Bedingungen durchgeführt wurde. Von zwei Wochen vor der Kalbung bis 14 Wochen nach der Kalbung wurden wöchentlich Blutproben gezogen, in denen die Zusammensetzung des Blutes sowie verschiedene Stoffwechselparameter und Hormone bestimmt wurden. Körpergewicht, BCS und Rückenfettdicke wurden ebenfalls wöchentlich erfasst. Milchmenge, Milchzusammensetzung, Futteraufnahme und Energiebilanz wurden dementsprechend nach der Geburt erfasst. Die Tiere wurden rückwirkend anhand der BHB Konzentration im Plasma in zwei Gruppen eingeteilt: Solche Tiere, die mindestens einmal einen BHB von >1mmol/l im Plasma hatten, galten als BHB-positiv (BHB+); solche, die immer unter diesem Schwellenwert lagen, entsprechend als BHB negativ (BHB-). Anhand dieser Klassifikation wurden NEFA und Glukosekonzentrationen vergleichend untersucht. Der Mittelwert für die errechnete Energiebilanz unterschied sich nicht zwischen den Gruppen (-22,2 MJ NEL/Tag ± 4,7 für die BHB+, -18,9 MJ NEL/Tag ± 4,9 für die BHB-). Für die BHB+ Kühe zeichnete sich ein deutlicherer Rückgang bei Körpermasse, BCS und Rückenfettdicke an ($P < 0,05$). Für die durchschnittliche Milchmenge gab es keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Die BHB+ Kühe hatten einen höheren Milchfett- und geringeren Milchproteingehalt ($P < 0,05$), und somit auch einen höheren Fett-Eiweißquotienten ($P < 0,05$) als die BHB- Kühe. Ansatz-weise konnten die Kühe also die negative Energiebilanz durch Regulieren der Leistung kompensieren. Die Azetonkonzentrationen in der Milch ent-

[3] Lehrstuhl Tierernährung, Arbeitsgruppe Tierernährung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

[4] Institut für Tierwissenschaften, Physiologie und Hygiene, Universität Bonn

sprachen den Konzentrationen im Blut. Während des Versuchszeitraumes waren die Konzentrationen an IGF-I und Leptin bei den BHB- Kühen höher als bei den BHB+ ($P < 0,05$). Beim Vergleich der Reproduktions-parameter (erster Progesteronanstieg, Erstbesamungserfolg, Trächtigkeitsindex, Rast- und Güstzeit) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden. Die Ergebnisse zeigen auf Basis einer Vielzahl metabolischer und endokriner Parameter, dass es bei Kühen trotz vergleichbarer Energiebilanz eine beachtliche individuelle Variabilität in der Anpassungsfähigkeit an die Frühlaktation gibt.

Ergebnisse der Tryptophansupplementierung von pansengeschütztem Tryptophan und ähnlichen Hormonen bei Färsen und Kühen

Effects of tryptophan supplementation on plasma tryptophan and related hormone levels in heifers and dairy cows

Kollmann, M.T.; Locher, M.; Hirche, F.[5]; Eder, K.[5]; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.[2]: Domestic Animal Endocrinology 34 (2008) 14-24

Im Rahmen der Studie wurden die Effekte von pansengeschütztem Tryptophan (125 g Tryptophan je Tag) bei Färsen und Kühen untersucht. Am Tag vor, sowie an den Tagen 2, 5 und 7 der Tryptophansupplementierung wurden von Kühen und Färsen über 24 Stunden alle 3 Stunden Blutproben genommen. Von den Färsen wurden außerdem 14 Tage nach Absetzen des Tryptophans Blutproben genommen. Im Plasma wurden die Konzentrationen an Tryptophan, Melatonin, Serotonin und Prolaktin bestimmt. Als Reaktion auf die Tryptophangabe waren die Tryptophankonzentrationen im Plasma am Tag 5 verglichen mit dem Tag 0 ($P < 0,05$) um 119% bei den Färsen und 47% bei den Kühen erhöht. Die Konzentration an Melatonin ($P < 0,05$) nahm infolge der Tryptophangabe bei den Färsen zu, nicht aber bei den Kühen. Der Effekt der Tryptophanverabreichung auf die Plasma Tryptophan und Melatoninkonzentrationen war reversibel, wie bei den Färsen am Tag 14 nach Absetzen der Tryptophansupplementierung gezeigt. Serotonin und Prolaktion veränderten sich nach Tryptophangabe nicht. Bei den tryptophan supplementierten Kühen war jedoch die Milchmenge während der Morgenmelkzeit am Tag 1, 3, und 4 verglichen mit dem Tag vor der Tryptophangabe signifikant erhöht.

Zusätzlich wurden am Tag vor, zu Beginn und am Tag 7 der Tryptophansupplementierung während des Abendgemelkes bei den Kühen im 1 minütigem Abstand Blutproben für die Analyse von Oxytocin und Prolaktion gezogen. Während des Melkens wurden Milchflusskurven erfasst. Es wurden keine Effekte der Tryptophansupplemetierung auf die mit dem Melken verbundene Freigabe von Oxytocin, von Prolaktin oder sonst einem Milchflussparameter beobachtet.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass eine Tryptophansupplementierung bei Färsen und Kühen erhöhte Plasmakonzentrationen an Tryptophan und bei Färsen erhöhte Plasmakonzentrationen an Melatonin zur Folge hat. Serotonin, Prolaktin und Oxytocin im Plasma wurden dadurch nicht verändert. Die Milchmenge während des Morgenmelkens stieg langsam und vorübergehend an.

[5] Institut für Ernährungswissenschaften, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg

Wie verhält sich die Kuh, wenn der Spaltenboden mit Gummiauflage beschichtet ist: Eine Fallstudie

What happens with cow behavior when replacing concrete slatted floor by rubber coating: A case study

Platz, S.[6]; Ahrens, F.[6]; Bendel, J.[6]; Meyer, H.H.D.; Erhard, M.H.[6]: Journal of Dairy Science 91 (2008) 999-1004

Höhere Lebensleistung und verbesserte Tiergesundheit werden als Ziele in der Milchviehhaltung angestrebt. Diese Studie beurteilte das Verhalten in Abhängigkeit von der Bodenbeschaffenheit. Verglichen wurden Betonspalten mit solchen, die mit einer Gummiauflage beschichtet sind. Dazu wurden in einer Herde von 50 Brown Swiss Kühen Östrus (Aufsprungaktionen) und Hygieneverhalten (Lecken auf drei Beinen und Schwanzlecken) zuerst auf Betonspaltenboden und später auf Gummimatten mit Videoaufnahmen aufgezeichnet und ausgewertet. Photographien und Pedometerdaten wurden herangezogen, um Länge und Anzahl der Schritte und so das Laufverhalten zu beurteilen. Im Vergleich zum Betonspaltenboden waren Schrittlänge (58 ± 1 vs. 70 ± 1 cm; n = 35) und Anzahl der Schritte pro Tag (4226 ± 450 vs. 5611 ± 495; MW ± SD; n = 9) erhöht. Auf den Gummimatten wurden mehr Aufsprünge beobachtet (23 vs. 112). Hinfallen oder Ausrutschen gab es nur auf Betonspaltenboden (bei 19 von 23 Aufsprungaktionen). Lecken auf drei Beinen und Schwanzlecken war auf Gummibelag um bis zu 4 Mal häufiger zu beobachten (105 vs. 511 Beobachtungen). Insgesamt wurde also eine Verbesserung des Verhaltens beobachtet, wenn die Laufoberfläche mit einem Gummibelag beschichtet war. Unterschiede bei Brunst- und Hygieneverhalten wurden auf den Bodenbelag zurückgeführt.

II. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt

Cholesterin hat eine große Aufmerksamkeit während der letzten Jahrzehnte gewonnen, als alles darauf hinwies, dass dieses Molekül eine zentrale Rolle in der Entwicklung von Arteriosklerose, Herz-Kreislauf-Krankheiten und das metabolische Syndrom hat. Diätetische Studien haben gezeigt, dass Milch und Milchprodukte die zweitwichtigsten Cholesterinquellen in der modernen Ernährung sind. Es existieren große Unterschiede in der Milchcholesterinkonzentration zwischen Spezies, Rassen, Individuen und Zeitpunkte innerhalb eines Laktationszyklus. Aber die konkreten physiologischen Mechanismen, die diese Menge regulieren, sind unbekannt.

Cholesterinsynthese im Milchvieh: Induzierte Expression von Kandidaten-Genen

Cholesterol Synthesis in the lactating cow: Induced expression of candidate genes

Viturro, E.; Könning, M.; Krömer, A.; Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Kaske, M.; Meyer, H.H.D.: Steroid Biochemistry and Molecular Biology, im Druck

In dieser Studie wurde die Expression von Enzymen, die eine wichtige Rolle in der Cholesterinsynthese spielt, untersucht. HMG-CoA Synthase katalisiert die erste Reaktion (Synthese von Isopren), HMG-CoA Reductase katalisiert die zweite Reaktion und ist entscheidend als Geschwindigkeitsregulator für den gesamten Prozess. FDFT ist das erste Enzym in der Syn-

[6] Department für Tierwissenschaft, Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung, Fakultät für Tiermedizin, Ludwig-Maximilians Universität München

these, das exklusiv zu Cholesterin führt. Die Expression von diesen und anderen wichtigen Enzymen ist durch die Nuklearrezeptoren SREBP1, SREBP2 und SCAP reguliert.

Die Genexpression dieser Faktoren (Abgabe bis zu 10g Cholesterin pro Tag in die Milch) steigt zu Laktationsbeginn an – eine Anpassungsreaktion an die neue Situation.

Neuer spezifischer Enzym Immunoassay für den Nachweis von ABCA1 in humanem Gewebe und Zellen

A novel enzyme immunoassay specific for ABCA1 protein quantification in human tissues and cells

Paul, V.; Meyer H.H.D.; Leidl, K.; Soumian, S.[7]; Albrecht, C.[8]: Journal of Lipid Research 49 (2008) 2259-2267

Um das ABCA1 Protein (Steroidtransporter) in humanem Gewebe und in lysierten Fibroblasten nachweisen zu können, haben wir einen ELISA auf der Basis eines kommerziellen ABCA1 Peptides und eines polyklonalen ABCA1 Antikörpers entwickelt. Der Assay hat ein Detektionslimit von 8 ng/well (0,08 mg/L) und einen Arbeitsbereich von 9-1000 ng/well (0,09-10 mg/L). Die Assay Effizienz und der klinische Nutzen wurden anhand von arteriellem Gewebe (*Arteria mesenterialis inferior*) von 15 Kontrollpersonen und 44 Patienten mit arteriosklerotischen Plaques evaluiert. Die ABCA1 Protein Konzentrationen des Gewebelysats der Patienten (n=24) waren signifikant niedriger, verglichen mit denen der Kontrollpersonen (n=5; 9,37 ± 0,82 vs. 17,03 ± 4,25 µg/g tissue; $P<0,01$).

Expression von ABC Transporter und deren Regulatoren im Euter während der Laktation und Trockenstehphase

Differential expression of ABC transporters and their regulatory genes during lactation and dry period in bovine mammary tissue

Farke, C.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.[2]; Albrecht, C.[8]: Journal of Dairy Research 75 (2008) 406-414

ABC Transporter sind im Eutergewebe exprimiert, aber ihre konkrete physiologische Rolle in diesem Organ ist unbekannt.

Das Expressionsprofil verschiedener Kandidatengene für den Steroltransport im laktierenden und nicht-laktierenden Euter wurde mittels quantitativer PCR untersucht. Eine erniedrigte Expression von ABCA1, aber eine erhöhte Expression von ABCA7, ABCG2, SREBP1 und α-Lactalbumin konnte während der Laktationsphase gefunden werden.

---

7 Faculty of Medicine, Imperial College Hammersmith Hospital, London, U.K.

8 Institute of Biochemistry and Molecular Medicine, University of Bern, Schweiz

Futtermittelzusätze

Einfluss von antimikrobiell wirksamen Futterzusätzen auf die Mikrobiologie des Verdauungstrakts und Blutparameter von Absetzferkeln

Effects of antimicrobial feed additives on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets

Kroismayr, A.[9]; Schedle, K.[9]; Sehm, J.; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.[9]; Foissy, H.[9]; Ettle, T.[9]; Mayer, H.[10]; Schreiner, M.[10]; Windisch, W.[9]: Die Bodenkultur 59 (2008) 111-120

In einem Fütterungsversuch mit 120 Absetzferkeln (8 kg Anfangsgewicht) wurden 2 Futterzusatzstoffe (ätherische Öle aus Oregano, Anis und Zitrusfruchtschalen bzw. Avilamycin) mit einer unbehandelten Kontrollgruppe verglichen. Nach 50 Tagen Verfütterung verbesserten die ätherischen Öle numerisch den Gewichtszuwachs, Futterverzehr und Futterverwertung (+5%, +3% und -1%), während Avilamycin geringere Effekte aufwies (+1%, -1% und -2%). Am Versuchstag 22 wurden von den 3 Behandlungen jeweils 12 repräsentative Tiere geschlachtet und Blutproben sowie Chymusproben aus dem Ileum, Caecum und Colon entnommen. Die beiden Futterzusatzstoffe hatten keinen Einfluss auf das Blutbild, reduzierten jedoch die Gehalte an anaeroben und aeroben Keimen, flüchtigen Fettsäuren und Ammoniak im Chymus des Ileums, Caecums und Colons, sowie die Gehalte an biogenen Aminen im Caecum. Die pH-Werte und die Gehalte an Trockenmasse (T) in den untersuchten Darmabschnitten blieben unverändert, mit Ausnahme eines erhöhten T-Gehalts im Colon bei Verfütterung ätherischer Öle. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die eingesetzten ätherischen Öle ähnlich dem Avilamycin eine antimikrobielle Aktivität *in vivo* aufweisen.

Effekt von Avilamycin und ätherischen Ölen auf die mRNA Expression von Apoptose- und Entzündungsfaktoren und auf die Darmmorphologie von Ferkeln

Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets

Kroismayr, A.[9]; Sehm, J.; Pfaffl, M.W.; Schedle, K.[9]; Plitzner, C.[9]; Windisch, W.[9]: Czech Journal of Animal Science 53 (2008) 377-387

In dieser Studie wurde die Wirkungsweise eines phytogenen Futterzusatzstoffes, verglichen mit einem antibiotischen Leistungsförderer, bei Absetzferkeln untersucht. Dazu wurde ein Experiment mit 120 Absetzferkeln durchgeführt. Die Tiere wurden auf drei Versuchsgruppen aufgeteilt, deren Diäten sich im Gehalt an Futterzusatzstoffen wie folgt unterschieden: (1) negative Kontrollgruppe: keine potentiell leistungsfördernden Substanzen (z.B. Probiotika, Präbiotika, organische Säuren) in der Ration, (2) ätherisches Ölgemisch aus Oregano, Anis und Zitrusschalen im Futter (Produkt: Bimon® P.E.P., Biomin GmbH) und (3) antimikrobieller Leistungsförderer Avilamycin (Produkt: Maxus 100, Elanco).

Die Tiere erhielten drei verschiedene, der jeweiligen Wachstumsphase im Nährstoffgehalt angepasste Fertigfuttermischungen, also von Versuchstag 1 bis 7 ein Starterfutter, von Tag 8 bis 22 ein Absetzfutter und schließlich von Tag 23 bis Versuchsende (Tag 50) ein Aufzuchtfutter. Starter- und Absetzfutter enthielten in der phytogenen Futtergruppe 40ppm ätherisches Ölgemisch, das Aufzuchtfutter 20ppm. Alle Fertigfutter der positiven Kontrollgruppe enthiel-

[9] Department of Food Science and Technology, Division of Animal Food and Nutrition, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Wien, Österreich

[10] Department of Food Science and Technology, Division of Food Chemistry, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Wien, Österreich

ten 40ppm Avilamycin. Die Tiere wurden *ad libitum* mit Futter und Wasser versorgt. Die Tiere wurden in 40 Blöcke à 3 Tiere mit gleicher Abstammung (Wurf), gleichem Geschlecht und gleichem Gewicht eingeteilt.

Am 22. Versuchstag wurden je 12 repräsentative Tiere aus jeder Futtergruppe (entspricht 12 Blöcken à 3 Tiere) professionell geschlachtet. Aus den Schlachtkörpern wurden umfangreiche Proben von verschiedenen Geweben bzw. Chymus aus verschiedenen Abschnitten des Verdauungstrakts entnommen. Diese Proben wurden für weiterführende mikrobiologische, histologische und molekularbiologische Untersuchungen verwendet.

Mittels PCR–Technologie wurde das Vorkommen von bestimmten Markergenen (Proliferations-, Apoptose- und Entzündungsfaktoren) in einer Reihe von Geweben gemessen. Dabei zeigte sich, dass beide Futterzusatzstoffe Einfluss auf die Expression des Transkriptionsfactors NFkB und des pro-inflammatorischen Cytokins TNFα hatten. So wurde zum Beispiel in den ilealen Geweben der Tiere TNFα im Jejunumgewebe durch das Phytbiotikum und durch Avilamycin gesenkt. Das gleiche wurde in der Avilamycin-Gruppe verglichen mit der negativen Kontrollgruppe beim Ileumgewebe und in den weißen Blutzellen festgestellt. Der Apoptose-Faktor Caspase 3 wurde nur durch Avilamycin beeinflusst (erhöhte Werte im Colongewebe, tendenziell erhöhte Werte im Muskelgewebe und tendenziell gesenkte Werte im Milzgewebe).

Der Proliferations- bzw. Zellzyklus-Marker Cyclin D1 wurde in den beiden Gruppen mit Futterzusatzstoffen in der Ration in manchen Geweben (Colon, mesenterale Lymphknoten und Milz) weniger häufig exprimiert als in der negativen Kontrollgruppe. Im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe senkte Avilamycin diesen Marker auch im Jejunumgewebe.

Beide Futterzusatzstoffe senkten tendenziell die Expression von IGF1 (Insulin like growth factor) im Ileumgewebe. Erhöhte IGF1 Werte wurden bei der phytogenen Futtergruppe im Nierengewebe und bei der Avilamycingruppe im Milzgewebe gemessen.

Bei den histologischen Untersuchungen des Darmgewebes zeigten sich mit einer Ausnahme keine Einflüsse beider untersuchten Futterzusatzstoffe auf die Länge der Darmzotten im Jejunum und Ileum bzw. auf die Tiefe der Crypten im Colon. Lediglich in der Avilamycingruppe wurden seichtere Crypten im Colon gemessen. Allerdings führten im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe sowohl das Phytobiotikum (-32%) als auch Avilamycin (-28%) zu signifikant kleineren Peyer´schen Platten im Ileumgewebe.

Schlussfolgernd bleibt festzustellen, dass der untersuchte phytogene Futterzusatzstoff auf Basis ätherischer Öle und der antibiotische Leistungsförderer Avilamycin sehr ähnlichen Einfluss auf die untersuchten mikrobiologischen, histologischen und molekularbiologischen Parameter zeigen. Es wird daher vermutet, dass beim Absetzferkel die Wirkungsweise beider untersuchten Stoffe sehr ähnlich ist.

Effekt von unlöslichen Balaststoffen auf die Darmmorphologie und mRNA Expressionmuster von Entzündungen, Zellzyklus und Wachstumsmarkergenen bei Absatzferkeln

Effect of insoluble fibre on intestinal morphology and mRNA expression pattern of inflammatory, cell cycle and growth marker genes in a piglet model

Schedle, K.[9]; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.[9]; Meyer, H.H.D.; Windisch, W.[9]: Archives of Animal Nutrition 62 (2008) 427-438

Ballaststoffe beinhalten verschiedene chemische Substanzen (Gerüstsubstanzen und/oder Lignin). Grundsätzlich können Ballaststoffe in eine lösliche und eine unlösliche Fraktion unterteilt werden. Diese Stoffe modifizieren, jedoch auf unterschiedliche Art und Weise, verdauungsphysiologische und morphologische Vorgänge beim Monogastrier. In diesem Zusammenhang war es Ziel dieser Studie, die Effekte verschiedener unlöslicher Ballaststoffquellen (unterschiedlich im Ligningehalt) auf morphologische und immunologische Parameter am Modeltier Absetzferkel zu untersuchen. Dazu wurden 48 Absetzferkel (Kreuzungslinie Edelschwein x Pietrain) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 8,3±1,6 kg nach Wurf und Geschlecht, in 12 Blöcke zu je 4 Tieren eingeteilt. Die Tiere jedes Blockes wurden einer von 4 Futtergruppen zugeteilt. Als Ballaststoffquellen dienten Weizenkleie (unlösliche Ballaststoffquelle mit hohem Anteil an unlöslichen Hemizellulosen) und die Pollen der chinesischen Gelbkiefer *(pinus massoniana)* (unlösliche Ballaststoffquelle mit hohem Ligningehalt). Die Supplementation wurde so gewählt, dass sich vergleichbare Gehalte an Ballaststoffen ergaben. Kontrolle: Keine Ballaststoffquelle zugesetzt, nur Basaldiet; +3% Weizenkleie (16g Ballaststoffe/kg Trockenmasse), +1,27% Pinienpollen (8g Ballaststoffe/kg Trockenmasse), +2,55% Pinienpollen (16g Ballaststoffe/kg Trockenmasse). Während der ersten sieben Tagen wurde ein Starterfutter (15,4 MJ ME/kg, 21,5% XP) und von Tag 8 bis zum Versuchsende (Tag 37) ein Aufzuchtfutter (14,4 MJ ME/kg, 18,2% XP) eingesetzt. Das Futter wurde *ad libitum* verabreicht.

Am 37. bzw. 38. Versuchstag wurde jeweils die Hälfte der Tiere ohne vorherige Nüchterung einzeln fachgerecht geschlachtet. Sofort nach Entnahme des Verdauungstrakts wurden Gewebeproben vom Magen, Jejunum, Ileum, Colon und den mesenterialen Lymphknoten entnommen, in Kryoröhrchen mittels flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C für molekularbiologische Analysen aufbewahrt. Ein anderer Teil dieser Proben wurde in einer Kochsalzlösung gewaschen und in Formalin bis zur automatischen Einbettung für morphologische Analysen zwischengelagert.

Beide Ballaststoffquellen erhöhten die Zottenlänge im Jejunum (Ø +10%) und Ileum (Ø +16%). Follikelgröße und -dichte in den Peyerschen Platten und mesenterialen Lymphknoten neigten zu einer Vergrößerung durch Weizenkleie. Dieser Effekt konnte aber nicht bei Pinienpollen beobachtet werden. Die Reaktionen auf die mRNA Expressionsraten waren ballaststoff- und gewebespezifisch: Weizenkleie bewirkte eine Aufregulation von NFkB im Magen und Jejunum. Zusätzlich wurden durch Weizenkleie noch TNFα und TGFβ sowie Caspase3 im Jejunum verstärkt exprimiert. Im Ileum konnten keine Veränderungen beobachtet werden. Im Colon verursachten die Pinienpollen eine Abregulierung von NFkB, TNFα, TGFβ, Caspase3 CDK4 und IGF1. In den mesenterialen Lymphknoten erhöhten sie die Expression von NFkB und TGFβ.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass unlösliche Ballaststoffzusätze beachtlich zur Produktivität und zur gastrointestinalen Stabilität beim Absetzferkel beisteuern. Das Mosaik von Beobachtungen, erhoben aus verschiedenen methodischen Perspektiven, demonstriert, dass das Potential unlöslicher Ballaststoffe einen "eubiotischen" Zustand im Intestinaltrakt monogastrischer Tiere produziert. Des Weiteren wirkten sich diese Art von Ballaststoffquellen positiv auf Darmmorphologie, Immunsystem und in weiterer Folge auf Gesundheit sowie zootechnische Leistungen aus.

Gentechnisch veränderte Futtermittel

Verbleib der rekombinanten DNA und des Cry1Ab Proteins nach der Nahrungsaufnahme und Verbreitung des gentechnisch veränderten Mais im Vergleich zu Raps beim Damwild (*Dama dama*)

Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (Dama dama)

Guertler, P.; Lutz, B.; Kuehn, R.[11]; Meyer, H.H.D.; Einspanier, R.[12]; Killermann, B.[13]; Albrecht, C.[8]: European Journal of Wildlife Research 54 (2008) 36-43

Seit Beginn des kommerziellen Anbaus von gentechnisch veränderten Pflanzen wurden viele Studien über den Verbleib der rekombinanten DNA und des Proteins an Nutztieren durchgeführt. Es gibt jedoch nur sehr wenige Informationen über den Verbleib bei Wildtieren. Ziel unserer Arbeit war es Einblicke über den Verbleib rekombinanter DNA und Cry1Ab-Proteins beim Damwild (*Dama dama*) zu erhalten. Außerdem wurden die Keimfähigkeit von Mais- und Rapskörnern nach der Ausscheidung untersucht. Die Untersuchungen wurden in zwei Experimente mit jeweils 11 bzw. 6 Tieren aufgeteilt. Im ersten Experiment wurden die Keimversuche durchgeführt, im zweiten wurde der Verbleib der rekombinanten DNA bzw. des Cry1Ab-Proteins untersucht. Die Tiere der Versuchsgruppe wurden mit gentechnisch verändertem Mais (Bt176, Syngenta International AG), Tiere der Kontrollgruppe mit konventionellem Mais gefüttert. Im ersten Experiment wurden täglich Kotproben genommen und gefundene Mais- und Rapskörner auf ihre Keimfähigkeit untersucht. Nach der sechsten Versuchswoche des zweiten Experiments wurden die Tiere geschlachtet, um Gewebeproben und Proben aus dem Gastrointestinaltrakt zu entnehmen. Weder in Darminhalten, noch im Kot, konnten keimfähige Maiskörner gefunden werden. Hingegen waren 18% der Rapskörner aus dem Kot keimfähig. Mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) konnte das *cry1Ab*-Gen in keiner Probe nachgewiesen werden. Auch das Cry1Ab-Protein konnte mittels ELISA bzw. Western Blot nicht nachgewiesen werden.

Das *cry1Ab*-Gen, wie auch das Cry1Ab-Protein, werden nach der Futteraufnahme im Magen-Darm-Trakt des Damwilds abgebaut. Ausgeschiedene Körner sind nicht keimfähig und führen daher nicht zu einer Streuung des gentechnisch veränderten Mais.

---

[11] Wildlife Biology and Wildlife Management Unit, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

[12] Institut für Veterinär-Biochemie, Freie Universität Berlin

[13] Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising-Weihenstephan

Entwicklung und Validierung eines sensitiven Enzyme Linked Immunosorbent Assay zur Beobachtung des Cry1Ab Proteins im bovinen Plasma von Kühen, die mit Bt-Mais (MON810) gefüttert wurden

Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810)

Paul, V.; Steinke, K.; Meyer, H.H.D.: Analytica Chimica Acta 607 (2008) 106-113

Der Einsatz gentechnisch veränderter Futtermittel gewinnt vor allem bei Nutztieren immer mehr an Bedeutung. Daher ist es unerlässlich sensitivere Methoden zum Nachweis des Cry1Ab-Proteins zu entwickeln, um mögliche Effekte untersuchen und Aussagen über den Verbleib des Proteins machen zu können. Bisher gab es keinen kommerziell erhältlichen ELISA zur Detektion immunoaktiver Fragmente des Cry1Ab-Proteins in bovinem Blut, der nach den Kriterien der EU Kommissionsrichtlinie 2002/657/EC validiert war. Daher wurde von uns ein sensitiver ELISA für die Detektion von Cry1Ab-Protein in bovinem Blut entwickelt und gemäß der Richtlinie validiert. Der analytische Messbereich dieses Assays liegt bei 0,4-100ng/mL mit einem CCα von 1,5ng/mL und einem CCβ von 2,3ng/mL. Die Wiederfindungsrate beträgt durchschnittlich 98%. Dieser Assay wurde angewendet, um den Verbleib des Cry1Ab-Proteins im Blut von 15 Rindern zu untersuchen, die entweder mit gentechnisch verändertem Mais (MON810) (n=8) oder der nicht veränderten Vergleichssorte (n=7) über zwei Monate gefüttert wurden. Die ELISA-Ergebnisse für alle Proben lagen unter dem CCα von 1,5ng/mL. In keiner Probe konnte ein immunoaktives Fragment des Cry1Ab-Protein nachgewiesen werden.

III. Reproduktionsbiologie

Dynamische Veränderungen der RNA Botenprofile in der Gebärmutterschleimhaut des Rindes während des östrischen Zyklus

Dynamic changes of messenger RNA profiles of bovine endometrium during the oestrous cycle

Mitko, K.[14]; Ulbrich, S.E.; Wenigerkind, H.[15]; Sinowatz, F.[14]; Blum, H.[14]; Wolf, E.[14]; Bauersachs, S.[14]: Reproduction 135 (2007) 225-240

Gestagene, Oestrogene und Oxytocin führen während des östrischen Zyklus zu charakteristischen morphologischen und funktionellen Veränderungen in der Gebärmutter-schleimhaut des Rindes. In einer umfassenden Studie des Trankriptoms wurden 269 Gene aufgezeigt, die an fünf definierten Zeitpunkten vor allem während des Östrus und des Diöstrus signifikant höher oder niedriger reguliert waren. Eine kleine Gruppe von Genen war auch 3,5 Tage nach dem Östrus aufreguliert. Die Zuordnung der Gene zu Genontologie-Kategorien verdeutlichte die Bedeutung des Umbaus der Extrazellulären Matrix für die Gebärmutterschleimhaut, des Transports und des Zellwachstums besonders während des Östrus. Im Diöstrus traten Gene hervor, die an der Immunantwort und an spezifischen metabolischen Stoffwechselwegen beteiligt sind. Die Erstellung von Geninteraktionsnetz-werken machte deutlich, dass Gene an der Regulation der Angiogenese, der Regulation von invasivem Wachstum und der Zelladhäsion im zyklischen Auf- und Umbau von Bedeutung sind.

[14] Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum, Ludwig-Maximilians-Universität München

[15] Bavarian Research Center for Biology and Reproduction, Oberschleissheim

Transkriptomstudien der Rindergebärmutterschleimhaut verdeutlichen molekulare Profile der Spezies-spezifischen Charakteristika des östrischen Zyklus und der frühen Gravidität

Transcriptome studies of bovine endometrium reveal molecular profiles characteristic for specific stages of estrous cycle and early pregnancy

Bauersachs, S.[14]; Mitko, K.[14]; Ulbrich, S.E.; Blum, H.[14]; Wolf, E.[14]: Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes 116 (2008) 371-384

Während des östrischen Zyklus und der Gravidität finden funktionelle Veränderungen in der Schleimhaut der Gebärmutter, dem Endometrium, statt. Das Endometrium bildet die Kontaktstelle zwischen Embryo und Mutter, und eine intakte embryo-maternale Kommunikation ist von entscheidender Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Gravidität. Umfassende Transkriptomstudien ermöglichen die ganzheitliche Erfassung von molekularen Fingerabdrücken, die aufgrund von endokrinen und metabolischen Stimuli oder embryonalen Erkennungssignalen variieren. In diesem Übersichtsartikel werden aktuelle Techniken der Erfassung des Transkriptoms vorgestellt und die Ergebnisse einer Reihe von Studien zur Veränderung des bovinen Endometriums im Zyklus und in der Frühgravidität zusammengefasst. Spezifische charakteristische mRNA-Profile des Endometriums zeigen, dass während der Frühgravidität Immunmodulatoren, Zelladhäsionsgene sowie solche Transkripte, die an dem Umbau des Endometriums beteilig sind, besonders auffällig vertreten sind. Die Ergebnisse der bovinen Studien werden mit Analysen aus humanen Studien sowie Studien bei Mäusen und Rhesusaffen verglichen, um Parallelitäten der Regulation sowie Spezies-spezifische Besonderheiten herauszustellen.

Effekt des LH Gipfels auf die Regulation von VEGF, extrazellulären Matrixproteasen (ECMP) und ihren Inhibitoren in bovinen Follikeln

Effect of the luteinising hormone surge on regulation of vascular endothelial growth factor and extracellular matrix-degrading proteinases and their inhibitors in bovine follicles

Berisha, B.; Steffl, M.[16]; Welter, H.[17]; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.; Amselgruber, W.[16]: Reproduction, Fertilility and Development 20 (2008) 258-268

Ziel der Arbeit war die Auswertung von angiogenen Faktoren (VEGF Familie) und extrazellulären Matrixproteasen (ECMP) bzw. Mitglieder der Matrixmetalloproteasen (MMP) und Plasminogen Aktivatoren (PA) in zeitlich definierten Follikelproben, die vor und nach dem LH Gipfel sowie nach der Ovulation gewonnen wurden. Es wurden folgende Faktoren untersucht: Angiogene Faktoren (VEGF-A Isoformen 121, 165, 189, VEGF-R1 und VEGF-R2); ECMP (MMP-1, MMP-2, MMP-14, MMP-19, TIMP-1, TIMP-2, tPA, uPA, uPAR und PAI-1). Um genügend Gewebematerial für die Studien an Follikeln zur mRNA Expression, Proteinkonzentration und Proteinlokalisation zu erhalten, wurde eine Superovulation durchgeführt: Nach Induzierung der Ovulation wurden Follikel bzw. frische CL durch transvaginale Ovariektomie gewonnen (n=5/Gruppe). Die Follikel wurden in folgende Gruppen eingeteilt: (I) Vor GnRH Injektion; (II) 4h nach GnRH (während des LH Gipfels); (III) 10h; (IV) 20h; (V) 25h (während der Ovulation) und (VI) 60h nach GnRH (nach der Ovulation; CL Tag 2-3).

[16] Fachgebiet Anatomie und Physiologie der Haustiere, Universität Hohenheim

[17] Fachgebiet Tierhaltung und Leistungsphysiologie, Universität Hohenheim

Zur Charakterisierung der Follikelgruppen wurden die Konzentrationen von Östradiol, Progesteron, PGF2α und PGE2 in der Follikelflüssigkeit (FF) gemessen. Der komplexe Prozess der Angiogenese wird durch proteolytischen Abbau der extrazellulären Matrix (ECM) initiiert, bei dem Matrix Metalloproteasen (MMP) und Plasminogen Aktivatoren (PA) zusammen mit angiogenen Faktoren entscheidend für das Gefäßremodelling sind. Unsere Untersuchungen bestätigen und unterstützen die Hypothese, dass lokal produzierte ECMP (MMP und PA) und angiogene Faktoren wichtige regulierende Funktionen im Prozess der Angiogenese während Follikelendwachstum, Ovulation und CL-Anbildung übernehmen.

Expression des Fibroblasten-Wachstumsfaktor 10 und seines Rezeptors, dem Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor 2b im bovinen Corpus luteum

Expression of fibroblast growth factor 10 and its receptor, fibroblast growth factor receptor 2B, in the bovine corpus luteum

Castilho, A.C.[18]; Giometti, I.C.[19]; Berisha, B.; Schams, D.; Price, C.A.[20]; Amorim, R.L.[21]; Papa, P.C.[22]; Buratini, J. Jr.[23]: Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 940-945

Bereits in früheren Untersuchungen konnten wir die Bedeutung der Mitglieder der FGF-Familie wie FGF1, FGF2 und FGF Rezeptoren (und ihre Isoformen) für die Ovarfunktion aufzeigen. In dieser Arbeit wurde ein neues Mitglied dieser Familie – FGF10 – und sein spezifischer Rezeptor FGFR2IIIb in verschiedenen Phasen des Zyklus (Tag 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-18 und >18) sowie in CL nach induzierter Luteolyse (0,5, 2, 4, 12, 24, 48, 64 h nach PGF2α Injektion) untersucht. Die Ergebnisse lassen eine wichtige Rolle des FGFR2IIIb Signalweges für das bovine CL während der strukturellen Luteolyse vermuten.

Expression und Lokalisation von Apelin und seinem Rezeptor APJ im bovinen Corpus luteum während Brunstzyklus und Prostaglandin F2α-induzierter Luteolyse

Expression and localization of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin F2α-induced luteolysis

Shirasuna, K.[24]; Shimizu, T.[24]; Sayama, K.[24]; Asahi, T.[24]; Sasaki, M.[25]; Berisha, B.; Schams, D.; Miyamoto, A.[24]: Reproduction 135 (2008) 519-525

---

18 Departamento de Farmacologia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasilien

19 Departemento de Reprodução Animal e Radiologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasilien

20 Centre de Recherche en Reproduction Animale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Kanada

21 Departamento de Clinica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasilien

22 Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasilien

23 Departamento de Fisiologia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasilien

24 Graduate School of Animal and Food Hygiene, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

25 Department of Basic Veterinary Sciences, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

Ziel dieser Arbeit war es, die Expression sowie die Proteinlokalisation von Apelin und APJ im CL des Rindes während des Zyklus (Tag 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-18 und >18) und nach der induzierten Luteolyse (0,5, 2, 4, 12, 24, 48, 64 h nach PGF2α Injektion) zu charakterisieren.

Die vorliegende Studie zeigt, dass Apelin und APJ in glatten Muskelzellen intralutealer Arteriolen lokalisiert sind und auf PGF2α in der Peripherie von bovinen CL der mittlutealen Phase reagieren. Daher scheint das Apelin/APJ-System als ein Regulator der intralutealen Arteriolen bei der Reifung des CL und der luteolytischen Kaskade bei der Kuh beteiligt zu sein.

Effekt der lokalen Neutralisation durch einen spezifischen Antikörper gegen den basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktor oder Vaskulären-Endothelzellen-Wachstumsfaktor auf die Entwicklung des Corpus luteum bei der Kuh

Effect of local neutralization of basic fibroblast growth factor or vascular endothelial growth factor by a specific antibody on the development of the corpus luteum in the cow

Yamashita, H.[24]; Kamada, D.[24]; Shirasuna, K.[24]; Matsui, M.[24]; Shimizu, T.[24]; Kida, K.[26]; Berisha, B.; Schams, D.; Miyamoto, A.[24]: Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 1449-1456

Ziel dieser Arbeit war es, die Effekte von FGF2 und VEGF auf die Entwicklung des CL *in vivo* zu untersuchen. Dafür wurden spezifische Antikörper (AK) gegen FGF2 und VEGF verwendet. FGF2 Antikörper, VEGF Antikörper oder Gammaglobulinfraktion (Kontrollgruppe) wurden durch Mehrfachinjektionen unter Ultraschallkontrolle direkt in das CL nach der Ovulation appliziert. Weitere Injektionen (1x pro Tag) folgten an den nächsten sieben Tagen. Die Kontrolltiere bekamen die Gammaglobulinfraktion von nicht immunisierten Kaninchen. Die direkte Applikationsform spart AK und vermeidet eventuelle systemische Effekte. Die Kühe wurden täglich bis zu Tag 8 des Zyklus mit Color-Doppler-Ultrasonographie untersucht und jeden Tag wurde Progesteron im Blut gemessen, um das CL-Volumen im Verhältnis zur Funktion zu ermitteln. Am Tag 8 wurden luteale Biopsieproben entnommen und die mRNA Expression von Genen, die in Verbindung mit der Progesteronsynthese (StAR) und Angiogenese stehen (VEGF und VEGF Rezeptoren, FGF und FGF Rezeptoren, Angiopoietine und Tie Rezeptoren), ermittelt. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die lokale Neutralisierung von FGF2 oder VEGF signifikanten Einfluss auf CL-Volumen, Progesteronproduktion und mRNA Expression der untersuchten Faktoren hat. Dies unterstützt die Hypothese, dass FGF2 und VEGF die CL-Bildung und -Funktion kontrollieren.

[26] Field Center of Animal Science and Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

Im Rahmen von Kooperationen wurden *in vivo* Untersuchungen zur Follikelentwicklung beim Rind durchgeführt:

Die Verhinderung der Corpus luteum Anbildung verändert endokrine Profile und beeinflusst die Follikelentwicklung während der ersten Follikelwelle beim Rind

The absence of corpus luteum formation alters the endocrine profile and affects follicular development during the first follicular wave in cattle

Hayashi, K-G.[24]; Matsui, M.[24]; Shimizu, T.[24]; Sudo, N.[24]; Sato, A.[24]; Shirasuna, K.[24]; Tetsuka, M.[27]; Kida, K.[26]; Schams, D.; Miyamoto, A.[24]: Reproduction 136 (2008) 787-797

In *in vitro* Studien mit Endometriumzellen vom Schwein wurde der Einfluss unterschiedlicher Stimulatoren auf das vascularendotheliale Wachstumsfaktor System untersucht:

Beeinflussung der VEGF Rezeptorexpression in endometrialen Stromazellen vom Schwein durch den insulinähnlichen Wachstumsfaktor1, Relaxin, Oxytocin und Prostaglandin E2

Assessment of VEGF-receptor system expression in the porcine endometrial stromal cells in response to insulin-like growth factor-I, relaxin, oxytocin and prostaglandin E(2)

Kaczmarek, M.M.[28]; Blitek, A.[28]; Kaminska, K.[28]; Bodek, G.[28]; Zygmunt, M.[29]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[28]: Molecular and Cellular Endocrinology 291 (2008) 33-41

Beeinflussung der Sekretion von Vascularendothelial Wachstumsfaktor von kultivierten Endometrium-Stromazellen an unterschiedlichen Tagen der Frühgravidität beim Schwein

The effect of insulin-like growth factor-I, relaxin and luteinizing hormone on vascular endothelial growth factor secretion by cultured endometrial stromal cells on different days of early pregnancy in pig

Kaczmarek, M.M.[28]; Blitek, A.[28]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[28]: Reproductive Biology 8 (2008) 163-170

Expression von Rezeptoren der Vascularendothelial Wachstumsfaktor Familie im Endometrium vom Schwein während des Zyklus und der Frühgravidität

Expression of the vascular endothelial growth factor-receptor system in the porcine endometrium throughout the estrous cycle and early pregnancy

Kaczmarek, M.M.[28]; Waclawik, A.[28]; Blitek, A.[28]; Kowalczyk, A.E.[28]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[28]: Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 362-372

Die Wirkung von Prostaglandin E2 und Tumornektrosefaktor auf die VEGF Rezeptor Expression in kultivierten Schweinelutealzellen

Effect of prostaglandin E2 and tumor necrosis factor on the VEGF-receptor system expression in cultured porcine luteal cells

Kowalczky, A.E.[28]; Kaczmarek, M.M.[28]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[28]: Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 1558-1566

---

[27] Department of Agricultural and Life Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

[28] Division of Reproductive Endocrinology and Pathophysiology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Polen

[29] Department of Obstetrics and Gynecology; University of Greifswald

Anwendung eines sensitiven Enzymeimmunoassay zur Testeronbestimmung im Blutplasma von Yaks (*Poephagus grunniens L.*)

Application of sensitive enzymeimmunoassay for determination of testosterone in blood plasma of yaks (Poephagus grunniens L.)

Sarkar, M.[30]; Dutta Borah, B.K.[30]; Meyer, H.H.D.; Prakash, B.S.[31]: General and Comparative Endocrinology 158 (2008) 240-244

Als Alternative zum Radioimmunoassay wurde ein einfacher, hoch sensitiver und schneller Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Testosteron in Plasma von Yaks entwickelt. Dazu wurde eine Doppel-Antikörpertechnik verwendet, und Testosteron mit einem Horseradish-Peroxidase Enzymkomplex markiert. Die Wells der Mikrotiterplatte wurden mit affinitätsgereinigtem Ziegen-IgG-anti-Kaninchen-IgG beschichtet, welches hormon-spezifische Antikörper bindet. Der Enzymimmunoassay wurde mit 20µl Plasma in einer 1:10 Verdünnung mit einem Assay-Puffer durchgeführt. Die Testosteron Standardkurve reicht von 0,2 bis 200pg/well. Testosteron Standardkurven in Puffer zeigten einen parallelen Verlauf zu Verdünnungsreihen von Yak Plasma mit hoher endogener Testosteronkonzentration. Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten wurden mit gepoolten Proben bestimmt und betrugen 5,24% und 8,54%.

Für die Wiederfindung von Testosteron in mit Aktivkohle gereinigten Plasmaproben, die mit bekannten Konzentrationen von Testosteron versetzt waren, ergab sich ein linearer Zusammenhang ($r=0,98$). Für die biologische Validierung des Testosteronenzymimmuno-assays wurden die Blutproben 2 Stunden vor der Verabreichung von Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) und dann 24 Stunden lang im 2 Stunden Intervall genommen. 2 und 6 Stunden nach der GnRH Verabreichung nahmen die Konzentrationen an LH und Testosteron stark zu ($p < 0,01$). Die Konzentration von Testosteron in adulten Yak Bullen lag bei 0,52 ± 0,09ng/ml. Insgesamt ist der in dieser Studie entwickelte EIA eine einfache, hoch sensitive, valide und zuverlässige Methode für den direkten Nachweis von Testosteron im Plasma von Yaks.

IV. Bioanalytik

Validation des lab-on-chip Kapillar-Elektrophorese-Systems für die totale RNA Qualität und Qualitätskontrolle

Validation of lab-on-chip capillary electrophoresis systems for total RNA quality and quality control

Pfaffl, M.; Fleige, S.; Riedmaier, I.: Biotechnology & Biotechnological Equipment 22 (2008) 829-834

Die Qualität und Reinheit von RNA sind wichtige Aspekte für den Erfolg RNA basierender Analysemethoden, wie Mikroarrays und real time qRT-PCR. Auf dem Markt sind derzeit zwei automatisierte Systeme erhältlich, mit welchen man die Qualität und Quantität von RNA bestimmen kann, der Experion (Bio-Rad Laboratories) und der 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). In dieser Studie wurden beide Systeme im Bezug auf die Reproduzierbarkeit, Vergleichbarkeit und die Sensitivität getestet, indem die Qualität und Quantität von RNA aus

[30] Department of Animal Physiology, National Research Center on Yak, Dirang, Indien

[31] Division of Dairy Cattle Physiology, National Dairy Research Institute, Deemed University, Karnal, Indien

sechs Rindergeweben bestimmt wurde. Bei der Bestimmung der RNA Konzentration schnitt der Experion im Vergleich zum Bioanalyzer 2100 besser ab. Beide Systeme überschätzen die Konzentration bis zu 19-29% im Vergleich zur photometrischen Bestimmung. Bei der Bestimmung der RNA Qualität zeigten beide Systeme vergleichbare Reproduzierbarkeit. Mit der RNA Integrity Number (RIN) bietet der 2100 Bioanalyzer eine zusätzliche Möglichkeit die RNA Qualität zu beschreiben.

Vergleich unterschiedlicher Plattenmaterialien, Plattentypen und Verschlussmaterialien mittels real-time PCR
Effects of plate position, plate type and sealing systems on real-time PCR results
Reiter, M.; Pfaffl, M.: Biotechnology & Biotechnological Equipment 22 (2008) 824-828

Die quantitative real-time PCR stellt heute die Routinemethode in vielen diagnostischen und molekularbiologischen Labors dar. Um die Effizienz und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu garantieren und die Varianz bei der quantitativen Analyse zu minimieren, sollten standardisierte Protokolle und kontaminationsfreie Verbrauchsmaterialien verwendet werden. Ziel dieser Studie war der Vergleich unterschiedlicher Plattenmaterialien, einerseits weiße mit transparenten 96er qPCR Platten zu vergleichen, als auch unterschiedliche Verschlussmaterialien zu testen. Es wurde das vollständige Verschließen der Platten mittels „heat sealing“ mit einfacheren selbstklebenden Folien verglichen.

Es konnte klar gezeigt werden, dass weiße Platten eine bessere und sensitivere Quantifizierung ermöglichen und sich die Varianz um ca. 45% verringern läßt. Bei der zweiten Studie konnte bewiesen werden, dass das sog. „heat sealing“ zu reproduzierbareren Ergebnissen bei einfacherem Handling führt, und somit Randeffekte auf den 96er qPCR Platten vermieden werden können.

Dissertationen, Diplomarbeiten, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Carolin Farke, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 19.05.2008: „Bovine ABC-transporters: Identification of selected members associated with sterole transfer”

Bettina Griesbeck-Zilch, Dr. med. vet., Universität Bern: 28.08.2008: „Functional analyses of genetically determined mechanisms of pathogen defence in the bovine mammary gland”

Aline Rabot, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 27.02.2008: „Modulation of expression of mRNA encoding for proteases and immunological factors in the bovine mammary gland”

Martina Reiter, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 23.07.2008: „Modification of metabolic pathways by anabolic agents and identification of gene expression biomarkers”

Diplom- /Masterarbeiten

Bernadette Antoni, Molekulare Biotechnologie: „Isl1-mediated transcriptional regulation of target genes in endodermal cells"

Arne Christians, Molekulare Biotechnologie: „Entwicklung eines bovinen Genexpressions-Arrays"

Eva Englberger, Molekulare Biotechnologie: „Establishment of a bovine uterine endometrial co-culture model for studying regulatory factors *in vitro* influencing *UTMP* expression during early pregnancy in cattle"

Isabel Katharina Gottfried, Dipl. agr.: „Intra- und interindividuelle Varianz der Milchinhaltsstoffe und einiger Blutanalysewerte von Milchkühen in der Frühlaktation"

Thomas Haase, Diplom-Biologe: „Unterstützung der rt-PA Thrombolyse durch Ganzkörpervibration bei der Ratte"

Michael Hecker, Diplom-Biologe: „Einfluss von Probiotika und Prebiotika auf die biogenen Amine im Gastrointestinaltrakt anhand des Modelltiers Absetzferkel"

Silvia Huch, Diplom-Biologin: „Modification of mRNA expression in bovine liver under the influence of anabolic agents"

Caroline Lindner, Dipl. agr.: „Einfluss der Fütterung in den ersten Lebenswochen und Einfluss des Alters auf die Genexpression im bovinen Muskelgewebe"

Swanhild Meyer, Molekulare Biotechnologie: „Cytokine influence on microRNA expression in differentiating muscle cells"

Stephanie Olschewski, Dipl. agr.: „Untersuchung der Körperkondition in Relation zum Alter, Trächtigkeitsstadium und Futteraufnahme von Red Holstein Färsen"

Tanja Sigl, Dipl. agr.: „CLA-Supplementierung der Ration von Braunviehkühen in den ersten vier Laktationswochen: Effekt auf Milchinhaltsstoffe, Blutmetaboliten und die Genexpression in Lebergewebe"

Anita Toth, Dipl. agr.: „Expression and localisation of connexin (Cx)-26 and Cx43 in periovulatory follicles and in corpus luteum during different functional stages of oestrus cycle in cow"

Nicole Wimmer, Diplom-Biologin: „Effects of inulin and lactulose on the intestinal morphology of calves"

Bachelorarbeiten

Sabine Bartel, Molekulare Biotechnologie: „Influence of a dietary leucine excess on the expression of immune-related genes in blood and mesenteric lymph node of piglets"

Maria Bergmaier, Molekulare Biotechnologie: „Comparison of two platforms for determination of RNA quality on the basis of their algorithms"

Sonja Englert, Technische Biologie: „Genexpressionsanalysen in Haarwurzelzellen"

Sayuri Katharina Hahl, Molekulare Biotechnologie: „Expression of angiogenic factors in the bovine corpus luteum during induced luteolysis"

Stefanie Körner, Biologie: „Regulation von Glukosetransportern in einer ilealen porcinen Zellkulturlinie durch Laktulose und LPS"

Jia Lin Koh, Molekulare Biotechnologie: „Expression of angiogenic factors, receptors and the localisation of VEGFR-3 in bovine corpus luteum during the oestrous cycle and pregnancy"

Silvia Kolossa, Ernährungswissenschaft: „Establishment of immunohistochemical staining methods regarding the visualisation and countability of leukocytes in bovine uterine tissue"

Angelika Kroemer, Biochemie: „Cholesterinmetabolismus beim Rind: Expression wichtiger Gene während des Laktationszyklus"

Daniela Marzoll, Molekulare Biotechnologie: „Evaluierung von DNA-Isolierungsmethoden zum Nachweis des *cry1Ab*-Genes aus Bt-Mais (MON 810) in Boden"

Isabella Stefanie Siebert, Biochemie: „Effects of different milking regimes on the gene-expression of dairy cows"

Tamara Stelzl, Ernährungswissenschaft: „ABCA1 mRNA and protein expression pattern in various bovine tissues"

Luna Wolf, Biologie: „Analysis of several tissues from cows fed genetically modified maize – fate of DNA and possible effects on gene expression pattern"

Vorträge

Berisha, B.:

„Introduction to Biotechnology"
Faculty of Agriculture and Faculty of Biotechnology & Food, Agriculture University of Tirana, Albanien, 31.01.2008

„Aspects of Animal Biotechnology"
Faculty of Agriculture and Faculty of Biotechnology & Food, Agriculture University of Tirana, Albanien, 31.01.2008

„Trends in Biotechnology"
Faculty of Agriculture and Faculty of Biotechnology & Food, Agriculture University of Tirana, Albanien, 31.01.2008

„Wissenschaftszentrum Weihenstephan – Center of Life and Food Sciences with Tradition and Future"
Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tirana, Albanien, 31.01.2008

„Expression of angiogenic factors during follicle maturation in cow"
4th International Conference of Veterinary Research Division under the theme "Veterinary Medicine and Consumer Protection", National Research Centre, Kairo, Ägypten, 26.-28.02.2008

„Center of Life and Food Sciences – Weihenstephan – Center of University Education and Science"
Faculty of Agriculture and Veterinary Science, University of Prishtina, Republik Kosovo, 21.03.2008

„Aspects Biotechnology"
Faculty of Agriculture and Veterinary Science, University of Prishtina, Republik Kosovo, 21.03.2008

„Opening speech to Symposium dedicated Remzi Bakalli"
3rd Annual Meeting of Institute Alb-Shkenca IASH "Science supporting the progress of the Albanian society", Tirana, Albanien 01.-03.09.2008

„Prostaglandins during periovulation period"
3rd Annual Meeting of Institute Alb-Shkenca IASH "Science supporting the progress of the Albanian society", Tirana, Albanien 01.-03.09.2008

Gröbner, A.:

„Expression of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the bovine endometrium during estrous cycle and early pregnancy"
41. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 33. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Gießen, 28.-29.02.2008

Gürtler, P.:

„Sensitive analytical methods for quantification of novel DNA and protein in bovine milk – first results from a long term feeding study in dairy cows"
Workshop on Post Market Environmental Monitoring of Genetically Modified Plants, Julius Kuehn-Institute, Berlin-Dahlem, 24.-25.04.2008

„Erste Ergebnisse zum Übergang von DNA und Bt-Protein"
Vortragsreihe GVO, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Grub, 06.06.2008

„Langfristige Fütterung von gentechnisch verändertem Mais (MON810)"
850 Jahre München – Freising, „München zu Gast in Freising" Wissenschaftszentrum Weihenstephan lädt zum Sonntagsausflug ein, Technische Universität München, Am Forum, Freising-Weihenstephan, 06.07.2008

„Einsatz gentechnisch veränderter Futtermittel: Erste Ergebnisse und langfristige Perspektiven"
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2008, Freising-Weihenstephan 25.-26.09.2008

Kaske, M.:

„Gesundheitsmanagement im Kälberstall"
Generalversammlung der Milchkontrollvereine Wietzen/Nienburg/Siedenburg/Beckeln, Neulohe, 11.01.2008

„Metabolisches Syndrom und Stoffwechselprägung bei Rindern und Schafen"
Workshop „Metabolisches Syndrom" auf dem 4. Leipziger Tierärztekongress, Leipzig, 17.01.2008

„Produktionskrankheiten der Hochleistungskuh: gibt es neue Ansätze bei der Prävention?"
Probevorlesung im Rahmen des Berufungsverfahrens „Innere Medizin des Rindes", Hannover, 28.01.2008

„Intensivtherapie bei Kuh und Kalb"
Fortbildung der Allgäuer Tierärztlichen Gesellschaft, Memmingen, 31.01.2008

„Die wichtigsten Kälberkrankheiten – Verluste reduzieren durch entsprechendes Management"
Tiroler Tiergesundheitstag 2008 „Das Kalb mit seinen Problemen" Rotholz, Österreich, 15.02.2008

„Gesundheitsmanagement rund um Geburt und Kälberaufzucht"
Mitgliederversammlung der Vereinigung der Rinderzüchter Minden-Lübbecke, Espelkamp, 29.02.2008

„Intensivtherapie bei Kuh und Kalb"
Treffen des Bezirksverbands Mittelfranken des Besamungsvereins Neustadt/Aisch, Neustadt/Aisch, 06.03.2008

Kliem, H.:

„Regulatory changes of apoptotic factors in the bovine corpus luteum after induced luteolysis"
41. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 33. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Gießen, 28.-29.02.2008

„Methods of superovulation and synchronisation"
Embryotransferkurs, Minitüb, Tiefenbach, 11.06.08

„Hormonregulation"
Kurs für Eigenbestandsbesamer, Niederbayerische Besamungsgenossenschaft, Landshut, 24.11.2008

Meyer, H.H.D.:

„The international cooperation with industries. Prerequisites for a win-win situation"
Symposium of the Intellectual Property Management Center (IMAQ), Kyushu University, Fukuoka, Japan, 07.03.2008

„From basic science to agricultural practice – research activities at Physiology Weihenstephan"
Kyushu University, Graduate School of Agriculture, Fukuoka, Japan, 10.03.2008

„Effects of secondary plant ingredients on gut morphology and gastrointestinal immune system in monogastric farm animals"
CJ Cheil Jedang Corporation, Seoul, Südkorea, 11.03.2008

„Long-term feeding study with Bt maize in farm animals: Fate of the novel protein"
Bt Maize Symposium, Monsanto Europe S.A., Brüssel, Belgien, 20.03.2008

„From stomach to brain and in between – The physiology and pathophysiology of anabolics"
The Faculty of Medicine, Health & Sciences, The Queens University of Belfast, Nordirland 02.04.2008

„Vom Molekül über den Organismus bis zum Lebensraum – Die gegenseitige Abhängigkeit von Mensch und Haustier"
8. Hochschultag des Wissenschaftszentrum Weihenstephan „Herausforderungen an die Agrarwissenschaften – von der Grundlagenforschung bis zur praktischen Anwendung", Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 27.06.2008

„Experiences in restructuring research and higher education"
3rd Annual Meeting of Institute Alb-Shkenca (IASH) Plenary session: "The restructuring of the scientific and academic institutions in Albania", Tirana, Albanien, 01.-03.09.2008

„Evaluation criteria for EU-funded research projects"
First COST Action – Gemini General Conference „Maternal Interaction with gametes and embryos", Volos, Griechenland, 09.-11.10.2008

Paul, V.:

„Investigation on Cry1Ab protein transfer: Analysis of blood plasma and milk of dairy cows fed gentically modified maize (MON810"
62. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Göttingen, 01.-03.04.2008

Pfaffl, M.W.:

„Quantitative real-time PCR in single cells: Applications, Innovations & Limitations"
OLYMPUS LIFE SCIENCE RESEARCH EUROPA GMBH, München, 27.02.2008

„New approaches to qPCR data analysis"
WebEx web seminar by Sigma Aldrich, worldwide, http://e-meetings.mci.com/ 07.03.2008

„ New perspectives in relative qRT-PCR data analysis"
University of Copenhagen, Faculty of Life Science (LIFE), Kopenhagen, Dänemark, 16.04.2008

„Positive Effekte von Polyphenolen auf die Darm-Morphologie und das Immunsystem von Monogastriern"
Institut für Tierernährung, Universität Giessen, 28.04.2008

„ Strategies in RT-qPCR: Considerations from sample collection to data analysis"
RethinkPCR – Scientific Conferences Europe, Salon de Grados, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos, Málaga, Spanien, 05.06.2008

„Quantitative real-time RT-PCR: Recent advances and new perspectives in mRNA quantification"
Genetic Society of Brazil, & Eppendorf Barzil, Hotel Maksoud de Plaza, Sao Paulo, Brasilien, 12.06.2008
Genetic Society of Brazil, & Eppendorf Barzil, Instituto Oswaldo Cruz (IOC) Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasilien, 16.06.2008
Genetic Society of Brazil, & Eppendorf Barzil, University of Paraná (UFPR), Faculty of Biological Science, Curitiba, Brasilien, 17.06.2008

„Strategies in RT-PCR: Considerations from sample collection to data analysis"
RethinkPCR – Scientific Conferences Europe, Kaiserin-Friedrich-Haus, Berlin, 03.07.2008

„The evolution of relative mRNA quantification"
Symposium 'Advances in pPCR', International Fairs & Congress Center Stockholm, Schweden, 17.-18.09.2008

„Effect of mRNA and microRNA integrity on quantitative real-time RT-PCR results"
Round table discussion at Qiagen Headquarters, Hilden, 23.-24.10.2008

„Quantification strategies in quantitative real-time RT-PCR"
The Rockefeller University, Weiss Building, New York, USA, 05.11.2008
Harvard School of Dental Medicine, REB-Autidorium, Boston/MA, USA, 07.11.2008

„The evolution of relative RNA quantification"
qPCR Symposium USA, San Francisco Bay Area, Clarion Hotel San Francisco Airport, Millbrac/CA, USA, 11.11.2008

Schams, D.:

„Angiogenesis and corpus luteum function"
4th International Conference of the Veterinary Research Division 'Veterinary Medicine and Consumer Protection' Kairo, Ägypten, 26.02.2008

„Oxytocin –a transport hormone in the genital tract"
Reproductive Bioengeneering, Wenns, Pitztal, Österreich, 01.-05.04.2008

„Prostaglandins in the bovine ovary during different physiological stages"
Seminar, Department of Human Nutrition, Food and Animal Sciences, University of Hawai, Honolulu, Hawai, 20.05.2008

Schulke, K.:

„Bovine uterine flushings reveal an increase of prostaglandin E2 and F2 during the luteal phase and in early pregnancy"
41. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 33. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Gießen, 28.-29.02.2008

Ulbrich, S. E.:

„Immunmodulation in der Frühgravidität"
Gemeinsames Seminar Tierwissenschaften, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 06.02.2008

„Prostaglandins in the uterus lumen during the preimplantation period"
1st Joint Workshop Obihiro-Bern-Munic-Hannover „Animal Health and Reproduction", Klinik für Rinder, Medizinische Universität Hannover, 24.10.2008

Wiedemann, S.:

„Fettsäuren der Milchlipide: Biogenese und Funktion"
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2008, Freising-Weihenstephan 25.-26.09.2008

Tagungen des Lehrstuhls

Exkursionen

Die „Exkursion Agrarwissenschaften 2008“ wurde mit großem Erfolg vom 12.-16. Mai 2008 durchgeführt. Die Exkursion stand unter dem Motto ‚Die Arbeitsfelder von Agrarwissenschaftlern – Besuch erfolgreicher Weihenstephaner Agrarwissenschaftler’

Veröffentlichungen

31 Experimentelle Originalarbeiten

Bauersachs, S.; Mitko, K.; Ulbrich, S.E.; Blum, H.; Wolf, E.: Transcriptome studies of bovine endometrium reveal molecular profiles characteristic for specific stages of estrous cycle and early pregnancy. Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes 116 (2008) 371-384

Berisha, B.; Steffl, M.; Welter, H.; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.; Amselgruber W.: Effect of luteinising hormone surge on regulation of vascular endothelial growth factor and extracellular matrix-degrading proteinases and their inhibitors in bovine follicles. Reproduction, Fertility and Development 20 (2008) 258-268

Castilho, A.C.; Giometti, I.C.; Berisha, B.; Schams, D.; Price, C.A.; Amorim, R.L.; Papa, P.C.; Buratini J. Jr.: Expression of fibroblast growth factor 10 and its receptor, fibroblast growth factor receptor 2B, in the bovine corpus luteum. Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 940-945

Farke, C.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.; Albrecht, C.: Differential expression of ABC transporters and their regulatory genes during lactation and dry period in bovine mammary tissue. Journal of Dairy Research 75 (2008) 406-414

Fuchs, J.; Tichopad, A.; Golub, Y.; Munz, M.; Schweitzer, K.J.; Wolf, B.; Berg, D.; Mueller, J.C.; Gasser, T.: Genetic variability in the SNCA gene influences alpha-synuclein levels in the blood and brain. The FASEB Journal 22 (2008) 1334-1327

Griesbeck-Zilch, B.; Meyer, H.H.D.; Kühn, Ch.; Schwerin, M.; Wellnitz, O.: *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin messenger ribonucleic acid in mammary epithelial cells. Journal of Dairy Science 91 (2008) 2215-2224

Guertler, P.; Lutz, B.; Kuehn, R.; Meyer, H.H.D.; Einspanier, R.; Killermann, B.; Albrecht, C.: Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (*Dama dama*). European Journal of Wildlife Research 54 (2008) 36-43

Guertler, P.; Paul, V.; Albrecht, C.; Meyer, H.H.D.: Sensitive analytical methods for quantification of novel DNA and protein in bovine milk - first results from a long-term feeding study in dairy cows. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Suppl. 2, 3 (2008) 26-28

Hayashi, K-G.; Matsui, M.; Shimizu, T.; Sudo, N.; Sato, A.; Shirasuna, K.; Tetsuka, M.; Kida, K.; Schams, D.; Miyamoto, A.: The absence of corpus luteum formation alters the endocrine profile and affects folicular development during the first follicular wave in cattle. Reproduction 136 (2008) 787-797

Honnens, A.; Niemann, H.; Paul, V.; Meyer, H.H.D.; Bollwein, H.: Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle uterine blood flow in superovulated cattle. Theriogenology 70 (2008) 859-867

Kaczmarek, M.M.; Blitek, A.; Kaminska, K.; Bodek, G.; Zygmunt, M.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Assessment of VEGF-receptor system expression in the porcine endometrial stromal cells in response to insulin-like growth factor-I, relaxin, oxytocin and prostaglandin E(2). Molecular and Cellular Endocrinology 291 (2008) 33-41

Kaczmarek, M.M.; Blitek, A.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: The effect of insulin-like growth factor-I, relaxin and luteinizing hormone on vascular endothelial growth factor secretion by cultured endometrial stromal cells on different days of early pregnancy in pigs. Reproductive Biology 8 (2008) 163-170

Kaczmarek, M.M.; Waclawik, A.; Blitek, A.; Kowalczyk, A.E.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Expression of the vascular endothelial growth factor-receptor system in the porcine endometrium throughout the estrous cycle and early pregnancy. Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 362-372

Kessel, S.; Stroehl, M.; Meyer, H.H.D.; Hiss, S.; Sauerwein, H.; Schwarz, F.J.; Bruckmaier, R.M.: Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions. Journal of Animal Science 86 (2008) 2903-2912

Koch, A.; Kaske, A.: Clinical efficacy of intravenous hypertonic saline solution or hypertonic bicarbonate solution in the treatment of inappetent calves with neonatal diarrhea. Journal of Veterinary Internal Medicine 22 (2008) 202-211

Kollmann, M.T.; Locher, M.; Hirche, F.; Eder, K.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.: Effects of tryptophan supplementation on plasma tryptophan and related hormone levels in heifers and dairy cows. Domestic Animal Endocrinology 34 (2008) 14-24

Kowalczyk, A.E.; Kaczmarek, M.M.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Effect of prostaglandin E2 and tumor necrosis factor α on the VEGF-receptor system expression in cultured porcine luteal cells. Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 1558-1566

Kroismayr, A.; Schedle, K.; Sehm, J.; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.; Foissy, H.; Ettle, T.; Mayer, H.; Schreiner, M.; Windisch, W.: Effects of antimicrobial feed additives on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. Die Bodenkultur 59 (2008) 111-120

Kroismayr, A.; Sehm, J.; Pfaffl, M.W.; Schedle, K.; Plitzner, C.; Windisch, W.: Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. Czech Journal of Animal Science 53 (2008) 377-387

Mitko, K.; Ulbrich, S.E.; Wenigerkind, H.; Sinowatz, F.; Blum, H.; Wolf, E.; Bauersachs, S.: Dynamic changes of messenger RNA profiles of bovine endometrium during the oestrous cycle. Reproduction 135 (2008) 225-240

Paul, V.; Meyer, H.H.D.; Leidl, K.; Soumian, S.; Albrecht, C.: A novel enzyme immunoassay specific for ABCA 1 protein quantification in human tissues and cells. Journal of Lipid Research 49 (2008) 2259-2267

Paul, V.; Steinke, K.; Meyer, H.H.D.: Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810). Analytica Chimica Acta 607 (2008) 106-113

Pfaffl, M.; Fleige, S.; Riedmaier, I.: Validation of lab-on-chip capillary electrophoresis systems for total RNA quality and quality control. Biotechnology & Biotechnological Equipment 22 (2008) 829-834

Platz, S.; Ahrens, F.; Bendel, J.; Meyer, H.; Erhard, M.H.: Rank correlated use of soft flooring by dairy cattle. Animal Welfare 16 (2007) 255-257

Platz, S.; Ahrens, F.; Bendel, J.; Meyer, H.H.D.; Erhard, M.H.: What happens with cow behavior when replacing concrete slatted floor by rubber coating: A case study. Journal of Dairy Science 91 (2008) 999-1004

Reiter, M.; Pfaffl, M.W.: Effects of plate position, plate type and sealing systems on real-time PCR results. Biotechnology & Biotechnological Equipment 22 (2008) 824-828

Sarkar, M.; Dutta Borah, B.K.; Meyer, H.H.D.; Prakash, B.S.: Application of sensitive enzymeimmunoassay for determination of testosterone in blood plasma of yaks (*Poephagus grunniens* L.). General and Comparative Endocrinology 158 (2008) 240-244

Schedle, K.; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.; Meyer, H.H.D.; Windisch, W.: Effect of insoluble fibre on intestinal morphology and mRNA expression pattern of inflammatory, cell cycle and growth marker genes in a piglet model. Archives of Animal Nutrition 62 (2008) 427-438

Shirasuna, K.; Shimizu T.; Sayama, K.; Asahi, T.; Sasaki, M.; Berisha, B.; Schams, D.; Miyamoto, A.: Expression and localization of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin F2α-induced luteolysis. Reproduction 135 (2008) 519-525

Werckenthin, C.; Luhofer, G.; Böttner, A.; Gangl, A.; Gossens, L.; Hafez, H.M.; Hartmann, K.; Kaske, M.; Kehrenberg, C.; Kietzmann, M.; Klarmann, D.; Schwarz, S.; Sigge, C.; Traeder, W.; Waldmann, K.-H.; Wallmann, J.: Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Routinediagnostik: Vorschlag für ein Layout für Mikrotiterplatten zur Testung von Bakterien von Hunden und Katzen. Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift 121 (2008) 19-26

Yamashita, H.; Kamada, D.; Shirasuna, K.; Matsui, M.; Shimizu, T.; Kida, K.; Berisha, B.; Schams, D.; Miyamoto, A.: Effect of local neutralization of basic fibroblast growth factor or vascular endothelial growth factor by a specific antibody on the development of the corpus luteum in the cow. Molecular Reproduction and Development 75 (2008) 1449-1456

6 Mitteilungen für die Praxis

Albrecht, C.; Lutz, B.; Wiedemann, S.: Experimentelle Untersuchungen zur Verbreitung von Transgenen durch Tiere über pflanzliche Verbreitungseinheiten nach Magen-Darm-Passage und über horizontalen Gentransfer. BfN-Skripten (Bundesamt für Naturschutz) 225 (2007) 1-58

Kaske, M.: Die wirtschaftlich bedeutsamsten Krankheiten von Kälbern und Jungrindern: Hintergrund und Prävention. – In: Rinderzucht und Rindfleischerzeugung. Empfehlungen für die Praxis (Brade, W.; Flachowsky, G. eds.), FAL Bundesforschung für Landwirtschaft, Braunschweig, Sonderheft 313 (2007) 211-229

Kubiska, M.; Sindelka, R.; Tichopad, A.; Bergkvist, A.; Lindh, D.; Forootan, A.: The prime technique. Real-time PCR data analysis. G.I.T. Laboratory Journal, Heft 9-10 (2007) 33-35

Kunz, H.-J.; Kaske, M.: Die Kälberlunge verlangt volle Aufmerksamkeit. Milchrind 17 (2008) 50-56

Pfaffl, M.W.: Die Evolution der relativen Quantifizierung. Laborwelt 9 (2008) 22-24

Wolf, E.; Arnold, G.J.; Bauersachs, S.; Blum, H.; Bruckmaier, R.; Einspanier, R.; Groß, J.; Habermann, F.A.; Hammon, H.; Kliem, H.; Reichenbach, H.-D.; Schwarz, F.; Sinowatz, F.; von Dorland, A.; Wiedemann, S.; Zimmer, R.; Kanitz, W.: REMEDY: Wie hängen Stoffwechselstörungen und Fruchtbarkeitsprobleme bei der Milchkuh zusammen? GENOMEPRESS 3.08 (2008) 6-7

1 Reviews, Buchkapitel

Dahlhoff, C.; Fürst, R.W.; Ruhlig, K.; Sedlmeier, E.M.; Bader, B.L.: Epigenetik und Ernährung. Ernährung 2 (2008) 116-124

1 Kongressbeiträge, Proceedings

Stockum, C.; Haigh, B.J.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.; Wheeler, T.T.; Singh. K.: Brief Communication: Expression of innate immune response genes in mammary epithelia following stimulation with lipopolysaccharide or *Escherichia coli*. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production 68 (2008) 31-32

19 Abstracts und Sonstiges

Abdoon, A.S.; Kliem, H.; Schams, D.; Kandil, O.M.; Berisha, B.: Possible role of receptors in controlling corpus luteum function in cyclic buffalo. Proceedings of the 14th International Conference on Biotechnology in Animal Reproduction (ICBAR), National Research Centre, Kairo, Ägypten, 06.-07.08.2007, (2007) S. 53

Akabane, Y.; Shirasuna, K.; Sasaki, M.; Matsui, M.; Berisha, B.; Schams, D.; Shimizu, T.; Miyamoto, A.: The expression of prostaglandin F2α receptor and its isoforms during the estrous cycle and luteolysis in the bovine corpus luteum. Abstracts 2008 SSR 41th Annual Meeting, Kailua-Kona, Big Island, Hawai, 27.-30.05.2008, Biology of Reproduction, Special Issue 2008, S. 148, Abstr. No. 399

Berisha, B; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: The effect of LH surge on regulation of agiogenic factors (VEGF and Angiopoietin) and matrix-matello proteinases (MMP) in bovine follicles. Book of Abstracts of the 16th International Congress on Animal Reproduction, Budapest, Ungarn 13.-17.07.2008. Reproduction in Domestic Animals, Suppl, 3, 43 (2008) Abstr. No. P108, S. 63-64

Berisha, B.; Kliem, H.; Miyamoto, A.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Effect of luteolytic prostaglandin F2a (PGF2α) administration on local luteotropic and angiogenic factors during functional luteolysis in bovine corpus luteum. Abstracts 2008 SSR 41th Annual Meeting, Kailua-Kona, Big Island, Hawai, 27.-30.05.2008, Biology of Reproduction, Special Issue 2008, Abstr. No. 398, S. 148

Berisha, B.; Meyer, H.H.D.: Prostaglandins during periovulation period. Abstractband 3rd Annual Meeting of Institute Alb-Shkenca IASH, Tirana, Albanien 01.-03.09.2008, S. 305

Berisha, B.; Schams, D.: Expression of angiogenic factors during follicle maturation in cow. Abstracts of the 4th International Conference of the Veterinary Research Division under the theme of "Veterinary Medicine and Consumer Protection", National Research Centre, Kairo, Ägypten, 26.-28.02.2008, S. 222

Groebner, A.E.; Schulke, K.; Bauersachs, S.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Expression of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the bovine endometrium during estrous cycle and early pregnancy. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 43 (2008) S.12, Abstr. No. 29

Jahreis, G.; Meyer, U.; Kaske, M.; Flachowsky, G.: Fatty acid distribution and CLA isomer distribution in serum and liver lipids of CLA supplemented dairy cows. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, 62. Tagung in Göttingen, 01.-03.04.2008, 17 (2008) 65, Abstr. No. 39

Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.; Berisha, B.: Regulatory changes of apoptotic factors in the bovine corpus luteum after induced luteolysis. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 43 (2008) Abstr. No. 52

Mair, C.; Windisch, W.; Pfaffl, M.W.; Plitzner, C.: Impact of a multispecies probiotic product on intestinal histology and the expression of different marker genes for cell activity in gut tissue of weaned piglets used as an animal model. Abstractband of the First European Food Congress, 04.-09.11.2008, Ljubljana, Slovenien, (2008) Abstr. No. PO33

Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Experiences in restructuring research and higher education. Abstractband 3rd Annual Meeting of Institute Alb-Shkenca (IASH) Plenary session: "The restructuring of the scientific and academic institutions in Albania", Tirana, Albanien, 01.-03.09.2008

Paul, V.; Albrecht, C.; Gürtler, P.; Steinke, K.; Preißinger, W.; Wiedemann, S.; Spiekers, H.; Schwarz, F.J.; Meyer, H.H.D.: Investigations on Cry1Ab protein transfer: Analysis of blood plasma and milk of dairy cows fed genetically modified maize (MON810). Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, 62. Tagung in Göttingen, 01.-03.04.2008, 17 (2008) 127, Abstr. No. 101

Schams, D.; Berisha, B.: Angiogenesis and corpus luteum function. Abstracts of the 4th International Conference of the Veterinary Research Division under the theme of "Veterinary Medicine and Consumer Protection", National Research Centre, Kairo, Ägypten, 26.-28.02.2008, S. 221

Schams, D.; Berisha, B.: Oxytocin – a transport hormone in the genital tract. Abstractband zur Tagung 'Reproductive Bioengeneering 2008' der Medizinischen Universität Innsbruck, Wenns im Pitztal, Österreich, 01.–05.04.2008

Schams, D.; Steinberg, V.; Amselgruber, W.; Berisha, B.: Possible role of fibroblast growth factor (FGF) family members in porcine antral follicles during final follicle maturation. Abstracts 2008 SSR 41th Annual Meeting, Kailua-Kona, Big Island, Hawai, 27.-30.05.2008, Biology of Reproduction, Special Issue 2008, S. 149, Abstr. No. 401

Schedle, K.; Pfaffl, M.W.; Windisch, W.: Cluster analysis demonstrating intercorrelationship between zootechnical, histological, and gene expression data in piglets fed soluble dietary fiber. Congress Proceedings of the 12th Congress of the European Society of Veterinary Comparative Nutrition, University of Veterinary Medicine, Wien, Österreich, 25.-27.09.2008, S. 64

Schedle, K.; Pfaffl, M.W.; Windisch, W.: Interaction of different insoluble dietary fiber sources, on inflammatory and cell cycle marker genes in the gastro intestinal tract. First Symposium of the Vienna Research Platform of Nutrition and Food Sciences (VRPNFS) "New Aspects in Quality and Biofunctionality of Foods". Annals of Nutrition & Metabolism 52 (2008) S. 131

Schilffarth, S.; Antoni, B.; Miyamoto, A.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. Abstracts of Lectures and Poster Presentations of the 18th International Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology "Recent Advances in Steroid Biochemistry & Molecular Biology", Seefeld, Tirol, Österreich, 18.-21.09.208, Abstr. No. 109-P

Schulke, K.; Zitta, K.; Groebner, A.E.; Reichenbach, H.D.; Weppert, M.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Bovine uterine flushings reveal an increase of prostaglandins E2 and F2α during the luteal phase and in early pregnancy. Reproduction in Domestic Animals Suppl. 1, 43 (2008) S. 30, Abstr. No.87

Versuchsstation Veitshof

Adresse

Veitsmüllerweg 4
D-85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3533
Telefax: 08161-71-5083

Personal

Leitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H. D. Meyer	71-3508
Verwaltung:	Dipl.-Ing.agr. (FH) Martin Schmölz	3533
Sekretariat:	Dagmar Neumeier	3533
Arbeiter:	3	

Allgemeines

a) Bodennutzung

Landw. Nutzfläche:	99,0 ha	davon Ackerland:	53,5 ha
davon Pachtfläche:	51,5 ha	Grünland:	45,75 ha

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2008

60 Kühe
10 Kalbinnen
40 Jungrinder
22 Kälber
---
132 Rinder
===

und 4 Ziegen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:

9152 kg Milch, 336,6 kg Eiweiß, 3,68 % Eiweiß, 393,1 kg Fett, 4,30 % Fett.

Lehr- und Forschungstätigkeit an der Versuchsstation Veitshof

Lehre

Im Rahmen der Vorlesungen und Praktika zur Reproduktionsbiologie und Regulationsphysiologie wurden praxisnahe Veranstaltungen durchgeführt. Am Beispiel des Rindes wurden Anatomie und Physiologie des männlichen und weiblichen Genitaltrakts ausführlich erläutert. Im Rahmen von praktischen Übungen konnten Studierende Tiere der Milchviehherde rektalisieren und erlernten die Prinzipien von Zyklusansprache und Brunstkontrolle. Die verschiedenen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien wurden mittels Ultraschall am lebenden Tier demonstriert.

Während weiterer Praktika erlernten die Studenten im Milchviehstall die Beurteilung von Körperkondition und Rationsgestaltung; zusätzlich wurden die Prinzipien zur Einschätzung der Tiergerechtigkeit von Haltungssystemen und des Status der Tiergesundheit vermittelt.

Im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie“ wurden die Studenten im Milchviehstall bzw. im Melkstand mit dem Einfluss der Melktechnik auf das Melkverhalten und die unterschiedlichen Systeme zur Milchgewinnung vertraut gemacht; Parameter zur Beurteilung einer normalen bzw. gestörten Milchejektion wurden demonstriert. Zusätzlich fanden Exkursionen zur Molkerei Weihenstephan und zum Zentrallabor des Milchprüfrings Bayern statt.

Forschung

Untersuchung des Einflusses von Managementmethoden während der Transit-Periode auf den Abfall des Milchproteingehaltes, metabolisch-endokrinologische Leitparameter im Blut und Expression von Kandidatengenen in der Leber und Muskel während der Frühlaktation

Effekte einer CLA-Supplementierung während der Transit-Periode auf den Abfall des Milchproteingehaltes und metabolisch-endokrinologische Leitparameter während der Frühlaktation

Gewinnung von Leberproben zur Untersuchung der Expression von Genen des Fettstoffwechsels

Gewinnung von Milch- und Plasmaproben und Entwicklung sowie Etablierung von Enzymtests zur quantitativen Bestimmung von Cholesterin, HDL, LDL und Triglyceriden in Blut bzw. Milch

Gewinnung von Plasmaproben zur Entwicklung und Etablierung eines Enzymtests zur quantitativen Bestimmung von Androstendion

Gewinnung von Milchproben und Entwicklung sowie Etablierung eines Enzymtests zur quantitativen Bestimmung von Oxytocin in der Milch

Gewinnung von Milchproben zur Bestimmung der Cholesterinkonzentration in der Milch über den Laktationsverlauf

Gewinnung von Milchproben zur Entwicklung und Etablierung eines Enzymtests zur quantitativen Erfassung von Lactoferrin, Cortisol, Östradiol und IGF1

Entwicklung und Etablierung eines Enzymtests zur quantitativen Bestimmung des Cry1Ab-Proteins in verschiedenen Substraten (Milch, Blut, Urin, Kot, Erde, Pflanzen)

Durchführung des Milchprogesterontests als Kontrollinstrument bei Forschungsprojekten und Behandlungen im Rahmen des Herdenmanagements

Gewinnung von Antikörpern gegen Cry1Ab Protein, Clenbuterol, Salbutamol, Ractopamin und DES in Kaninchen zur Entwicklung von Enzymtests zur quantitativen Analyse

Gewinnung von Milchproben und Entwicklung sowie Etablierung einer Isolationsmethode und einer Nachweismethode mittels quantitativer PCR für DNA aus Milch

Erstellung von Standards zur Messung von Clenbuterol in Rinderhaar, Auge, Urin, Leber und Muskel

Untersuchung von „pour on“ Anabolikabehandlungen – Modellstudie zur Erkennung missbräuchlicher Hormonanwendungen bei Mastkälbern

Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3540
Telefax: 08161-71-5030
Internet: http://www.wzw.tum.de/blm/bwl

Einrichtung und Ziele der Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft am ZIEL

Mit dem Eintritt in den Ruhestand zum 30.09.2006 übernahm Univ.-Prof. Dr. Hannes Weindlmaier ab 01.10.2006 die Leitung der neu eingerichteten Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft im ZIEL, Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung. Die Arbeitsgruppe hat sich die Aufgabe gesetzt, die Forschungstätigkeit der bisherigen Professur für BWL der Milch- und Ernährungsindustrie bis zur Wiederbesetzung der Professur zumindest begrenzt fortzuführen. Die Arbeitsgruppe bearbeitet zum einen Forschungsprojekte öffentlicher Auftraggeber, zum anderen steht sie aber auch für die Bearbeitung von Forschungsprojekten von Unternehmen der Milch- und Ernährungsindustrie zur Verfügung.

Personal

Leiter der Arbeitsgruppe:	Univ.-Prof. Dr.oec. Hannes Weindlmaier	71-3540
Mitarbeiter:	Josef Betz, TA	-3861
	Dr. Alois Huber	-3864

Forschung

Milcherfassungsgebietskarte deutscher Molkereiunternehmen
Map of Milk Collection Areas of German Dairy Companies completed
Huber, A.

Die letztmals im Jahre 1997 aktualisierte Karte mit den Milcherfassungsgebieten der einzelnen Molkereiunternehmen in Deutschland wurde neu erstellt. Die Karte zeigt neben den Milcheinzugsgebieten auch die Milchdichten der einzelnen Regionen und die Anlieferungsmengen an die einzelnen Molkereistandorte (siehe Schwarz-Weiß Ausschnitt in Abb. 1). Zur besseren Orientierung wurden Städte, Autobahnen, Bundesstraßen, Flüsse und Seen sowie in ländlichen Räumen weitere Siedlungsgebiete eingezeichnet. Während in früheren Jahren die Erfassungsgebiete von Hand in Landkarten eingetragen wurden, wurden diesmal die Erfassungsgebiete auf der Basis der Postleitzahlen der einzelnen Milchlieferanten erfasst.

Da weder nach den Namen der Lieferanten noch nach deren Liefermengen gefragt wurde, sondern lediglich um die Übermittlung der Postleitzahlen der Lieferorte gebeten wurde, antworteten fast alle angeschriebenen Unternehmen.

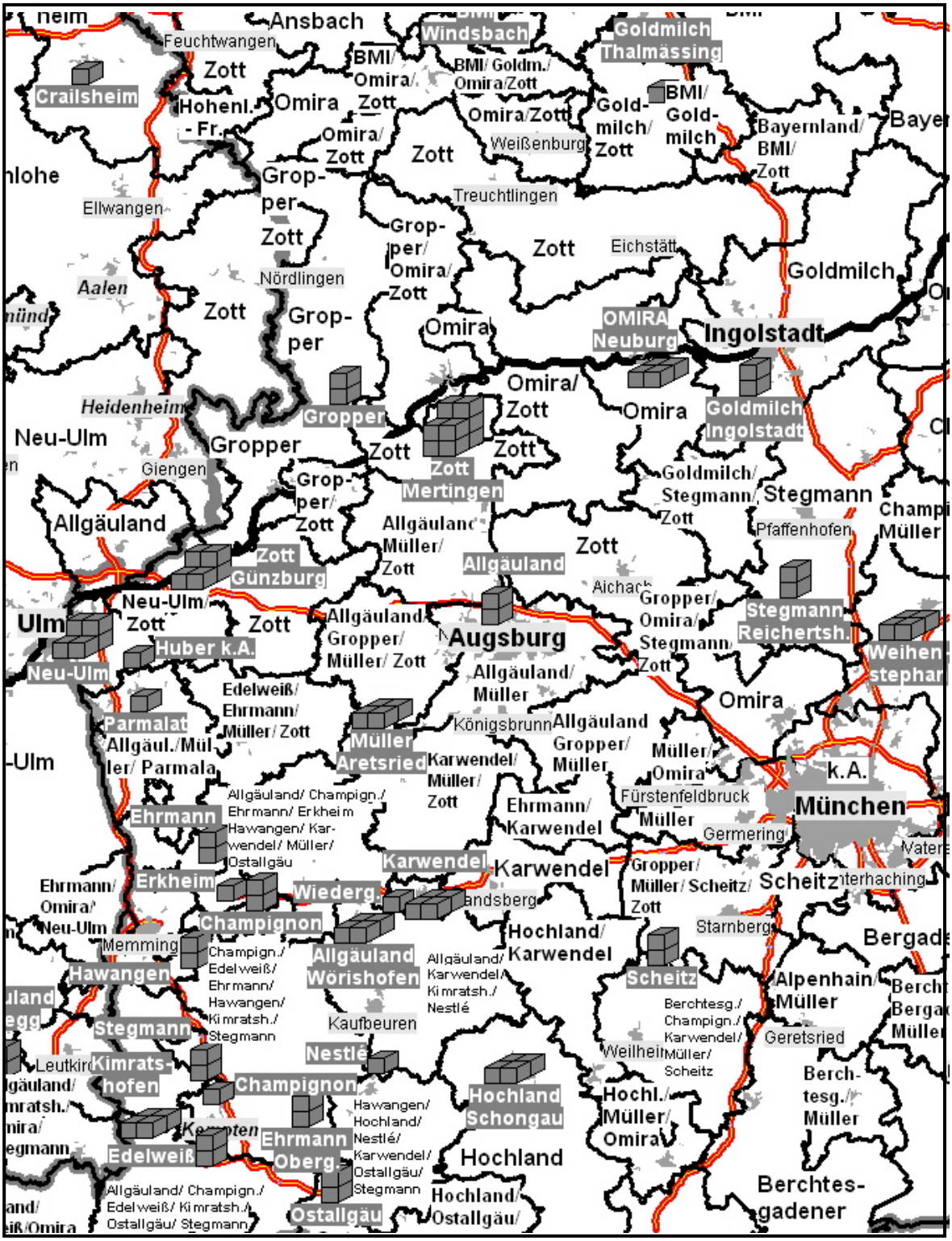


Abb. 1: Ausschnitt aus der Milcherfassungsgebietskarte in Schwarz-Weiß-Darstellung

Die Erfassung der Liefergebiete durch die Postleitzahlen der einzelnen Milcherzeugerstandorte ermöglichte nicht nur die Feststellung von Überschneidungen, sondern gab auch Hinweise darauf, in welchem Umfang Milcherfassungsgebiete verschiedener Molkereien sich überschneiden. Erfassen in einem Postleitzahlgebiet eine oder mehrere Molkereien eine weit überwiegende Anzahl von Lieferanten, so wurde die Erfassung von einzelnen oder nur wenigen Lieferanten durch weitere Molkereien aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht weiter beachtet. Durch dieses Vorgehen wurde insbesondere die Erfassung von Biomilch vereinzelter Erzeuger und die selektive Auswahl von Lieferanten mit großen Milchmengen von der Darstellung ausgeschlossen. Da Postleitzahlgebiete häufig zu klein sind, um eine lesbare Beschriftung einzufügen, wurden in der Erfassungskarte oft mehrere Postleitzahlgebiete zu einem Sammelgebiet zusammengefasst.

Auch wenn ein erheblicher Teil von Überschneidungen der Erfassungsgebiete durch die oben genannte Vorgehensweise außer Betracht bleibt, zeigte es sich, dass nur die wenigsten Molkereien noch Einzugsgebiete haben, die sie exklusiv nutzen. Diese geschlossenen Einzugsgebiete befinden sich vor allem in Baden, in der südlichen Pfalz, im Ruhrgebiet sowie im Raum Hannover und sind fast ausschließlich Gebiete mit extrem geringer Milchdichte. Die Postleitzahlgebiete mit überdurchschnittlicher Milchdichte werden fast alle von mehreren Molkereien angefahren. Doch nicht nur Gebiete mit überdurchschnittlicher Milchdichte erscheinen als zersplitterte Einzugsgebiete, auch in Gebieten mit durchschnittlicher und eher unterdurchschnittlicher Milchdichte liefern benachbarte Milcherzeuger häufig an verschiedene Molkereien. Neben dieser zunehmenden Zersplitterung der Erfassungsgebiete fällt auch die im Vergleich mit 1997 erweiterte räumliche Ausdehnung der Erfassungsgebiete einzelner Molkereien auf. Zusätzliche Anfahrts- und Sammelkosten spielen für Molkereien, die neue Liefermengen dazu gewinnen wollen, offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle.

Die Auswirkungen der Konkurrenz in der Milcherfassung sind im Norden Deutschlands wesentlich geringer als im Süden. Auf Grund der hohen Milchdichte schwanken die Erfassungskosten im Norden zwischen 0,6 und 0,7 Cent/kg. Im Süden dagegen wird der Vorteil der hohen Milchdichte durch die Erfassungskonkurrenz in vielen Gebieten völlig zunichte gemacht. Auf der Basis der Anzahl der Konkurrenten in den einzelnen Postleitzahlgebieten lässt sich errechnen, dass z.B. in Schwaben bei einer regionalen Milchdichte von 177 t/qkm die Milchdichte aus Sicht der Molkereiunternehmen im Durchschnitt nur noch 74 t/qkm beträgt. Die Konkurrenz in der Milcherfassung führt dort zu einer Verlängerung der Sammelstrecken um mindestens 50 %. Zusammen mit den erweiterten Anfahrtsstrecken führt dies dazu, dass auch in Gebieten mit hoher Milchdichte die Erfassungskosten bis zu 2 Cent/kg betragen.

Die Sicherung des Rohstoffes Milch in volatilen Märkten: Entwicklungen und Implikationen

The protection of the raw material milk in volatile markets: Developments and implications

Weindlmaier, H.

Die Entwicklungen in der Milchwirtschaft waren während der letzten Jahre sowohl durch eine radikale Veränderung der marktpolitischen Rahmenbedingungen (Beschlüsse im Rahmen der MidTerm-Review von 2003) als auch durch eine starke Volatilität der Märket geprägt. Aufgrund dieser Veränderungen ergeben sich zu beachtende Implikationen für die Rohstoffsicherung der Molkereien.

(1) Aktuelle Entwicklungen als Ursache für die Notwendigkeit einer verstärkten Sicherung des Rohstoffs Milch in Molkereien

a) Stark gestiegene Volatilität am Milchmarkt

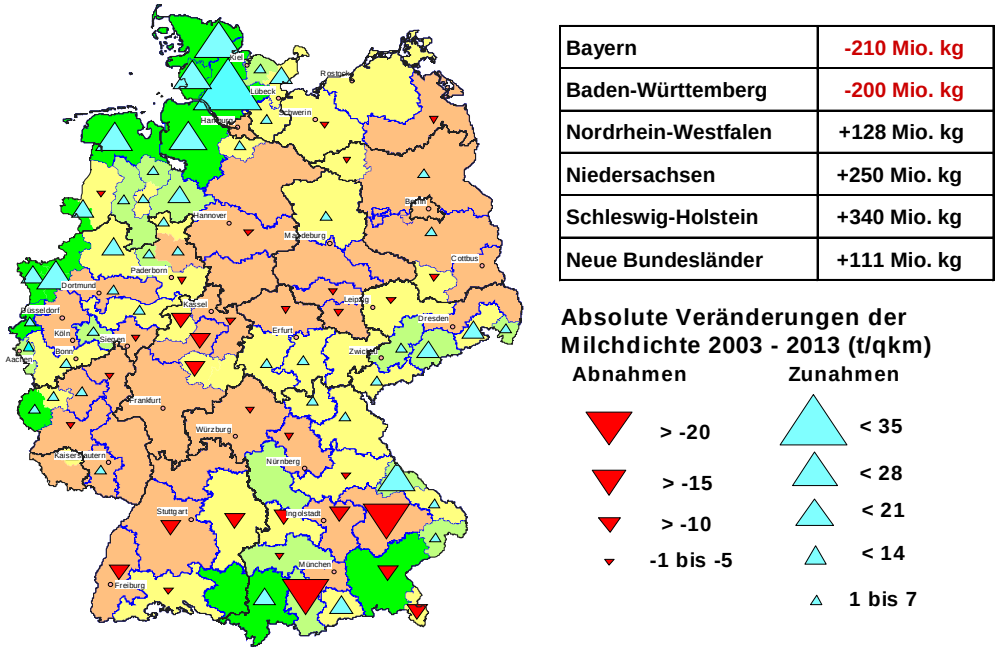
Das Ausmaß der Preisschwankungen am Milchmarkt ist im Vergleich zur Vergangenheit wesentlich größer geworden. Folgende Ursachen werden dafür als maßgeblich angesehen:

- Aufgrund des weltweiten Abbaus der Lagerbestände für Milchprodukte in den Jahren 2004-2006 in Verbindung mit der Erwartung, dass auch in der nächsten Dekade die Milchproduktnachfrage das Rohstoffangebot übersteigen wird, fällt die Abpufferung von Angebots- und Nachfrageschwankungen durch entsprechende Lagerbestände weitgehend weg. Relativ geringe Schwankungen der Angebots- und Nachfragemengen können deshalb zu erheblichen Preisausschlägen führen.
- Aufgrund der Wettereskapaden in Folge des Klimawandels muss in Zukunft mit größeren Angebotsschwankungen gerechnet werden. In den letzten Jahren waren es vor allem die für den Weltmarkt wichtigen Länder Neuseeland und Australien, in denen durch Trockenheit das Milchangebot am Weltmarkt merklich beeinflusst wurde.
- Die EU-Markpolitik zieht sich zunehmend aus der Steuerung des Milchmarktes zurück. Zu nennen sind hier die starke Absenkung der Interventionspreise im Rahmen der Mid-Term-Review von 2003, die Aufstockung der Milchquoten und deren gänzlicher Wegfall 2015 sowie die wahrscheinliche Eliminierung der Exporterstattungen und die erwartete starke Reduzierung der Zölle beim Import von Milchprodukten aus Drittländern als Ergebnis der Verhandlungen im Rahmen von WTO-II. Durch diese Maßnahmen werden sich die Schwankungen am Weltmarkt wesentlich stärker am europäischen Binnenmarkt bemerkbar machen als bisher.
- Es wird erwartet, dass die Milchproduktion zukünftig relativ stark auf die Schwankungen der Rohstoff- und der Inputpreise reagieren wird. Die Jahre 2007 und 2008 haben dafür bereits ein Anschauungsbeispiel geliefert. Es ist davon auszugehen, dass vor allem nach dem Wegfall der Quotenregelung 2015 am Milchmarkt Verhältnisse eintreten werden, die sehr ähnlich dem Schweinezyklus sind.
- Sowohl die Endverbrauchernachfrage als auch die Nachfrage der Großverbraucher und industriellen Verarbeiter reagiert stärker als erwartet auf die Preissteigerung der Milchprodukte. Letztere substituierten Milchkomponenten durch preiswertere pflanzliche Rohstoffe. Der starke Nachfragerückgang seit Anfang 2008, der nicht nur in Deutschland, sondern weltweit festzustellen ist, war eine der Ursachen dafür, dass die Preise nach ihrem Hoch im Jahr 2007 relativ schnell wieder abstürzten. Weiterhin dürfte auch die Tatsache eine Rolle spielen, dass verstärkt Länder mit weniger stabiler Nachfrage auf den Weltmarkt für Milchprodukte Einfluss nehmen werden, beispielsweise China und Russland.
- Durch die starken Wechselkurschwankungen der letzten Jahre weisen die Erlöse für Milchprodukte im internationalen Handel eine erhebliche Fluktuation auf. Beispielweise hat in 2008 der durchschnittliche Wochenwechselkurs des US-Dollar zum Euro zwischen 1,23 US-Dollar und 1,60 US-Dollar, d.h. um 30,1 %, variiert. Ähnlich große Schwankungen gab es gegenüber dem russischen Rubel, der 2008 etwa 30 % seines Werts verlor.
- Nicht abschließend geklärt ist die Frage, ob und inwieweit die steigende Volatilität durch Spekulanten ausgelöst wird. Der Handel mit Terminkontrakten hat nach Aussagen der OECD-FAO weltweit auch bei Milch eine steigende Bedeutung.

Verschiedene Ursachen der Preisschwankungen der letzten Jahre werden auch zukünftig wirksam sein. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass das Ausmaß der Volatilität am Milchmarkt auch in Zukunft wesentlich stärker sein wird als dies in der Vergangenheit der Fall war.

b) Veränderungen der regionalen Milchproduktion in Deutschland

Ausgehend von den bis 2013 erwarteten Rahmenbedingungen wurde in Modellrechnungen versucht, die zukünftige Entwicklung der Milchproduktion in Deutschland zu prognostizieren. Auf der Basis dieser Berechnungen wird erwartet, dass zwar zum einen die Milchquote insgesamt weiterhin voll ausgeschöpft wird. Zum anderen dürfte es aber regional zu stärkeren Veränderungen in der Milchproduktion kommen (vgl. Abb. 2).



Bayern	-210 Mio. kg
Baden-Württemberg	-200 Mio. kg
Nordrhein-Westfalen	+128 Mio. kg
Niedersachsen	+250 Mio. kg
Schleswig-Holstein	+340 Mio. kg
Neue Bundesländer	+111 Mio. kg

Quelle: Buschendorf, H., Weindlmaier, H.; Hüttl, S.; Kleinhanß, W. (2006): Prognose zur regionalen Milcherzeugung in Deutschland bis 2013. In: Deutsche Milchwirtschaft, 57. Jg., Nr. 7, S. 319-326.

Abb. 2: Prognose der Milchproduktion bis 2013 bei Unterstellung eines Milchpreisrückgangs um 10 % gegen über 2013

Wird ausgehend vom Preisniveau vom 2003/04 bis 2013 ein 10%iger Milchpreisrückgang unterstellt, wird nach den Modellergebnissen in Bayern die Milchproduktion um 210 Mio. kg oder etwa 3 %, in Baden-Württemberg sogar um 10 % eingeschränkt. Demgegenüber wird in Schleswig-Holstein die Milchproduktion um 340 Mio. kg oder 14 % ansteigen.

c) Verschlechterung der Geschäftsbeziehungsqualität zwischen Milcherzeugern und Molkereien

Diese erwarteten Veränderungen im regionalen Milchaufkommen werden noch durch einen weiteren Aspekt akzentuiert. Wir stellen fest, dass es in den letzten Jahren zu einer zunehmenden Radikalisierung der Milcherzeuger und einer erheblichen Verschlechterung der Geschäftsbeziehungsqualität zwischen Milcherzeugern und den Molkereien gekommen ist. Der Milchlieferboykott und die dadurch ausgelösten und bis heute andauernden Auseinandersetzungen sowohl zwischen den Milchbauern in den Dörfern selbst als auch zwischen Gruppierungen von Milcherzeugern und den Molkereien haben diesen Prozess nochmals stark verstärkt.

Die Zusammenschlüsse auf der Milcherzeugerseite, insbesondere der BDM, aber auch die BayernMeG, verfolgen das Ziel der Gegenmachtbildung. Die Argumentation geht dahin, dass die Milcherzeuger selbst durch Zusammenschlüsse und harte Verhandlungen mit den Milchverarbeitern die Milchpreisbildung in die Hand nehmen müssen. Die über lange Zeit gut funktionierende Kooperation zwischen Milcherzeugern/Milcherzeugergemeinschaften und den Molkereien wurde zunehmend durch ein Klima der Konfrontation abgelöst. Die Bindung der Erzeuger an „ihre" Molkerei ist geringer geworden. Der Wechsel von Erzeugern und Erzeugergemeinschaften zu Molkereien, die eine bessere Verwertung haben und oft nur einen geringfügig höheren Milchpreis bezahlen, hat stärkeres Gewicht bekommen. Bei verschiedenen Molkereien sind daher gegenwärtig erhebliche Milchmengen in Kündigung. Sollten diese Kündigungen tatsächlich Realität werden, würde dies für die betroffenen Unternehmen einen großen Rohstoffverlust bedeuten. Die Konsequenzen etwa für die Höhe der Stückkosten und für die Lieferfähigkeit könnten dramatisch sein.

(2) Maßnahmen zur Verbesserung der Rohstoffsicherung

Für die Rohstoffsicherung der Molkereien bieten sich vor allem folgende Maßnahmen an:

- Von zentraler Bedeutung für die Wettbewerbsfähigkeit am Rohstoffmarkt ist die **Bezahlung eines attraktiven Milchpreises**. Eine Molkerei, die dazu nachhaltig nicht in der Lage ist, wird über kurz oder lang von der Bildfläche verschwinden. Tabelle 1 zeigt, dass auch auf relativ engem Raum erhebliche Auszahlungsunterschiede vorliegen.

Tab. 1: Niedrigster und höchster 5-Jahres-Durchschnittspreis von Molkereien in ausgewählten Ländern[1)]

Bundesland	Niedrigster Ø Milchpreis in Ct/kg	Differenz in Ct/kg	Maximaler Ø Milchpreis in Ct/kg
Schleswig-Holstein	**28,7**	**1,5**	**30,2**
Niedersachsen	**28,6**	**2,2**	**30,8**
Nordrhein-Westfalen	**29,8**	**1,2**	**31,0**
Baden-Württemberg	**30,6**	**1,1**	**31,7**
Bayern	**30,0**	**2,4**	**32,4**
Neue Bundesländer	**29,1**	**1,9**	**31,0**

Milchpreisspreizung in Bayern 2008: 7,6 Ct/kg

1) Bezugsbasis sind 500.00 kg Jahresanlieferung im Zeitraum 2003 – 2007. Preise in Ct/kg bei 4,2 % Fett und 3,4 % Eiweiß inkl. aller Zu- und Abschläge, ohne MwSt.
Quelle: Eigene Darstellung basierend auf dem ZMP Milchpreisvergleich 2008

In Bayern betrug der Unterschied zwischen der im 5-jährigen Durchschnitt von 2003 – 2007 am besten und der am schlechtesten auszahlenden Molkerei 2,4 Ct/kg. Im Jahr 2008 betrug dieser Unterschied sogar 7,6 Ct/kg. Für einen Erzeuger, der eine Jahresanlieferung von 500.000 kg hat, macht dies immerhin 38.000 € Unterschied im Milchgeld aus. Solche Erzeugerpreisunterschiede geben eindeutige Signale und werden über kurz oder lang zur Abwanderung von Erzeugern führen. Eine Molkerei, die am Rohstoffmarkt konkurrenzfähig bleiben will, muss daher alles tun, um eine hohe Nettoverwertung der verarbeiteten Milch zu erzielen.

- Neben wettbewerbsfähigen Milchpreisen kommt einer **Verbesserung der Geschäftsbeziehungsqualität** zwischen den Molkereien und den Milcherzeugern eine steigende Bedeutung zu. In einer Befragung von primär zukunftsorientierten Milchviehhaltern durch den Lehrstuhl für Agrarmarketing an der Universität Göttingen[1] in Nordwestdeutschland wurde deutlich, dass es um die Zufriedenheit, das Vertrauen und das Commitment der Landwirte hinsichtlich ihrer Molkerei nicht zum Besten steht. Insbesondere haben die Molkereien hinsichtlich der Aussagen „Meiner Molkerei sind die bäuerlichen Wurzeln noch wichtig" und „Die Molkerei und die Milcherzeuger ziehen an einem Strang" eine in der Tendenz negative Bewertung bekommen. Bei der statistischen Analyse der Ursachen für die schlechte Geschäftsbeziehungsqualität zwischen Milcherzeugern und den Molkereien wurde deutlich, dass dafür nicht einmal der Milchauszahlungspreis der entscheidende Faktor ist. Eher sind es emotionale Kriterien wie die wahrgenommene Managementkompetenz, das Verständnis, das den landwirtschaftlichen Lieferanten entgegen gebracht wird und die Art der Lieferantenkommunikation. Die Folgen der schlechten Geschäftsbeziehungsqualität sind eine hohe Wechselbereitschaft, falls Nachbarmolkereien einen höheren Milchpreis bezahlen sowie die Neigung zur Gegenmachtbildung.

  Ein zentraler Ansatzpunkt, dem zur Verbesserung der Geschäftsbeziehungsqualität gerade für große Molkereiunternehmen eine steigende Bedeutung zukommt, ist eine Optimierung der Erzeugerkommunikation. Die Ergebnisse einer Befragung von fast 800 Milchlieferanten von fünf über Deutschland verteilten Molkereien über die Einschätzung der Kommunikationsaktivitäten ihrer Molkerei machen deutlich, dass vor allem den regionalen Milcherzeugerversammlungen, den Vertreterversammlungen, der Teilnahme der Molkerei an Landwirtschaftsmessen und der Pressearbeit der Molkerei in landwirtschaftlichen Zeitungen ein hoher Wert beigemessen wird.[2] Durch eine Akzentuierung derartiger Aktivitäten sollte es möglich sein, den Milcherzeugern zeitnah Informationen über die Entwicklungen, die Planungen und die wirtschaftliche Performance ihrer Molkerei zu vermitteln.

- Einen weiteren Ansatzpunkt für die Rohstoffsicherung der Molkereien wird in einer **Verlängerung der Fristigkeit der Verträge** mit den Erzeugern angesehen. Es ist dies eine Forderung, die in einem gewissen Widerspruch zu Entwicklungen der letzten Jahre steht: Aufgrund der Unzufriedenheit der Milcherzeuger mit den Rohstoffpreisen wurde von diesen bzw. von den Erzeugergemeinschaften eine deutliche Verkürzung der Kontraktlaufzeiten gefordert und teilweise auch durchgesetzt. Dies betrifft sowohl die Kündigungszeiten bei den Molkereigenossenschaften als auch die Dauer der Lieferkontrakte mit den Privatmolkereien.

  Eine starke Verkürzung der Kontraktlaufzeiten bedeutet für die Molkereien aber nicht nur, dass die strategische Sicherung der Rohstoffbasis erschwert und dass die Wechselbereitschaft der Erzeuger gefördert wird. Jährliche Verhandlungen führen auch zu erhöhten Transaktionskosten bei den Verhandlungen und dem Abschluss von Lieferverträgen.

---

[1] vgl. GERLACH, S., SPILLER, A., WOCKEN, C. (2006): Supplier Relationship Management in der Milchwirtschaft: Ein Regressionsmodell zur Erklärung der Geschäftsbeziehungsqualität, in: Cramon, S. et al. (Hrsg.): Unternehmen im Agrarbereich vor neuen Herausforderungen, Münster-Hiltrup, S. 71-81.

[2] vgl. WIENERT, M. (2008): Integrierte Kommunikation in milchverarbeitenden Unternehmen. Dissertation an der Professur für Betriebswirtschaftlehre der Milch- und Ernährungsindustrie, Technische Universität München. http://mediatum2.ub.tum.de/doc/624603/624603.pdf

Im Sinne einer nachhaltigen, erfolgreichen Partnerschaft wird es für unbedingt notwendig gehalten, hier Kompromisse einzugehen, durch welche die Interessen sowohl der Milcherzeuger als auch der Molkereien ausreichend berücksichtigt werden. Dazu gehört erstens eine Garantie für die Milcherzeuger, während der Vertragslaufzeit jeweils einen wettbewerbsfähigen Milchpreis ausgezahlt zu bekommen. Allerdings ist es gegenwärtig schwierig, eine Referenzgröße zu finden, die sich für diese Absicherung eignet. Trotz verschiedener – zum Teil allerdings behebbarer – Mängel, wurde die monatliche Ermittlung des Bayerischen Erzeugerorientierungspreises (EOP) durch Intervention der Erzeugerverbände im Herbst 2006 eingestellt. Der EOP war eine keinesfalls optimale, im Vergleich aber relativ gute Alternative.

Bei den Genossenschaftsmolkereien wird man wohl nicht umhin kommen, zu einer Verzinsung der Geschäftsguthaben über zu gehen. Nur dann ist auch eine Vergleichbarkeit mit den Milchpreisen der Privatmolkereien möglich. Überlegenswert ist ferner das von der *NORDMILCH* vorgestellte, bislang aber nicht umgesetzte „Closed Shop-Modell“. Ziel dieses Modells ist eine Privilegierung der Genossenschaftsmitglieder gegenüber ungebundenen Lieferanten im Fall von Milchüberschüssen. Für beachtenswert wird ferner der von der neuseeländischen Molkerei *Fonterra* praktizierten Ansatz gehalten, bei welchem es darum geht, die Genossenschaftsmitglieder durch eine Beteiligung an den Wertsteigerungen des Unternehmens stärker an die Molkerei zu binden.

- Eine in jüngster Zeit zunehmend diskutierte Alternative ist die **Rohstoffsicherung durch Terminkontrakten an Warenterminmärkten.** Diese Option wird vor allem als ein möglicher Ansatz zur Absicherung gegen die starke Preisvolatilität ins Gespräch gebracht.

  Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass Molkereien in Zukunft verstärkt nur für jene Verarbeitungsmengen feste Lieferverträge abschließen, die kontinuierlich für Produkte benötigt werden, mit welchen die Molkerei gute Verwertungen erzielt. Der temporär auftretende und langfristig nicht planbare Bedarf für Mehrmengen wird demgegenüber auf dem Spotmarkt beschafft werden. Um Preisschwankungen am Spotmarkt abzusichern, wäre grundsätzlich der Abschluss von Terminkontrakten denkbar.

  Tabelle 2 zeigt zwei Fallbeispiele für solche Terminkontrakte: Im Fall 1 wird davon ausgegangen, dass der Preisanstieg am Kassamarkt zu einem höheren Preis führt, als die Kontrakte für Oktober im April gekostet haben. In diesem Fall würde der Kauf des Kontrakts tatsächlich zu einem niedrigeren Beschaffungspreis von 3.700 €/10 t führen, da der höhere Kassapreis von 4.000 €/10 t mit dem Gewinn aus dem Warentermingeschäft verrechnet werden kann. Derselbe Beschaffungspreis würde auch resultieren (Fall 2), wenn der Preisanstieg am Kassamarkt niedriger ist als aufgrund des Futurepreises im April mit Fälligkeit Oktober erwartet wurde. Allerdings hätte das Unternehmen in diesem Fall ohne Aktivitäten am Terminmarkt einen günstigeren Einstandspreis von 3.500 € gehabt.

  Der Vorteil der Warenterminbörse ist sicherlich im Normalfall eine Verminderung des Preisrisikos und eine sicherere Kalkulationsbasis. Allerdings zeigt Fallbeispiel 2, dass die Molkerei ohne Preisabsicherung am Terminmarkt niedrigere Beschaffungskosten gehabt hätte. Grundsätzlich ist zu berücksichtigen, dass es am Warenterminmarkt Gewinner und Verlierer gibt, so dass dieses Instrumentarium durchaus mit großer Vorsicht und Detailkenntnis gehandhabt werden muss.

Tab. 2: Preisabsicherung des Rohstoffbedarfs einer Molkerei durch Terminkontrakte für 10 t Rohmilch[1)]

Termin	Aktivität am Kassamarkt	Aktivität am Warenterminmarkt
Fall 1: Preisanstieg am Kassamarkt übersteigt Erwartung durch Kurs des Futures		
April		Kauf eines im Oktober fälligen Kontrakts für 3.700 €/10 t
Oktober	Kauf von Rohmilch am Spotmarkt für 4.000 €/10 t	Verkauf des Milchkontrakts für 4.000 €/10 t
Ergebnis:	• Gewinn an Warenterminbörse	300 €/10 t
	• Auszahlung am Kassamarkt	4.000 €/10 t
	• Kosten mit Absicherung	3.700 €/10 t
Fall 2: Preisanstieg am Kassamarkt ist geringer als Erwartung durch Kurs des Futures		
April		Kauf eines im Oktober fälligen Kontrakts für 3.700 €/10 t
Oktober	Kauf von Rohmilch am Spotmarkt für 3.500 € /10 t	Verkauf des Milchkontrakts für 3.500 €/10 t
Ergebnis:	• Verlust an Warenterminbörse	200 €/10 t
	• Auszahlung am Kassamarkt	3.500 €/10 t
	• Kosten mit Absicherung	3.700 €/10 t

1) Annahmen: Preisabsicherung für den Rohstoffbedarf einer Molkerei im Oktober durch Terminkontakte im April für 10 t Rohmilch. Der Spotmarktpreis im April beträgt 3.500 €/10 t.

Abgesehen von diesen grundsätzlichen Überlegungen ist es höchst fraglich ist, ob demnächst eine Warenterminbörse für Milch und/oder Milchprodukte in Europa überhaupt verfügbar sein wird. Gegenwärtig werden Milchfutures der Art, wie sie im Beispiel verwendet wurden, nicht gehandelt! Im Sommer 2008 hatte in den Niederlanden ALBERT DE HAAN die Etablierung einer paneuropäischen Milk Exchange (Eumix) vorgestellt. DE HAAN will einen Kontrakt über 10.000 kg Rohmilch mit 4,2 % Fett und 3,4 % Eiweiß bis zu zwei Jahre im Voraus handeln lassen.[3] Während diese Börse ursprünglich bereits für den Herbst 2008 angekündigt wurde, wurde im Spätherbst 2008 der Start der Eumix auf das das Jahr 2009 verschoben. Wann der Handel an der Eumix tatsächlich beginnen soll, konnte nicht in Erfahrung gebracht werden (Stand 3. März 2009).

Im Jahr 2008 gab es auch intensive Gespräche über die Einführung eines Terminhandels für Milchprodukte an der RMX, der Warenterminbörse Hannover. Im Gespräch waren sowohl die Einführung von Kontraktmodellen für Butter und Magermilchpulver als auch eines Future für ein synthetisches Konstrukt aus mehreren Milchprodukten aus mehreren europäischen Ländern. Im Februar 2009 ging die RMX jedoch in Insolvenz und der Handel mit Warenterminkontrakten wurde zum 01.02 2009 an eine neu gegründete Gesellschaft, die Eucomex, übertragen. Ob die Aufnahme von Warenterminkontrakten für Milch und Milchprodukte weiterhin verfolgt wird, ist allerdings unklar.

Schwierigkeiten bereitet vor allem die Suche nach einem vertrauenswürdigen und aussagekräftigen Orientierungspreis für den Barausgleich offener Kontrakte. Darüber hinaus bestehen Zweifel, ob die Anzahl der Börsenteilnehmer ausreichen würde, um die notwendige Liquidität zu gewährleisten.

[3] vgl. o.V. (2008): Wettlauf um den „Milchfuture“. In: dlz 9/2008, S. 12; o.V. (2008): Eumix, die Milch kommt an die Börse. Online im Internet: http;// www.wiwo.de/finanzen/die-milch-kommt-an-die-boerse-302715/print/ (27.08.2008).

Zur aktuellen Situation der Milcherfassung in Deutschland und Österreich im Jahr 2007[4]

Milk collection in Germany and Austria in 2007 – results of an actual survey

Weindlmaier, H.; Betz, J.

Zur Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit Milch verarbeitender Unternehmen kommt einer Optimierung der Kosten in allen wichtigen Bereichen des Unternehmens eine zentrale Rolle zu. Eine erhebliche Bedeutung haben in diesem Zusammenhang auch die Milcherfassungskosten, die in Abhängigkeit von den gegebenen betrieblichen Rahmenbedingungen, der Organisationsform, der eingesetzten Technik und nicht zuletzt der Nutzung moderner Planungstechniken einer erheblichen Streubreite unterliegen. Im Jahr 2008 wurde von der Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft wieder eine schriftliche Erhebung zur „Situation der Milcherfassung in Deutschland und Österreich im Jahr 2007“ durchgeführt. Dieser Untersuchung liegen die Angaben von 76 deutschen Molkereiunternehmen zugrunde, die einen Anteil von 56,9 % der gesamten Milchanlieferung Deutschlands repräsentieren. In Österreich beteiligten sich sieben Molkereiunternehmen mit einem Mengenanteil von knapp 39 % der gesamten österreichischen Milchanlieferung.

Die Milcherfassung wird heute in Deutschland fast vollständig als **Direkterfassung mit dem Tanksammelwagen** (TSW) durchgeführt. Der Aufwand für die Milchübernahme durch den TSW wird u. a. beeinflusst von der Lieferanten- und Haltestellenstruktur sowie durch das Erfassungsintervall. Je größer die Einzelmilchmenge je Lieferant bzw. die Milchmenge pro Haltestelle ist, desto geringer wird der relative Zeitverbrauch pro Mengeneinheit. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Haltestellenstruktur bei der Milcherfassung im Jahr 2007.

Abhängig von den regional sehr unterschiedlichen Erzeugerstrukturen differiert innerhalb Deutschlands die **durchschnittliche Anlieferung je Lieferant** sehr stark. Bayern hat innerhalb Deutschlands mit 732 kg Milch pro Haltestelle und Abholung die ungünstigste Haltestellenstruktur, gefolgt von Baden-Württemberg mit 866 kg pro Haltestelle. Der Anteil der Straßenhaltestellen beträgt in Bayern noch 27,8 % und in Baden-Württemberg 6,8 %. In allen anderen Regionen wird generell Einzelhofabholung betrieben, in geringem Ausmaß wird die Milch dabei von Straßenhaltestellen abgeholt. Die durchschnittliche Milchmenge je Haltestelle und Abholung liegt hier, auch bedingt durch die überwiegend zweitägliche Abholung, durchwegs weit über Tausend kg.

In Österreich beträgt die Durchschnittsmilchmenge je Haltestelle trotz überwiegend zweitäglicher Erfassung nur 455 kg, wobei sich das Verhältnis Hof- und Straßenhaltestellen mit 61 zu 39 seit der letzten Untersuchung im Jahr 2003 stark zugunsten der Hofabholung verändert hat.

Auf der Basis einer Hochrechnung der Ergebnisse unserer Stichprobe waren für die Bewältigung der Milcherfassung in Deutschland im Jahr 2007 insgesamt ca. 1.600 TSW und knapp 1.100 Anhänger im Einsatz. In Österreich ist der Hochrechnung zufolge 2007 von ca. 260 TSW und 120 Anhängern für die Milcherfassung auszugehen. Zusätzlich zu dem aus TSW und Anhängern bestehenden Milcherfassungsfuhrpark waren 2007 für den Milchtransport zur Molkerei in 26 % der untersuchten deutschen Molkereien insgesamt 75 Tankzüge bzw. Sattelzugtransporter ohne Erfassungseinrichtungen eingesetzt.

[4] Dieser Beitrag ist in ausführlicherer Form veröffentlicht unter: WEINDLMAIER, H; BETZ. J. (2009): Zur aktuellen Situation der Milcherfassung in Deutschland und Österreich im Jahr 2007. In: Deutsche Milchwirtschaft, 60. Jg., S. 12-17

Tab. 3: Haltestellenstruktur bei der Milcherfassung im Jahr 2007

Ländergruppen	∅liche Milchmenge pro Haltestelle kg/Abholung	Verhältnis der Hofhaltestellen zu Straßenhaltestellen	∅liche Lieferantenanzahl pro Straßenhaltestelle[1]
BY	732	72,2 : 27,8	1,32
BW	866	93,2 : 6,8	1,00
NRW	1.629	95,7 : 4,3	1,00
RPF/S/HE	1.699	95,5 : 4,5	1,00
NS/B	2.237	98,7 : 1,3	1,00
SH/H	2.212	100 : 0	
B/NBL	4.124	98,0 : 2,0	1,00
Deutschland	1.155	82,6 : 17,4	1,28
Österreich	455	61,2 : 38,8	2,31

1) unter der Annahme, dass je Hofhaltestelle jeweils nur ein Lieferant abgeholt wird.

Nicht vollständig begründbar sind die immer noch bestehenden regionalen Unterschiede in den **Eigentumsverhältnissen der TSW** (vgl. Abb. 3). In Niedersachsen ist der Anteil der Eigenfahrzeuge bei den TSW nach wie vor am größten. In den neuen Bundesländern hat der Eigenfuhrparkanteil gegenüber der letzten Untersuchung ebenfalls zugenommen, während in Schleswig-Holstein im gleichen Zeitraum ein Rückgang festzustellen ist. Ebenfalls rückläufig ist der Anteil in der Region Rheinland-Pfalz/Saarland/Hessen sowie in Bayern. In Österreich hat der Eigenfuhrparkanteil nach einem Anstieg vor vier Jahren erneut zugenommen und beträgt jetzt 18 %. 82 % der TSW in Österreich sind in Spediteurshand.

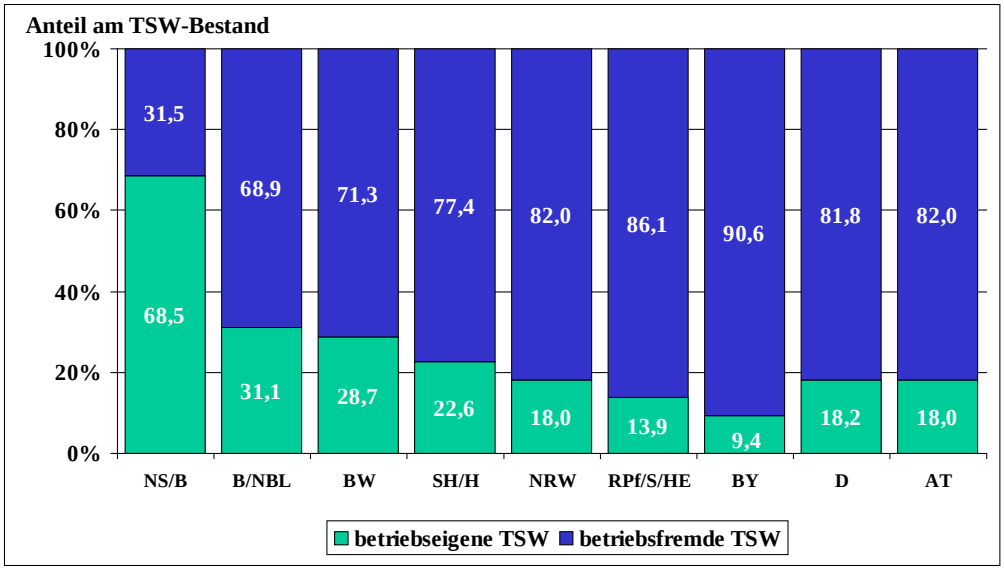


Abb. 3: Eigentumsverhältnisse der TSW für die Milcherfassung im Jahre 2007

Die Notwendigkeit der Bereithaltung von Reservefahrzeugen für die Milcherfassung ist nach wie vor ein umstrittenes Thema. Einerseits verursachen Reservekapazitäten zusätzliche Kosten, andererseits erhöhen sie die Sicherheit der Milcherfassung. In Deutschland unterhielten im Jahre 2007 52 % der Molkereiunternehmen Reserve-TSW. Reserveanhänger wurden 2007 von 36 % der Molkereien gehalten.

Die Analyse der eingesetzten **Fahrzeugkapazitäten** zeigt, dass der in Deutschland für die Milcherfassung eingesetzte Erfassungsfuhrpark zu 59 % aus Zweiachs-TSW, zu 35 % aus Dreiachs-TSW und zu 6 % aus Sattel-TSW mit mehr als zwei bzw. mehr als drei Achsen besteht. In Österreich sind 62 % Zweiachs- und 38 % Dreiachsfahrzeuge im Einsatz. Vergleicht man die Entwicklung der Fahrzeuggrößen im Zeitablauf von 1998 bis 2007, kann eine deutliche Zunahme des Anteils der Dreiachs-TSW festgestellt werden. Regional bestehen aber beachtliche Unterschiede. Mittlerweile setzen drei Viertel der deutschen Molkereiunternehmen bei der Milcherfassung auch Anhänger ein. Davon sind 42 % Zweiachser und 58 % Dreiachser. In Österreich sind 56 % der Anhänger Zweiachser und 44 % Dreiachser.

Das **Erfassungsintervall**, d.h. die Häufigkeit der Milcherfassung, beeinflusst den notwendigen Fahrstreckenaufwand und die Liefermenge je Erfassungsvorgang und stellt damit eine wichtige Kostenbestimmungsgröße dar. In Deutschland setzt sich die Tendenz zur zweitäglichen Erfassung fort. Mittlerweile hat sie einen Anteil von 69 % der Gesamtanlieferung erreicht (vgl. Abb. 4). Die Erfassung 2mal pro Tag ist in den vergangenen vier Jahren von 0,1 % auf 0,5 % der Anlieferungsmenge angestiegen. Es handelt sich dabei ausschließlich um Milch von Großbetrieben in den neuen Bundesländern, bei denen die Tagesmenge die Kapazität der Erfassungsfahrzeuge überschreitet und deshalb die Milch nach jeder Melkzeit abgeholt wird.

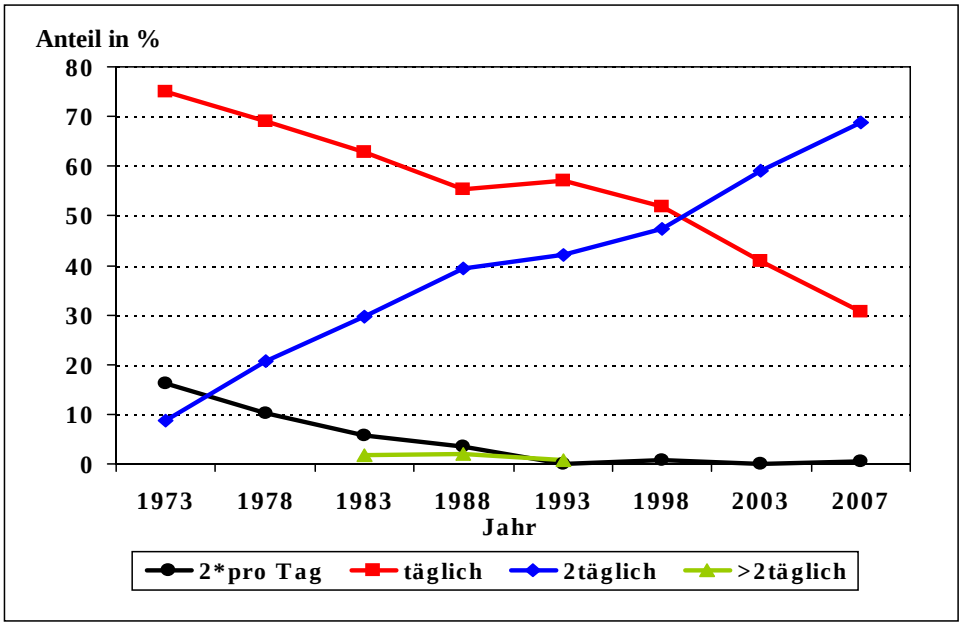


Abb. 4: Entwicklung der Milcherfassungsintervalle in Deutschland von 1973 bis 2007

22,4 % der deutschen Molkereien erfassen nur täglich, 23,7 % erfassen ausschließlich zweitäglich. Eine Kombination von täglicher und zweitäglicher Erfassung liegt in rund 47 % der deutschen Molkereien vor. In Österreich erfasst ein Drittel der Unternehmen ausschließlich zweitäglich und 2/3 der Unternehmen gemischt täglich-zweitäglich.

In Bayern werden noch rund 55 % der Milch täglich und 45 % zweitäglich erfasst. In Berlin und den neuen Bundesländern werden noch 50 % der Milch täglich und 5 % zweimal täglich erfasst. In 86 % der Molkereien der neuen Bundesländer wird gemischt täglich-zweitägliche Erfassung praktiziert, dort wo es erforderlich ist ergänzt durch zweimal tägliche Erfassung. In allen anderen Regionen Deutschlands dominiert eindeutig die zweitägliche Erfassung. In Österreich werden ebenfalls bereits 88 % der Milchmenge zweitäglich erfasst.

Die durchschnittliche **Erfassungs- und Transportleistung je TSW** im Jahr 2007 beträgt 19,2 Mio. kg pro Jahr. Im Zeitraum der letzten 9 Jahre ist die durchschnittliche Erfassungsleistung pro TSW insgesamt um 5,1 Mio. kg/a oder um 36 % angestiegen. Die deutliche Steigerung der Erfassungsleistung je Fahrzeug wurde nicht nur durch die strukturellen Veränderungen im Milchübernahmebereich und den größeren Anteil der zweitäglichen Erfassung sowie eine möglicherweise verbesserte Einsatzorganisation, sondern auch durch eine verlängerte tägliche Einsatzzeit der Fahrzeuge ermöglicht. Diese beträgt in Deutschland mittlerweile 15,3 h. Bayern hat mit durchschnittlich 12,3 h täglicher Einsatzzeit pro TSW die kürzeste Einsatzzeit und mit 14,4 Mio. kg/a auch mit Abstand die niedrigste Erfassungsleistung pro Fahrzeug. In Niedersachsen sind die durchschnittlichen Einsatzzeiten mit 22,1 h/d und demzufolge auch die Erfassungsleistung mit 36,7 Mio. kg/a am größten. In dieser Region ist die Milcherfassung mit einer durchschnittlichen Erfassungsleistung von 4,97 t/h auch am effizientesten. In Bayern wird dagegen nur eine durchschnittliche Erfassungsleistung von 3,22 t/h erreicht, in Österreich nur 2,37 t/h.

Um eine möglichst günstige Kapazitätsauslastung je Tour zu erzielen wird bei 36 % der untersuchten Molkereien in Deutschland der **Tourenplan** im Jahresverlauf gemäß der Mengenschwankung mehrmals angepasst. 63 % der Molkereien erfassen den Angaben zufolge ganzjährig nach einem einheitlichen Tourenplan. Dabei bestehen regional nach wie vor Unterschiede, die, nachdem sich die jahreszeitlichen Mengenschwankungen in Deutschland weitgehend vereinheitlicht haben, mit unterschiedlichen jahreszeitlichen Mengenschwankungen nicht mehr zu begründen sind. In Österreich fahren 71 % der Molkereien nach einem einheitlichen und 29 % der Molkereien nach einem jahreszeitlich abgestuften Tourenplan.

16 % der deutschen Molkereien gaben an, **bei der Milcherfassung mit Nachbarmolkereien zu kooperieren**. Österreich meldet bei 43 % der Molkereien Kooperationen mit Nachbarmolkereien. Die Frage, ob man sich Kooperationen mit Nachbarmolkereien bei der Milcherfassung vorstellen kann, beantworteten 58 % der deutschen Molkereien mit „Ja“.

Trotz intensiver Rationalisierungsbemühungen und besserer Auslastung der Fuhrparkkapazitäten ist es der deutschen Molkereiwirtschaft im letzten Vierjahreszeitraum nicht gelungen, einen Kostenanstieg im Bereich der Milcherfassung zu verhindern. Die Ursachen für den Kostenanstieg im Zeitraum der letzten vier Jahre dürften neben der allgemeinen Teuerung vor allem die Treibstoffkostenerhöhung sein. Die in dieser Untersuchung dokumentierten positiven Entwicklungen bezüglich der Fuhrparkgröße und der verbesserten Fahrzeugauslastung sowie der Fahrstreckenreduzierung pro Tonne Milch reichten offensichtlich nicht aus, um die durch die höheren Treibstoffpreise verursachten Mehrbelastungen auszugleichen.

Gemäß dem Ergebnis unserer Befragung sind die **Erfassungskosten** in Deutschland im Zeitraum von 2003 bis 2007 Durchschnitt geringfügig um 1,8 % auf 1,15 ct/kg Anlieferungsmilch angestiegen. Für Österreich konnten aktuell Erfassungskosten von 1,81 ct/kg ermittelt werden, was einem Rückgang gegenüber 2003 um 2,2 % entspricht.

Tabelle 4 zeigt die Erfassungskosten in den einzelnen Ländern im Jahr 2003 sowie die aktuellen Kosten im Jahr 2007. Daraus wird deutlich, dass nicht nur die Erfassungskosten regional unterschiedlich hoch sind, sondern dass auch die Entwicklung unterschiedlich verlaufen ist. Nur in den neuen Bundesländern, Niedersachsen und Baden-Württemberg konnte im letzten Vierjahreszeitraum eine deutliche Kostensenkung erzielt werden. Alle anderen Regionen verzeichnen einen Kostenanstieg. In Bayern ist die Kostensteigerung mit 0,8 % am geringsten.

Das absolute Kostenniveau ist aber mit 1,29 ct/kg in Bayern zusammen mit Rheinland-Pfalz/Saarland/Hessen nach wie vor am höchsten, worin die geringe Fahrzeugauslastung in Bayern im Vergleich zu den übrigen Regionen zum Ausdruck kommt.

Tab. 4: Länderspezifische Erfassungskosten 2003 und 2007

Ländergruppen	**Erfassungskosten ct/kg**		**Veränderung 2007:2003**
	2003	2007	%
B/NBL	1,07	0,92	-14,0
SH/H	0,85	0,89	+4,7
NS/B	0,96	0,78	-18,7
NRW	1,09	1,14	+4,6
RPF/S/HE	1,23	1,29	+4,9
BW	1,50	1,27	-15,3
BY	1,28	1,29	+0,8
D	1,13	1,15	+1,8
AT	1,85	1,81	-2,2

Am günstigsten ist die Milcherfassung in Niedersachsen/Bremen mit 0,78 ct/kg, gefolgt von Schleswig-Holstein/Hamburg und den neuen Bundesländern mit 0,89 ct/kg bzw. 0,92 ct/kg. Die Spannweite der durchschnittlichen Erfassungskosten zwischen den einzelnen Ländergruppen hat sich von 0,65 ct/kg im Jahr 2003 auf 0,51 ct/kg im Jahr 2007 verringert. In Österreich betragen die Erfassungskosten aufgrund der ungünstigeren Erzeuger- und Haltestellenstruktur 1,81 ct/kg Milch und liegen damit um 57 % über dem Durchschnitt von Deutschland.

Betrachtet man die langfristige Entwicklung der Erfassungskosten über den Zeitraum der letzten 34 Jahre seit 1973, so ist festzustellen, dass die Kostensteigerung nur 15 % beträgt. Daraus wird deutlich, welch umfassendes Rationalisierungspotential in diesem Zeitraum im Bereich der Milcherfassung realisiert und in welch starkem Maße die Effizienz der Milcherfassung gesteigert wurde.

Dissertationen, Master-Thesis, Projektarbeit

Dissertationen

Wienert, Marlen, Dr. oec.; Technische Universität München, 03.04.2008: „Integrierte Kommunikation in Milch verarbeitenden Unternehmen“.

Obersojer, Thomas, Dr. oec.; Technische Universität München, 08.09.2008: „Efficient Consumer Response Kooperationen zwischen Molkereiunternehmen und dem Lebensmittelhandel“.

Master Thesis

Hammoud, S.: „Die Einstellung syrischer Konsumenten zu europäischen Lebensmitteln: Bedeutung für die Nachfrage und Konsequenzen für das Lebensmittelmarketing“.

Projektarbeit

Stadler V. und Wolf E: „Ermittlung der Kundenzufriedenheit mit dem Forschungszentrum Weihenstephan für Brau und Lebensmittelqualität."

Lehre, Vorträge

Lehre

Im Jahr 2008 wurden von Prof. Dr. H. Weindlmaier folgende Lehrveranstaltungen am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München abgehalten:

Bezeichnung	Wintersemester		Sommersemester	
	V	Ü	V	Ü
Studiengang Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel (Diplom und Master)				
Produktions- und Absatzwirtschaft der Ernährungsindustrie	2			
Grundlagen der Betriebswirtschaftslehre Milch verarbeitender Unternehmen	2			
Marketingmanagement Milch verarbeitender Unternehmen			2	1
Studiengänge Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel, Brauwesen und Getränketechnologie				
Innovationsmanagement in der Ernährungsindustrie			2	
Studiengang Agrarwissenschaft / Masterstudiengang Landnutzung / Agribusiness				
Ökonomik der Ernährungswirtschaft	3	1		
Masterstudiengang Consumer Science				
Ernährungsökonomik	2			

V = Vorlesungen, Ü = Übungen (Angaben jeweils in Semester-Wochenstunden.

Darüber hinaus hielt Prof. Dr. H. Weindlmaier im Sommersemester 2008 an der Freien Universität Bozen eine Gastvorlesung über Agrarmarketing im Umfang von 2 Semester-Wochenstunden. Im Rahmen der Gastvorlesung wurde auch eine Projektarbeit in Zusammenarbeit mit der VOG, Terlan zum Thema „Strategien im internationalen Marketing für Südtiroler Äpfel" durchgeführt.

Vorträge

Huber, Alois

„Anpassungsmöglichkeiten und -erfordernisse in der Milcherfassung und in den Vertragsbeziehungen zwischen Milcherzeugern und Molkereien".
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2008, Freising, 25.09.2008.

Weindlmaier, Hannes

„Zukünftige Vertragsbeziehungen zwischen Milchbauern, Milchverarbeitern und Milchhändlern".
Vortrag und Leitung der Podiumsdiskussion beim 14. ZMP-Milchforum, Cobbeldorf, Sachsen-Anhalt, 28.02. 2008.

„Angebots-, Nachfrage- und Preisentwicklungen am Milchmarkt: Implikationen für die Molkereiwirtschaft“.
Seminar der Geschäftsführung von Dr. Oetker, Bielefeld, 11.04.2008.

„Entwicklungsperspektiven am Markt für funktionelle Produkte“,
ZIEL-TUM-Akademie – Seminare, Freising-Weihenstephan, 12.04.2008.

„Mengensteuerung in der Hand der Milcherzeuger? - Ansatzpunkte und Problembereiche“.
Tagung der genossenschaftlichen Milchwirtschaft, Kassel, 22. und 23.07.2008.

„Zentrale Ergebnisse des Forschungsprojekts zur Zukunft des Milchstandortes Bayern“,
Sitzung des Landesfachausschusses und Vorstands der Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft, München, 4.07.2008.

„Anpassungsmöglichkeiten und -erfordernisse in den Strukturen und Strategien der bayerischen Molkereiwirtschaft“.
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 25.09.2008.

„Die Sicherung des Rohstoffes Milch in volatilen Märkten: Entwicklungen und Implikationen“.
Molkerei Roundtable bei Sal. Oppenheimer, München, 9.10.2008 in München.

„Mengensteuerung in der Hand der Milcherzeuger? – Ansatzpunkte und Problembereiche –“.
Vertreterversammlung der Humana Milchunion eG, Paderborn, 26.11.2008.

„Entwicklungen auf dem Milchmarkt: Implikationen für die Milcherzeuger und die Molkereiwirtschaft in Deutschland“.
Niedersächsisches Kompetenzzentrum Ernährungswirtschaft, Osnabrück, 04.12.2008.

„Perspektiven und Handlungsbedarf der deutschen Milch- und Molkereiwirtschaft vor dem Hintergrund sich ändernder Rahmenbedingungen“.
Amt für Landwirtschaft und Forsten Miesbach, Miesbacher Milchviehtag, Miesbach, 05.12.2008

Beratung, Medienarbeit

Aufträge für die Durchführung von Forschungsprojekten und Stellungnahmen

- Anfang des Jahres 2008 wurde der Arbeitsgruppe für Milch- und Ernährungswirtschaft vom Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten der Auftrag für die Durchführung eines **Forschungsprojekts zur „Entwicklung eines Konzepts für die Ermittlung der aktuellen Verarbeitungskosten und Verwertungen in Bayerischen Molkereien“** erteilt. Dieses Projekt wurde Anfang des Jahres 2008 von der Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft mit Zustimmung der milchwirtschaftlichen Verbände beschlossen. Ein Konzept für die Durchführung des Projekts wurde von der Arbeitsgruppe erstellt. Die Realisierung des Projekts war jedoch dann nicht möglich, da der Genossenschaftsverband Bayern sich gegen die Unterstützung des Projekts aussprach und es daher nicht möglich war, die für das Projekt erforderlichen Basisdaten von bayerischen Genossenschaftsmolkereien zu bekommen.
- Im Auftrag von Nomisma Società di Studi Economici S.p.A., Bologna wurde von Prof. Weindlmaier eine Case study zum Thema **“Characteristics, developments and strategies associated with the milk chain in Germany”** erarbeitet.

- Auf Bitte des Milchindustrieverbandes Berlin wurden im Juni 2008 eine Stellungnahme und Modellkalkulationen zu den „**Auswirkungen der angekündigten Erhöhung der Verbraucherpreise von Milchprodukten auf die Auszahlungsmöglichkeit der Molkereien** erstellt.

Medienarbeit

Aufgrund der prekären Situation am Milchmarkt (Milchlieferboykott im Mai/Juni 2008, Einbruch der Milcherzeugerpreise im Herbst 2008) gab es im Jahr 2008 viele Anfragen an Prof. Weindlmaier zu Interviews in verschiedenen Medien zur aktuellen Situation am Milchmarkt und in der Milch- und Molkereiwirtschaft. Die wichtigsten sind im Folgenden aufgeführt:

Datum	**Art des Medienbeitrages**	**Medium**
04.04.2008	Telefoninterview für Radiobeitrag	swr contra, Redaktion Umwelt und Ernährung, Mainz
14.04.2008	Fernsehinterview	ZDF
21.04.2008	Fernsehinterview	ZDF
02.06.2008	Telefoninterview für Radiobeitrag	Nordwest-NWR Frühplaner 1, Radio Bremen
02.06.2008	Telefoninterview mit Presse	Die Zeit, Hamburg
17.06.2008	Fernsehinterview	EuroNews TV,European Affairs, Lyon
17.06.2008	Telefoninterview mit Presse	Neue Osnabrücker Zeitung, Osnabrück
03.07.2008	Telefoninterview mit Presse	Süddeutsche Zeitung, München
24.07.2008	Schriftliches Interview mit Fachpresse	top agrar, Münster
25.07.2008	Telefoninterview mit Presse	Financial Times Deutschland
08.08.2008	Schriftliches Interview mit Werbeagentur	Scholz&Friends, Hamburg im Auftrag der CMA für Beitrag in Bild am Sonntag und Welt am Sonntag am 07.09.2008 zum Thema „…weil die Milch es uns wert ist!“
10.09.2008	Telefoninterview für Radiobeitrag	Bayerischer Rundfunk
22.09.2009	Experte am Podium	Podiumsdiskussion des Bayerischen Rundfunks beim Zentralen Landwirtschaftsfest in München zum Thema: Welche Zukunft hat die Milch- und Molkereiwirtschaft in Bayern

Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen

Weindlmaier, H.

Vorsitzender im Arbeitskreis Ökonomie der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft.

Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes, Berlin.

Gutachter im Zusammenhang mit der Besetzung des Lehrstuhls für „Betriebswirtschaft nachhaltiger Agrarsysteme“, Universität für Bodenkultur, Wien.

Gutacher im Zusammenhang mit der Besetzung der Professorenstelle „Betriebswirtschaftslehre“ an der Fachhochschule Weihenstephan.

Gutacher für die Evaluierung des Teilprojekts „Pro-Ökonom“ im Rahmen des Forschungsprojekts „ProMilch“ zur Errichtung eines Kompetenzzentrums Milch – Schleswig-Holstein (KMSH), Ministerium für Wissenschaft, Wirtschaft und Verkehr des Landes Schleswig-Holstein, Kiel.

Veröffentlichungen

Wienert, M. (2008): Integrierte Kommunikation in Milch verarbeitenden Unternehmen. Dissertation. Online im Internet: http://mediatum2.ub.tum.de/doc/624603/624603.pdf.

Obersojer, Th.; Weindlmaier, H. (2008): Efficient Consumer Response in der Wertschöpfungskette Milch. In: Schriften der Gesellschaft für Wirtschafts- und Sozialwissenschaften des Landbaues e.V., Bd. 43, S. 7-17.

Weindlmaier, H. (2008): Worauf müssen sich die Milcherzeuger einstellen? In: bauernblatt Schleswig-Holstein und Hamburg. 158. Jg., Nr. 5, S. 41-45.

Weindlmaier, H. (2008): Mengensteuerung durch den BDM? Interview in top agrar 9/2008, R12-R13.

Weindlmaier, H. (2008): Entwicklungstendenzen auf dem Milchmarkt: Implikationen für die Milcherzeuger und die Molkereiwirtschaft in Deutschland. Tagungsband zum Themenforum „Agrar- und Ernährungswirtschaft 2020“, 04.12.2008 in Osnabrück. Niedersächsisches Kompetenzzentrum Ernährungswirtschaft, Hochschule Vechta, S. 54-73.

Weindlmaier. H. (2008): Anpassungserfordernisse. Zukunftswege für die bayerische Molkereiwirtschaft. In: Molkereiindustrie, Teil 1: 03/08, S. 32-35.

Weindlmaier, H. (2008): Caratteristiche, sviluppi e strategie della filiera del latte in Germania. In: Edagricole (Hrsg.): XI Rapporto Nomisma sull’ Agricoltura Italiana. La competitività dell’ agricoltura italiana di fronte ai nuovi scenari evolutivi. S. 203-229.

Weindlmaier, H.; Betz, J. (2008): Einsparung durch zweitägliche Abholung. In: Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt. 198. Jg., Nr. 7, S. 32-33.

Weindlmaier, H.; Betz, J.; Buschendorf, H.; Huber, A.; Obersojer, Th.; Ruderer, C. (2008): Die Zukunft des Milchstandortes Bayern: Analyse und Vorschläge zur weiteren Verbesserung der Wettbewerbsfähigkeit. In: Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan, Jahresbericht 2007, S. 40-55.

Weindlmaier, H.; Jantke, C.; Uffelmann, W. (2008): Ansatzpunkte für die Umgestaltung der Wertschöpfungskette Fleisch unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit. In: Spiller, A.; Schulze, B. (Hrsg.): Zukunftsperspektiven der Fleischwirtschaft. Göttingen: Universitätsverlag, S. 31-59.

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie

Adresse:

Weihenstephaner Berg 3
D- 85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-71-3516
Telefax: 08161-71-4492
Internet: http://www.weihenstephan.de/micbio
E-mail: ziel-mikrobiologie@wzw.tum.de

Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Scherer	-3516
Sekretariat:	Brigitte Stable	-3516
	Maria Thole	-3516
Wissenschaftler:	PD Dr. Monika Ehling-Schulz (bis 31.10.2008)	-3851
	Dr. Martina Fricker	-5091
	PD Dr. Thilo Fuchs	-3859
	Dr. Stefanie Goerges	-5570
	Dr. Simone Müller-Hellwig (bis 31.08.2008)	-5091
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Herbert Seiler	-2257
	Dr. Henriette Ullrich	-3518
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Tobias Bauer (seit 16.06.2008)	-5091
	Dipl.Biol. Anne Bleicher	-3945
	Dipl.Biol. Nicole Büchl	-5570
	Dipl.Biol. Elrike Frenzel	-3518
	Dipl.Ing. (FH) Meike Gabert	-3945
	Dipl.Biol. Carsten Kröger	-3859
	Dipl.oec.troph. Evi Lang Halter	-3518
	Mag.rer.nat. Gernot Rieser (seit 01.03.2008)	-5570
	Dipl.Biol. Roman Rösemann (seit 01.05.2008)	-3859
	Dipl.oec.troph. Verena Schmidt	-5570
	Dipl.Biol. Angelika Sell (bis 30.04.2008)	-3945
	Dipl.Biol. Samir Velagic	-5091
Technische Mitarbeiter:	Michaela Bauer	-3504
	Andreas Bischof	-5098
	Angela Felsl	-5357
	Rita Festl	-5566
	Petra Hartberger	-5566
	Gertrud Huith	-3946
	Angela Kempe	-5566
	Hildegard Maier	-5564
	Romy Renner	-3520
	Laura Tschernek (Azubi)	-3520
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-3517

Einführung

An der Abteilung Mikrobiologie des ZIEL arbeiten wir in der Forschung am Schnittpunkt zwischen Lebensmittel und Ernährung. Einerseits stehen Biodiversität und Identifikation von lebensmittelrelevanten Mikroorganismen im Mittelpunkt. Andererseits liegt ein wesentlicher Schwerpunkt der Abteilung auf dem Studium von Krankheitserregern, welche durch Lebensmittel übertragen werden. Verschiedene Arbeitsgruppen befassen sich mit Listeria, Salmonella, Bacillus cereus und pathogenen Escherichia coli - Stämmen.

Die Arbeiten an Krankheitserregern reichen von der Grundlagenforschung bis hin zu stark angewandten, lebensmitteltechnologisch relevanten Fragestellungen. In der Mehrzahl der Projekte werden gentechnische und molekularbiologische Techniken eingesetzt. Unsere praxisbezogenen Forschungsarbeiten werden vielfach in enger Kooperation mit der Milchindustrie durchgeführt.

Die mikrobiologische Unbedenklichkeit ist eines der maßgebenden Qualitätskriterien bei der Beurteilung von Lebensmitteln. Ein Aufgabenbereich der Abteilung erstreckt sich auf Dienstleistungen, insbesondere mikrobielle Diagnostik aller Art für die Lebensmittelindustrie, verbunden mit einer intensiven Beratung bei mikrobiologisch verursachten Produktionsstörungen.

Deutscher Akkreditierungs Rat

DAR

DAC-PL-0503-07-00

In unserem Auftragslabor für Pathogendiagnostik werden Lebensmittelproben im Auftrag der Industrie nach amtlichen Untersuchungsmethoden auf Krankheitserreger untersucht. Fundierte Kenntnisse und langjährige Erfahrung im Umgang mit pathogenen Keimen zeichnen unsere Mitarbeiter aus. Unser Dienstleistungslabor ist nach DIN EN ISO / IEC 17025 akkreditiert (DAC-PL-0503-07-00).

Aus diesen Aktivitäten resultierte über die Jahre eine der größten Mikroorganismensammlungen für lebensmittelrelevante Hefen, Bazillen, coryneforme Bakterien und Listerien (insgesamt über 10.000 Isolate), welche die Grundlage für die Entwicklung der FTIR gestützten Identifizierung von Bakterien und Hefen bildet.

Forschung

Arbeitsgruppe: Identifizierung lebensmittelrelevanter Mikroorganismen

Gruppenleiterin: Mareike Wenning

Der Identifizierung von Mikroorganismen kommt im Bereich der Lebensmittelanalytik eine große Bedeutung zu. So sind mikrobiologische (Fehler-)Analysen ein Muss in der Qualitätskontrolle und -sicherung eines lebensmittelproduzierenden Unternehmens. Sie dienen der Ermittlung des mikrobiologischen Status der Produkte und ggf. der Produktionsstätte, der Risikobewertung im Falle von Produktschäden und der Aufklärung von Kontaminationsrouten. Die Techniken, die zu diesem Zweck eingesetzt werden, sind vielfältig und reichen von klassischen phänotypischen Methoden wie der Bestimmung von Zuckerverwertungsschemata und anderen Enzymprofilen bis hin zu hoch entwickelten molekularbiologischen Systemen wie der real-time-PCR oder DNA-Sequenzierung. Einfache und verhältnismäßig günstige Techniken sind jedoch häufig ungenau und fehlerbehaftet, wohingegen Genauigkeit in der Regel mit hohen Kosten und größerem Aufwand erkauft werden muss. So besteht Bedarf an einer Technik, die verlässliche Ergebnisse mit geringem Kosten- und Personalaufwand erzielt.

Seit nunmehr 12 Jahren arbeitet die Abteilung Mikrobiologie des Z I E L an der Entwicklung der Fourier-transform Infrarot (FTIR)-Spektroskopie, einer Technik, die für den Routineeinsatz prädestiniert und eine vielversprechende Alternative zur Lösung dieses Problems zu sein scheint. Die FTIR-Spektroskopie ist eine einfache, kostengünstige und universell einsetzbare Technik für die Identifizierung von Mikroorganismen und gewinnt seit Jahren zunehmend Akzeptanz in der Lebensmittelanalytik. Sie nutzt die Eigenschaft von Molekülen, infrarotes Licht spezifisch zu absorbieren und in einem Spektrum die Information über die komplette biochemische Zusammensetzung eines Mikroorganismus zu vereinen. Infrarotspektren von Mikroorganismen sind so charakteristisch, dass die Technik auch als ‚fingerprinting technique' bezeichnet wird. Steht eine Datenbank mit Referenzspektren bekannter Organismen zur Verfügung, kann diese zur Identifizierung von Spektren unbekannter Organismen genutzt werden. Die Methode hat einige wesentliche Vorteile gegenüber anderen Methoden. Sie verursacht erstens fast keine laufenden Kosten, da keine Reagenzien und kaum Verbrauchsmaterialien benötigt werden. Zudem ist sie für Laborpersonal sehr leicht zu erlernen und einfach anzuwenden. Die zur Identifizierung genutzten Datenbanken können über eine Erweiterung mit neuen Referenzspektren spezifisch an bestimmte Keimfloren, z.B. betriebsinterne Floren, angepasst werden, und schließlich ist die Technik so sensitiv, dass teilweise auch auf Stammebene eine Differenzierung möglich ist. Dies schafft neue Möglichkeiten zur Aufdeckung von Kontaminationsrouten und der Kontrolle von Starterkulturen.

Der Aufbau von Referenzdatenbanken für wird an der Abteilung Mikrobiologie seit Jahren mit Nachdruck verfolgt. Ausschlaggebend für eine gute und zuverlässige Identifizierung ist neben der Zusammensetzung der Referenzdatenbank, die eine möglichst große Zahl an Arten und Stämmen enthalten sollte, die eindeutige Identifizierung der Referenzstämme. Aus diesem Grund wird zum Aufbau von Referenzdatenbanken die gesamte zur Verfügung stehende Palette an Techniken von der klassischen Mikroskopie bis hin zur DNA-Sequenzierung eingesetzt.

Differenzierung von probiotischen *Saccharomyces cerevisiae*-Stämmen mit FTIR-Spektroskopie und künstlichen neuronalen Netzen

Differentiation of* Saccharomyces cerevisiae *strains by FTIR spectroscopy and artificial neural networks

Nicole Büchl, Mathias Hutzler[1], Henriette Mietke-Hofmann[2]

[1] Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II
[2] Staatliche Betriebsgesellschaft für Umwelt und Landwirtschaft, 04159 Leipzig, Deutschland

Derzeit wächst im Bereich der Lebens- und Futtermittelmikrobiologie das Interesse an der Differenzierungsmöglichkeit von probiotischen und nicht-probiotischen Stämmen derselben Spezies, die häufig mit der Qualitätsbeurteilung von probiotischen Produkten einhergeht. Aus diesem Grund wurde ein verlässliches System zur Identifizierung und Klassifizierung auf Stammebene etabliert, welches eine Unterscheidung zwischen probiotischen und ubiquitären *Saccharomyces cerevisiae*-Stämmen ermöglicht. Das System basiert auf der Kombination von FTIR-Spektroskopie und künstlichen neuronalen Netzen (KNN).

FTIR-Spektroskopie wird bereits seit einigen Jahren erfolgreich zur Identifizierung von Mikroorganismen in verschiedenen Bereichen eingesetzt. Einen Vorteil dieser physikalischen Methode stellen flexibel anpassbare Referenzdatenbanken dar, die einen optimalen Einsatz in unterschiedlichen Anwendungsbereichen zulassen. Die Kombination der FTIR-Spektroskopie mit KNN ermöglicht darüber hinaus das Lösen komplexer Klassifizierungsprobleme, da mit Hilfe dieser mathematischen Datenverarbeitung detailliertere Informationen aus den Spektren extrahiert werden können. KNN basieren auf multivariater Statistik und können durch ein Training mit Referenzdaten Zuordnungen von Spektren zu vorgegebenen Klassen erlernen. Ein hierarchischer Aufbau des KNN erhöht zudem die Flexibilität, wodurch ein größeres Klassifizierungspotential erzielt werden kann. So wird die Unterscheidung sehr nah verwandter und damit phänotypisch ähnlicher Arten bis hin zur Differenzierung auf Stammebene ermöglicht.

Das etablierte Klassifizierungssystem umfasst Isolate der fünf in der EU zugelassenen probiotischen Futtermittelzusatzstämme (CNCM I-1077, CNCM I-1079, NCYC 1026, NCYC Sc47, MUCL 39885) sowie probiotische Isolate aus Humanpräparaten und ubiquitäre Isolate, die aus Lebensmittel- und Umweltproben stammen. Zur Entwicklung des KNN wurden 108 Isolate, die zuvor mittels molekularbiologischer Referenzmethoden (dHPLC und δ-PCR) differenziert wurden, verwendet.

Die hierarchische Struktur des schließlich resultierenden KNN setzt sich aus einem Toplevelnetz zur Differenzierung zwischen probiotischen und ubiquitären Stämmen und einem Subnetz zur Unterscheidung zwischen verschiedenen probiotischen Stämmen zusammen (Abb. 1). Die beiden probiotischen Stämme NCYC 1026 und NCYC Sc47 konnten mit den angewandten Referenzmethoden nicht voneinander unterschieden werden und sind daher auf der zweiten Ebene in einer Gruppe zusammengefasst.

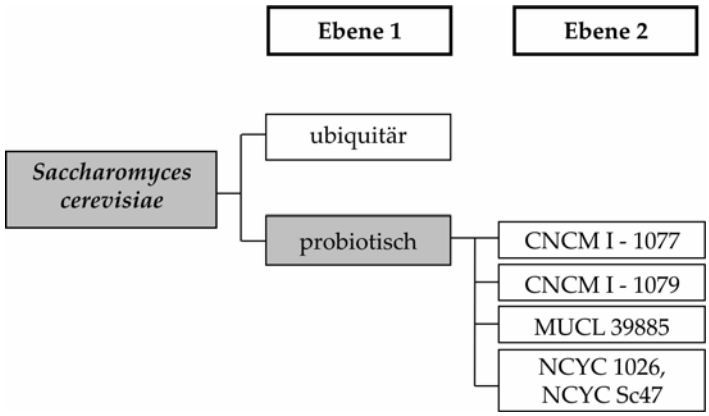


Abb. 1: Hierarchische Struktur des erarbeiteten KNN zur Differenzierung von probiotischen und ubiquitären S. cerevisiae. Grau hinterlegt sind die beiden Einzelnetze, aus denen sich das Gesamtnetz zusammensetzt.

Die interne Validierung mit 108 Spektren der Trainingsstämme ergab bereits 99,1% korrekte Identifizierungen. In einer abschließenden externen Validierung wurden dem System 965 Spektren von 63 Isolaten, die nicht zur Entwicklung des Systems verwendet wurden und diesem daher völlig unbekannt waren, präsentiert. Auf diese Weise wurde die in der Praxis zu erwartende Genauigkeit des Systems ermittelt. Die Differenzierung zwischen probiotischen und ubiquitären *S. cerevisiae* war mit einer Quote von 98,2% korrekt klassifizierten Spektren ausgesprochen zuverlässig. Auch für die zweite Ebene des KNN zur Unterscheidung der probiotischen Stämme wurden für Spektren von zwei probiotischen Stämmen eine Rate von annähernd 100% erzielt. Diese hohe Erfolgsrate für beide Ebenen des KNN belegt die verlässliche Einsatzfähigkeit des Systems in der Praxis.

Analyse der Mikroflora von Rohmilch mit FTIR-Spektroskopie

Flora analysis of raw milk by FT-IR spectroscopy

Verena Schmidt

Kenntnisse über den mikrobiellen Status von Rohmilch stellen eine wichtige Voraussetzung für die weitere Verarbeitung dar. Bis dato verfügbare Floraanalysen von Rohmilch wurden bereits vor über 30 Jahren mit Methoden der klassischen Mikrobiologie wie Phasenkontrast-Mikroskopie und Gram-Färbung durchgeführt. Seitdem konnte die Rohmilchqualität aufgrund stetig verbesserter Melkhygiene und modifizierten Melkverfahren kontinuierlich gesteigert werden. Außerdem wurden im Verlauf der letzten Jahrzehnte viele neue Bakteriengattungen und -spezies entdeckt und beschrieben. Dadurch wurde die Erfassung neuer Daten zur mikrobiellen Zusammensetzung von Rohmilch erforderlich.

In der aktuellen Studie wurden die mikrobiellen Floren von fünf verschiedenen Molkerei-Milchen und drei Einzelhof-Milchen im Jahresverlauf untersucht, welche jeweils steril aus dem Sammeltank entnommen worden waren. Von jeder Milchprobe wurden hundert Isolate von Plate Count Agar mit Magermilchzusatz (1%) quantitativ ausgewählt und mittels FTIR-Spektroskopie identifiziert. Anhand des Ergebnisses wurden die Isolate einer der folgenden taxonomischen Gruppen zugeordnet: strikt aerobe Gramnegative, fakultativ anaerobe Gramnegative, High GC Grampositive, Milchsäurebakterien, Bazillen, andere Grampositive und Hefen (Abb. 2).

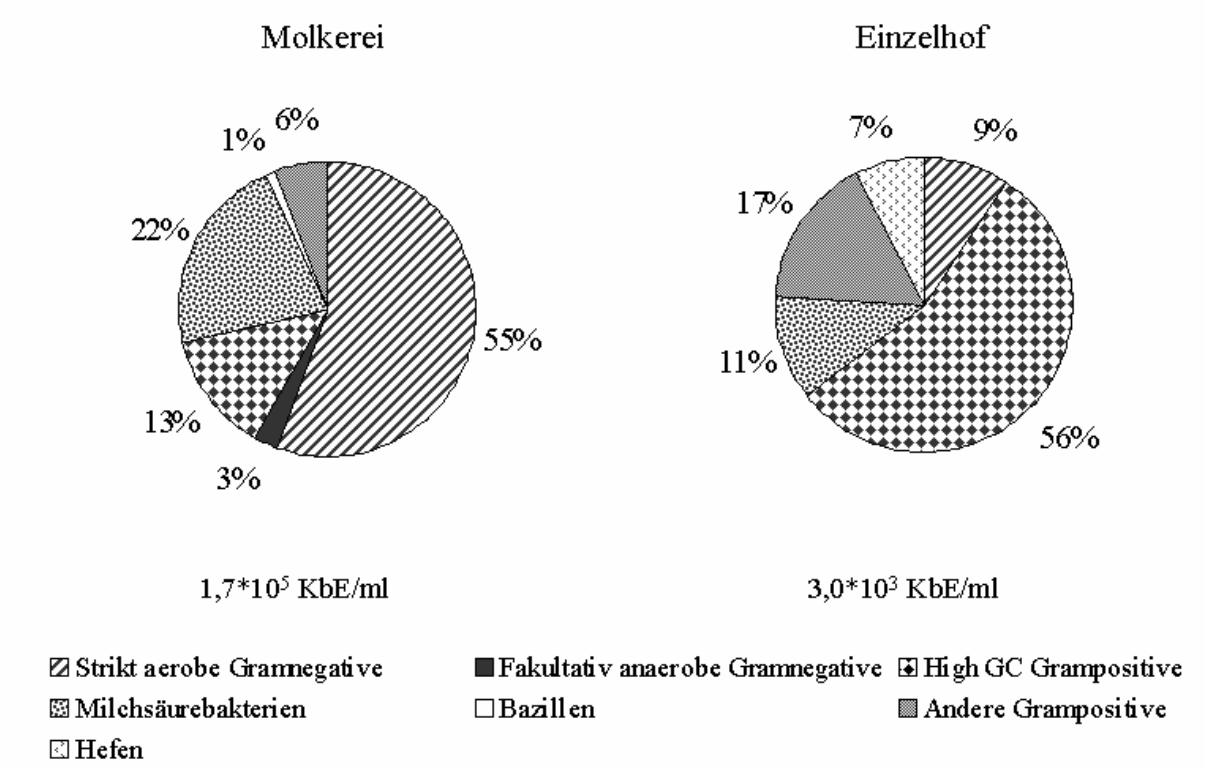


Abb. 2: Vergleich der mesophilen Flora und der Keimzahlen von Rohmilch einer Molkerei bzw. eines Einzelhofs

Alle Milchfloren von Molkerei und Einzelhof sind jeweils sehr komplex zusammengesetzt und weisen eine hohe Biodiversität auf. So enthielt eine Probe des Einzelhofs 24 verschiedene Gattungen bzw. 40 Spezies. Während in den Floren der Molkereimilchproben jedoch strikt aerobe und fakultativ anaerobe gramnegative Bakterien (*Pseudomonas, Acinetobacter, Enterobacteriaceae*) mit Anteilen von bis zu 93% dominieren, wurden in den Einzelhofproben v.a. High GC Grampositive der Gattungen *Microbacterium, Corynebacterium* sowie *Kocuria* und andere Grampositive, d.h. *Staphylococcus* spp., detektiert. Auch unterscheiden sich die Keimzahlen der Molkereimilchen mit durchschnittlich $3{,}7*10^5$ KbE/ml ($8*10^4$ KbE/ml – $1{,}2*10^6$ KbE/ml) um 2 Log-Einheiten von denen der Einzelhofproben mit durchschnittlich $5{,}9*10^3$ KbE/ml ($3{,}0*10^4$ KbE/ml - $8{,}7*10^4$ KbE/ml). Diese Unterschiede in Flora und Keimzahlen lassen sich auf eine längere Kühllagerung der Molkereimilchen nach dem Ermelken und einer damit verbundenen Floraverschiebung in Richtung der psychrotoleranten gramnegativen Bakterien erklären. Bazillen, d.h. vornehmlich *Bacillus cereus*, konnten in kleiner Anzahl zwischen 1 und 8% in sechs der acht Floren nachgewiesen werden. Hefen wurden nur in fünf untersuchten Floren in sehr geringen Anteilen (1 bzw. 7%) detektiert.

Zwischen Florazusammensetzung und Jahreszeit konnte keine Korrelation festgestellt werden. Dies ist wahrscheinlich auf ganzjährig gleiche Haltungs- und Fütterungsbedingungen der Milchkühe zurückzuführen. So erhalten die Tiere des Einzelhofs das ganze Jahr hindurch Silagefütterung und leben ausschließlich in geschlossener Stallhaltung.

Mittels FTIR-Spektroskopie nicht bzw. nicht eindeutig identifizierbare Isolate wurden mithilfe der 16S rDNA bzw. im Fall der *Staphylococcus* spp. mittels *rpoB* -Sequenzanalyse identifiziert.

Pro Milchprobe wurden bis zu 43 Sequenzierungen durchgeführt, so dass die FTIR-Referenzdatenbanken um insgesamt 137 Bakterienstämme ergänzt und somit signifikant erweitert werden konnten. Neben bekannten, d.h. valide beschriebenen, Bakterienspezies wurden aus den insgesamt acht Milchproben auch sieben bisher nicht beschriebene Bakterienarten isoliert, deren Einfluss auf die Milchqualität noch eruiert werden muss. Die hohe Inzidenz unbekannter Bakterienarten im Substrat Milch verbunden mit der Komplexität der Florazusammensetzung zeigt deutlich, dass auf diesem Gebiet noch Forschungsbedarf besteht.

Arbeitsgruppe: Toxinbildung und Identifizierung von *Bacillus cereus*

Gruppenleiterin: Monika Ehling-Schulz

Frau PD DR. Monika Ehling-Schulz wurde zum 1.11.2008 auf eine Professur für Lebensmittelmikrobiologie an die Veterinärmedizinische Universität Wien berufen.

Frau Ehling-Schulz wird mit unserer Abteilung auch künftig über wissenschaftliche Kooperationen eng verbunden bleiben.

Das endosporenbildende Bakterium *Bacillus cereus* ist in der Milchindustrie und weiteren Zweigen der Lebensmittelindustrie eine ernstzunehmende Kontaminationsquelle. Da einige *B. cereus* Stämme Toxine produzieren, die gastrointestinale Erkrankungen hervorrufen, stellen diese bakteriellen Kontaminanten für den Konsumenten eine potentielle Gefahr dar. Das Toxizitätspotential der Stämme ist jedoch sehr unterschiedlich; so reicht das Spektrum von Stämmen, die als Probiotika Futtermitteln zugesetzt werden, bis zu stark toxischen Stämmen, die bereits für Todesfälle verantwortlich waren.

Prinzipiell kann *B. cereus* zwei Formen von Lebensmittelvergiftungen hervorrufen: Emesis und Diarrhöe. Das hitzestabile emetische Toxin Cereulid löst Erbrechen aus, während hitzelabile Enterotoxine Diarrhöe zur Folge haben. In der Regel sind die Beschwerden nach einem Tag abgeklungen, aber es gibt auch schwerwiegende Fälle, die einer klinischen Behandlung bedürfen und in einzelnen Fällen tödlich enden können. Die genaue Erfassung von Daten bezüglich Lebensmittelvergiftungen, die durch *B. cereus* verursacht wurden, ist sehr schwierig, weil Verwechslungen mit anderen Lebensmittelpathogenen möglich sind. Der emetische Typ der Erkrankung weist die gleichen Inkubationszeiten und Symptome wie *Staphylococcus aureus* Intoxikationen auf, der diarrhöische Typ spiegelt die Symptome einer *Clostridium perfringens* Infektion wider. Erschwerend kommt hinzu, dass gerade starke Toxinproduzenten häufig einen *B. cereus* untypischen Phänotyp aufweisen und mit den herkömmlichen §64 LFGB Methoden nicht immer eindeutig identifiziert werden können. Zum Nachweis der Diarrhöe verursachenden Enterotoxine gibt es kommerziell erhältliche immunologische Assays und molekulare Nachweissysteme, wohingegen entsprechende Systeme zum schnellen und einfachen Nachweis von emetische *B. cereus* Stämme für Routinelabors lange Zeit nicht zur Verfügung standen, da die molekularen Grundlagen der Toxinproduktion unbekannt waren. Kürzlich gelang es uns jedoch die Gene, die für die biochemische Synthese des emetischen Toxins verantwortlich sind, zu identifizieren. Diese genetische Information bildet die Grundlage für eine detaillierte Untersuchung der Toxinsynthese und ermöglichte uns die ersten molekularen Assays zur Identifizierung von emetischen Toxinproduzenten zu entwickeln.

Regulation und molekulare Grundlagen der emetischen Toxinproduktion in *Bacillus cereus*

Regulation and molecular basis of emetic toxin production in Bacillus cereus

Genia Lücking und Monica Dommel

Cereulid, das emetische Toxin von *Bacillus cereus*, ist ein kleines zyklisches Depsipeptid, das mittels eines Enzymkomplexes, einer sog. nicht-ribosomalen Peptidsynthetase (NRPS), synthetisiert wird. Kürzlich gelang es die entsprechenden Gene der Cereulidsynthetase zu identifizieren, welche sich auf einem pXO1-ähnlichen Plasmid befinden (Ehling-Schulz *et al.*, 2005, 2006).

Die Sequenzierung des gesamten Lokus lieferte sieben potenzielle *ces*-Gene, deren Funktion über Homologievergleiche mit bekannten bakteriellen NRPSs teilweise bestimmt werden konnte, während die Regulation dieses Enzymkomplexes weitgehend ungeklärt blieb.

Umfangreiche Trankriptionsanalysen mittels RACE und quantitativer RT-PCR ergaben, dass die *ces*-Gene von einem zentralen Promotor als polycistronisches Transkript exprimiert werden und die Transkription dieser Gene während des exponentiellen Wachstums von *B. cereus* maximal ist. Untersuchungen zur Genregulation der Cereulidsynthetase in starken und schwachen Toxinproduzenten deuten darauf hin, dass die Regulation der Toxinproduktion nur zum Teil auf der Transkriptionsebene stattfindet, es darüber hinaus aber noch weitere Regulationsebenen der Toxinsynthese gibt. Mittels Mutagenese-Studien des emetischen Referenzstammes *B. cereus* F4810/72 wurde die Wirkung bekannter Transkriptionsfaktoren auf die Cereulid Produktion getestet. Dabei stellte sich heraus, dass die Synthese von Cereulid nicht von dem *B. cereus* spezifischen Virulenzgen-Reglulator PlcR abhängt, sondern dem Spo0A-AbrB Regulon angehört. DNA-Bindungsstudien anhand von Gelshift-Analysen zeigten, dass der „transition state factor“ AbrB *in-vit*ro in der Lage ist an den Hauptpromotor des *ces* Operons zu binden und somit als direkter Repressor der *ces* Transkription fungieren kann (Abb. 3). Darüber hinaus konnten weitere Transkriptions- und Umweltfaktoren identifiziert werden, die die Bildung von Cereulid beeinflussen, woraus zu schließen ist, dass die emetische Toxinproduktion Teil eines komplexen regulatorischen Netzwerks ist. Es werden weitere proteinbiochemische und molekularbiologische Untersuchungen nötig sein, um den genaue Mechanismus der Cereulidproduktion *in vivo* aufzuklären und das sehr unterschiedliche Toxizitätspotential verschiedener emetischer Stämme zu verstehen.

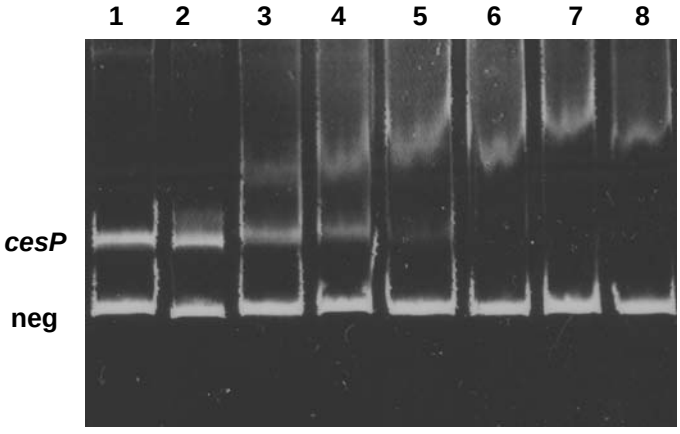


Abb. 3: In vitro Bindung von AbrB an die Promotorregion des ces Operons. (1) kein Protein; (2) 2 pmol; (3) 4 pmol; (4) 6 pmol; (5) 8 pmol; (6) 10 pmol; (7) 12 pmol; (8) 14 pmol AbrB. Die unterschiedlichen AbrB Mengen wurden mit jeweils 1 pmol der ces Promotorsonde and 1 pmol eines 300 bp beliebigen DNA-Fragments (neg) inkubiert.

Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln des Sondervermögens der Milch- und Fettwirtschaft in Bayern (Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten) gefördert.

Monitoring und Detektion der Toxinproduktion von emetischen *Bacillus cereus* in Lebensmitteln

Monitoring and detection of toxin production by emetic Bacillus cereus in food

Elrike Frenzel, Tobias Bauer und Claudia Blöchinger

Das emetische Toxin Cereulid ist ein Peptidtoxin, das aus nicht proteinogenen Bausteinen (D-Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren) aufgebaut ist und durch einen Multienzymkomplex nicht-ribosomal synthetisiert wird (Abb. 4).

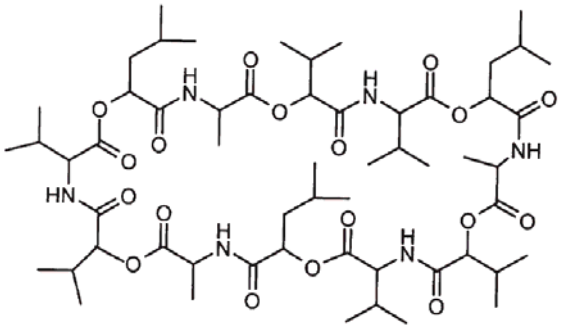


Abb. 4: Struktur von Cereulid

Die Toxinbildung findet bereits im Lebensmittel oder in Lebensmittelrohstoffen statt. Aufgrund der geringen Molekularmasse (1,2 kDa) und der außerordentlich hohen Hitze- und pH-Stabilität kann das Toxin weder in Filtrationsprozessen (z.B. bei der Lebensmittelproduktion) noch durch Erhitzung oder anderweitige Produktprozessierungs-schritte aus dem Lebensmittel entfernt werden. Zudem sind die alternierenden Ester- und Amidbindungen des Peptids durch Verdauungsenzyme des menschlichen Gastrointestinaltrakts nicht spaltbar. Das Toxin löst nach Ingestion Übelkeit und Erbrechen aus. Darüber hinaus wurden auch immunomodulatorische Wirkungen, das Auslösen von Hepatitis und einige Vergiftungsfälle mit tödlichem Ausgang beschrieben. Im Sinne des Verbraucherschutzes und der Qualitätssicherung im Rahmen von HACCP-Konzepten ergibt sich damit die Notwendigkeit einer Entwicklung von Präventionsstrategien, um die Cereulidsynthese im Lebensmittel zu unterbinden. Im Rahmen eines AiF geförderten Projektes findet daher ein Monitoring der Cereulidproduktion und der Determinanten der Toxinsynthese in Kulturmedien und in Lebensmitteln statt.

Über die genauen abiotischen und biotischen Faktoren, die sich hemmend oder fördernd auf die Cereulidsynthese auswirken, ist bisher wenig bekannt. Daher wurde zunächst die Belastung verschiedener Produkte und Produktvorstufen mit *Bacillus cereus* untersucht, um eine Risikoeinschätzung für einzelne Lebensmittel hinsichtlich einer Toxinproduktion geben zu können. Das MPN-Verfahren zur Bestimmung von präsumptiven *Bacillus cereus* in Lebensmitteln (Amtl. Sammlung § 64 LFGB) ergab eine Kontaminationssrate von 57%. In 11% der Lebensmittel konnten emetische *B. cereus*-Stämme mittels Cereulidsynthetase-spezifischer PCR detektiert werden. Unter Einsatz eines biolumineszenten *Bacillus cereus*-Indikatorstammes erfolgte im Weiteren eine Einteilung von Lebensmitteln bezüglich ihres Toxinbildungspotentials.

Nach Visualisierung der Promotoraktivität des Cereulidsynthetase-Gens durch Biolumineszenzaufnahmen konnten handelsbezogene und durch Projektpartner bereitgestellte Produkte in die Gefährdungskategorien insensitiv, sensitiv und hochsensitiv unterteilt werden. Die Produkte der Hochrisikogruppe beinhalteten häufig hohe Mengen an schnell metabolisierbaren Kohlenstoffquellen, oder waren mit Spurenelementen und Vitaminen angereichert, wohingegen Lebensmittel der Kategorie insensitiv meist niedrige pH- und a_w-Werte oder einen hohen Kakao- und Fettanteil aufwiesen.

In initialen Studien wurde die Cereulidbildung in unbehandelten oder artifiziell mit *Bacillus cereus* kontaminierten Lebensmitteln mittels Zellkultur- und LC-MS-basierter Nachweismethoden detektiert und quantifiziert. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, Pilotprojekte zur Hemmung der Toxinsynthese im Lebensmittel durchzuführen und das von einzelnen Lebensmitteln ausgehende Risikopotential für den Verbraucher exakter zu untersuchen. Des Weiteren wird das bakterielle Toxin aus einem emetischen Stamm von *Bacillus cereus* mittels verschiedener Extraktionsmethoden isoliert und dessen Wirkung genauer charakterisiert, um neue Präventionsstrategien für von *Bacillus cereus* ausgelöste Lebensmittelvergiftungen zu entwickeln.

Das Vorhaben wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie in Rahmen der industriellen Gemeinschaftsforschung der AiF (Forschungsvorhaben 15186 N) gefördert und ist Teil des DFG-geförderten Graduiertenkollegs 1482.

Validierung von *Bacillus* Stämmen als Modell für *Bacillus anthracis*

Validated Bacillus strains as model systems for Bacillus anthracis

Martina Fricker, Bo Segerman, Joakim Ågren und Rickard Knutsson

Das Biotracer EU Projekt (www.biotracer.org), ein Projekt des 6. Rahmenprogramms, beschäftigt sich mit dem Aufspüren und der Verfolgung versehentlicher und/oder beabsichtigter Kontaminationen in unterschiedlichen Lebensmittel- und Futtermittelsystemen. Ein mögliches Kontaminationsszenario ist hierbei die absichtliche Kontamination von Lebensmittel- oder Futtermittelsystemen mit Sporen-bildenden Mikroorganismen am Beispiel von *Clostridium botulinum* und *Bacillus anthracis*. Beide werden als potentielle Bioterrorismus-Organismen eingestuft. *B. anthracis* ist zusätzlich in der Risikogruppe 3 klassifiziert, daher sind im Umgang mit diesem Mikroorganismus erweiterte Sicherheitsmaßnahmen notwendig, die nur in Laborräumen mit Sicherheitsstufe 3 (Bio-Safety Level (BSL) - 3) gegeben sind. Um die Entwicklung und Optimierung neuer Systeme zum Nachweis und zur Charakterisierung von *B. anthracis* zu erleichtern, werden im Rahmen des Biotracer-Projektes Modelle für die Arbeit an *B. anthracis* Sporen benötigt.

In der Vergangenheit wurden verschiedene Mitglieder der Spezies *Bacillus* als Modell für *B. anthracis* eingesetzt, wie beispielsweise *B. subtilis*, *B. atrophaeus/B. globigii*, und *B. thuringiensis*. Diese Modelle zeigten aber häufig Unterschiede im direkten Vergleich mit *B. anthracis*. Die Auswahl geeigneter Stämme ist somit von entscheidender Bedeutung. Im Rahmen des Biotracer-Projektes wurden ausgehend von genetischen Merkmalen geeignete *B. cereus* Isolate ausgewählt und anschließend hinsichtlich der phänotypischen Eigenschaften ihrer Sporen direkt mit *B. anthracis* verglichen. Hierzu wurden Protokolle zur Bestimmung der Hitzestabilität, der Hydrophobizität und des Auskeimverhaltens der Sporen so weiterentwickelt, dass sie auch unter den für *B. anthracis* notwendigen Sicherheitsmaßnahmen durchführbar sind. Die hierfür nötigen Arbeitsschritte sind in Abb. 5 kurz skizziert.

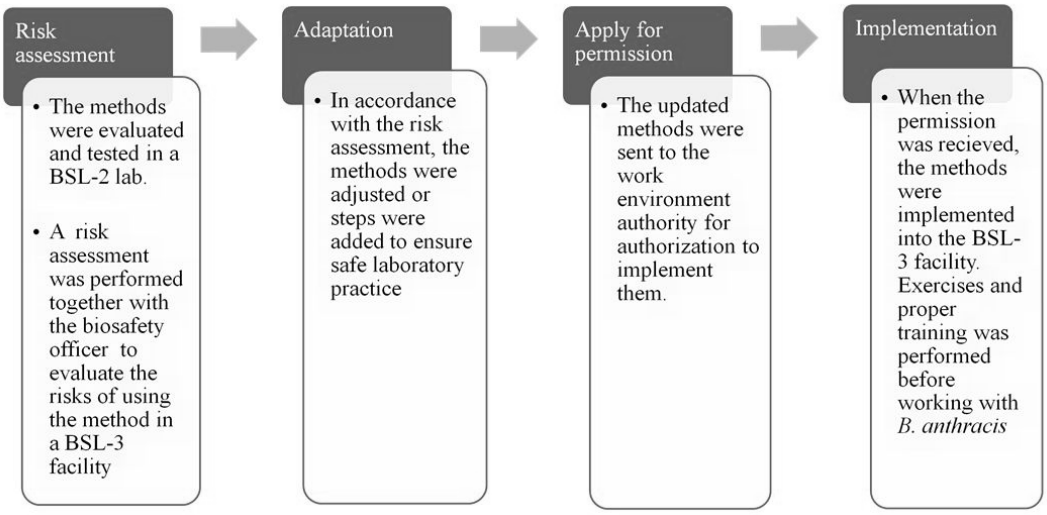


Abb. 5: Ablaufplan für die Implementierung der Methoden zur phänotypischen Sporencharakterisierung unter Bio-Safety Level (BSL) - 3 Bedingungen.

Durch den direkten Vergleich der phänotypischen Sporen-Eigenschaften von ausgewählten *B. cereus* und *B. anthracis* Stämmen konnten geeignete Modell-Stämme für Arbeiten an *B. anthracis* ausgewählt werden. Diese können nun zur Evaluierung der neu entwickelten Methoden zum Nachweis und zur Charakterisierung von *B. anthracis* im Rahmen des Biotracer Projektes eingesetzt. Die Implementierung der Methoden zur phänotypischen Charakterisierung von *Bacillus* Sporen unter BSL-3 Bedingungen wurde während eines Aufenthaltes von Martina Fricker an der SVA (Statens Veterinärmedicinska Anstalt) in Schweden durchgeführt und vom Biotracer Mobility Grant gefördert.

Dieses Projekt wurde im Rahmen des EU Projektes BIOTRACER (Contract No.: 036272) finanziell gefördert.

Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Assoziation von *Yersinia enterocolitica* mit Invertebraten

Association of* Yersinia enterocolitica *with invertebrates

Roman Rösemann

Die Gruppe der Yersinien umfasst 13 verschiedene Arten, darunter die drei humanpathogenen Arten *Yersinia pestis*, den Erreger der Pest, sowie *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica*, zwei Keime, die gastrointestinale Erkrankungen in Säugetieren hervorrufen können. Bis auf *Y. pestis*, ein Bakterium, das auf einen komplexen Lebenszyklus mit Nagetieren als Reservoir und Flöhen als Überträger angewiesen ist, sind die Vertreter der Gattung *Yersinia* in der Natur weit verbreitet. Die Übertragung dieser Bakterien, insbesondere der humanpathogenen, kann somit auch von der Umwelt auf den Menschen erfolgen. Während die für den Menschen krankheitsauslösenden Faktoren von Yersinien mittlerweile gut untersucht sind, ist über die Molekularbiologie ihrer Vermehrung außerhalb des Menschen noch wenig bekannt. Zwar wurde kürzlich gezeigt, dass *Y. pestis* sowie *Y. pseudotuberculosis* auch den Nematoden *Caenorhabditis elegans* infizieren können, die Assoziation von *Y. enterocolitica* mit Invertebraten hingegen war bislang unerforscht.

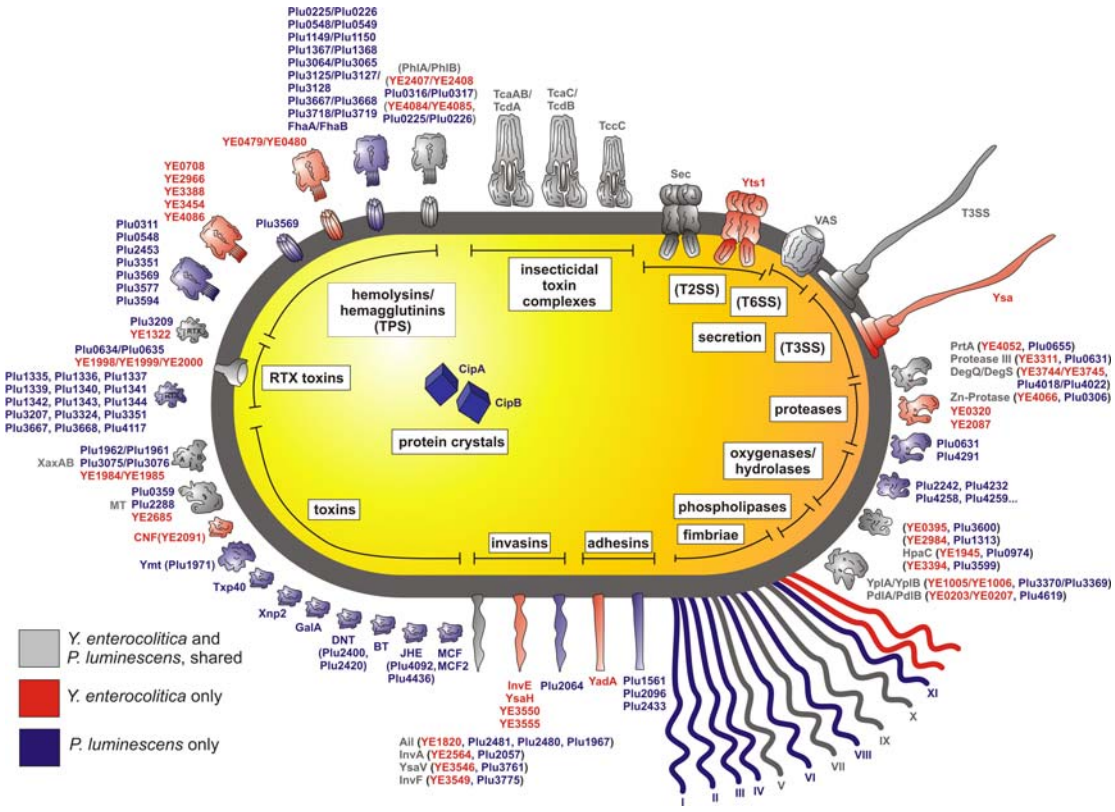


Abb. 6: Genomvergleich von Y. enterocolitica und P. luminescens (Ausschnitt). Gemeinsame und Art-spezifische Virulenzfaktoren sind dargestellt (aus: Heermann and Fuchs, BMC Genomics 9:40, 2008).

Auf der Suche nach kälte-induzierten Genen in *Y. enterocolitica*, die für die Anpassung und das Überleben dieses Mikroorganismus bei niedrigen Wachstumstemperaturen erforderlich sind, entdeckte unsere Arbeitsgruppe eine für den *Y. enterocolitica* Stamm W22703 spezifische, temperaturregulierte Pathogenitätsinsel, die so genannte *tc*-PAI^{Ye} (*toxin complex pathogenicity island of Y. enterocolitica*), deren Gene für die insektiziden Toxinkomplexe (Tc) kodieren. Diese kommen auch in dem mit Nematoden assoziierte, gegenüber Insektenlarven hochpathogenen Bakterium *Photorhabdus luminescens* vor. Ein Vergleich der Genome von *P. luminescens* und *Y. enterocolitica*, die sich in ihren Lebenszyklen erheblich voneinander unterscheiden, erbrachte interessante Einblicke in die Evolution bakterieller Pathogenität und führte zur Identifikation neuer potentieller Virulenzfaktoren der Gattung *Yersinia* (Abb. 6).

Obwohl von *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* bereits länger die *in silico* Daten vorlagen, gelang es unserer Arbeitsgruppe erstmals, am Beispiel von *Y. enterocolitica*, das Vorkommen der *tc*-Gene in Yersinien mit der Aktivität gegenüber Insekten in einen kausalen Zusammenhang zu bringen. Diese insektizide Aktivität wurde in einem Bioassay mit Larven der Wachsmotte getestet, indem an die Larven Kulturen von *Yersinia* spp. verfüttert wurden. Wie Tabelle 1 zu entnehmen ist, weisen die Yersinia-Arten eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential auf. Des Weiteren wurde durch PCR-Analyse an 70 verschiedenen *Y. enterocolitica* Isolaten gezeigt, dass das Vorkommen und die Homologie der *tc*-PAI^{Ye} innerhalb dieser Spezies eng an die Einteilung in Biovare gekoppelt sind. Dementsprechend wies das hochpathogene Biovar 1B, welches die *tc*-PAI^{Ye} nicht trägt, keinerlei insektizides Potential auf, die Vertreter der schwachpathogenen Biovare 2-5 hingegen sind aktiv gegenüber Insekten (Tab.1).

Tabelle 1: Insektizide Aktivität von *Yersinia* spp. gegenüber *G. mellonella*.

Stamm	***tc*-PAI^{Ye}**	**Gesamtzahl**	**tot**	**lebendig**	**tot [%]±sd**
Y. enterocolitica 2594	präsent	79	70	9	**90±9**
Y. enterocolitica 4466	abwesend	96	81	15	**88±11**
Y. mollaretii	präsent	64	54	10	**84±5**
Y. bercovieri	abwesend	64	51	13	**81±11**
Y. ruckeri	abwesend	85	53	32	**53±21**
W22703-tcaA*::Tn*5 lux	*präsent, aber* tcaA *knockout*	*93*	*48*	*45*	***51±13***
W22703	präsent	*114*	*52*	*62*	***41±17***
Y. aldovae	abwesend	68	27	41	**41±6**
Y. kristensenii	abwesend	88	20	68	**20±12**
Kontrollen					
S. typhimurium	abwesend	88	20	68	**18±9**
DH5α	abwesend	63	7	56	**13±6**
LB		64	3	61	**5±0**

Wir versuchen derzeit Fragestellungen hinsichtlich der Regulation der *tc*-Gene im Zusammenhang mit den LysR-ähnlichen Regulatoren sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zu klären. Um einen tieferen Einblick in die Assoziation von *Y. enterocolitica* mit Invertebraten zu gewinnen, wird nun zusätzlich der Modellorganismus *C. elegans* herangezogen.

Neben der möglichen Anwendung der Toxinkomplexe in der Landwirtschaft, welche als Alternative zum *Bacillus thuringiensis* Toxin diskutiert werden, liefern die erhobenen Resultate wichtige und neue Einblicke in den Lebenszyklus, die Persistenz, die Verbreitung und die Übertragung des humanpathogenen Erregers *Y. enterocolitica*, die in Zukunft für die präventive Bekämpfung der Yersiniosen relevant sein können.

Identifizierung von strukturellen und metabolischen Targets in *Listeria monocytogenes* zum Auffinden antilisterieller und generell antibakterieller Substanzen

Identification of structural and metabolic targets in Listeria monocytogenes for antilisterial and antibacterial substances

Kristina Schauer

Vier der sechs bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, die beiden anderen, *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii*, können eitrige Entzündungen von Hirnhaut und Gehirn (Enzephalomeningitis) hervorrufen oder Totgeburten auslösen. Obwohl *Listeria*-Infektionen relativ selten vorkommen, sind die Bakterien vor allem in der Lebensmittelindustrie gefürchtet, weil sie sich in Obst, Gemüse, Fisch, vor allem aber in der Milch- und Fleischprodukten vermehren. Mit der verunreinigten Nahrung gelangen die Keime in den Darm und von dort aus in zahlreiche Organe des Körpers. *Listeria monocytogenes* ist ein fakultativ intrazelluläres Bakterium und kann sich sowohl extrazellulär als auch intrazellulär in Wirtszellen vermehren.

Als Wirtszellen können entweder professionell phagocytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagocytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Cytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* jedoch von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intracytoplasmatische Lebensweise ist aber die Folge von einer Reihe besonderer Anpassungen des Pathogens, worüber nur wenig bekannt ist.

Um Gene zu identifizieren, die für die intrazelluläre Lebensphase für *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind, wurde eine *L. monocytogenes* EGD Insertion-Mutantenbank bereits vollständig im Zellkultursystem auf Mutanten selektioniert, die zwar im Vollmedium wildtypisches Verhalten zeigen, intrazellulär in Caco2-Epithelzellen in ihrer Replikationsfähigkeit jedoch deutlich vermindert sind. Die anschließende Identifizierung der in den entsprechenden Insertionsmutanten inaktivierten Gene ergab erste Aufschlüsse über die Genfunktion und ihre Bedeutung für das intrazelluläre Überleben an. Beispielhaft wurden Mutanten näher charakterisiert, die in am Thiamin-Metabolismus beteiligten Genen mutiert sind. So konnte gezeigt werden, dass während der intrazellulären Replikation von Listerien sowohl die Thiamin-Aufnahme wie auch die *de novo*-Biosynthese von Thiamin wichtig sind (Abb. 7). In Zusammenarbeit mit Jürgen Stolz (ZIEL, Abteilung Biochemie) konnte darüber hinaus das erste Mal ein für den Thiamin-Transport verantwortliches Protein bei einem Gram-negativen Bakterium charakterisiert werden (Abb. 3). Es handelt sich hierbei um ein Thiamin-bindendes Protein, dessen zugeordnete Transportfunktion noch nicht identifiziert werden konnte.

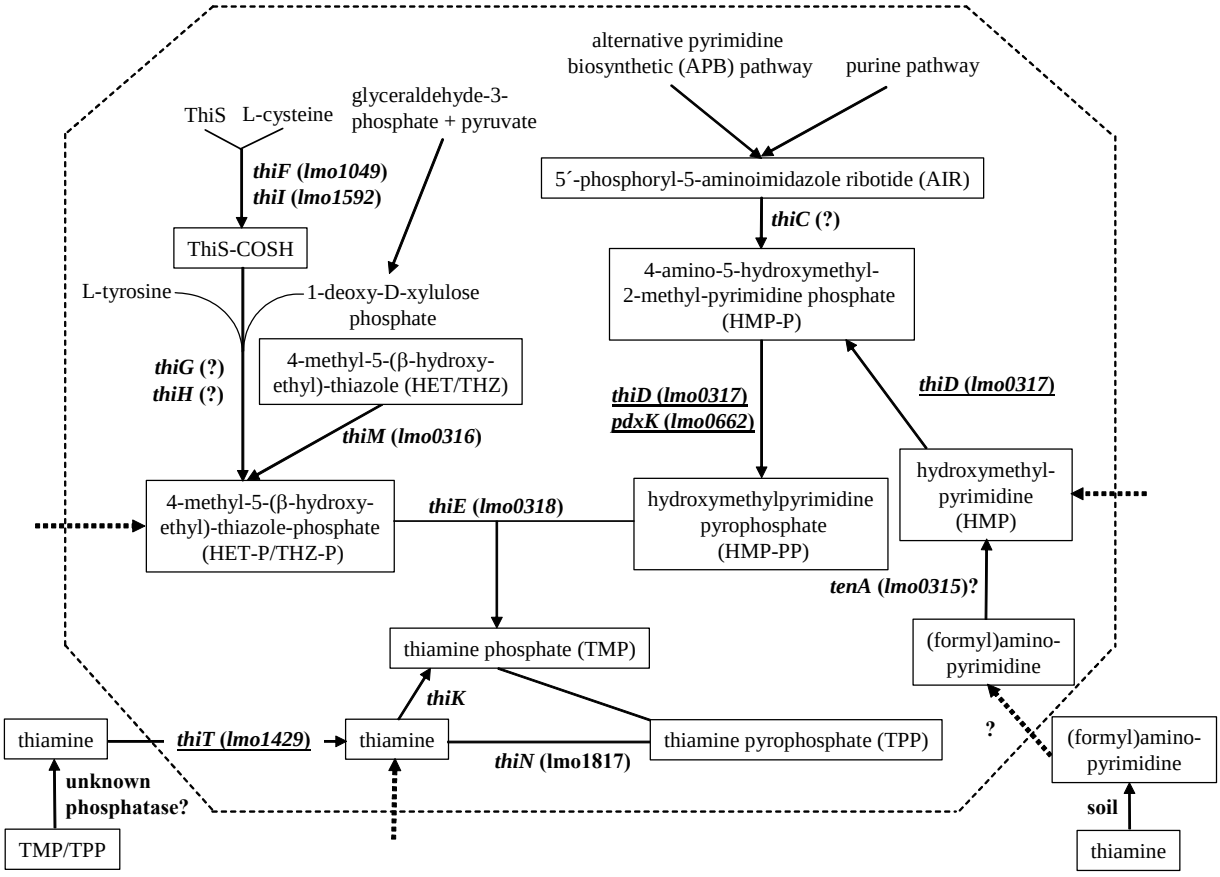


Abb. 7: Der Thiamin-Metabolismus von L. monocytogenes. Gezeigt sind die für die de novo-Biosynthese wichtigen Gene. Unterstrichene Gene wurden deletiert (aus: Schauer et al., J. Bacteriol. in press, 2009).

Die bisherigen Auswertungen der identifizierten Insertionsmutanten konnten zeigen, dass die inaktivierten Gene zum größten Teil für Transport- und Bindeproteine und für am allgemeinen Metabolismus oder spezifischen Stoffwechselwegen beteiligte Enzyme kodieren.

Zu solchen alternativen Stoffwechselwegen gehört z.B. die Verwertung des im Cytosol durch den Abbau von Phospholipiden oder Triglyceriden freigesetzten Glycerins als alternative C-Quelle während des intrazellulären Wachstums. Die Enzyme Glycerinkinase und Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase wandeln das freie Glycerin zum Dihydroxyacetonphosphat um und schleusen es dadurch in die Glykolyse ein. Außerdem bevorzugen die intrazellulär lebenden Listerien den Pentose-Phosphat-Zyklus zur Energiegewinnung und sind von der Synthese einiger Aminosäuren wie Tryptophan, Isoleucin, Leucin, Valin und Arginin abhängig.

L. monocytogenes besitzt darüber hinaus Spezies-spezifische Transportsysteme, die offenbar für das intrazelluläre Überleben wichtig sind. Zur näheren Charakterisierung dieser putativen Transporter werden verschiedene biochemische Methoden eingesetzt. Unter anderem bieten sich hier die auf dem BIOLOG-System (BIOLOG, Hayward, CA, USA) basierenden phänotypischen Mikroarrays an. Das Mikrotiterplattensystem lässt sich außer zum Nachweis von phänotypischen Unterschieden in der Verwertung von C-Quellen auch zur Bestimmung der Aufnahme anderer Stoffe wie N-, P-, S-Quellen, Antibiotika oder Stoffwechselzwischenprodukte einsetzen, wodurch sich der Funktionsnachweis einiger Enzymen ergeben kann.

Zudem kann die biochemische Charakterisierung mittels phänotypischer Mikroarrays Hinweise auf die Funktion der unbekannten Proteine ergeben, die von Genen kodiert werden, welche eine dritte große Gruppe von intrazellulär notwendigen Genen bilden (Abb. 8). Die Rückschlüsse aus den biochemischen Untersuchungen können außerdem zum besseren Verständnis des allgemeinen intrazellulären Metabolismus von *L. monocytogenes* beitragen, der aufgrund der komplizierten Lebensweise des Pathogens noch kaum erforscht ist.

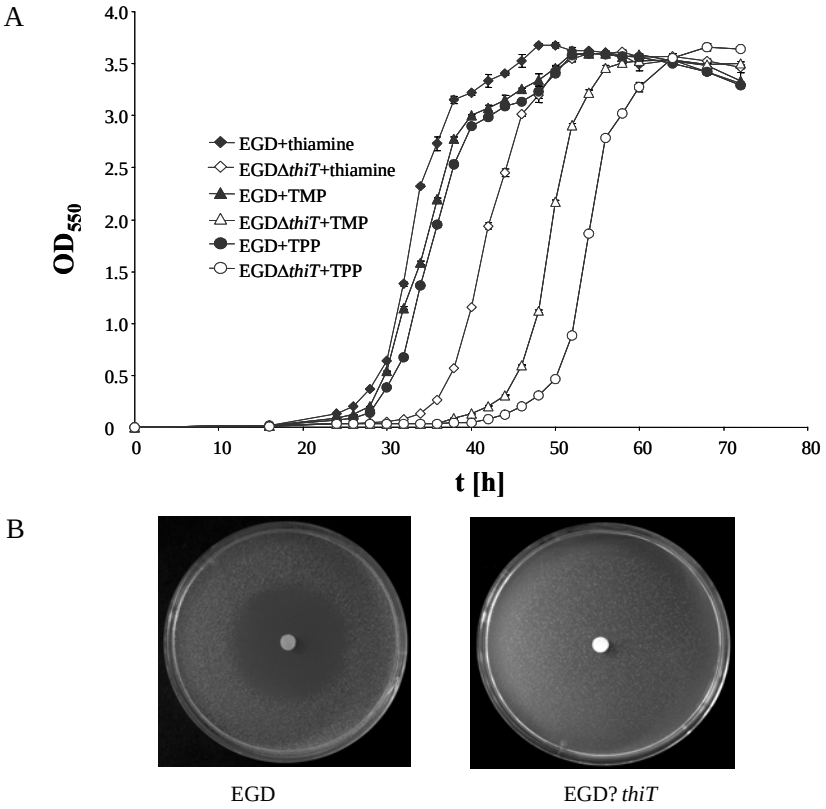


Abb. 8: ThiT (Lmo1429) aus L. monocytogenes wurde als neuartiger Thiamin-Transporter Gram-positiver Bakterien identifiziert (aus: Schauer et al., J. Bacteriol. in press, 2009).

Die bisherigen Ergebnisse aus dem Screening der intrazellulären Replikation sowie den biochemischen Analysen bestätigen eindeutig, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Cytosol auf die Fähigkeit des Pathogens, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen, indem z.B. alternative Stoffwechselwege und Aufnahmesysteme für verschiedene Substrate entwickelt werden, zurückzuführen ist. Untersuchungen zur Identifikation neuer struktureller als auch metabolischer Angriffsorte für antimikrobielle Wirkstoffe werden z. Zt. durchgeführt.

Untersuchung des intrazellulären Metabolismus von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Analysis of intracellular metabolism of* Salmonella enterica *serovar Typhimurium

Carsten Kröger

In der Folge der Zunahme Antibiotika-resistenter Bakterien ist die Suche und Entwicklung neuer Antibiotika und antimikrobieller Substanzen ein fortlaufend aktuelles Thema. Neben bekannten Wirkstoff-Targets, die bei der Zellteilung oder Proteinsynthese für Mikroorganismen essentielle Funktionen besitzen, rücken nun auch metabolische Enzyme als neue, potentielle Antibiotika-Zielmoleküle in den Vordergrund des Interesses der Wissenschaft.

Das Verständnis des Metabolismus von Mikroorganismen ist dabei ein Grundbaustein für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten.

Die Enteritis-Salmonellosen des Menschen gehören zu den bedeutendsten Infektionskrankheiten des Gastrointestinaltraktes. Allein in Deutschland wurden im Jahr 2005 55000 Fälle gemeldet, wobei die Anzahl der nicht gemeldeten Fälle auf ungefähr ein halbe Million geschätzt wird. Die durch eine Vielzahl verschiedener Salmonellen induzierten Infektionen werden häufig durch die Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel ausgelöst. Obgleich die meisten Salmonellen ihren originären Standort vorwiegend bei verschiedenen landwirtschaftlich genutzten Tierarten besitzen, überdauern sie dort oft subklinisch bzw. symptomfrei und lösen erst beim Menschen typischerweise eine Gastroenteritis oder in sehr wenigen Fällen eine systemische Infektion aus.

Generell sind Salmonellen befähigt sich in ihrem Wirt extra-, als auch intrazellulär zu vermehren. Als Wirtszellen für das intrazelluläre Wachstum können unter anderem professionell phagozytische Zellen, wie z.B. Makrophagen fungieren. Die Salmonellen replizieren dabei in einer Vakuole innerhalb der Wirtszelle und sind somit vom Cytoplasma der infizierten Zelle räumlich abgetrennt. Welche für das Wachstum essentielle Nährstoffquellen innerhalb dieses intrazellulären *Salmonella*-spezifischen Kompartiments zur Verfügung stehen und welche Stoffwechselwege in den Salmonellen während der Infektion aktiv sind, ist weitgehend ungeklärt.

In einem genomweiten „Screening“-Ansatz wurden eine große Anzahl von Genen identifiziert, die bei der intrazellulären Replikation von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) beteiligt und in genomischen Inseln lokalisiert sind.

In der Folge wurde eine Vielzahl attenuierter Stämme bezüglich ihrer metabolischen Fähigkeiten getestet. Mit einer auf der „Phenotype MicroArrays“ (Biolog, Hayward, CA, USA) basierenden Technik können einzelne Mutanten bzgl. des Abbaus verschiedener Substrate (z.B. Kohlenstoff- oder Stickstoffquellen) phänotypisch getestet werden. Der Test zeigt dabei die respiratorische Verwertung von Nährstoffquellen colorimetrisch an (Abb. siehe „Identifizierung von strukturellen und metabolischen Targets in *Listeria monocytogenes* zum Auffinden antilisterieller und generell antibakterieller Substanzen“; Kristina Schauer; AG Fuchs).

Durch den Vergleich der Substrat-Abbaumuster von Wildtyp und attenuierten Mutanten wurden Hinweise auf die potentielle Funktion einzelner Gene im *myo*-Inositol (MI)-Abbauweg erhalten. Dieser Befund wurde zum Anlass genommen, erstmals bei einem Gram-negativen Bakterium die Genetik des MI-Abbaus und dessen Regulation zu charakterisieren (Abb. 9).
Die für den MI-Abbau nötigen Gene sind auf einer sog. genomischen Insel lokalisiert, und die enzymatischen Gene konnten nach Deletion identifiziert werden. Darüberhinaus wurde die komplexe Regulation mit Hilfe des Luziferase-Reporters entschlüsselt, und über Protein-DNA-Bindungsexperimente wurde ein Repressor des Abbauweges, IolR, charakterisiert.

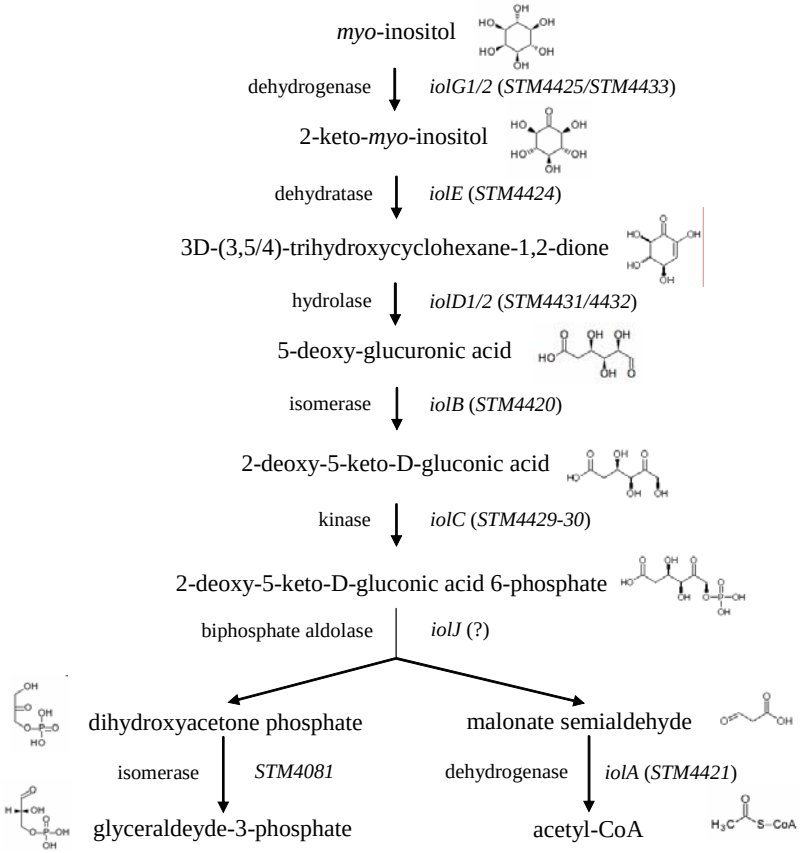


Abb. 9: Der myo-Inositol-Abbauweg von S. enterica sv. Typhimurium (aus: Kröger and Fuchs, J. Bacteriol. 191: 545-554, 2009)

Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

Die wenigsten krankheitserregenden Bakterien sind strikt auf den Menschen angewiesen. In den meisten Fällen besteht ein *Infektionszyklus*, bei dem der Wirt „Mensch“ lediglich eine Zwischen- oder gar Endstation darstellt. Durch kontaminierte Lebensmittel werden solche Keime „versehentlich“ mit der Nahrung aufgenommen. Es ist zu vermuten, dass einige der krankheitsauslösenden Eigenschaften von Bakterien mehr im Sinne einer Verteidigung gegen Fraßfeinde der Bakterien zu verstehen sind. So ist bekannt, dass Bakterien – die Strategien gegen freilebende bakterienfressende Amöben besitzen – diese auch im Falle von menschlichen Fresszellen (Makrophagen) anwenden. In gleicher Weise sind hier Fadenwürmer und Wimpertierchen zu nennen, deren Hauptnahrung Bakterien darstellen.

Diese Fadenwürmer werden mittlerweile für einige bakterielle Krankheiten als einfach zu handhabendes Tiermodell verwendet, da sich bestimmte Aspekte einer (menschlichen) Krankheit gut an ihnen untersuchen lässt. Ein weiterer großer Bereich von Lebewesen in der Umwelt stellen die Pflanzen dar. Damit pathogene Bakterien ihren Infektionszyklus vollenden können müssen sie auch hier – fernab von jeglichen tierischen Wirten – überleben. Nur selten führt der Infektionszyklus wie beispielsweise der der Pest von Tier (Nager) zu Tier (Flöhe), sondern verläuft über die Kontamination der Umwelt (Pflanzen, Wasser) hin zur Neuinfektion weiterer Tiere – und eben auch des Menschen. Pflanzliche Übertragung von Lebensmittel-Infektionen rückt in den letzten Jahren immer mehr in den Brennpunkt. In einigen Industrieländern gibt es mittlerweile mehr Infektionen von Salmonellen und *Campylobacter* verursacht durch Pflanzen, als durch Eier und Geflügel. Es ist daher wichtig, sich nicht nur auf die klassischen Übertragungswege wie Fleisch und Milchprodukte zu konzentrieren, sondern die gesamte Ökologie der entsprechenden Mikroorganismen zu betrachten. In den Arbeiten unserer Gruppe stehen zwei Organismen beispielhaft im Vordergrund:

Listeria monocytogenes ist ein vermutlich mehr oder weniger überall vorkommendes Bakterium, welches mit Pflanzen assoziiert ist. Erst in neuerer Zeit fand man auch hier freilebende Amöben in Wasser und Boden als ein Reservoir. Der Infektionszyklus ist besser bekannt: Beispielsweise wird *L. monocytogenes* mit Pflanzenmaterial in Silage eingetragen, wo sich der Erreger bei fehlerhafter Silierung vermehrt. Mit der Silage werden Kühe gefüttert und diese dadurch infiziert. Schließlich kann, über Milch- und Fleischprodukte, der Mensch angesteckt werden und an einer Listeriose erkranken.

Die enterohämorrhagischen *Escherichia coli´*s (EHEC) verursachen blutigen Durchfall und z. T. Nierenversagen mit tödlichem Ausgang. Bei diesen Bakterien weiß man kaum etwas über die Ökologie, d.h. dem Vorkommen und der Lebensweise dieser Bakterien außerhalb eines Wirtes. Kühe können sich mit EHEC auf der Weide infizieren, ohne dass diese Tiere einem bisher bekannten Reservoir ausgesetzt waren. Wo lebt EHEC in der Umwelt und wie wird der Keim übertragen? Unsere Untersuchungen konzentrieren sich darauf, ob Amöben, Insekten oder andere Tiere ein unterschätztes Reservoir darstellen und des weiteren, welche Gene für das Überleben außerhalb des Wirtes wichtig sind.

***lux*-Promotor Studien in pathogenen *Escherichia coli* (EHEC)**

lux-promoter studies in pathogenic E. coli (EHEC)

Angelika Sell

Virulenz- und Regulationsgene spielen bei der Interaktion eines Bakteriums mit seinen Wirten eine entscheidende Rolle. Um Licht in dieses Wechselspiel von Wirt und Bakterium zu bringen, wurden Promoter::lux Studien durchgeführt. Verschiede Promotoren bakterieller Gene, sowohl allgemeiner Stoffwechselwege, als auch von spezifischen Virulenzgenen, wurden mit einer *luxCDABE* Kasette versehen. Diese Genkasette befähigt die so veränderten Bakterien zur Biolumineszenz. Wir der entsprechende Promoter eingeschaltet, so strahlen die Bakterien Licht ab, welches sich mit hochempfindlichen Kameras quantitativ messen läßt. Die Interaktion von Promoter::lux Konstrukten wurde mit Nematoden (*Caenorhabditis elegans*), Amöben (*Acanthamoeba castellani*) und Pflanzen (*Arabidopsis thaliana*) untersucht. Es zeigte sich eine je nach Organismus unterschiedliche Induktion der markierten Gene, welches auf spezifische Interaktionen zwischen den Bakterien und diesen alternativen Wirtsorganismen hindeutet.

Arabidopsis als Modellpflanze für Interaktionen mit enterischen Erregern

Arabidopsis as model plant for interactions with enteric pathogens

Susanne Ude, Stefanie Heinzlmeier

Der größte Ausbruch mit EHEC Erregern ereignete sich 1996 in der japanischen Stadt Sakai mit etwa 10.000 erkrankten Personen. Zwar war der Ausbruchserreger sehr ansteckend, doch es waren im Verhältnis zur Zahl der Erkrankten nur sehr wenige Todesfälle zu beklagen. Auslöser für diese Erkrankungen waren mit EHEC verseuchte Rettich-Sprossen, die Japan aus den USA importiert hatten. Dieser Vorfall zeigt beispielhaft, dass EHEC nicht nur mit Tier und Mensch interagiert, sondern auch auf Pflanzen seine Nische findet. Die Mausohrkresse *Arabidopsis thaliana* dient uns als Modellpflanze, um das Eindringen und Verweilen der Erreger in Pflanzen zu untersuchen. EHEC assoziert gerne mit den Wurzeln, da dort die Ausscheidung pflanzlicher Metabolite – die den Bakterien als Nahrung dienen – am höchsten ist. Untersuchungen zum pflanzlichen Transcriptom, d.h. der Genregulation der Pflanze, zeigten, daß EHEC eine andere Reaktion in der Pflanze auslöst als beispielsweise harmlose *Escherichia coli*. Zur weiteren Aufklärung wurden auch *Arabidopsis*-Mutanten genutzt, die in verschiedenen Phytohormonwegen lahmgelegt sind. Damit entfällt auch zum Teil die pflanzliche Antwort auf eindringende Bakterien, was sich in unterschiedlichen Phenotypen äußert. Zukünftige Forschungen müssen zeigen, welche weiteren molekularen Interaktionen zwischen diesen Partnern, Bakterie & Pflanze, stattfinden.

Nematoden als Modellwirt für enterohämorrhagische *Eschericha coli* (EHEC)

Nematodes als model host for enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)

Meike Gabert

In den letzten Jahren nimmt die Bedeutung von enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) bei Ausbrüchen von Lebensmittel-assoziierten enterischen Infektionen immer weiter zu. EHEC kolonisieren den menschlichen Darm und die so ausgelöste Infektion führt zu einer wäßrig-blutigen Diarrhö. Bei jungen und älteren Patienten kann es außerdem zu weiteren systemischen Komplikationen kommen, wie dem hämolytisch-uremischen Syndrom mit Nierenversagen. Die hohe Pathogenität dieses Keims liegt unter anderem in seiner sehr geringen Infektionsdosis begründet. Während der bisherige Forschungsschwerpunkt auf der Interaktion zwischen dem Pathogen und dem Menschen lag, bleiben noch viele Fragen nach dem Vorkommen und der Transmission von EHEC in der Umwelt offen. Mittlerweile konnte gezeigt werden, dass EHEC, neben der Fähigkeit an menschliche Darmepithelzellen zu adhärieren, ebenfalls in der Lage sind, mit anderen Oberflächenmatrizes wie Pflanzen, Gemüse oder Obst zu interagieren.

In diesem Projekt wurde untersucht, inwiefern EHEC sich auf Nematoden auswirkt, wenn diesen EHEC als Futterquelle dienen. *Caenorhabditis elegans* ist ein zur Familie der Rhabditidae gehörender Fadenwurm, der in Böden vorkommt und sich dort von über Flüssigkeit aufgenommenen Bakterien ernährt. Er kann in der Natur als Verbreiter von pathogenen Bakterien dienen. Im Labor werden *C. elegans* auf harmlosen *E. coli* OP50 als Futterbakterium gehalten. *C. elegans* killing Assays veranschaulichten, dass EHEC (wie auch *Salmonella typhimurium*) in der Lage sind, die Würmer zu rascherem Absterben zu veranlassen. Weitere Versuche zeigten, das ein auch Herabsetzen der Inkubationszeit zu einer Infektion der Würmer führt und diese trotz der geringeren Verweildauer auch rascher Absterben. Inwiefern sich EHEC Mutanten verhalten, bei denen bestimmte Virulenzgene ausgeknockt wurden, werden zukünftige Versuche zeigen.

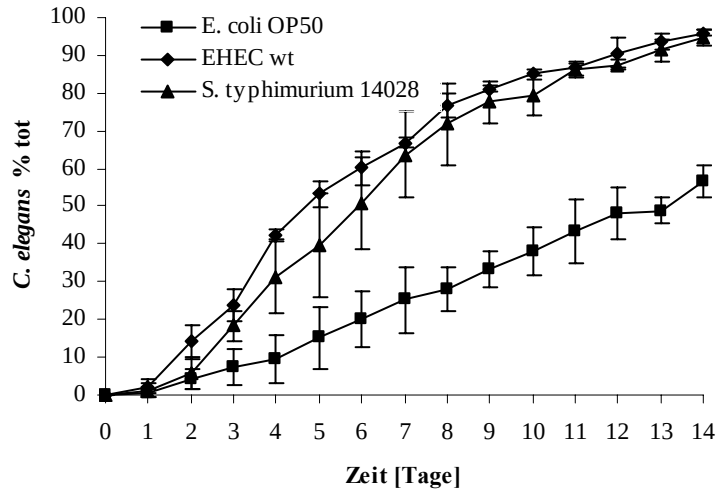


Abb. 10: Wildtypische (wt) enterohämorrhagische E. coli O157:H7 führen wie S. typhimurium 14028 zu einer Erhöhung der Sterberate von C. elegans. E. coli OP50 sind harmlose Futterbakterien.

Antagonistische Aktivitäten von Gram-positiven Bakterien gegen Listerie monocytogenes
Antagonistic activities of Gram positive bacteria against L. monocytogenes
Anne Bleicher

Listeria monocytogenes ist ein sehr widerstandsfähiger Erreger und kann auch bei ungünstigen Bedingungen wie niedrigen Temperaturen, niedrigen pH-Werten und hohen Salzkonzentrationen überleben und wachsen. Diese Eigenschaften erlauben es dem Pathogen, viele der angewandten Methoden zur Konservierung von Nahrungsmitteln zu unterlaufen. Aufgrund ihrer Herstellungsweise sind Rotschmierekäse häufiger als andere Weichkäsesorten von Kontaminationen mit *Listeria monocytogenes* betroffen. Zugleich sind in der Vergangenheit mehrere bakterielle Oberflächenkonsortien beschrieben worden, die einen inhibitorischen Effekt gegen das Pathogen zeigten und die Zellzahl von *L. monocytogenes* zum Teil bis auf Null reduzieren konnten. Das Wirkprinzip einer solchen antilisteriell wirkenden Kultur aufzuklären, wäre ein ideales Mittel zur natürlichen Kontrolle von *L. monocytogenes* in der Käseherstellung. Dies kommt dem wachsenden Verbraucherinteresse nach ökologischen Lebensmitteln entgegen, die ohne weitere Zusätze auskommen.
In diesem Projekt konnten eine Reihe traditionell hergestellter europäischer Käsesorten mit hohem Hemmpotential gefunden werden, wobei die Größe des antilisteriellen Effektes durch Kultivierungsexperimente von *L. monocytogenes* in komplexen Überständen bestimmt wurde. Eine anschließende Analyse der Zusammensetzung solcher Oberflächengemeinschaften zeigte, daß die Käsekonsortien oft sehr komplex waren. Eine künstliche Vermehrung der Floren im Labormaßstab konnte die ursprüngliche Komposition nicht erhalten. Einige Stämme waren in der Lage, sich stärker durchzusetzen, jedoch stieg auch gleichzeitig das Ausmaß der Hemmung von *L. monocytogenes*. Mehrere Faktoren könnten für eine solche Verstärkung des antilisteriellen Potentials verantwortlich sein: eine gesteigerte Lactatproduktion oder eine vermehrte Bildung von Wasserstoffperoxid, die mit dem Auftreten von bestimmten physiologischen Gruppen einhergehen oder auch eine signaltransduktionsvermittelte Initiierung der Produktion von niedermolekularen Hemmstoffen. Aufgrund der Komplexität jeder einzelnen Flora konnte noch kein einzelner Stamm als für die Hemmung verantwortlich gemachtt werden, zumal der Effekt bei Reinkulturen nicht in derselben Intensität auftrat wie im gesamten Konsortium.

Arbeitsgruppe: Anti-listerielle Hefen

Gruppenleiterin: Stefanie Goerges

Anti-listerielle Aktivität käserelevanter Hefen

Anti-listerial activity of cheese relevant yeast

Nicole Borst

Viele Listeriose-Fälle werden mit kontaminierten Lebensmitteln in Verbindung gebracht. Aufgrund seiner weiten Verbreitung in der Umwelt wird *L. monocytogenes* häufig auf diversen Lebensmitteln, wie z.B. Fleisch, Geflügel, Eiprodukten, Gemüse, Fisch, Meeresfrüchten und Milchprodukten, gefunden. Unter den Milchprodukten sind vor allem Rotschmierekäse, insbesondere bei Anwendung des klassischen Alt-Jung-Schmierens, mit dem Risiko einer Listerienkontamination verbunden. Zur Entwicklung möglicher Gegenmaßnahmen gegen Listerienkontaminationen auf Rotschmierekäse wurden zunächst die klassischen Rotschmierebakterien auf ihre anti-listeriellen Eigenschaften untersucht (1,2,4,5). Allerdings sind coryneforme Bakterien in ihrem Wachstum auf die Entsäuerung der Käseoberfläche durch die Hefenpopulation angewiesen, was wiederum Auswirkungen auf die Bildung und Wirkung ihrer anti-listeriellen Substanzen hat. Dagegen sind Listerien in der Lage in der sauren Umgebung zu Käsereifungsbeginn zu überleben und bei pH-Werten über 5 zu wachsen. Damit ist der Zeitfaktor bei ihrer Bekämpfung von enormer Bedeutung.

Da Hefen in den frühen Reifungsstadien aufgrund ihrer Säuretoleranz einen bedeutenden Teil der Mikroflora schmieregereifter Käse einnehmen, konzentrieren sich unsere Forschungsinhalte seit einiger Zeit auch auf anti-listeriell wirkende Hefen (3). Im Falle der Produktion einer anti-listeriellen Substanz durch diese Hefen könnte den Listerien von dem - zumeist frühen - Kontaminationszeitpunkt an entgegengewirkt werden.

Vor diesem Hintergrund wurden an unserem Institut Methoden zur Untersuchung der anti-listeriellen Eigenschaften von Hefen entwickelt. Es wurde eine Cokultivierungsmethode etabliert, bei der die anti-listerielle Aktivität von käseoriginären Hefen in direktem Kontakt mit *L. monocytogenes* Stämmen auf festem Medium getestet wurde. Bei diesen Versuchen wurden üblicherweise 10^5 bis 10^6 Hefen pro cm^2 mit ca. 6 Listerienzellen pro cm^2 co-kultiviert. Hierbei handelt es sich um einen realistischen Kontaminationstiter in betroffenen Molkereien. Mitunter wurden in den Cokultivierungsversuchen auch bis zu 10^6 Listerienzellen/cm^2 eingesetzt, um den Listerientiter zu ermitteln, der von der jeweiligen Hefe gerade noch gehemmt werden kann. Insgesamt wurden 175 Hefen mit dem Standard-Cokultivierungsverfahren untersucht. Alle Hefen wiesen zumindest ein geringes Hemmpotential gegen *Listeria monocytogenes* auf, was aller Wahrscheinlichkeit nach auf Nährstoffkonkurrenz zurückzuführen ist. Eine geringe Anzahl der isolierten Hefen konnte das Listerienwachstum gegenüber der Kontrolle ohne Hefe, in der die Listerien innerhalb von 24 h auf über 10^7 KbE/cm^2 anwuchsen, signifikant um vier bis fünf Zehnerpotenzen reduzieren (KbE/cm^2).

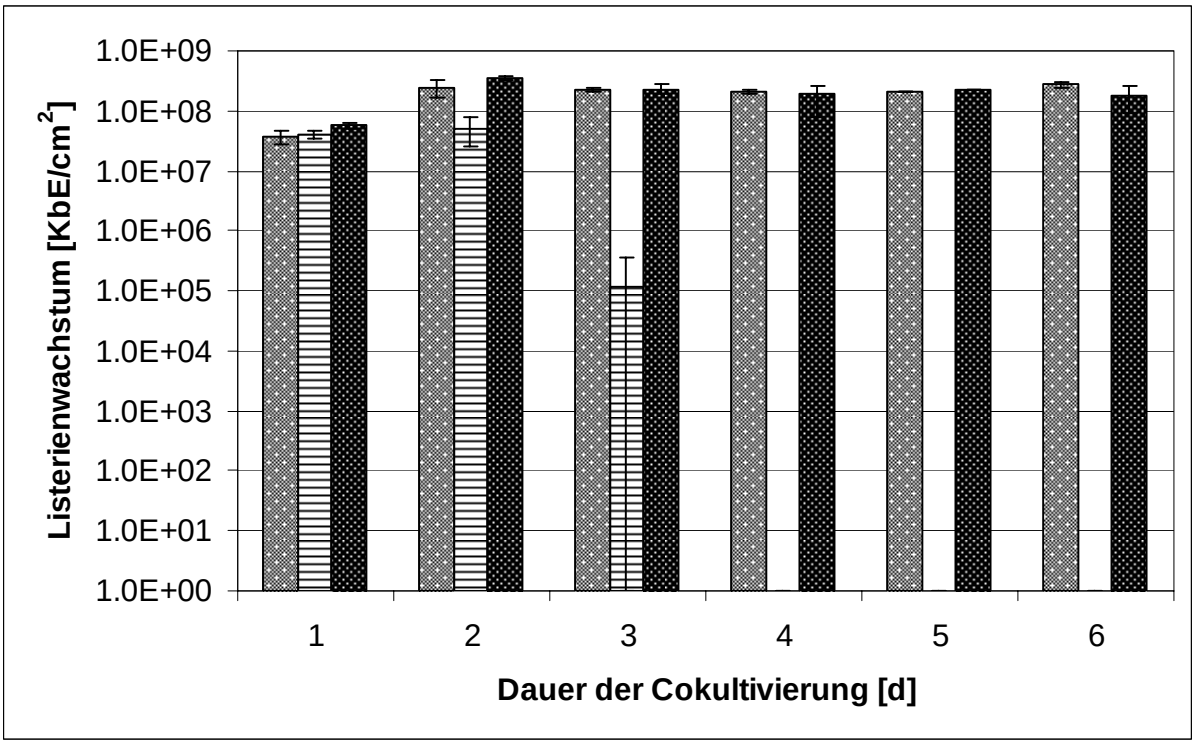


Abb. 11: Reduktion des L. monocytogenes Indikatorstamms WSLC 1685 [log/cm2] in Cokultivierung mit Pichia norvegensis WSYC 592 und Pichia sp. WSYC 623 bei 14 °C Käsereifungstemperatur.

Kontrolle ohne Hefe; Cokultivierung mit *P. norvegensis* WSYC 592; Cokultivierung mit *Pichia* sp. WSYC 623; Eingesetzter Listerientiter: ca. 10^5-10^6 KbE/cm^2. Der Indikatorstamm wurde durch *P. norvegensis* WSYC 592 innerhalb von 4 d komplett abgetötet (siehe Pfeile) während in Cokultivierung mit der Kontrollhefe WSYC 623 keine signifikante Reduktion der Listerienzellzahlen auftrat. Die Zellzahlen sind angegeben als Mittelwerte von zwei bis drei unabhängig durchgeführten Experimenten mit Fehlerbalken.

Während dieses Projektes konnte außerdem eine Hefe mit außergewöhnlich starkem antilisteriellem Potential isoliert werden. Der *Pichia norvegensis* Stamm WSYC 592 vermochte bei der Standard-Cokultivierung das Listerienwachstum um sieben Zehnerpotenzen gegenüber der Kontrolle ohne Hefe zu reduzieren. Es fand eine vollständige Abtötung der Listerien statt, was auch durch das Anreicherungsverfahren L 00.00-32 nach §64 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuchs (LFGB) bestätigt wurde. Je nach *Listeria monocytogenes* Indikatorstamm konnte die *P. norvegensis* 10^5 bis 10^6 in der Cokultivierung eingesetzte Listerienzellen/cm^2 vollständig hemmen. Nach zusätzlicher Überprüfung der Cokultivierungsansätze bei Einsatz dieser hohen Listerientiter mittels Anreicherungsmethode nach §64 LFGB zeigte sich, dass lediglich unter Verwendung eines der sieben *L monocytogenes* Indikatorstämme Listerienzellen detektiert werden konnten. Die Zellzahl des Listerienstamms L.395 wurde von der *P. norvegensis* in der Cokultivierung unter die Nachweisgrenze des klassischen Plattenauszählverfahrens zur Keimzahlbestimmung reduziert. Bei allen anderen Indikatorstämmen wurde eine vollständige Abtötung erzielt. In der Kontrolle ohne Hefe sowie in Cokultivierung mit der nicht hemmenden Hefen *Pichia* sp. WSYC 623 wuchsen die Listerien innerhalb von 24 h auf 10^8 bis 10^9 KbE/ cm^2 an.

Nachdem die Cokultivierungen bei 27 °C, einer für Hefen idealen Wachstumstemperatur, durchgeführt wurden, sollte das Hemmpotential der *P. norvegensis* auch unter Käsereifungsbedingungen, d.h. bei 14 °C, getestet werden (Abb.11). Nach 24 h zeigte sich bei einem eingesetzten Titer von 10^5 bis 10^6 KbE/cm^2 kein Unterschied zwischen der Kontrolle ohne Hefe, dem Cokultivierungsansatz mit nichthemmender Kontrollhefe WSYC 623 und dem mit dem *P. norvegensis*-Stamm WSYC 592. Nach 48 h war bereits eine leichte Listerienreduktion von 1 bis 2 Zehnerpotenzen gegenüber den beiden Kontrollen zu erkennen. Eine vollständige Listerienhemmung wurde nach 4 Tagen erzielt und sie bestand fort bis zum Untersuchungsende an Tag 6. Dies konnte mittels Anreicherungsverfahren nach §64 LFGB bestätigt werden.

Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi)) via AiF über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. AiF-Projekt Nr. 14786 N

Charakterisierung der anti-listeriellen Aktivität ausgewählter Hefenisolate

Characterization of the anti-listerial activity of selected yeast isolates

Samir Velagic

Anti-listerielle Hefen (Goerges und Borst, s.o.) wären als Schutzkulturen interessant. Vor einem kommerziellen Einsatz anti-listeriell wirksamer Hefen als Teil einer solchen Kultur, wäre es von besonderer Bedeutung, den Hemmmechanismus zu kennen, um sicher zu stellen, dass keine unerwünschten, z.B. Antibiotika-ähnliche, Substanzen von den Hefen produziert werden.
Verschiedene grampositive und gramnegative Bakterien können Peptide oder Proteine mit anti-bakterieller Aktivität, sogenannte Bakteriozine, produzieren. Bakteriozine können auch im Kulturüberstand der Bakterien gefunden werden, was bei der/den anti-listeriellen Substanz(en) der hier getesteten Hefen nicht der Fall ist. In diversen Experimenten mit Kulturüberständen der Hefen, z.B. Softagar-Diffusionsversuchen, konnte keine Hemmung der Listerien nachgewiesen werden.
Mittels des etablierten Cokultivierungsassays (s.o.) konnte die Hemmung der Listerien in die stationäre Wachstumsphase der Hefe *P. norvegensis* WSYC 592 eingeordnet werden. Der Indikatorstamm *L. monocytogenes* WSLC 1364 (10^5-10^6 KbE/cm^2) wurde mit Hefe WSYC 623 (nichthemmend) bzw. Hefe WSYC 592 (hemmend) (~10^6 KbE/cm^2) cokultiviert (Abb.12).
Parallel wurde ein Kontrollansatz angefertigt, bei dem Listerien in Abwesenheit der Hefen kultiviert wurden. Die Listerien- und Hefenzellzahlen wurden über 48 Stunden hinweg in engen Abständen bestimmt. Gleichzeitig wurde auch der pH-Wert der Cokultivierungsplatten mit einer Oberflächen pH-Elektrode gemessen.
Während der Kultivierung ohne Hefen und der Cokultivierung mit der nichthemmenden Kontrollhefe WSYC 623 erreichten die Listerien max. 10^8 KbE/cm^2. In Anwesenheit der Hefe WSYC 592 wuchsen die Listerien innerhalb von zehn Stunden bis auf 10^7 KbE/cm^2, wurden dann aber bis zum Ende der Cokultivierung i.d.R. vollständig abgetötet. Die *P. norvegensis* WSYC 592 erreichte nach zwölf Stunden die stationäre Wachstumsphase, in der zudem ihre Hemmungwirkung auf Listerien einsetzte.
Der pH-Wert der Cokultivierungsplatte mit der Hefe WSYC 592 sank ab sechs Stunden Cokultivierung ab und erreichte nach zwölf Stunden mit pH 4,6 den niedrigsten Wert. Die pH-Werte der beiden Kontrollansätze erreichten erst nach 21 Stunden Cokultivierung diesen Wert.

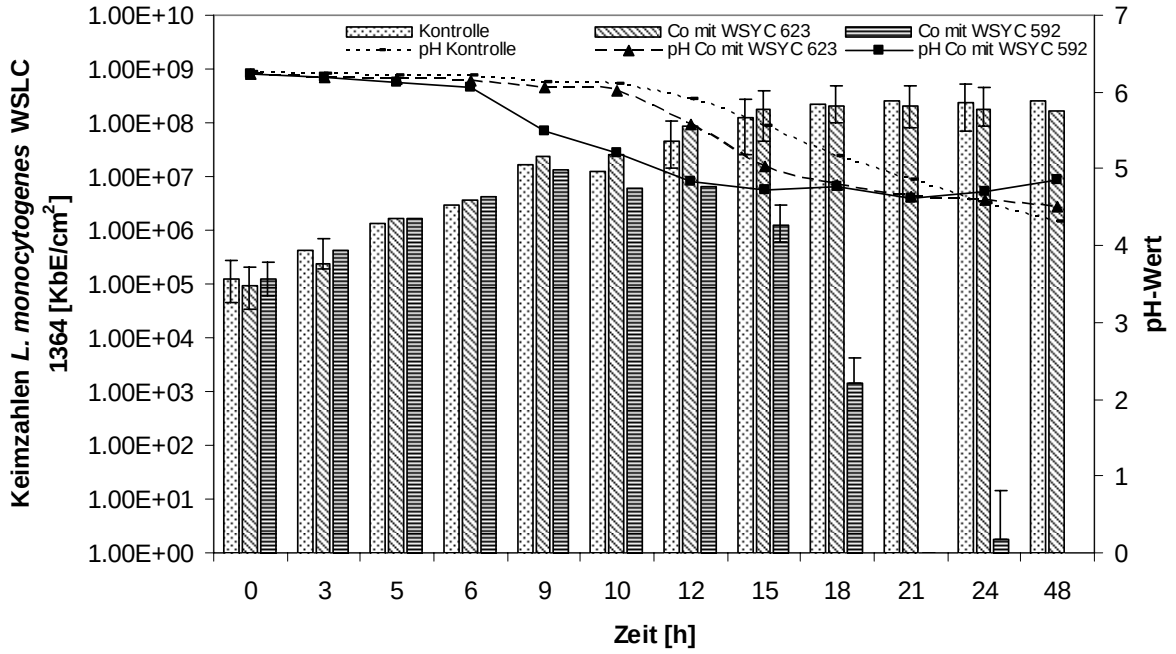


Abb. 12: Keimzahlen des Indikatorstamms L. monocytogenes WSLC 1364 (Balken) in Cokultivierung auf Festmedium mit den Hefen WSYC 623 und WSYC 592 gegenüber der Kontrolle (Listerien ohne den Einfluss von Hefen), gemessen über einen Zeitraum von 48 h. Parallel wurden die pH-Werte (Linien) der Agarplatten mit einer Oberflächen-pH-Elektrode gemessen.

Da der pH-Wert bei der Cokultivierung mit der *P. norvegensis* WSYC 592 noch vor Beginn der Listerienhemmung sein pH-Minimum erreichte und nicht mehr weiter absank, während die Hemmung der Listerien weiter voranschritt, kann der niedrige pH-Wert nicht der Hauptgrund für diesen immensen Hemmeffekt sein. Außerdem säuerte auch die nichthemmende Kontrollhefe WSYC 623 im Cokultivierungsansatz nach einer gewissen Zeit auf einen pH-Wert von 4.2, allerdings ohne Hemmung der Listerien. Zudem ist ein pH-Wert von 4,6 für Listerien nicht bakterizid.
Die derzeitigen Daten weisen drauf hin, dass die vorliegende Listerienhemmung durch Hefen von bekannten Hemmeffekten verschieden ist. An der weiteren Aufklärung des neuartigen Hemmprinzips wird derzeit gearbeitet.

Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi)) via AiF über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. AiF-Projekt Nr. 14786 N

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Rebuffo-Scheer, Cecilia, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 27.05.2008: „ Development of a rapid identification system for *Listeria* at the species, and *Listeria monocytogenes* at the serovar level by Artificial Neural Network analysis of Fourier Transform Infrared Spectra."

Dommel, Monica Karen, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 29.05.2008: „ Molecular characterization of the genetic locus responsible for cereulide toxin production in emetic *Bacillus cereus*."

Sell, Angelika, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 27.11.2008: „Virulence gene induction of Enterohaemorrhagic Escherichia coli by *Caenorhabditis elegans*, *Acanthamoeba castellanii* and *Arabidopsis thalina*."

Diplomarbeiten

Nuck, Kathleen: „Differenzierung von *Listeria*-Umweltisolaten eines Oberflächengewässers mit Hilfe der Fourier-transformierten Infrarot (FTIR)-Spektroskopie und der Multiplex-PCR"

Richter, Marlen: „Regulation insektizider Gene von *Yersinia enterocolitica*"

Masterarbeiten

Blöchinger, Claudia: „Emetische Toxinproduzenten und Monitoring der Toxinproduktion in Lebensmitteln"

Reuter, Sandra: „Identifizierung von Staphylokokken mit FTIR-Spektroskopie"

Bachelorarbeiten

Beck, Mariel: „Funktion der Lyse-Kassette in der tc-PAIYe von *Yersinia enterocolitica*"

Böllner, Stefanie: „Der Einfluss von Tensiden auf die inhibitorische Wirkung ausgewählter Hefenisolate gegen *Listeria monocytogenes*"

Bognar, Miriam: „Herstellung avirulenter Deletionsmutanten in enterohämorrhagischen *Escherichia coli*"

Higel, Fabian: „Interaction of Yersinia enterocolitica with *Caenorhabditis elegans*"

Hinz, Kristina: „Floraanalyse von Rohmilch mittels Fouriertransform Infrarot (FTIR)-Spektroskopie"

Käser, Tatjana: „Untersuchungen zur mikrobiellen Milchflora zweier Betriebe im Jahresverlauf"

Krementowski, Anna: „Identifizierung opportunistisch pathogener Hefen mittels IR-Spektroskopie"

Krug, Daniel: „Einfluss des Einfrierprozesses auf die Mutationsrate von *Listeria monocytogenes*“

Margot, Heike: „Wirkung von enterohaemorrhagischen E.coli auf den Nematoden *C. elegans*“

Sendlmeier Christina: „Wirkung von EHEC, *Staphylokokken* und andere Bakterien auf alternative Wirtsorganismen“

Strauss, Elisabeth: „Differenzierung von *Listeria* Umweltisolaten mittels FTIR (Foruier-Transform Infrarot)-Spektroskopie und Multiplex-PCR“

Wittlinger, Katharina: „Expression von Serralysin als Fusionsprotein und Überprüfung der Proteaseaktivität“

Gastwissenschaftler:

Diego Omar Serra, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentinien.
Beatrix Steszl, Veterinärmedizinische Universität, Wien, Österreich
Dr. Shabarinath Srikumar, Indien

Vorträge und Poster

1. Wissenschaftliche Vorträge

Büchl, N. R.:
„Artificial neural network-based FTIR spectroscopy – A tool for differentiation of microorganisms in animal feed“
European Feed Microbiology Organisation (EFMO) Meeting, Berlin, 26.-28.06.2008

Busch, U., Messelhäußer, M.; Zucker, R.; Fricker, M.; Ehling-Schulz, M.; Pudich, U.; Kämpf, P.; Höller C.:
„Vorkommen von *Bacillus cereus*, emetischer Typ, in unterschiedlichem Probenmaterial“
49. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Garmisch-Partenkirchen, Germany (29.09.-02.10.2008).

Ehling-Schulz M.; Scherer, S.:
„Molecular aspects of emetic toxin formation of *Bacillus cereus*. Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology and the German Society for Biochemistry and Molecular Biology“
VAAM 2008. Frankfurt, Germany (09.03.-11.03.2008).

Ehling-Schulz M.:
„Why to be serious about *Bacillus cereus*“
Mikrobiologische Kolloquien. Universität Zürich, Zürich, Switzerland (28.04.2008).

„Emetische *Bacillus cereus* - Ein Update. 2. Sitzung AiF Projekt: Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus*“
Freising, Germany (14.10.2008).

Ehling-Schulz M.; Fricker, M.:
„Survival of *L. monocytogenes* in the dairy chain: Characterization of *L. monocytogenes* isolates by FTIR spectroscopy“
2nd General Biotracer Meeting. Dublin, Ireland (02.07. - 04.07.08)

Frenzel E.:
„Studien zur emetischen Toxinproduktion in Lebensmitteln und Initiale Ansätze zur Hemmung der Toxinbildung“
2. Sitzung AiF Projekt: Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus*. Freising. (14.10.2008).

Fricker M., Segerman, B.; Ågren, J.; Knutsson, R.; Ehling-Schulz, M.:
„Model systems for work on *B. anthracis* spores“
National Veterinary Institute of Sweden, Uppsala, Sweden (20.05.2008).

Fricker M.:
„*Bacillus cereus*: Aktueller Status über Vorkommen, Gefährdungspotentiale, Nachweismethoden“
Seminar „Mikrobiologie in der Milchwirtschaft“, Stuttgart-Hohenheim (11.03.2008).

„Nachweis des emetischen Toxins Cereulid in Lebensmitteln – Beispiele aus der Routineanalytik und Schadensfalldiagnostik“
2. Sitzung AiF Projekt: Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus*. Freising (14.10.2008)

„Model systems for the work on *B. anthracis* spores“
2nd General Biotracer Meeting. Dublin, Ireland (02.07. - 04.07.08).

Fuchs T.M.:
„Interaction of Yersinia enterocolitica with invertebrates“
1st Department conference of the WZW, Freising , 22.11.2008.

„Interaction with invertebrates: novel aspects of the *Yersinia enterocolitica* life cycle“
1st national conference on *Yersinia*, TU Braunschweig, 25.07. - 26.07.2008.

„Von Invertebraten zum Menschen: wie sich Pathogene an ihre Wirte anpassen“
Symposium an der Universität Freiburg, 19.05.2008.

„Metabolism of intracellularly replicating bacteria“
Begutachtung des DFG-Schwerpunktprogrammes 1316, Bonn, 22.02.2008.

„Interaction with invertebrates: novel aspects of the *Yersinia enterocolitica* life cycle“
Mikrobiologisches Kolloquium der Universität Würzburg, 29.01.2008.

Scherer, S.:
„Emetische *Bacillus cereus:* Populationsstruktur und Toxinbildung“
Universität Hohenheim, 14.1.2008.

„*Bacillus cereus:* Wege zur Prävention der emetischen Toxinbildung in Lebensmitteln“
Wissenschaftliche Jahrestagung des FEI/AiF, 3.9.2008.

Schmidt, V.; Wenning, M.; Scherer, S.:
„Mikroorganismen in Rohmilch und ihr „Schicksal“ bei der Herstellung von ESL-Milch“
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Weihenstephan, 25. – 26.09.2008.

Steszl B.; Hein, I.; Ehling-Schulz, M.; Fricker, M.; Wagner, M.:
„PFGE und FTIR Typisierung von *Listeria monocytogenes* Isolaten aus drei milchverarbeitenden Betrieben“
49. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Garmisch-Partenkirchen, Germany, 29.09. - 02.10.2008.

2. Posterpräsentationen

Ågren Joakim, Bo Segerman, Ulrika Allard Bengtsson, Wielinga P, Bart von Rotterdam, Lucia Fenicia, Fach P, Skov J, Fricker M, Ehling-Schulz M, Knutsson R. Lab-scale implementation of novel tracing technologies in BSL-3 laboratories. 2nd General Biotracer Meeting. Dublin, Ireland, 02.07. - 04.07.08.

Frenzel E, Dommel M, Blöchinger C, Müller-Hellwig S, Ehling-Schulz M. Cereulide toxin formation delay by a specific class of food emulsifiers. FoodMicro 2008. Aberdeen, Scotland, 01.09. - 04.09.08.

Fricker M, Segerman B, Joakim Ågren, Ehling-Schulz M, Knutsson R. Model systems for work on *B. anthracis* spores. 2nd General Biotracer Meeting. Dublin, Ireland, 02.07. - 04.07.08.

Fricker M, Käser T, Hörmann M, Steszl B, Wagner M, Ehling-Schulz M. Microbial community analysis in raw milk using FTIR spectroscopy. 2nd General Biotracer Meeting. Dublin, Ireland, 02.07. - 04.07.08.

Lücking G, Dommel M, Scherer S, Ehling-Schulz M. Proteome and transcription analysis of emetic *Bacillus cereus*. 10th Symposia of Food Microbiology. Stuttgart, Germany, 09.04.-11.04.08.

Messelhäusser U, Fricker M, Ehling-Schulz M, Zucker R., Kämpf P, Höller C, Busch U. Nachweis von *Bacillus cereus* (emetischer Typ) in Lebensmittel-, Veterinär- und Humanproben aus Bayern. 10th Symposia of Food Microbiology. Stuttgart, Germany, 09.04.-11.04.08.

Schmidt V, Wenning M, Fricker M, Scherer S. Floraanalyse von Rohmilch mittels FTIR-Spektroskopie. 10. VAAM Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, Universität Hohenheim, 09. - 11.04.08.

Serra D, Lücking G, Weiland F, Schulz S, Görg A, Yantorno O.M, Ehling-Schulz M. Proteome approaches combined with Fourier transform infrared spectroscopy revealed a distinctive biofilm physiology in *Bordetella pertussis*. Biofilms III: 3rd International Conference, Munich, Germany, 06.10. - 08.10.08.

Veröffentlichungen

Bresolin G, Trček J, Scherer S, Fuchs TM (2008) Presence of a functional flagellar cluster Flag-2 and low-temperature expression of flagellar genes in *Yersinia enterocolitic* W22703. Microbiology 154:196-206

Büchl N, Wenning M, Seiler H, Mietke-Hofmann H, Scherer S (2008) Reliable identification of closely related Issatchenkia and Pichia species using artificial neural network analysis of Fourier-transform infrared spectra. Yeast 25, 11:787-798

Fricker M, Reissbrodt R, Ehling-Schulz M (2008) Evaluation of standard and new chromogenic selective plating media for isolation and identification of Bacillus cereus. Intern. Journal of Food Microbiology 121:27-34

Fuchs TM, Bresolin G, Marcinowski L, Schachtner J, Scherer S (2008) Insecticidal genes of Yersinia spp.: taxonomical distribution, contribution to toxicity towards Manduca sexta and Galleria mellonella, and evolution. BMC Microbiology, 8:214

Goerges S, Mounier J, Rea MC, Gelsomino R, Heise V, Beduhn R, Cogan TM, Vancanneyt M, Scherer S (2008) Commercial Ripening Starter Microorganisms Inoculated into Cheese Milk Do Not Successfully Themselves in the Resident Microbial Ripening Consortia of a South German Red Smear Cheese. Applied and Environmental Microbiology 74, 7:2210-2217

Guinebretiére M-H, Thompson FL, Sorokin A, Normand P, Dawyndt P, Ehling-Schulz M, Svensson B, Sanchis V, Nguyen-The C, Heyndrickx M and De Vos P (2008) Ecological diversification in the Bacillus cereus Group. Environmental Microbiology 10:851-865

Heermann R, Fuchs TM (2008) Comparative analysis of the Photorhabdus luminescens and the Yersinia enterocolitica genomes: uncovering candidate genes involved in insect pathogenicity. BMC Genomics 9, 40:1-21

Rebuffo-Scheer C, Dietrich J, Wenning M, Scherer S (2008) Identification of five Listeria species based on infrared spectra (FTIR) using macrosamples is superior to a microsample approach. Anal.Bioanal.Chem. 390:1629-1635

Scherer S, Ehling-Schulz M (2008) Riesiges Genreservoir eines Krankheitserregers. Spektrum der Wissenschaft 4:14-16

Scherer S, Ehling-Schulz M (2008) Bacillus cereus: Wege zur Prävention der emetischen Toxinbildung in Lebensmitteln. In: „Von der Idee zum Projekt – vom Projekt in die Praxis“ Dokumentation der 66.FEI-Jahrestagung, Hrsg. Forschungskreis der Ernährungsindustrie Bonn 61-72

Schmidt V S J, Wenning M, Glöckner J, Busse H J, Scherer S
Bavariicoccus seileri gen. nov., sp. nov., isolated from surface and smear water of German red smear soft cheese. Int J Syst Evol Microbiol (in press)

Serra DO, Lücking G, Weiland F, Schulz S, Görg A, Yantorno OM, Ehling-Schulz M (2008) Proteome approaches combined with Fourier transform infrared spectroscopy revealed a distinctive biofilm phyiology in Bordetella pertussis. Proteomics 8:4995-5010

Wenning M, Scherer S, Naumann D (2008) Infrared Spectroscopy in the Identification of Microorganisms. Diem M, Griffiths PR, Chalmers JM (eds) Vibrational Spectroscopy for Medical Diagnosis. John Wiley & Son ltd. Chichester, England, 71-96

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-71-3535 und -4205
Telefax: 08161-71-4384
Internet: http://www.lebensmittelverfahrenstechnik.de

Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-4205
Mitarbeiter:	Christian Albustin	-3481
	Dipl.-Ing. Mathias Aschenbrenner (ab 01.04.2008)	-5056
	Dipl.-Ing. (FH) Simon Bauer	-5031
	Dipl.-Ing. Michael Betz	-3855
	Annette Brümmer-Rolf	-5032
	Dipl.-Ing. Katharina Daimer	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dr.-Ing. Petra Först	-3536
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dipl.-Ing. Christopher Guyot	-5317
	Brigitte Härter	-5032
	Dipl.-Ing. Thomas Heidebach	-5317
	Dipl.-Ing. Martin Heinrich	-3856
	Marianne Holzmann	-3538
	Dipl.-Ing. Sebastian Karasch	-3534
	Karin Karasch	-5032
	Dipl.oec.troph. Veronika Kaufmann	-5032
	Anne Keller	-5032
	Dipl.-Ing. Markus Kreuß	-5032
	Karl Kroiss (ab 01.04.2008)	-3942
	Dipl.-Ing. Wolfgang Kühnl	-5317
	Dipl.-Ing. (FH) Jeanette Kupfer	-5031
	Mag.-Ing. Malgorzata Kuropatwa	-3939
	Dr.-Ing. Sabine Lauber	-3855
	Dipl. -Ing. Elena Leeb (ab 15.08.2008)	-3855
	Maria Muranyi	-3538
	Dipl.-Ing. Viktorija Malisauskaite (bis 31.07.2008)	-3855
	Dipl. LM-Ing. (Univ.) Alexander Piry	-3534
	Dipl.-Ing. Katherina Pruß (ab 16.06.2008)	-3856

Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Chalat Santivarangkna (MSc)	-3856
Dipl.-Ing. Iris Schmitz (ab 01.10.2008)	-3481
Erich Schneider	-3537
Dipl.oec.troph. Nadja Siegert	-3534
Dipl.-Ing. (FH) Sonja Stirtzel (ab 15.04.2008)	-5056
Dr.-Ing. Alexander Tolkach	-3536
Dipl.-Ing. (FH) José Toro	-3481
Günther Unterbuchberger	-3942
Dr.-Ing. Qin Wang (bis 31.03.2008)	-5056

Nachwuchsforschergruppe:

PhD Seronei Cheison	-5056
Dipl.-Ing. Christian Finale (bis 30.11.2008)	-3481
Ilona Hager	-5031

E-Mail-Adressen: Vorname.Name@wzw.tum.de

Gäste: Rommy Zuniga Pardo PhD Student aus Chile / DAAD
(1. Oktober 2008 bis 28. Februar 2009)

Vorwort

Im Jahr 2008 konnte die Einwerbung von Forschungsmitteln weiter gesteigert werden. Der Lehrstuhl liegt zusammen mit der ZIEL-Abteilung Technologie in einer Spitzenposition am Wissenschaftszentrum Weihenstephan. Zwei Dissertationen kamen zum Abschluss, 7 neue Mitarbeiter konnten gewonnen werden, 3 haben nach Abschluss ihrer Arbeiten neue Positionen in der Industrie eingenommen. Mehrere Arbeiten erhielten wissenschaftliche Preise, gleich mehrfach ausgezeichnet wurde die Dissertation von Dr.-Ing. Alexander Tolkach.

In 33 Publikationen, davon 17 wissenschaftliche Originalarbeiten, 52 Vorträgen und 13 Posterpräsentationen sind die neu erarbeiteten Erkenntnisse sorgfältig dokumentiert und kommuniziert. Weiter sorgten 12 vom Lehrstuhl bzw. der Abt. Technologie organisierte Tagungen, Seminare und Projektsitzungen für einen unmittelbaren Transfer von neuen Ergebnissen in Richtung von potentiellen Anwendern, die sich ihrerseits überaus engagiert und erfolgreich um die Umsetzung der Erkenntnisse bemühen.

Neben den üblichen Anträgen für Forschungsmittel konnte zusammen mit Prof. Küster (Bioanalytik, federführend), Prof. Haller (Biofunktionalität der Lebensmittel) und weiteren Kollegen ein DFG-Großgeräteantrag erfolgreich gestellt werden, der nun neue analytische Möglichkeiten für die Charakterisierung von Peptiden aus der enzymatischen Hydrolyse mittels MALDI-TOF-Analytik (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight) eröffnet und zusammen mit anderen High-Tec-Methoden der Massenspektroskopie in verschiedenen Arbeitsgruppen der Protein- und Peptidforschung zum Einsatz kommt.

Auszeichnungen 2008

Als beste Doktorarbeit wurde die Arbeit von Herr **Dr.-Ing. Alexander Tolkach** mit dem Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler am 24.09.2008 in Freising-Weihenstephan ausgezeichnet.

Herr **Dr.-Ing. Alexander Tolkach** wurde am 5. Dezember 2008 für seine Doktorarbeit mit dem Preis des Bundes der Freunde der TU München e. V. (BdF) ausgezeichnet.

Frau **Dipl.-Ing. Elena Leeb** erhielt die Auszeichnung als beste Diplomarbeit des Verbandes der ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler am 24.09.2008 in Freising-Weihenstephan

Herr **Dipl.-Ing. Michael Betz** erhielt für seine Diplomarbeit „Entzuckerung von Fruchtsäften mittels Membrantrenntechnik: Einfluss der Verfahren und Prozessparameter auf den Restsäure- und Zuckergehalt“ den Preis der Johannes B. Ortner-Stiftung.

Forschung

Arbeitsgruppe Bioprozesstechnik/Aseptik

Leitung: Dr.-Ing. Petra Först

Untersuchungen zur Lagerstabilität niedertemperatur-vakuumgetrockneter Mikroorganismen

Investigations on storage stability of low-temperature vacuum dried L. paracasei ssp. paracasei

Petra Först, Mario Schmitt, Simon Bauer

Starter- und probiotische Kulturen werden häufig getrocknet, um sie über lange Zeit stabil zu halten. Bedingt durch den Wasserentzug und weitere Schädigungsmechanismen werden die Zellen während des Trocknungsprozesses teilweise inaktiviert. Deshalb werden vor der Trocknung Schutzstoffe zugesetzt mit dem Ziel, die Trocknungsschäden zu minimieren. Zudem sind eine optimale Prozessführung und die Wahl eines geeigneten Trocknungsprozesses essentiell.

Häufig findet aber der größte Teil der Inaktivierung nicht während der Trocknung, sondern während der Lagerung statt. Von entscheidender Bedeutung sind dabei die Lagerungsbedingungen wie relative Feuchte und Temperatur. Zudem kann die Zugabe von Schutzstoffen wie Disaccharide oder Polyole die Lagerstabilität verbessern.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Lagerstabilität niedertemperatur-vakuumgetrockneter Zellen von *L. paracasei* ssp. *paracasei* (F19) in Abhängigkeit von der Temperatur sowie der relativen Feuchte zu untersuchen. Zudem wurde der Einfluss des Schutzstoffs Sorbit auf die Lagerstabilität untersucht. Die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung wird derzeit als Alternative zur Gefriertrocknung untersucht. Die Gefriertrocknung stellt das Standardverfahren für empfindliche biologische Materialien dar, ist jedoch teuer und zeitaufwändig. Deshalb wurde die Lagerstabilität von niedertemperatur-vakuumgetrockneten mit der von gefriergetrockneten Zellen verglichen.

Die Trocknung der frisch fermentierten und aufkonzentrierten Zellsuspension erfolgte in einem Gefriertrockner (Gamma 1-20, Fa. Christ/Osterode), der jedoch bei Bedingungen oberhalb des Tripelpunktes von Wasser betrieben wurde. Der Druck wurde auf 25 mbar eingestellt

und die Stellfläche auf 15 °C temperiert. Die Trocknungsdauer betrug 22 h. Der Restwassergehalt am Ende der Trocknung betrug 5,0 % für die Proben ohne Sorbit und 7,9 % mit Sorbit.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Inaktivierungsreaktion nach Einstellung des Gleichgewichts als Reaktion 1. Ordnung beschrieben werden kann, d.h.

$$\ln \frac{N_t}{N_0} = -k\,t$$

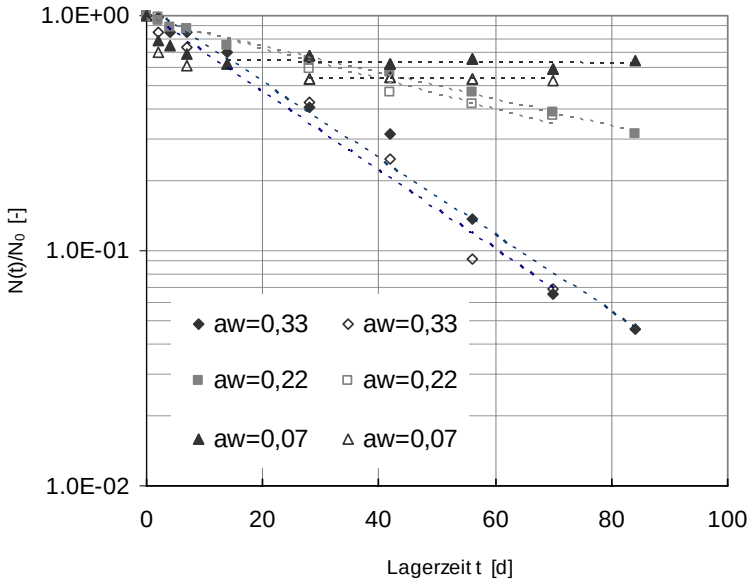
Die Größe N_t bezeichnet die Lebendkeimzahl nach einer bestimmten Lagerzeit t, N_0 die Lebendkeimzahl vor der Lagerung (nach der Trocknung) und k die Inaktivierungskonstante. Der Beobachtungszeitraum betrug 84 Tage. Tabelle 1 zeigt die untersuchten Kombinationen von relativer Feuchte und Temperatur sowie die ermittelten Inaktivierungskonstanten k. Bild 1 zeigt exemplarisch für eine Lagertemperatur von 20 °C die Inaktivierung in Abhängigkeit von der Wasseraktivität jeweils für die Proben mit und ohne Sorbit.

Die Inaktivierung während der Lagerung ist am stärksten für die höchste untersuchte Lagertemperatur in Kombination mit der höchsten relativen Feuchte. Der Zusatz von Sorbit erhöht die Lagerstabilität drastisch. Bei Temperaturen von 4 °C und 20 °C findet mit Sorbit selbst bei der höchsten Wasseraktivität keine Inaktivierung im Beobachtungszeitraum statt.

Tab. 1: Inaktivierungskonstante k (d-[1]) während der Lagerung in Abhängigkeit von der Temperatur und der relativen Feuchte mit und ohne Sorbit

a_w / T/ °C	0.07		0.22		0.33	
	Ohne Sorbit	Mit Sorbit	Ohne Sorbit	Mit Sorbit	Ohne Sorbit	Mit Sorbit
4	0[1]	0[1]	0[1]	0[1]	0[1]	0[1]
20	0.001 ± 0.001	0[1]	0.014 ± 0.002	0[1]	0.038 ± 0.003	0[1]
37	0.017 ± 0.003	0.012 ± 0.004	0.157 ± 0.027	0.077 ± 0.016	0.940 ± 0.062	0.312 ± 0.020

1) im Beobachtungszeitraum wurde keine Inaktivierung festgestellt



[1] Es findet unter diesen Bedingungen keine Inaktivierung statt

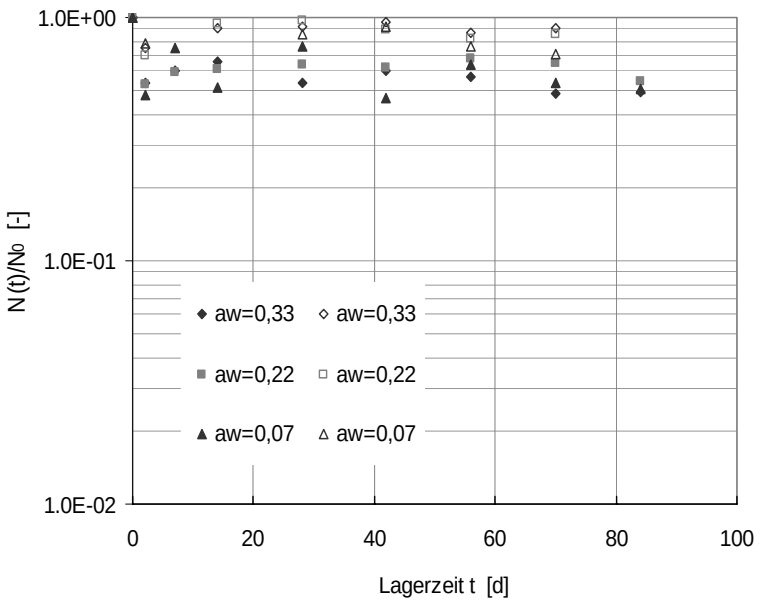


Abb. 1: Inaktivierung von L. paracasei ssp paracasei während der Lagerung bei einer Temperatur von 20 °C und verschiedenen aw-Werten ohne Sorbit (oberes Bild) und mit Sorbit (unteres Bild)

In Abb. 2 ist für eine Lagertemperatur von 37 °C die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante *k* von der Wasseraktivität sowohl für die Gefriertrocknung (mit Laktose als zugesetzten Schutzstoff) als auch für die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (sowohl mit und ohne Schutzstoff) dargestellt.

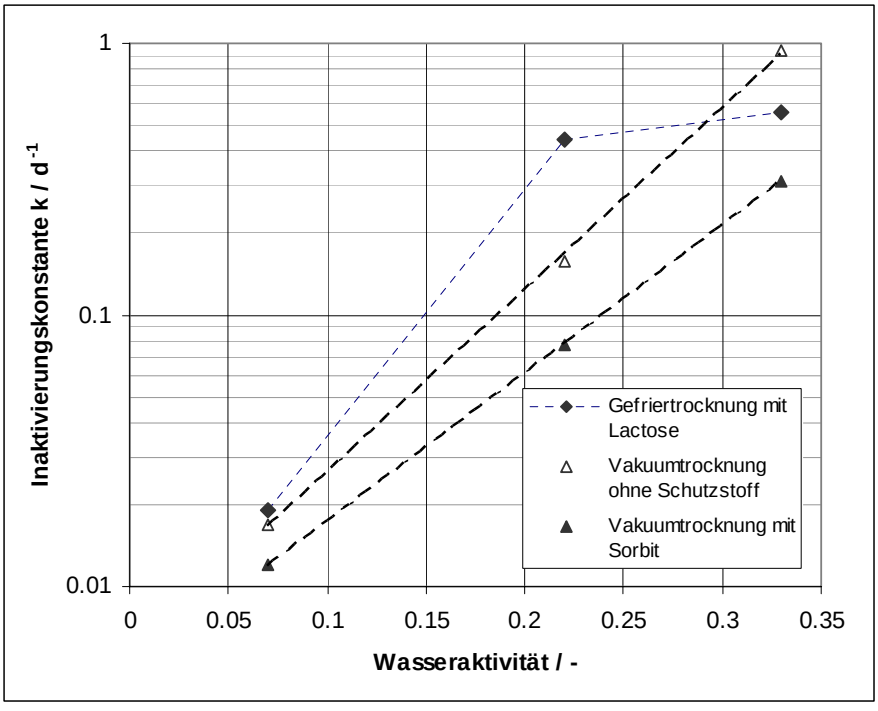


Abb. 2: Inaktivierungskonstante k (d-1) für die Lagerung von L. paracasei ssp. paracasei bei einer Lagertemperatur von 37 °C für vakuumgetrocknete (mit und ohne Sorbit) und gefriergetrocknete Zellen (mit Laktose als Schutzstoff)

Ein Vergleich der Inaktivierungskonstanten *k* zwischen Gefrier- und Vakuumtrocknung für jeweils gleiche Lagerungsbedingungen zeigt eine deutlich verbesserte Lagerstabilität der niedertemperatur-vakuumgetrockneten Zellen, die selbst ohne Zusatz von Schutzstoffen für niedrige Wasseraktivitäten besser ist als für gefriergetrocknete Zellen.

Der Grund für die Abhängigkeit der Lagerstabilität vom Trocknungsverfahren konnte bisher nicht ermittelt werden. Zum Einen könnte die Mikrostruktur der getrockneten Proben (insb. Porosität) eine Rolle spielen. Zum Anderen könnten aber auch Vorschädigungen bei der Trocknung von Bedeutung sein, die sich auf die Lagerstabilität auswirken. Die Erklärung der unterschiedlichen Lagerstabilität ist Inhalt zukünftiger Forschungsarbeiten.

Untersuchung der Trocknungsresistenz ausgewählter Bakterienstämme in einem Standard-Gefriertrocknungsprozess

Investigation on the drying resistance of selected strains in a standard freeze drying process

Simon Bauer, Petra Först

Bei der Herstellung von Lebensmitteln spielen Mikroorganismen eine große Rolle. Nicht nur hinsichtlich der Betriebshygiene sind diese von Bedeutung, sondern sind auch als Starter- oder Schutzkultur essentiell für eine Vielzahl von Produkten. Zudem erhöhen sie den Wert des Produkts, wenn es sich um probiotische Kulturen handelt.

Solch gewünschte Mikroorganismen finden derzeit in Form von fertig konfektionierten Kulturpräparaten großer Kulturenhersteller den Weg zum Anwender. Die Distribution dieser Kulturen erfolgt hierbei häufig im tiefgefrorenen Zustand, was besondere Anforderungen an den Transport und die Lagerung insbesondere hinsichtlich des Energieverbrauches stellt. Ein Weg, diesem Aufwand entgegenzutreten, ist die Trocknung solcher Kulturen. Dieser Prozess kann die Kulturen jedoch stark schädigen. Es fehlt allerdings nach wie vor das Verständnis über die grundlegenden Schädigungsmechanismen während der Trocknung. Zudem ist der Einfluss des Trocknungsverfahrens auf die Trocknungsresistenz unbekannt.

In dieser Arbeit sollte daher die Trocknungsresistenz unterschiedlicher Bakterienstämme in einem Gefriertrocknungsprozess untersucht werden, welcher die Standardkonservierungsmethode getrockneter Kulturpräparate darstellt. Dies dient als Grundlage für die Untersuchung der Trocknungsresistenz in anderen Trocknungsverfahren wie der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung.

Für die Trocknungsexperimente wurden *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis*, *L. paracasei* ssp. *paracasei*, *L. helveticus*, *L. sanfranciscensis* und *L. sakei* verwendet. Diese Starterkulturen finden in verschiedenen Produktgruppen Verwendung (Milch- und Fleischprodukte sowie Sauerteig). Zudem sind aus dieser Auswahl unterschiedliche Trocknungsresistenzen zu erwarten. Die Zellen wurden jeweils in Speicher-Medium fermentiert, bis die frühstationäre Wachstumsphase erreicht war. Diese Zellsuspension wurde mittels Zentrifugation geerntet, mit destilliertem Wasser gewaschen und auf eine Zelldichte von ca. 10^{10} KbE/mL aufkonzentriert. Anschließend wurde das Zellkonzentrat mit flüssigem Stickstoff innerhalb einer Minute eingefroren. Die darauf folgende Gefriertrocknung wurde bei einem Druck von 0,12 mbar durchgeführt, was einer Sublimationstemperatur von reinem Wasser von -40 °C entspricht. Die Zufuhr von Sublimationswärme erfolgte über eine temperierbare Stellfläche (-20 °C). Nach einer 12-stündigen Trocknung wurde ein Restwassergehalt von ca. 5 % (Tabelle 2) erreicht.

Tab. 2: Restwassergehalte der unterschiedlichen Bakterien nach 12-stündiger Gefriertrocknung (0,12 mbar/ -20 °C Stellflächentemperatur)

	Mittelwert Restwassergehalt [%]	Standardabweichung [%]
L. delbrueckii ssp. *bulgaricus*	5,36	0,56
L. sanfranciscensis	4,79	0,26
L. sakei	5,48	1,22
L. paracasei ssp. paracasei	4,85	0,36
L. helveticus	5,74	1,37
Bifidobacterium lactis	6,53	0,35

Parallel zur Bestimmung des Restwassergehaltes und der Wasseraktivität wurde die Trocknungsresistenz der Organismen mittels Keimzahlbestimmung errechnet.

Abb. 3 zeigt die Ergebnisse dieses Versuchs, wobei hier als Maß für die Trocknungsresistenz die Lebendkeimzahl nach der Trocknung, bezogen auf die anfängliche Lebendkeimzahl, herangezogen wurde.

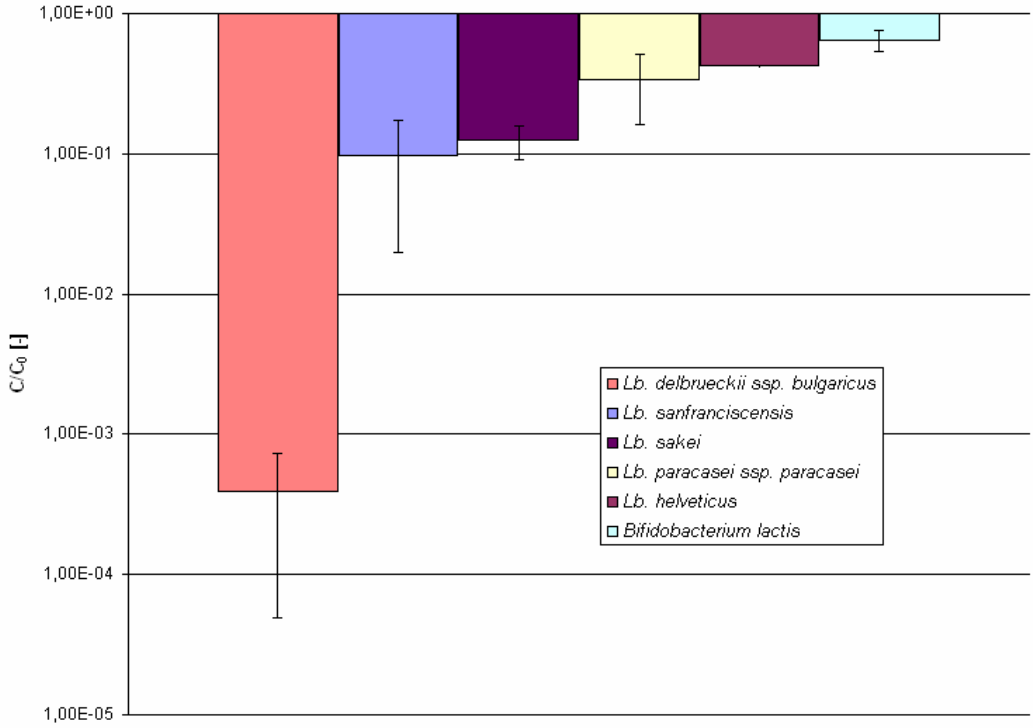


Abb. 3: Untersuchung der Trocknungsresistenz verschiedener Bakterienstämme während eines Gefriertrocknungsprozesses (12 h bei 0,120 mbar/-20 °C Stellflächentemperatur)

Die Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede der Bakterienstämme hinsichtlich ihrer Trocknungsresistenz. Ein differenzierterer Einblick in die Schädigungsmechanismen erlauben diese Daten allerdings noch nicht. Die Ergebnisse dienen zunächst als Grundlage für den Vergleich der Trocknungsresistenz in anderen Trocknungsverfahren wie der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 15616 N)

Sorbitol protects *Lactobacillus helveticus* during vaccum drying via an interaction with the cell membrane

Chalat Santivarangkna

A strategy to improve the viability of starter cultures during drying is the addition of protective substances, especially carbohydrates. However, mechanisms of the protection have been studied mostly in synthetic membranes, and little is known about the mechanisms during drying of the intact cells. Regarding the protective effects of sugars, there are two main hypotheses developed accordingly from experiments with synthetic membranes to explain the roles of sugars against dehydration inactivation. The hypotheses differ essentially on the ability of sugars to form amorphous glass (vitrification) between lipid bilayers or replace the removed water and hydrogen bond with phospholipids. In our investigation, lactic acid bacteria *Lactobacillus helveticus* and sorbitol were used as a model cell and protectant, respectively. *L. helveticus* was selected due to its importance as a starter culture for cheese production, while sorbitol is a reported active protectant for the strain against during vacuum drying of the cells at 43 ºC, 100 mbar (Santivarangkna et al. 2006).

According to the vitrification hypothesis, as sugars become concentrated during drying, they may crystallize or become supersaturated with an accompanying increase in viscosity until assuming the glassy state. Studies have shown that the different abilities of sugars to stabilize membranes may correlate with their glass-forming tendencies, which is reflected by glass transition temperature (T_g). It is crucial that the glass formation occurs at drying temperature range. The higher T_g of sugars is, the more efficient they will be in preserving membranes. To examine the tendencies of sorbitol to form the sugar glass during drying, T_g of sorbitol with different moisture contents was measured by differential calorimetry (DSC). In addition to water, phosphate buffer saline (PBS), which used in the preparation of dried cells, was used also for the adjustment of water contents of sorbitol.

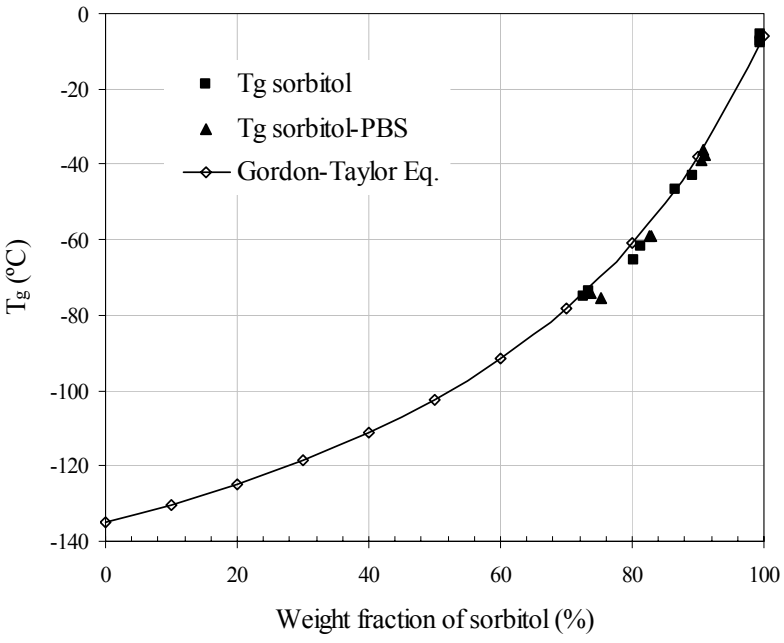


Fig. 4:

Glass transition temperatures (Tg) for sorbitol as a function of weight fraction of sorbitol. The open diamonds with solid line were predicted with the Gordon-Taylor equation. The equation is that Tg equals (W1Tg1+kW2Tg2) / (W1 + kW2). The w1- and Tg1-values are weight fractions and glass transition temperatures of anhydrous sorbitol (-7 ºC). The w2 -and Tg2-values are weight fractions and glass transition temperatures of water (-135 ºC). The k-value employed in the equation is 2.96 (Talja and Roos 2001).

From Figure 4, anhydrous sorbitol was found to have a glass transition at -7 ºC (±1.34), and T_g of sorbitol decreased with the increased water content. It can be clearly seen that T_g of sorbitol were for all compositions lower than 43 ºC which is the drying temperature of the cells.

According to the water replacement hypothesis, the interaction can be observed from hydrogen-bonding sensitive FT-IR bands. These bands are C=O stretching bands around 1750-1720 cm^{-1} at the polar/apolar interface and the P=O asymmetric stretching bands around 1250-1220 cm^{-1} at the lipid polar headgroup of the phospholipids. For the analysis, fresh and dried *L. helveticus* cells were analysed by FT-IR spectroscopy equipped with sample temperature controlling system. The spectra were recorded between 4000-500 cm^{-1} at 4-60 ºC.

From Figure 5, dried samples exhibited an obvious band at 1715 cm^{-1}, while the band near 1725 could not be clearly seen. Since the band 1725 are assigned to the hydrogen-bonded C=O groups, the disappearance of band 1725 could be due to the removal of water which is normally hydrogen-bonded to the carbonyl groups of lipids in hydrated samples.

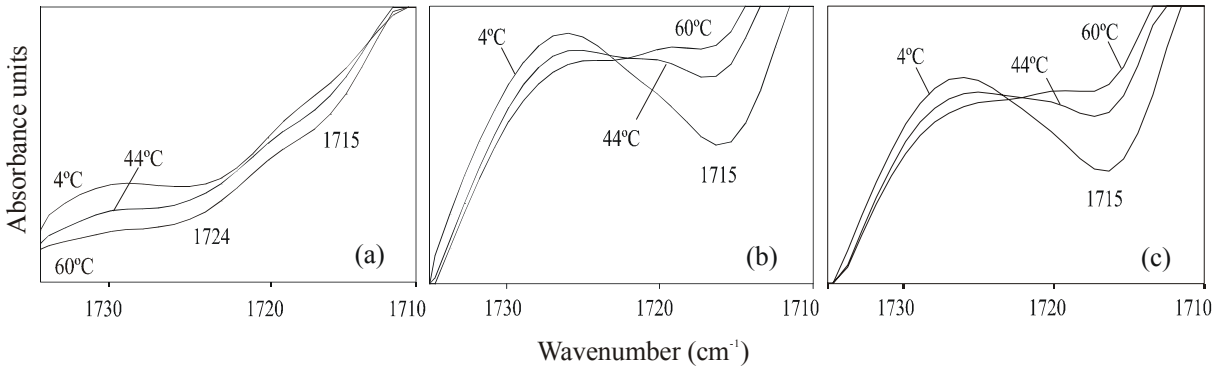


Fig. 5: Normalized secondary derivative FTIR spectra of bands centred around 1725 and 1715 cm-1 in the carbonyl stretching region of L. helveticus fresh cells (a) and cells dried in the absence (b) and presence of sorbitol (c). Only the spectra recorded at 4, 44, and 60ºC are shown in the inset for clarity.

Although differences between fresh cells and the dried cells were clearly observed, these could not be seen in cells dried in the absence and in the presence of sorbitol. That is, the interaction between sorbitol and the polar/apolar interface of the membrane could not be affirmed. Since carbonyls of the lipids are located at the polar/apolar interfaces, it is possible that sorbitol could not penetrate deep enough to interact with the carbonyl groups. Therefore, the headgroup P=O functional group, which locates relatively closer to the membrane surface, was additionally observed for the feasibility of the sorbitol-phospholipids interaction. The interaction can be deduced from a down-field shift in the position of the P=O band, because it is theoretically and experimentally straightforward that the peak position shifts downward to the lower frequency with increased hydrogen bonding. From Figure 3, a weak interaction between sorbitol and P=O functional group could be observed. The P=O peaks were shifted to the low frequency side in cells dried in the presence of sorbitol. The peak position was shifted only by 2-3 cm^{-1} compared to cells dried without the supplementation. In both samples, temperatures had only slightly effect on the increase in the interaction, as it could be seen from the trivial peak shift and peak broadening on the down-field side upon heating.

The low hydrogen-bonding capability of sorbitol can be due to the fact that ability to replace water and interact with phospholipids is various among sugars.

In conclusion, the results revealed that sorbitol may protect cells by a weak interaction via hydrogen bonding with the membrane. However, it should be noted that the interaction may be dose-dependent, and increase with a higher concentration of sorbitol. From a practical point of view, it could be deduced from the insight obtained that besides the ability to form amorphous glass which help stabilizing cells during the storage (Higl *et al.* 2007), ability of sugars to interact with membrane phospholipds is also an important criteria for the selection of the protectant for the preservation of starter cultures by vacuum drying. Moreover, since sorbitol is known to be very slowly permeant solutes, and in this study it could not hydrogen bond with carbonyl groups of membrane which locate deeper in the interfacial region of phospholipids. It is interesting to investigate if there is any correlation between the ability of sugars to across a membrane and its ability to interact with active functional groups in phospholipids.

References:

Higl, B., Kurtmann, L., Carlsen, C.U.et al. (2007) Impact of water activity, temperature, and physical state on the storage stability of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* freeze-dried in a lactose matrix. *Biotechnol. Prog.* **23**, 794-800.

Santivarangkna, C., Kulozik, U. and Foerst, P. (2006) Effect of carbohydrates on the survival of

Lactobacillus helveticus during vacuum drying. *Lett. Appl. Microbiol.* **42**, 271-276

Talja, R.A. and Roos, Y.H. (2001) Phase and state transition effects on dielectric, mechanical, and thermal properties of polyols. *Thermochimica Acta* **380**, 109-121.

Mikroverkapselung mittels Milchproteinen zum Schutz von probiotischen Keimen

Microencapsulation by means of dairy proteins for the protection of probiotic cells

Thomas Heidebach, Petra Först

Der Einsatz probiotischer Keime zur Anreicherung von Lebensmitteln nimmt eine immer wichtigere Rolle im Bereich der „functional foods“ ein. Die in Lebensmittel eingebrachten probiotischen Mikroorganismen können ihre gesundheitsfördernden Eigenschaften jedoch nur dann vollständig entfalten, wenn sie lebend, in ausreichender Konzentration und regelmäßig in den Darm gelangen. Da Probiotika jedoch häufig sehr sensibel gegenüber äußeren Milieueinflüssen reagieren, stellt das Aufrechterhalten der Vitalität und Funktionalität der Keime momentan die größte Herausforderung bei einer Verwendung als funktionelles Additiv für Lebensmittel dar. So sind die probiotischen Keime insbesondere während der Lagerung im Produkt und beim Durchgang durch den Magen Bedingungen ausgesetzt, die zu einem Verlust an lebenden Keimen führen. In diesem Zusammenhang gilt die Mikroverkapselung als viel versprechende Möglichkeit, um die Überlebensraten der probiotischen Keime bis zu ihrer Ankunft im menschlichen Darm zu steigern.

Daher wurden verschiedene Verfahren zur Mikroverkapselung von probiotischen Keimen auf der Basis einer enzymatischen Gelbildung von Milchproteinen entwickelt und optimiert. Dabei wird im Rahmen eines Wasser-in-Öl-Emulsionsprozesses zur Gelbildung der dispersen, proteinreichen Phase entweder Labenzym oder Transglutaminase eingesetzt. Beide Wege führen zur Ausbildung wasserunlöslicher Mikrokapseln, welche die Mikroorganismen quantitativ einschließen, ohne sie dabei zu schädigen. Die Abbildungen 6 und 7 zeigen die bei den unterschiedlichen Verkapselungsprozessen entstehenden Kapseltypen. Bei den Lab-induzierten Kapseln dient eine konzentrierte Magermilchlösung als Ausgangslösung, bei den

Transglutaminase-induzierten Kapseln eine konzentrierte Caseinatlösung. Obwohl bei beiden Verfahren die gleiche Emulgierintensität eingesetzt wurde, sind die Lab-indzuierten Kapseln kleiner. Dies lässt sich mit der niedrigeren Viskosität der Ausgangslösung begründen, was zu einer energetisch günstigeren Tropfenzerteilung während des Emulsionsprozesses führt. Beide Kapseltypen sind rund und zeigen eine relativ glatte Oberfläche (siehe Abb. 6 und 7). Kugelförmige Kapseln werden generell favorisiert, da hier ein für den Schutzeffekt vorteilhaftes kleinstmögliches Verhältnis zwischen Oberfläche und Volumen vorliegt.

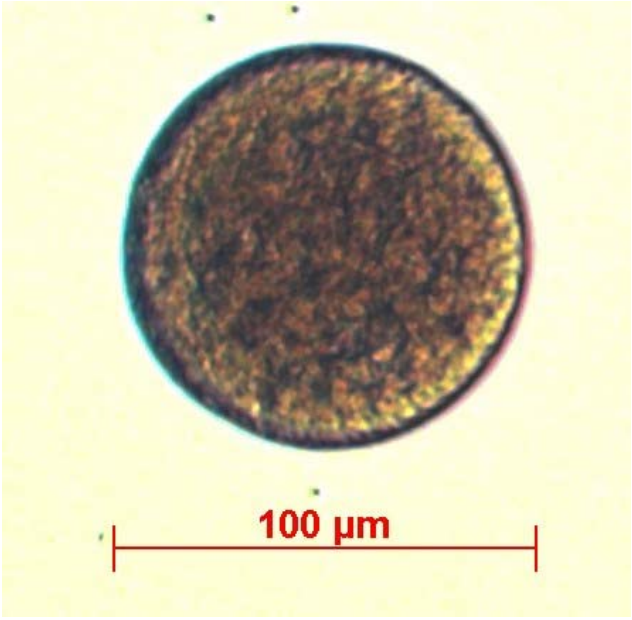


Abb. 6: Lab-induzierte Mikrokapsel auf Milchproteinbasis

Abb. 7: Transglutaminase-induzierte Caseingelkapsel

Eine wichtige Aufgabe der Mikroverkapselung ist, das verkapselte Material vor ungünstigen Milieubedingungen zu schützen. Im Falle probiotischer Keime spielt in diesem Zusammenhang insbesondere der Durchgang durch den Magen nach dem Verzehr probiotischer Lebensmittel eine wichtige Rolle. Bedingt durch die tiefen pH-Werte wird ein großer Teil der probiotischen Mikroorganismen abgetötet, was zu einer Abschwächung des gewünschten positiven Effekts führt. Um einen Schutzeffekt bei tiefen pH-Werten zu prüfen, wurde eine Mikroverkapselung von *Lactobacillus paracasei* (F19) bzw. *Bifidobacterium lactis* (Bb12) mit den beiden Kapseltypen auf Basis der enzymatischen Gelbildung von Milchproteinen durchgeführt. Anschließend wurden die frisch hergestellten Mikrokapseln sowie nicht verkapselte Keime gemischt mit Proteinlösung in simulierten Magensaft bei einem pH-Wert von 2,5 über 90 min eingebracht. Die Ergebnisse dieser Versuche für die Lab- bzw. Transglutaminase-induzierten Mikrokapseln sind in Abb. 8 bzw. Abb. 9 dargestellt.

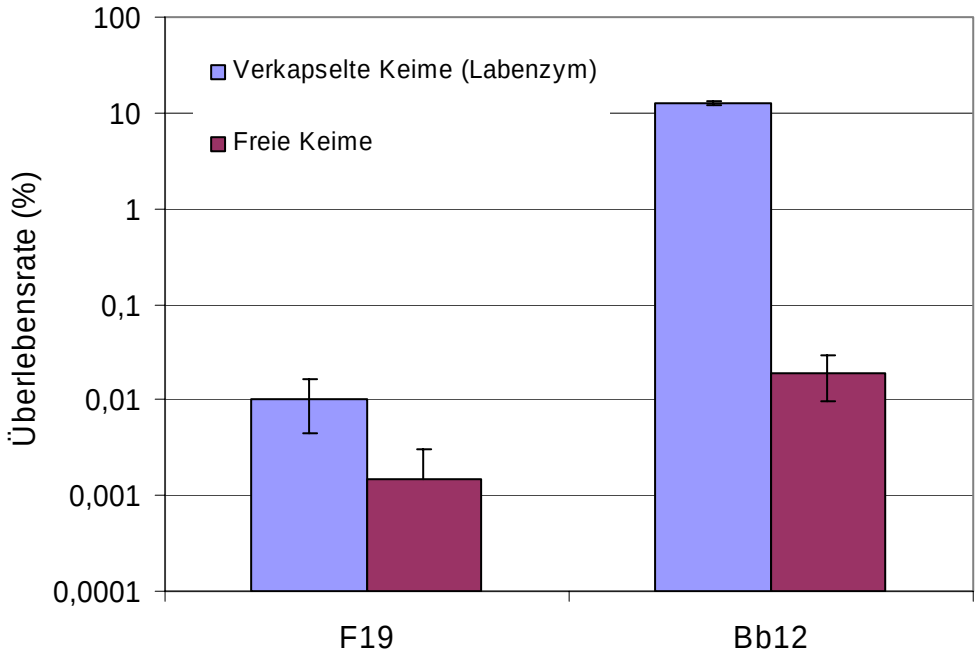


Abb. 8: Einfluss der Mikroverkapselung mittels Labenzym auf die Überlebensraten von Bb12 und F19 nach 90-minütiger Inkubation in simuliertem Magensaft bei pH 2,5.

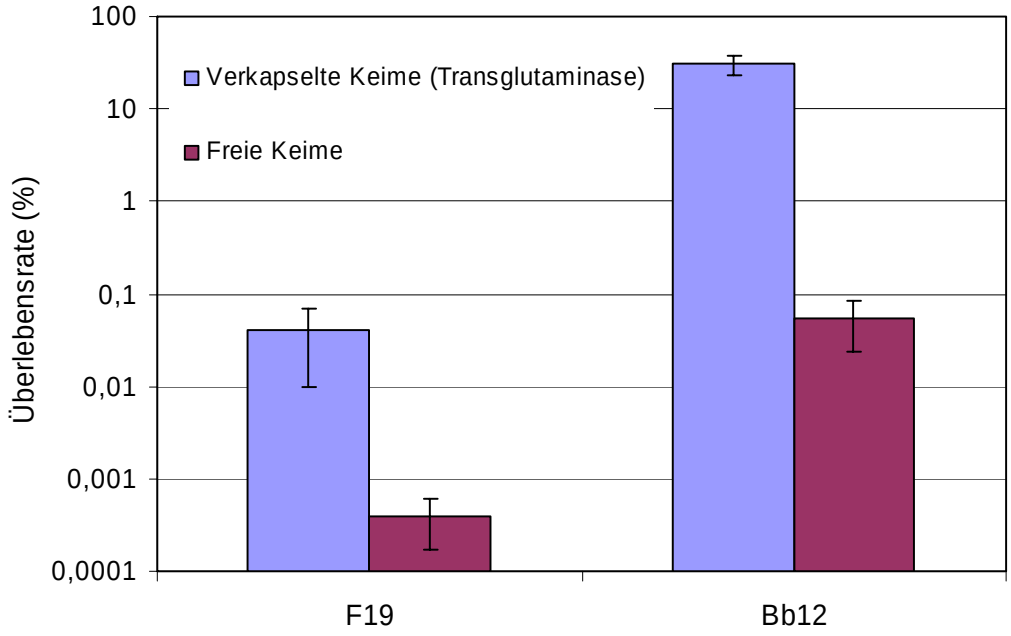


Abb. 9: Einfluss der Mikroverkapselung mittels Transglutaminase auf die Überlebensraten von Bb12 und F19 nach 90-minütiger Inkubation in simuliertem Magensaft bei pH 2,5.

Der Vergleich der Überlebensraten der verkapselten mit den jeweils freien Keimen zeigt, dass bei beiden Stämmen im Falle der verkapselten Proben nach 90 min eine deutlich höhere Überlebensrate von je nach Bedingung zwischen einer und drei Zehnerpotenzen vorliegt. Da die Kapseln nach 90-minütiger Inkubation bei pH 2,5 nicht zersetzt werden, ist anzunehmen, dass die erhöhten Überlebensraten der verkapselten Keime auf eine puffernde Wirkung der

dichten Proteinmatrix im Inneren der Kapseln zurückzuführen sind, die zu einem höheren pH-Wert und somit einem günstigeren Milieu innerhalb der Kapseln führt. Damit verkapselte probiotische Keime ihre Wirkung im menschlichen Körper entfalten können, müssen sie jedoch im Darm aus den Kapseln freigesetzt werden. Im Falle der entwickelten Kapseln ist dies gewährleistet, da beide eingesetzten enzymatisch-induzierten Geltypen vom Menschen verdaut und verstoffwechselt werden. Die Untersuchungen machen deutlich, dass Mikrokapseln auf der Basis von TG-induzierten Caseingelen sowie Lab-induzierten Milchproteingelen sehr gute Voraussetzungen für einen Einsatz als Hüll- bzw. Matrixmaterialien zur Verkapselung bioaktiver Komponenten im Lebensmittelbereich liefern. Insbesondere für einen Einsatz fermentierten Milchprodukten bieten sich hierbei vielfältige Anwendungsmöglichkeiten, da sich diese Produkte einerseits generell sehr gut für eine Anreicherung von Probiotika eignen, und auf der anderen Seite eine Einsatz von Milchproteinkapseln in eine hohe Verbraucherakzeptanz erwarten lässt.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 15327 N)

Einflussfaktoren auf die Qualität und Stabilität von pasteurisierter Milch mit verlängerter Haltbarkeit

Factors affecting product quality and stability of pasteurized milk with extended shelf life

Veronika Kaufmann

Trinkmilch mit verlängerter Haltbarkeit (bei Kühllagerung) und zugleich hoher sensorischer Wertigkeit hat sich in den letzten Jahren immer weiter etabliert. Die Qualität und Stabilität dieser E(xtended) S(helf) L(ife)-Milch hängt dabei prinzipiell von Faktoren wie Rohmilchqualität, Verpackungs- und Lagerungsbedingungen sowie dem eigentlichen Herstellprozess ab. Als Herstellungsvarianten stehen unterschiedliche membrantrenntechnische und damit kombinierte oder rein thermische Verfahren zur Auswahl. Genauere Erkenntnisse über Einfluss und Zusammenspiel von Herstelloption sowie vor-/nachgelagerten Faktoren auf spezifische Produkteigenschaften oder haltbarkeitsrelevante Veränderungen der ESL-Milch, die eine zielgerichtete Optimierung der bereits bestehenden Verfahrens- und Produktkonzepte ermöglichen, fehlten jedoch bislang und sind deshalb Gegenstand laufender Forschungsarbeiten.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass sich mikrofiltrierte und anschließend pasteurisierte (MF+PAST)-Milch nicht nur hinsichtlich der gängigen Hitzeindikatoren wie der Peroxidase-Aktivität oder der Menge an nativem ß-Laktoglobulin, sondern auch bezüglich mikrobieller, enzymatischer und sensorischer Charakteristika vom rein hocherhitzten (HE) Produkt abgrenzt. In HE-Milch sind beispielsweise nur einzelne Sporen bzw. -bildner (wie z.B. *Bacillus spp.*) vorhanden. Somit ist kein Keimwachstum während der Lagerung detektierbar. Im Gegensatz dazu können in „frisch“ hergestellter MF+PAST-Milch auch vegetative, grampositive Keime (je nach Rohmilchqualität ca. 10-100 KbE/ml) nachgewiesen werden. Im Verlauf der Lagerung ist ein weiterer Anstieg der Gesamtkeimzahl feststellbar. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, wird dabei aber i.d.R. auch nach 25 Tagen Lagerung (bei ≤10 °C) das mikrobielle Inakzeptanzlevel von 10^6 KbE/ml nicht erreicht. Folglich erweisen sich weder bei HE- noch bei MF+PAST-Milch die mikrobiologischen Veränderungen als haltbarkeitsbegrenzend.

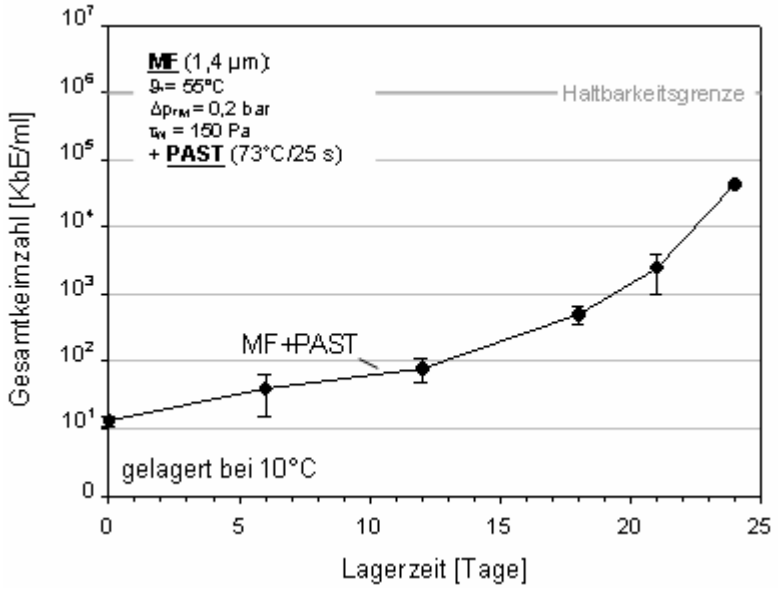


Abb. 10: Mikrobielle Veränderungen während der Lagerung von MF+PAST-Milch

Während der Lagerung finden jedoch unerwünschte (hydrolytische) Umsetzungen durch in der Rohmilch originär vorhandene sowie bakteriell freigesetzte proteolytische und lipolytische Enzyme statt, welche die Lagerstabilität der ESL-Milch beeinträchtigen. Wie in Abb. 11 beispielhaft dargestellt, wird insbesondere beim MF+PAST-Produkt nach einer Lagerzeit von etwa 15-18 Tagen meist ein Gehalt an freien Fettsäuren überschritten, der zur Ausprägung eines Fehlgeschmackes führt.

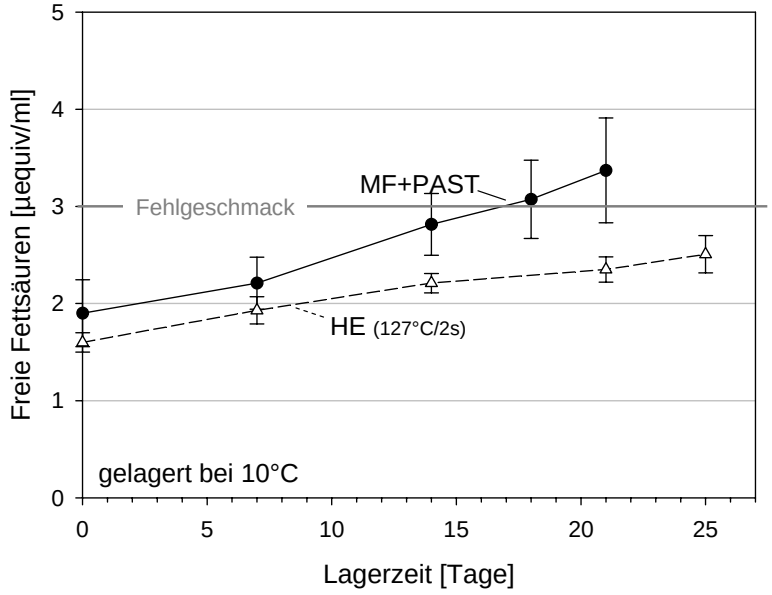


Abb. 11: Vergleich der lipolytischen Veränderungen während der Lagerung von HE- und MF+PAST-Milch

Dabei erweisen sich sowohl die vergleichsweise hohe (Rest-)Aktivität der Lipasen nach der MF+PAST als auch die bei dieser Verfahrensvariante erforderliche separate thermische Behandlung der Rahmfraktion, die zu einer Veränderung der Fettkugeloberfläche und einer besseren Zugänglichkeit der Fettphase für den Enzymangriff führt, als problematisch und somit haltbarkeitslimitierend. Die lipolytisch freigesetzten Fettsäuren unterliegen zudem verstärkt einer Lipidoxidation, was eine weitere (sensorische) Beeinträchtigung der Produktqualität mit sich bringt. Gerade bei schlechter (mikrobiologischer oder enzymatischer) Aus-

gangsqualität der Rohmilch können sich zudem auch die proteolytisch bedingten Veränderungen als haltbarkeitsbegrenzend erweisen.

In HE-Milch sind dahingegen herstellungsbedingt bzw. aufgrund der höheren thermischen Behandlung deutlich geringere Lipase- und Proteaseaktivitäten detektierbar. Folglich werden die einem „off-flavor" entsprechenden Grenzwerte an enzymatisch freigesetzten Spaltprodukten auch nach einer Lagerung (bei ≤10 °C) von mehr als 30 Tagen nicht erreicht. Dahingegen weist das hocherhitzte Produkt aber insbesondere zu Beginn der Lagerung einen vergleichsweise ausgeprägteren Kochgeschmack auf.

Da sich HE- und MF+PAST-Milch hinsichtlich ihrer Qualitäts- und Haltbarkeitskriterien voneinander unterscheiden, muss die Optimierung von ESL-Technologie und -Produkten verfahrensspezifisch erfolgen.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 15047 N)

Evaluierung eines Wägesystems zur kontinuierlichen In-situ Erfassung des Wasserentzugs im Verlauf der Gefriertrocknung

Evaluation of a weighing system for continuous in-situ capture of water removal in the course of the freeze drying process

Mathias Aschenbrenner

Eine entscheidende Rolle bei der Konservierung von probiotischen Keimen durch Gefriertrocknung bezüglich der Überlebensrate, spielt der Wassergehalt der Probe. Dies erklärt sich mit der Tatsache, dass physikalische wie chemische Reaktionen stark vom verfügbaren Wasser abhängig sind. Der Wasserentzug ist also einerseits notwendig um eine Konservierung zu ermöglichen, aber andererseits mitverantwortlich für die Inaktivierung der Keime innerhalb der einzelnen Prozessabschnitte Gefrieren, Gefriertrocknen und Lagerung. Ein im Zusammenhang mit dem Wassergehalt viel diskutiertes Kriterium ist der Phasenzustand der gefriergetrockneten Kulturen, der sog. Lyophilisate. Dieser Zustand wird maßgeblich von zwei Faktoren, dem Wassergehalt und der Temperatur der Probe, bestimmt. Den Zusammenhang zwischen diesen Faktoren und dem Zustand der Probe geben Phasenzustandsdiagramme wieder. Abb. 12 zeigt ein Phasenzustandsdiagramm für *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, welcher mit einer definierten Menge an Laktose versetzt wurde. Laktose ist eine Substanz, die bei schnellem Wasserentzug in den Glaszustand übergehen kann. Das Diagramm zeigt zwei Kurven: die Gefrierkurve verdeutlicht den Zusammenhang zwischen Gefriertemperatur und Feststoffkonzentration in der wässrigen Lösung, die Glasübergangskurve hingegen gibt an, bei welchen Temperatur/Restwasser-Kombinationen die Probe in den Glaszustand übergeht. Dieser erwünschte, stark wasserabhängige Zustand spielt vor allem im Bezug auf die Lagerstabilität getrockneter Präparate eine wichtige Rolle und ermöglicht konkret höhere Überlebensraten für die getrockneten Mikroorganismen. Um einen Punkt im Phasenzustandsdiagramm eindeutig zu bestimmen, benötigt man die Temperatur und den Wassergehalt der jeweiligen Probe. Der Temperaturverlauf der Probe während der Trocknung kann mit Hilfe eines Pt 100 Sensors aufgezeichnet werden, der Restwassergehalt hingegen wird mit der Karl-Fischer Methode titrimetrisch am Ende einer abgeschlossenen Trocknung bestimmt. Somit lässt sich ermitteln, ob sich eine Probe nach abgeschlossener Trocknung im Glaszustand (Bereich unter der Glaskurve) oder außerhalb befindet.

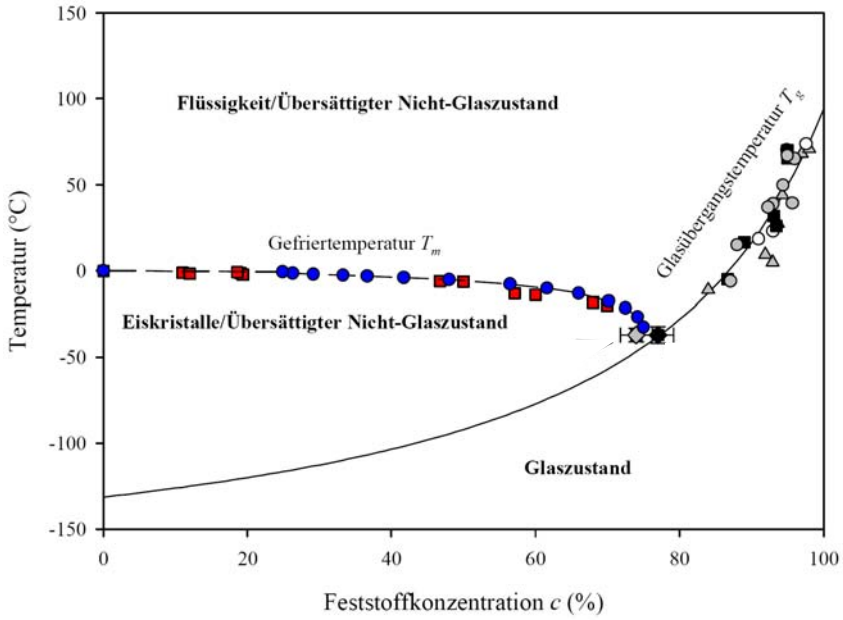


Abb. 12: Phasenzustandsdiagramm nach Higl (2008) für Lactobacillus paracasei ssp. paracasei mit Laktose (0,25g/gZelltrockenmasse). Die Gefrierkurve zeigt die Gefriertemperatur in Abhängigkeit vom Restwassergehalt der Probe. Die Glasübergangskurve gibt an, bei welchen Restwasser/Temperatur-Kombinationen die Probe in den Glaszustand übergeht.

Um die Rolle des Glaszustandes während der Lyophilisation besser zu verstehen, sind gezielte Versuche inner- und außerhalb dieses Zustandes notwendig. Es interessiert dabei aber nicht nur, ob die Probe am Ende der Trocknung diesen Zustand erreicht hat, sondern auch der Zeitpunkt des Glasübergangs. Vor diesem Hintergrund liefert eine Restwasserbestimmung am Ende der Trocknung nur unzureichende Information. Erforderlich ist deshalb eine lückenlose Aufzeichnung des Trocknungsverlaufs. Mittels Karl-Fischer-Titration ist dies nur mit einem enormen Messaufwand erreichbar. Eine interessante Alternative dazu stellt ein in-situ Wägesystem (CWS40, Fa. Wipotec, Kaiserslautern) dar, welches zusammen mit den Proben auf der Stellfläche des Gefriertrockners platziert werden kann und somit während des gesamten Trocknungsprozesses selbst im Feinvakuum Daten über den Wassergehalt der Probe liefert (siehe Abb. 13). Die Ermittlung der Probenmasse erfolgt dabei in kurzen programmierbaren Zeitabständen, was zu einem kontinuierlichen Trocknungsverlauf führt. Abb. 14 zeigt einen in-situ gemessenen Trocknungsverlauf einer Trehaloselösung (10 % w/w) während eines Gefriertrocknungsprozesses.

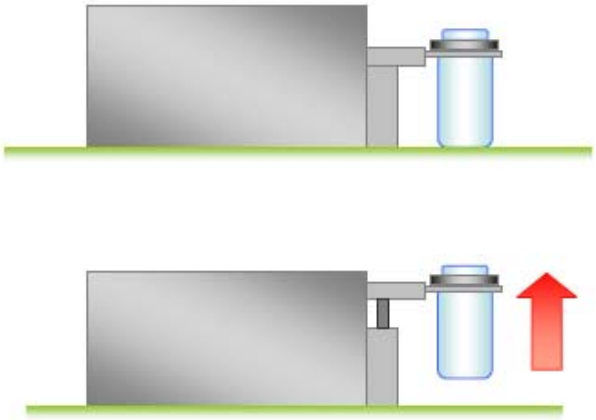


Abb. 13: Schematische Darstellung des in-situ Wägesystems CWS40 (Fa. Wipotec, Kaiserslautern) in Ausgangsposition (obere Abbildung) und während des Messvorgangs (untere Abbildung). Als Probengefäße dienen handelsübliche Vials für die Gefriertrocknung. Der Greifarm der Waage ist fest mit dem Trocknungsglas verbunden und hebt dieses in festen Zeitintervallen kurz an. Somit bleibt der Kontakt zwischen Stellfläche und Vial gesichert.

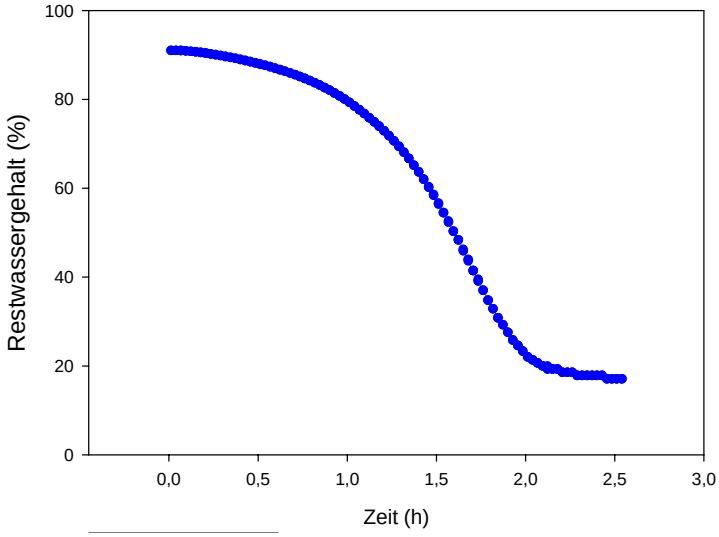


Abb. 14: Mit CWS40 in-situ gemessener Trocknungsverlauf einer Trehaloselösung (Ausgangskonzentration 10 % (w/w).) während eines Gefriertrocknungsprozesses. (Wägesystem CWS40, Fa. Wipotec, Kaiserslautern)

Um jedoch aussagefähige Messwerte zu erzielen, musste vor dem eigentlichen Messbetrieb eine Validierung des Wägesystems erfolgen. Dabei wurde die durch nicht-konstante Temperatur- und Druckbedingungen verursachte Messabweichung der Waage mit Hilfe von Testproben (konstante Gewichte) ermittelt. Es zeigte sich, dass der Messfehler hauptsächlich von der Temperatur bzw. von Temperaturgradienten beeinflusst wird. Um den Messfehler des Systems zu quantifizieren, wurden Trocknungsversuche mit typischen Einstellungen simuliert. Aus der gefundenen Abweichung können „reale Trocknungsverläufe“ in der nachfolgenden Auswertung rechnerisch korrigiert werden. Abb. 15 zeigt eine Gegenüberstellung von Restwassergehalten, welche in-situ und mittels Referenzmethode ermittelt wurden. Als Trocknungsgut dienten Zuckerlösungen bekannter Ausgangskonzentration, da in diesem Fall der Restwassergehalt der Probe direkt durch Bestimmung der Probenmasse berechnet werden

kann. Im Fall der in-situ bestimmten Restwassergehalte wurden jeweils die kompletten Trocknungsverläufe aufgezeichnet. Diese ermittelten Massenverläufe wurden in Restwasserverläufe (siehe Abb. 14) umgerechnet, wobei der letzte gemessene Wert als Restwassergehalt der Probe definiert wurde. Die selbe Probe wurde direkt im Anschluss mit einer Feinwaage unter atmosphärischen Bedingungen nachgemessen. Auf Basis dieses Kontrollwertes wurde ein Vergleichsrestwassergehalt ermittelt. Die unterschiedlichen Restwassergehalte der Proben wurden durch Variieren der Trocknungszeit erreicht. Es zeigt sich, dass der Fehler in der Mehrheit der Fälle einen Wert von 5 % nicht übersteigt. Mit Blick auf den festgestellten Messfehler der standardisierten Karl-Fischer-Titration, welche ebenso durch Vergleich mit der oben genannten Referenzmethode beurteilt wurde, konnten die online-Ergebnisse als gleichwertig eingestuft werden.

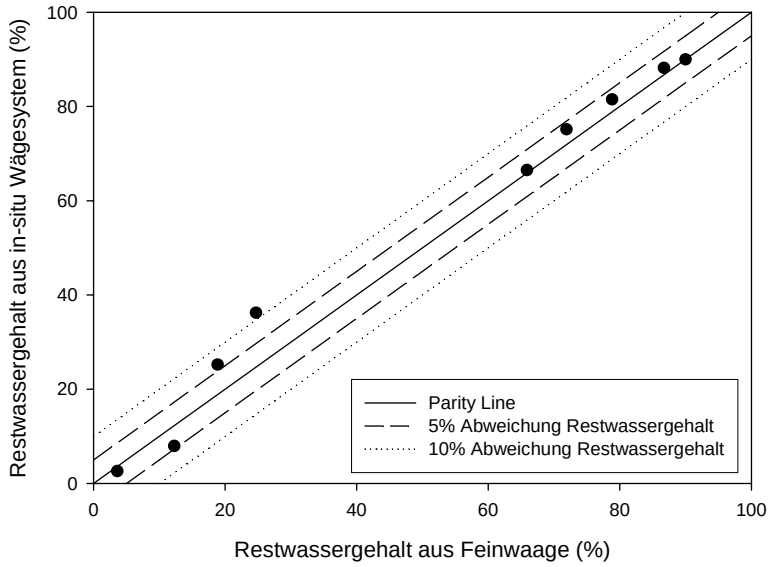


Abb. 15: Vergleich von ermittelten Restwassergehalten aus in-situ Wägesystem und den Kontrollwerten aus Feinwaage. Der Großteil der in-situ ermittelten Restwassergehalte weicht weniger als 5 % vom Kontrollwert ab.

In Zukunft können mit Hilfe des validierten Wägesystems Trocknungskinetiken verschiedener Proben miteinander verglichen werden. Eine besonders interessante Anwendungsmöglichkeit ist die kombinierte Darstellung von zeitlichem Trocknungsverlauf und Phasenzustandsdiagramm (siehe Abb. 12). Dies ermöglicht es, jedem Zeitpunkt während der Trocknung den jeweiligen Zustand der Probe innerhalb des Diagramms zuzuordnen. Somit kann nachvollzogen werden, wann Proben während der Trocknung einen Phasenübergang erfahren und inwiefern sich der jeweilige Phasenzustand auf schädigende bzw. schützende Mechanismen auswirkt.

Literatur:

Higl, B. (2008): Bedeutung des Glaszustandes für die Stabilität von Mikroorganismen während der Lyophilisation und der Lagerung, Dissertation TU München, Verlag Dr. Hut, München.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (GZ: KU 750/2-1, AOBJ: 551228) gefördert.

Arbeitsgruppe Proteintechnologie/Membrantrenntechnik

Leitung: Dr.-Ing. Alexander Tolkach / Dr.-Ing. Sabine Lauber

Kinetics of heat-induced denaturation of β-lactoglobulin dispersions: Effect of pH on denaturation degree and aggregate sizes

Rommy Zuniga, Jose Toro, Alexander Tolkach

The effect of heat treatment on the structural and chemical properties of whey proteins, commonly referred to as denaturation, has been extensively studied in the literature due to importance of the thermal treatment applied in food processing. The native conformation of the protein polypeptide chains reacts to heat with a pronounced structural change and an exposure of hydrophobic groups, which can be reversible or not as a function of the type of S–S bridging involved (Bals and Kulozik, 2003). Further heat treatment induces not only unfolding, but also aggregation of globular whey proteins (Schmitt et al., 2007; 2008; Rullier et al., 2008). The kinetics of protein denaturation and aggregation is controlled by the heating conditions (temperature, heating rate and processing time) and by the chemical environment (pH, ionic strength, ionic calcium, and lactose and protein concentrations). As protein aggregates are complex structures with different size and shape, it can be expected that their behavior is different from non-aggregated proteins.

The objective of the present work was to investigate the influence of the pH-value on denaturation and aggregation of β-lactoglobulin (β-lg) dispersions. Dispersions of β-lg (5 % w/v) were prepared using milliQ water and stirred at 20 °C for 2 hr. The pH of the dispersion (6.0, 6.4 and 6.8) was adjusted by addition of 1 N HCl. The β-lg dispersions were left at least for 12 hr at 4 °C to allow complete hydration of protein. For the thermal treatment and the evaluation of kinetic data the samples were heated in stainless-steel tubes (inner diameter of 3 mm and length of 258 mm) in a water bath at a constant temperature of 80±0.1 °C for different holding times. After heat treatment, the samples were cooled immediately in ice water at 4 °C. The kinetic of the process was followed by measurement of the concentration of native β-lg as a function of heating time by means of HPLC. Determination of the formal order of denaturation reaction n was performed by applying the general kinetic equation with reaction order $n \neq 0$:

$$\left(\frac{C_t}{C_0}\right)^{1-n} = 1(n-1)\cdot k \cdot t \tag{1}$$

where C_0 and C_t are the concentrations (g/L) of native β-lg before and after heat treatment, k (1/s) is the velocity constant and n is the reaction order.

The degree of denaturation (DD) of β-lg dispersions was calculated as follows:

$$DD = 1 - \frac{C_t}{C_0}\cdot 100\% \tag{2}$$

Aggregate sizes produced by the heat treatment at different pH were determined by dynamic light scattering. The particle size distribution was calculated as the best fit between the measured scattered pattern and the predicted by light scattering theory and the hydrodynamic diameters (D_h) of aggregated were calculated using the Stokes-Einstein equation:

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\mu D_{app}} \tag{3}$$

where k_B (1.38×10^{-23} Nm/K) represents the Boltzmann constant, T is the temperature (K), and μ (Ns/m^{-2}) the solvent viscosity.

For the three pH values studied an increase in DD was observed as a function of heating time, reaching a value above 90 % after 15 min of heating (Fig. 16). The DD raised with an increase in the pH of the dispersion for the same holding time. Using equation (1), it was possible to arrive at the overall order of the reaction *n* of the process under investigation. Appropriate plots of the data produced straight lines, with slopes equal to the order *n* of the reaction at the temperature of heating (Fig. 17). In the case of β-lg dispersions a value of $n = 1.5$ was found for the three pH.

An increase of pH in the range of 6.0 to 6.8 has a destabilizing effect on β-lg. The more alkaline the pH is, the higher are the values of the reaction rate constants. This is probably due to the conformation of the protein which is most stable toward its isoelectric point, because the electrostatic repulsion between the charges whithin the protein molecule is minimized (Verheul et al., 1998). Values of reaction rate constants (k) were 3.0, 3.4 and 3.7×10^{-3} s^{-1} for pH 6.0, 6.4 and 6.8, respectively. Value for pH 6.8 was in agreement with that found by Dannenberg and Kessler (1988) for β-lactoglobulin in skimmed raw milk.

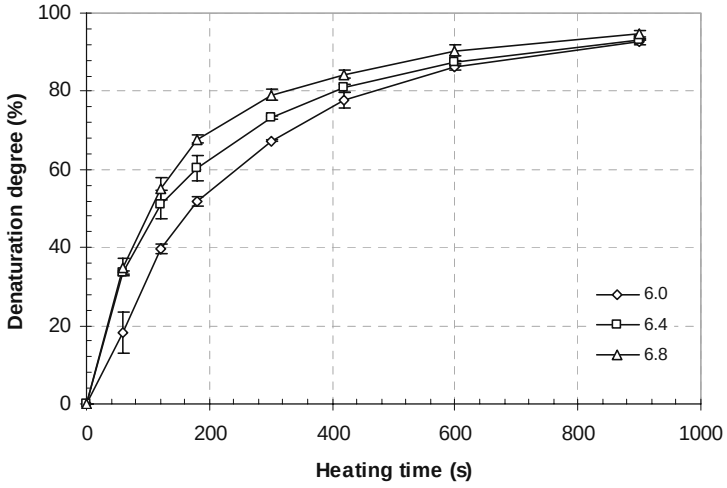


Fig. 16: Effect of pH and heating time over denaturation degree of β-lactoglobulin dispersions.

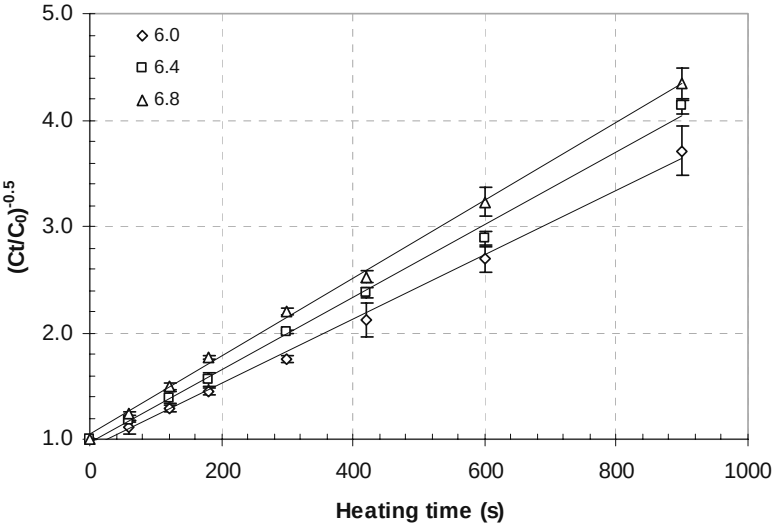


Fig: 17: Graphical representation of the effect of pH over denaturation of β-lacto-globulin dispersions as a reaction order of 1.5.

From dynamic light scattering the size distribution of non-aggregated proteins as well as of protein aggregates was obtained. Non-aggregated β-lactoglobulin has an average hydrodynamic diameter of 6.4 nm, which is coherent with data in the literature (Rullier et al., 2008, Martínez et al., 2009). Aggregate sizes increased with the DD for the β-lactoglobulin dispersions at pH 6.4 and 6.8. However, at pH 6.0 non significant differences in aggregate sizes was found for DD above 17 %. A decrease in the pH from 6.8 to 6.0 produced higher values of the hydrodynamic diameters of the protein aggregates.

The decrease in the diameters of the soluble aggregate formation upon pH increase can be attributed to the increased intermolecular charge repulsion, preventing further aggregation by repulsive interactions. In addition, the increased dissociation yield of the thiol groups, especially for β-lactoglobulin, at higher pH values might result in an increased probability that the activated non-native intermediate will react and form disulfide bonds that will terminate the propagation of aggregate growth (Schmitt et al., 2007; Verheul et al., 1998).

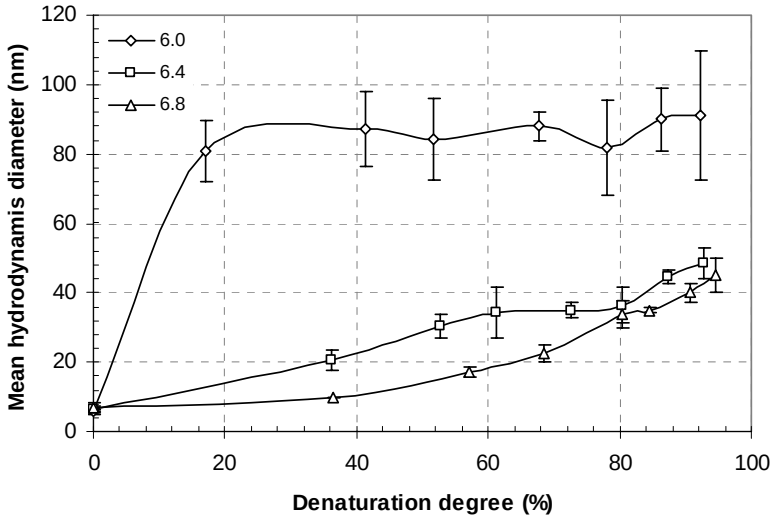


Fig: 18: Effect of pH and denaturation degree of β-lactoglobulin dispersions on aggregate sizes.

References

Bals A, Kulozik, U. 2003. Effect of pre-heating on the foaming properties of whey protein isolate using a membrane foaming apparatus. International Dairy Journal, 13, 903 – 908.

Dannenberg F, Kessler HG. 1988. Reaction kinetics of the denaturation of whey proteins in milk. Journal of Food Science, 53, 258-263.

Martinez MJ, Carrera Sánchez C, Rodríguez Patino JM, Pilosof AMR. 2009. Interactions in the aqueous phase and adsorption at the air–water interface of caseinoglycomacropeptide (GMP) and β-lactoglobulin mixed systems. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 68, 39-47.

Rullier B, Novales B, Axelos MAV. 2008. Effect of protein aggregates on foaming properties of β-lactoglobulin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. In press.

Schmitt C, Bovay C, Rouvet M, Shojaei-Rami S, Kolodziejczyk E. 2007. Whey protein soluble aggregates from heating with NaCl: physicochemical, interfacial, and foaming properties. Langmiur, 23, 4155-4166.

Verheul M, Roefs SPFM, de Kruif KG. 1998. Kinetics of heat-induced aggregation of β-lactoglobulin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 896-903.

Thermische Denaturierung von α-Lactalbumin im sauren pH-Bereich: Einfluss der Citratkonzentration.

Thermal denaturation of α-Lactalbumin at acid pH-conditions: Impact of citric acid

Jeanette Kupfer, Alexander Tolkach

α-La ist die zweitgrößte Molkenproteinfraktion der Milch. Dem Protein wird eine Reihe von interessanten technologisch, ernährungsphysiologisch und medizinisch relevanten Eigenschaften zugeschrieben, so dass eine wirtschaftliche Gewinnung dieses Proteins in reiner Form von besonderem Interesse ist. Als Fraktionierungsmethode wir dabei oft die selektive thermische Denaturierung von α-La mit anschließender Renaturierung des reversibel denaturierten Protein eingesetzt. Diese Methode schließt pH-Einstellung durch Citronensäure (bis pH 3,4) und die darauf folgende thermische Behandlung bei Temperaturen zwischen 50 und 56 °C ein.

Um die reversible Denaturierung von α-La hinsichtlich der Behandlungszeit und -temperatur weiter optimieren zu können, ist es notwendig, den Prozess formalkinetisch beschreiben zu können. Das Problem bei der Anwendung von formalkinetischer Beschreibung für diese Reaktion liegt darin, dass es sich hier laut vielen Literaturberichten um eine asymptotische Reaktion handelt: mit fortschreitender Zeit wird eine s.g. "Gleichgewichtskonzentration" an nativem, nicht präzipitierbarem α-La erreicht. Diese ist alleine von der Temperatur und von der Konzentration an Calcium-bindenden Substanzen wie z.B. Citrat abhängig. Im Rahmen einer kinetischen Studie zur Beschreibung der thermischen Denaturierung von α-La im saueren pH-Bereich wurde dafür ein Model entwickelt, das hier im Kurzen dargestellt werden soll.

Der Effekt des Citrats auf die Denaturierung und Präzipitation des α-La bei niedrigen pH-Werten kann durch die Bindung der freien Calcium-Ionen erklärt werden. Dabei kann das gebundene Calcium nicht mehr an der Gleichgewichtseinstellung zwischen *holo*- und *apo*-α-La teilnehmen, was in einer Verschiebung des Gleichgewichtes in Richtung der Bildung der *apo*-Form resultiert, welche sich massiv an der Aggregation beteiligt. Abb.19 verdeutlicht diesen Zusammenhang.

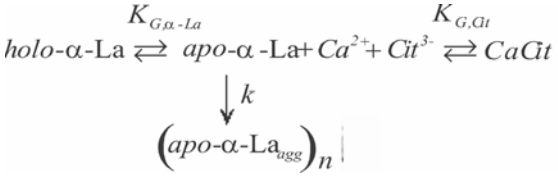


Abb. 19: Präzipitationsmechanismus von α-La in der Anwesenheit eines Calciumkompexbildners (Citrat) im sauren pH-Bereich

Wie aus Abb. 1 abzuleiten ist, kann die Denaturierung von α-La durch zwei reversible Gleichgewichtszustände in Verbindung mit einer irreversiblen Aggregation beschrieben werden. Dabei können die reversiblen Prozesse durch die Gleichgewichts- bzw. Calciumbindungskonstanten $K_{G,\alpha\text{-}La}$ und $K_{G,Cit}$ sowie eine Geschwindigkeitskonstante der Aggregation k charakterisiert werden. Laut allgemeiner Definition gelten für $K_{G,\alpha\text{-}La}$ und $K_{G,Cit}$ nach der Einstellung des Gleichgewichtes folgende Zusammenhänge:

$$K_{G,\alpha\text{-}La} = \frac{c_{holo-\alpha-La,\infty}}{c_{apo-\alpha-La,\infty} \cdot c_{Ca^+,\infty}} \tag{1}$$

$$K_{G,Zit} = \frac{c_{CaCit^-,\infty}}{c_{Cit^{3-},\infty} \cdot c_{Ca^+,\infty}} \tag{2}$$

Durch entsprechende Vereinfachung können Gleichung (1 und 2) als folgende Beziehung dargestellt werden:

$$\frac{C_{\alpha-La,0}}{C_{\alpha-La,\infty}} = 1 + \frac{1}{K_{G,Ca}} \cdot \frac{C_{Cit^{3-},0}}{C_{Ca^{2+},0}} \cdot \frac{M_{Ca}}{M_{Cit}} \qquad \text{mit} \qquad K_{G,Ca} = \frac{K_{G,\alpha-La}}{K_{G,Cit}} \tag{3}$$

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Beziehung in Gleichung (3) auf ihre Gültigkeit und Anwendbarkeit für die thermische Denaturierung von α-La im sauren pH- Bereich und Anwesenheit von Citrat und anderen Calciumbildnern zu überprüfen. Dafür wurde die Abnahme der Konzentration an nativen α-La in Abhängigkeit von der Heißhaltezeit und der Citrationen-Konzentration untersucht. Abb. 20 zeigt die Ergebnisse dazu.

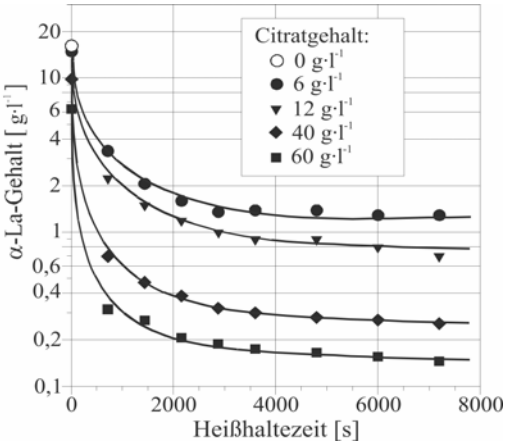


Abb. 20: Gleichgewicht zwischen holo- und apo-α-La zur Beschreibung der thermischen Stabilität von α-La bei pH 3.6 und 56 °C.

In Abb. 20 ist die relative Abnahme der Konzentration an nativem α-La in Abhängigkeit der Heißhaltezeit und Citratkonzentration dargestellt. Um die Zusammenhänge besser erkennen zu können, sind die Ergebnisse in einer halblogarithmischen Darstellung aufgetragen. Wie daraus ersichtlich ist, nimmt der Gehalt an nativem α-La bei der Erhitzung im sauren pH-Bereich in Anwesenheit von Citrat-Ionen asymptotisch bis zu einer Endkonzentration ab, die auch bei längeren Heißhaltezeiten nicht unterschritten werden kann. Die asymptotisch erreichte Endkonzentration von α-La kann dabei als Gleichgewichtskonzentration betrachtet werden, bei welcher das Gleichgewicht zwischen *holo*- und *apo*-Form eingestellt ist. Es ist deutlich zu sehen, dass die Gleichgewichtskonzentration des mit HPLC bestimmbaren α-La durch den Gehalt von Citrat maßgebend beeinflusst wird.

Gleichung (3) gibt die Abhängigkeit der Gleichgewichtskonzentration an nativem, mit HPLC erfassbarem α-La (in $g \cdot l^{-1}$) vom Ausgangsgehalt an Citrat und Calcium wieder. Der Reziprokwert der scheinbaren Calciumbindungskonstante $K_{G,Ca}$ sollte als Steigung der Geraden abgelesen werden können, wenn das Verhältnis zwischen Ausgangs- und Endkonzentration an α-La im Gleichgewichtszustand gegenüber dem Anfangsgehalt an Citrat dargestellt wird. Wird angenommen, dass sich das in Abb. 19 beschriebene Gleichgewicht nach 120 min thermischer Behandlung einstellt, sollte sich ebenfalls eine lineare Abhängigkeit ergeben.

Zur Verifizierung der Beziehung (3) ist in Abb. 21 die Abhängigkeit des Kehrwertes der relativen Abnahme von nativem, mit HPLC bestimmbarem α-La nach 120 min Heißhaltezeit bei 56 °C gegen den Citratgehalt aufgetragen (Rohdaten sind der Abb. 20 zu entnehmen).

Es ist eine lineare Abhängigkeit zu erkennen, womit die Anwendbarkeit der Gleichung (3) zur Beschreibung der Denaturierung von α-La in Anwesenheit eines Calciumkomplexbinders im sauren pH-Bereich bestätigt wird.

Die abgeleitete Kinetik kann genutzt werden, um den Prozess der selektiven Denaturierung von α-La zu optimieren und besser zu steuern. Dadurch kann bei bekannter Calcium- und Citrat-Ionen-Konzentration ausgerechnet werden, welche maximale Menge dieses Protein denaturiert werden kann.

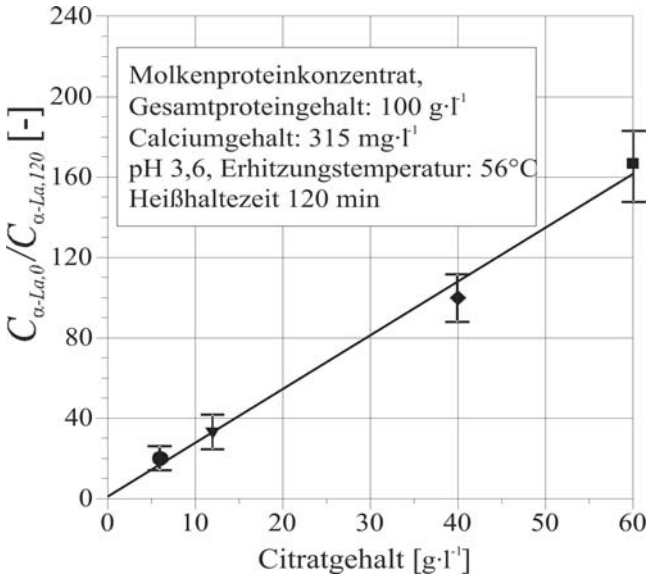


Abb. 21:
Einfluss des Citratgehaltes auf den Kehrwert der relativen Abnahme des nativen α-La nach 120 min Heißhaltezeit

Untersuchung des Einflusses der Membranlänge auf Flux und Permeation bei der Proteinfraktionierung mittels Mikrofiltration

Investigation of the effect of membrane length on flux and permeation at the protein fractionation with microfiltration

Alexander Piry, Wolfgang Kühnl

In vielen Bereichen der Milchwirtschaft werden Membranverfahren zur Fraktionierung und Konzentrierung eingesetzt. Grenzflächenphänomene wie Adsorption in den Membranporen sowie Deckschichtbildung auf der Membran minimieren den Stoffdurchgang und verändern die Trenncharakteristik der Membran. So werden bei der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration vergleichsweise niedrige Permeatvolumenströme (Flux) sowie eine partielle Retention der Molkenproteine, die eigentlich aufgrund ihrer geringen Größe durch die Membran permeieren sollten, festgestellt.

Aufgrund der ungleichen Verteilung der transmembranen Druckdifferenz entlang der Membran ergeben sich inhomogene Fluxsituationen sowie eine unterschiedlich starke Intensität der Deckschichtbildung, die mit der Membranlänge variiert. Bei diesen Untersuchungen wurde mit unterschiedlich langen, industrieüblichen keramischen MF-Membranen (Trenngrenze 0,1 µm) bei verschiedenen Transmembrandrücken filtriert. Wie in Abb. 22 zu sehen ist, steigt der Flux über Δp_{TM} bei der 0,3 m langen Membran am stärksten bis zu einem Transmembrandruck von 0,4 bar. Bei diesem Druck wird ein maximaler Flux von ca. 150 $lh^{-1}m^{-2}$ erreicht. Bei der 0,6 und 1,2 m langen Membran verläuft der Anstieg des Flux über den Transmembrandruck weniger steil und der Maximalflux wird erst bei höheren Transmembrandrücken erreicht.

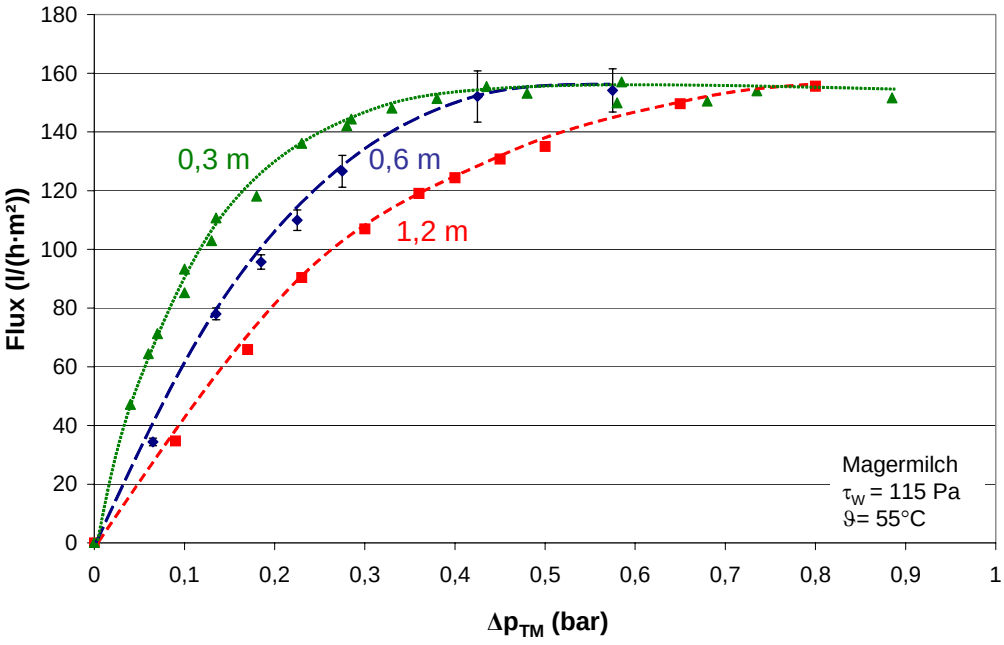


Abb. 22: Permeatflux in Abhängigkeit vom Transmembrandruck bei unterschiedlichen Membranlängen. Eingesetzt wurde eine MF-Membran mit einer nominellen Trenngrenze von 0,1 µm.

Grund für die unterschiedlichen Fluxverläufe ist der größere Druckverlust entlang des Fließweges, insbesondere bei den längeren Membranen. Dadurch nimmt auch die Inhomogenität des initialen Wasserflux beim Umschalten von Wasser auf Milch entlang der Membran zu. Aus den Druckverlusten entlang der Membran resultiert bei einer Überströmgeschwindigkeit von ca. 6 m/s (entspricht einer Wandschubspannung τw = 115 Pa) ein Unterschied beim Wasserflux (RM=3,4·1011 m-1) zwischen Membranein- und -ausgang von 1900 lh-1m-2 (1,2 m), 950 lh-1m-2 (0,6 m) bzw. 450 lh-1m-2 (0,3 m). Oberhalb eines bestimmten initialen Wasserflux ist der konvektive Stofftransport zur Membran hin so groß, dass sich eine Deckschichtbildung nicht mehr vermeiden lässt. Selbst wenn bei der 1,2 m langen Membran mit einem kleinen mittleren Transmembrandruck von 0,1 bar filtriert wird, so beträgt der lokale Transmembrandruck am Membraneingang 0,55 bar. Damit wird am Membraneingang lokal ein Anfangs-Wasserflux erreicht, der so hoch ist, dass es unvermeidbar zur Deckschichtbildung kommt. Ab einer gewissen kritischen Membranlänge ist es also nicht mehr möglich, mit der kompletten Membran im membrankontrollierten Bereich zu filtrieren.

Die bereits bei niedrigen mittleren Transmembrandrücken einsetzende lokale Deckschichtbildung bei der 1,2 m langen Membran hat Auswirkung auf die Permeation des Molkenproteins ß-Laktoglobulin (ß-Lg) bei der angestrebten Fraktionierung von Casein und Molkenproteinen. Wie in Abb. 23a zu sehen ist, wurden lediglich bei der 0,3 m bzw. 0,6 m langen Membran Permeationswerte von über 90 % erreicht. Aufgrund lokaler Deckschichtbildung im Bereich des Membraneingangs wurden bei der 1,2 m langen Membran maximal Permeationswerte von 72 % erreicht.

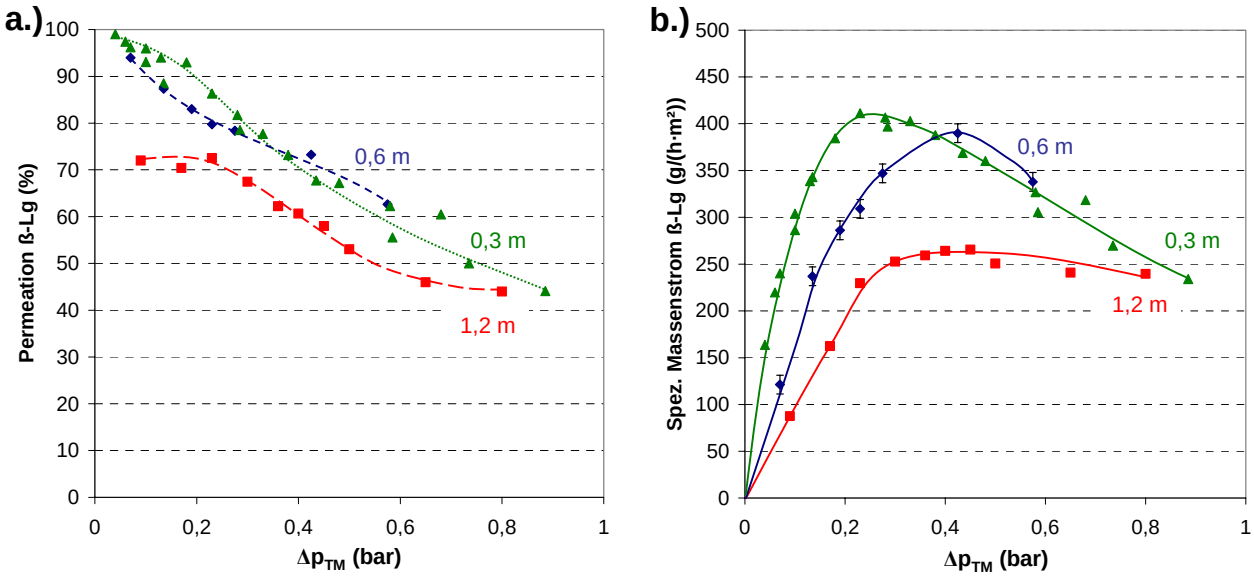


Abb. 23: a.) Permeation von ß-Lg und b.) spez. Massenstrom von ß-Lg in Abhängigkeit des ΔpTM bei unterschiedli chen Membranlängen (τw=115 Pa;ϑ=55 °C)

Beim spezifischen Massenstrom von ß-Lg, dem Produkt von Flux und Konzentration von ß-Lg in Permeat, wird der höchste Wert von 410 $gh^{-1}m^{-2}$ bei der 0,3 m langen Membran bei Δp_{TM}= 0,25 bar erreicht (Abb. 23b). Mit zunehmender Membranlänge verringert sich der Maximalwert des spezifischen Massenstroms, was auf die inhomogeneren Filtrationsbedingungen zurückzuführen ist. Bei der 1,2 m langen Membran wird bei Transmembrandrücken zwischen 0,35 und 0,6 bar beim spezifischen Massenstrom ein Plateau mit Werten von 265 $gh^{-1}m^{-2}$ erreicht.

Die Untersuchungen zeigen, dass bei konventionellen Membranen mit steigender Membranlänge die Problematik der Deckschichtbildung zunimmt und als Konsequenz daraus die maximale Fraktionierungsleistung abnimmt. Die Verwendung von kürzeren Membranen ist bei industriellen Prozessen jedoch nicht praktikabel, da aufgrund der geringeren Membranfläche eine größere Anzahl von Modulen parallel geschalten werden müsste, wodurch für die Überströmung benötigte Pumpenleistung stark ansteigt. Um die Deckschichtbildung auch bei langen Membranen besser kontrollieren zu können, kann alternativ der Membranwiderstand erhöht werden. Dadurch verringert sich die Differenz des Wasserflux entlang der Membran bei gleichem Druckverlust, so dass es möglich wird, auch am Membraneingang den Anfangs-Wasserflux so weit zu reduzieren, dass es zu keiner Partikelablagerung auf der Membran kommt. Eine weitere Möglichkeit zur besseren Deckschichtkontrolle bieten innovative Gradientenmembranen, bei denen der Druckverlust entlang der Membran durch einen variablen Membranwiderstand ausgeglichen wird und die dadurch unter bestimmten Prozessbedingungen homogene Filtratströme ermöglichen.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 14740 N)

Einfluss kolloidaler Wechselwirkungen auf die Mikrofiltration von Milch
Influence of collodial interactions on microfiltration of milk
Wolfgang Kühnl, Alexander Piry

Bei der Fraktionierung von Kaseinen und Molkenproteinen mittels MF haben neben hydrodynamischen Kräften auch kolloidale Interaktionen, also Kräfte zwischen Membran und deckschichtbildendem Material und intermolekulare Kräfte innerhalb der Deckschicht, einen starken Einfluss auf den Filtrationsprozess. Dicke und Struktur der Deckschicht und damit auch Filtrationswiderstand und Proteinpermeation werden entscheidend durch ein komplexes Zusammenspiel von Kompressionskäften der Filtratströmung und Protein-Protein-Wechselwirkungen bestimmt. Der retentatseitige Druckabfall entlang von Membranen und die daraus resultierenden inhomogenen Filtrationsbedingungen resultieren in unterschiedlichen Deckschichtstrukturen entlang der Membran.

Um den Milch-Flux längenabhängig messen zu können, wurden in dieser Arbeit keramische Mikrofiltrationsmembranen in Abschnitte gleicher Länge unterteilt und der Einfluss der kolloidalen Wechselwirkungen auf den Filtrationsprozess durch Variation des pH-Werts untersucht.

Durch Ansäuern der Milch verändern sich die Ladungen der Milchproteine. In Abb. 24 ist das Zetapotential, welches eine Maß für die Oberflächenladung der Partikel darstellt, für Kaseinmizellen und Molkenproteine als Funktion des pH-Werts aufgezeigt. Wie zu erkennen, ist das Zetapotential der Kaseine unterhalb pH 4,5 positiv, während oberhalb negative Werte gemessen werden

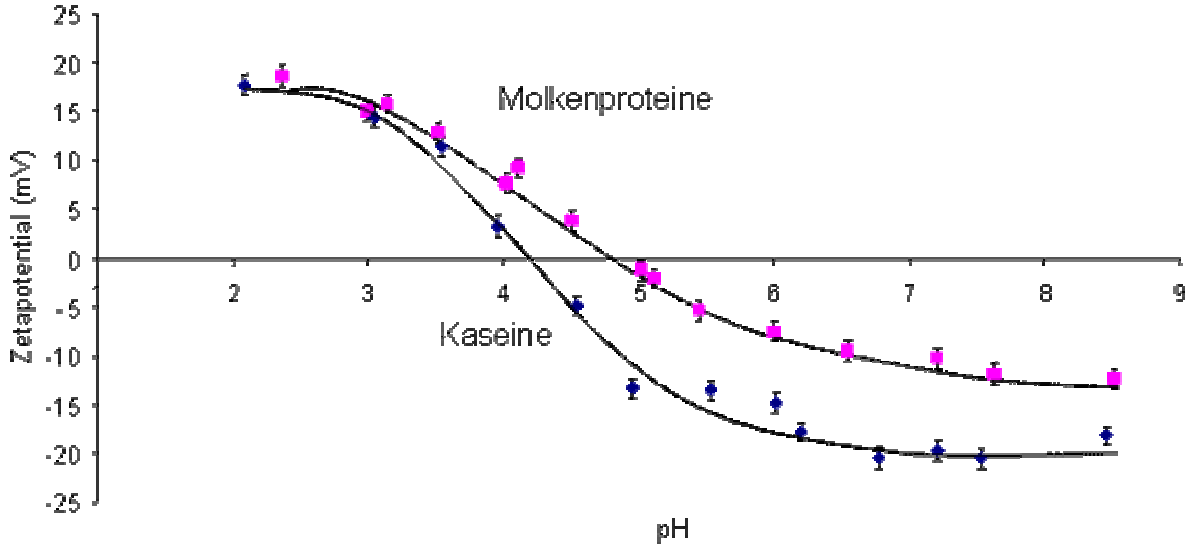


Abb. 24: Zetapotential von Milchproteinen als Funktion des pH-Werts.

Das Zetapotential wird über die Wanderungsgeschwindigkeit der Proteine im elektrischen Feld bestimmt. Kaseine als Hauptbestandteil der Deckschicht bei der MF von Milch sind beim natürlichen pH der Milch (~6,8) negativ geladen und stoßen sich somit ab. Eine Absenkung des pH führt zu einer Protonierung von negativ geladenen Aminosäuren, so dass die Ladung und damit auch die Abstoßungskräfte zwischen den Proteinen bis hin zum Isolektrischen Punkt abnehmen.

Wie in Abb. 25 zu sehen ist, wirken sich diese Veränderung der Interaktion der Proteine in der Deckschicht auf die Fluxverteilung entlang der MF-Membran aus.

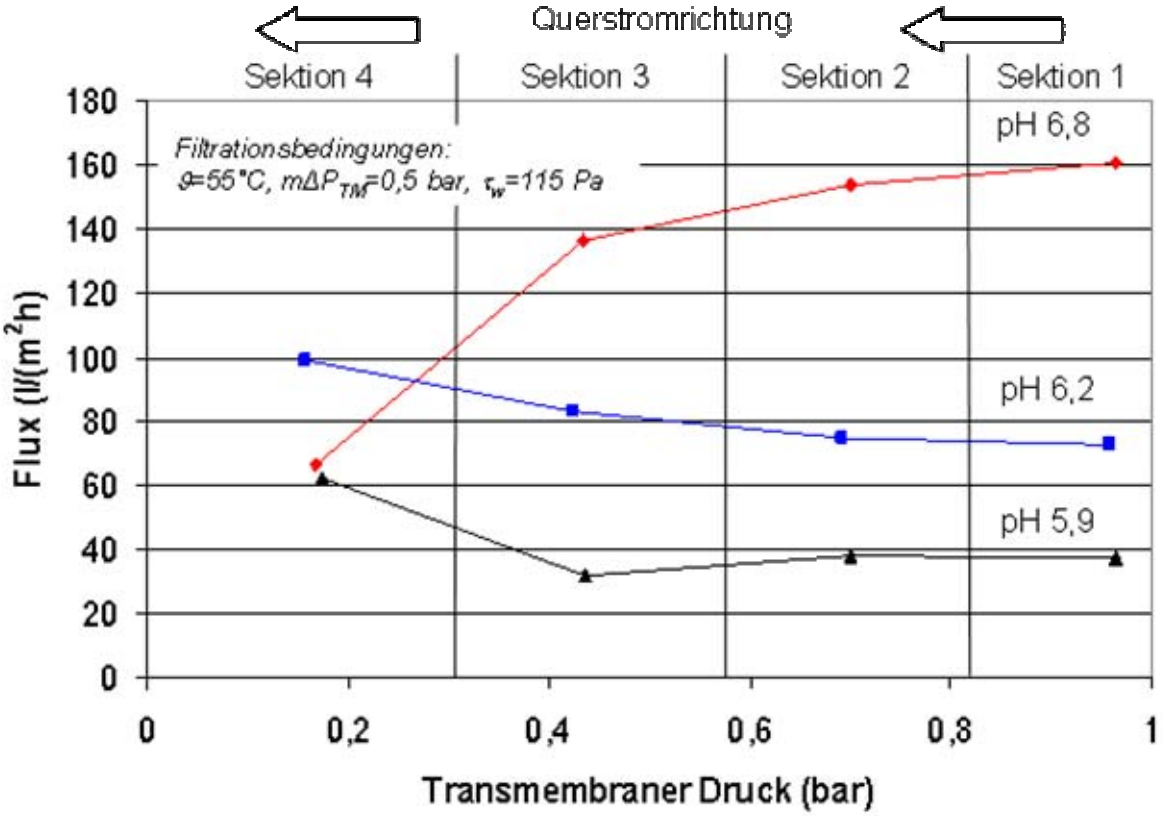


Abb. 25: Fluxverteilung entlang einer Mikrofiltrationsmembran bei verschiedenen pH-Werten der Milch

Dargestellt ist der Flux in Abhängigkeit vom transmembranen Druck (Δp_{TM}) für pH-Werte zwischen 6,8 und 5,9. Der transmembrane Druck stellt dabei eine längenabhängige Variable dar. Hohe Δp_{TM}-Werte liegen am Membraneingang vor, während niedrige transmembrane Drücke am Membranausgang vorherrschen. Deutlich ist zu erkennen, dass die Abnahme der intermolekularen Abstoßung zwischen den Kaseinmizellen durch eine Absenkung des pH von 6,8 auf 5,9 sich besonders stark auf den Flux am Membraneingang (erste Sektion, hoher Druck, deckschichtkontrollierter Bereich) auswirkt, während der Membranausgang (vierte Sektion, niedriger Druck, weitgehend membrankontrollierter Bereich) kaum von Änderungen der kolloidalen Wechselwirkungen beeinflusst wird. Eine Verringerung der abstoßenden Kräfte zwischen den deckschichtbildenden Proteinen führt bei hohen Δp_{TM}-Werten am Membraneingang und den damit einhergehenden starken Kompressionskräften der Filtratströmung zu einer kompakteren Deckschichtstruktur, die einen hohen Filtrationswiderstand aufweist. Am Membranausgang ist die Deckschichtbildung und Kompression auf Grund der niedrigen transmembranen Drücke weniger stark ausgeprägt, so dass eine Abnahme der repulsiven Kräfte zwischen Kaseinmizellen keine erhöhte Ablagerung und Kompaktierung von deckschichtbildendem Material zur Folge hat.

Für die Praxis ergibt sich daraus die Schlussfolgerung, dass Fluide mit für die Filtration ungünstigen kolloidalen Wechselwirkungen bei niedrigen transmembranen Drücken ohne negative Auswirkungen auf den Flux filtriert werden können. Solange eine Filtration im memb-

rankontrolliertem Bereich abläuft, spielen kolloidale Wechselwirkungen nur eine untergeordnete Rolle. Auch aus dieser Studie lässt sich daher folgende Schlussfolgerung ableiten: Um einen möglichst großen Teil der Membran im membrankontrollierten Bereich betreiben zu können, sollte bei vorgegebenen transmembranen Drücken der Membranwiderstand angehoben werden.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 14740 N)

Lagerstabilität natürlich glykosylierter Milchproteine am Beispiel von Caseinomacropeptid

Shelf life stability of glycosylated milk proteins as shown by Caseinomacropeptide

Nadja Siegert, Alexander Tolkach

Die Glykoproteine der Milch sind auf Grund ihrer physiologischen und technologischen Eigenschaften sehr interessant. Sie bestehen aus einer Proteingrundstruktur sowie einer oder mehreren kovalent gebundenen Kohlenhydratgruppen. Glykoproteine sind in der Natur weit verbreitet und erfüllen im menschlichen Organismus zahlreiche Funktionen u.a. als strukturelle Bestandteile von Zellmembranen und Gleitmitteln. Insbesondere die ihnen zugeschriebenen bioaktiven Eigenschaften, wie z.B. anticancerogene Wirkung, antibakterielle und antiadhesive Eigenschaften, sind eng verknüpft mit den gebundenen Zuckerresten. Die gebundenen Kohlenhydratreste variieren stark und reichen von Mono- bis hin zu Polysacchariden.

Eine endständige Position an der Zuckerkette nimmt häufig Sialinsäure ein. Sialinsäure ist ein Synonym für N-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac), wird aber auch für eine Reihe weiterer Derivate der Neu5Ac und der N-Glykolylneuraminsäure (Neu5Gc) verwendet. Durch die Endpositionierung ist die Anwesenheit der Sialinsäure entscheidend für viele Eigenschaften der Glykoproteine.

Bisher ist nur sehr wenig über die Stabilität von Milchglykoproteinen während der Milchverarbeitung und Lagerung der Milchprodukte bekannt. Um prozessbedingte Veränderungen quantitativ erfassen und beschreiben zu können, wurde der Gehalt an freien und proteingebundenen Sialinsäure als Indikator verwendet. Ein Verlust der nativen Glykosylierung und damit auch ein möglicher Verlust der bioaktiven Funktion des Proteins wurde mittels RP-HPLC Analytik quantifiziert.

Mittels Ultrafiltration der Proben (cut off: 5 kDa) vor der Aufarbeitung wurde zwischen protein-gebundener und ungebundener Sialinsäure differenziert. Wird der Zucker während einer verfahrenstechnischen Behandlung bzw. Lagerung der Proben in Form von Mono- bzw. Oligosacchariden vom Protein abgespalten, können diese durch die Membran permeieren, während die protein-gebundenen Kohlenhydrate von der Membran zurückgehalten werden (Abb. 26). Eine Erhöhung der Sialinsäurekonzentration im Permeat (proteinfreie Sialinsäure) ist somit ein Indikator für die Freisetzung dieser Zuckerstruktur vom Protein.

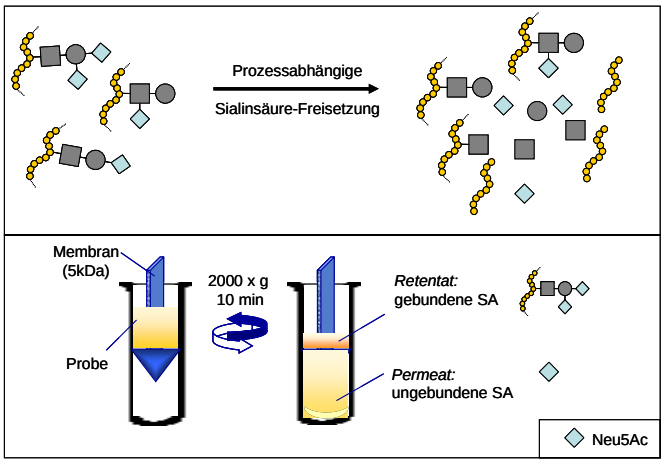


Abb. 26: Prozessabhängige Freisetzung von Sialinsäure; Probenfiltration zur Unterscheidung von Protein-gebundener und ungebunderer Sialinsäure; Neu5Ac= N-Acetylneuraminsäure

Eine essentielle Voraussetzung für die Anwendung gewonnener Glykoverbindungen in prebiotischen Lebensmitteln ist deren Stabilität während der Lagerung. Niedrige pH-Werte, Restaktivität von Milchsäurebakterien sowie Enzymen kann zur Abspaltung von Glykoverbindungen vom Protein und damit zum Verlust der biologischen Aktivität führen. Daher soll im Rahmen dieser Arbeit die Lagerstabilität von natürlich glykosylierten Proteinen am Beispiel von Caseinomacropeptid untersucht werden.

Caseinomakropeptid (CMP) ist das in der Milch am häufigsten vorkommende Glykoprotein, welches bei der enzymatischen Hydrolyse während der Käseherstellung freigesetzt wird. Bis zu 50 % dieses Proteins liegen glykosyliert vor. Drei der fünf identifizierten Zuckerketten des CMP enthalten Sialinsäure. Eine strukturelle Veränderung des Glyko-CMP kann somit über die Freisetzung von Sialinsäure ermittelt werden. Als Einflussparameter wurden dabei die pH-Werte und Lagertemperaturen der Proben ausgewählt. In Abbildung 2 ist der Gehalt an ungebundener Sialinsäure (relativ zum Gesamtgehalt) in Abhängigkeit vom pH-Wert bei unterschiedlichen Lagertemperaturen (4 °C, 10 °C, Raumtemperatur RT) dargestellt. Abb. 27A zeigt dabei die entsprechenden Werte nach 6 Tagen und 27B nach 12 Tagen Lagerung.

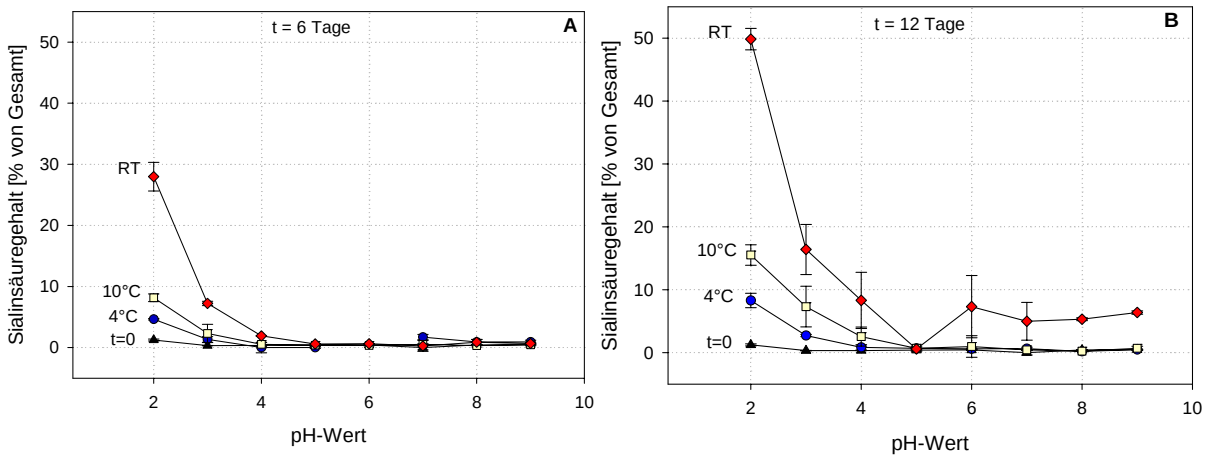


Abb. 27: Lagerungsstabilität von CMP in Abhängigkeit von pH-Wert und Lagertemperatur; A nach 6 Tagen Lagerung, B nach 12 Tagen Lagerung (RT: Raumtemperatur)

Aus Abb. 27 ist zu erkennen, dass nach 6 Tagen der Lagerung für alle untersuchten Temperaturen im basischen und neutralen pH-Bereich nahezu keine proteinfreie Sialinsäure vorliegt. Auch im schwach sauren pH-Bereich bis einschließlich pH 4 findet kein signifikanter Anstieg des Gehaltes an der proteinungebundenen Sialinsäure statt. Im stark sauren pH-Bereich ist dagegen bereits nach 6 Tagen bei allen Lagertemperaturen ein Anstieg des Sialinsäurgehaltes im Permeat und damit eine Freisetzung von Sialinsäure vom Protein zu verzeichnen. Bei pH 2 wird für alle untersuchten Lagertemperaturen ein Maximum erreicht. Für die Lagertemperaturen von 4 und 10 °C ist die Freisetzung noch moderat und liegt bei 5 bzw. 9 % der Gesamtsialinsäure. Bei Raumtemperatur beträgt die Freisetzung jedoch bereits 28 % der Gesamtsialinsäure, was auf einen signifikanten Verlust der biologischen Aktivität des Glycoproteins deutet.

Bei einer Lagertemperatur von 4 und 10 °C liegt auch nach 12 Tagen Lagerung im basischen und neutralen pH-Bereich nahezu keine Sialinsäure im Permeat vor. Bei Raumtemperatur ist nach dieser Lagerungszeit bereits ein leichter Anstieg des Gehaltes an proteinfreien Sialinsäure auf ca. 8 % der Gesamtsialinsäurekonzentration zu beobachten. Im sauren pH-Bereich ist bei allen Lagertemperaturen ein weiterer Anstieg des Sialinsäurgehaltes im Permeat zu verzeichnen, wobei die maximale Freisetzung erneut bei pH 2 zu sehen ist.

Es kann gefolgert werden, dass in Produkten mit einem sauren pH-Wert die Stabilität von intakten Glykoverbindungen sehr eingeschränkt ist, wenn diese über einen längeren Zeitraum gelagert werden. Außerhalb des stark sauren pH-Bereichs ist die Glykosylierung insgesamt sehr stabil. Bei gekühlten Produkten im schwach sauren, neutralen oder basischen pH-Bereich erscheint eine mehrtägige Lagerung unproblematisch.

Es wird deutlich, dass bei der Herstellung biofunktionaler Produkte entscheidend auf prozesstechnische Faktoren geachtet werden muss, um potentiell bioaktive Eigenschaften bzw. technologische Eigenschaften von Substanzen im Endprodukt gewährleisten und als solche nutzen zu können. Insbesondere Produkte mit einem niedrigem pH-Wert stellen an die Prozessführung große Herausforderungen, um die originäre Struktur biofunktionaler Substanzen und deren damit verbundene Eigenschaften zu erhalten.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung über das Forschungszentrum Jülich gefördert. Projekt: BioChancePlus-2 „Innovative Verfahren zur Analytik und Anreicherung bioaktiver Oligosaccharide“.

Schaumeigenschaften von Caseinomacropeptid in Abhängigkeit der Glykosylierung

Foaming properties of caseinomacropeptide as a function of glycosylation

Markus Kreuß

Zahlreiche Studien haben sich bisher mit der hohen physiologischen Wirksamkeit von Caseinomacropeptid (CMP) befasst. Unter dem Gesichtspunkt der Integration bioaktiver proteinogener Inhaltsstoffe in Lebensmittel ist bei den notwendigen Mengenzusätzen (Dosis-Wirkung) der Aspekt der technologischen Funktionalität keinesfalls zu vernachlässigen. Der chemisch-molekulare Aufbau von CMP lässt auch auf ein vielversprechendes Potenzial aus technologischer Sicht schließen. Basierend auf der aktuellen Klassifizierung von CMP in die beiden Subfraktionen gCMP (glykosyliert) und aCMP (nicht-glykosyliert) gilt es zu untersuchen, inwiefern der Grad an Glykosylierung diese technologisch-funktionellen Eigenschaften beeinflusst. Der vorliegende Bericht stellt beispielhaft die Ergebnisse zu detaillierten Untersuchungen der Schaumbildungs- und Stabilisierungseigenschaften von aCMP und gCMP dar.

Schäume sind von großer Bedeutung für die Struktur und Textur zahlreicher Lebensmittel, wie beispielsweise Backwaren, Desserts, Süßwaren, Eiskrem oder Getränke.

Für die Herstellung von geschäumten Lebensmitteln niedriger Viskosität, wie sie hauptsächlich bei Desserts und Milchprodukten vorliegen, sind insbesondere die Schaumbildung (Aufschlag, Overrun) und die Schaumstabilität (Festigkeit, Drainage) von zentraler Bedeutung. Ausschlaggebend für die Aufschäumung einer Lösung ist zunächst die Menge und Struktur der grenzflächenaktiven Inhaltsstoffe (Proteine). Diese werden zusätzlich von den Milieubedingungen, wie beispielsweise pH-Wert oder Ionenstärke, beeinflusst, da sich dabei die Ladung und Konformation und somit die Adsorptionsfähigkeit an eine Grenzfläche ändert.

Einfluss der Konzentration von aCMP/gCMP auf die Schaumeigenschaften

Eine höhere Konzentration an CMP – unabhängig vom Glykosylierungsgrad – hat eine höhere Anzahl grenzflächenaktiver Moleküle zur Folge. Die Grenzfläche zwischen wässriger Phase und Luft wird folglich dichter besetzt und besser stabilisiert. Ergebnisse zu den Schaumeigenschaften in Abhängigkeit der Konzentration sind in Abbildung 1 gezeigt. Die Schaumbildung (Aufschlag) war für beide Fraktionen sehr hoch und zeigte unabhängig von der Konzentration (0,5 – 3,0 %) Werte von ca. 600 % für aCMP und 530 % für gCMP (Vergleich WPI: ca. 400 %, Hühnereinweiß: ca. 500 %). Die Schaumstabilität verhielt sich besonders bei aCMP mehr oder weniger linear zur Konzentration. Sowohl die Festigkeit als auch die Drainage verbesserten sich bei höheren Konzentrationen deutlich. Die Schaumstabilität von gCMP verhält sich nur teilweise entsprechend der von aCMP. Während die Schaumfestigkeit mit steigender Konzentration zunahm, blieb die Drainage bei sehr hohen Werten, d.h. die Schäume waren unabhängig von der Konzentration entsprechend instabil. Es sei vorangestellt, dass die Stabilitätseigenschaften bei gCMP jedoch sehr stark vom pH-Wert abhängen und Abb. 28 exemplarisch die Werte für pH 6.0 zeigt.

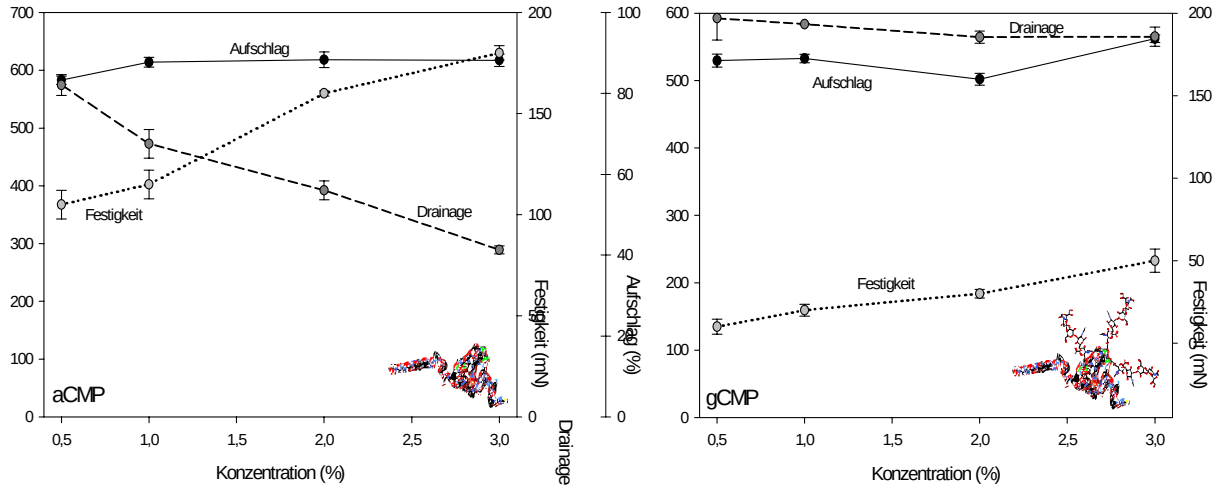


Abb. 28: Schaumeigenschaften von aCMP und gCMP in Abhängigkeit der Konzentration bei pH 6,0 und 10,0 mS/cm Ionenstärke. Zur besseren Veranschaulichung sind beide Moleküle als Struktur in ihren tatsächlichen Größenverhältnissen gezeigt.

Einfluss des pH-Wertes auf die Schaumeigenschaften

Proteine/Peptide sind amphotere Moleküle, deren Ladungszustand sich in Abhängigkeit vom pH-Wert ändert. Damit ändern sich besonders bei flexiblen Peptiden wie CMP die Konformation sowie die hydrophilen Eigenschaften. Zusätzlich weist gCMP geladene Glykane auf, deren Ladungs- und Hydratisierungsgrad ebenfalls pH-abhängig variieren.

Es hat sich gezeigt, dass die Schaumbildungseigenschaften (Aufschlag) beider Fraktionen unabhängig vom pH-Wert sehr gut waren. Im Unterschied dazu unterschieden sich die Schaumstabilitäten der beiden Fraktionen sehr stark. Mit aCMP ließen sich nahezu über den gesamten pH-Bereich äußerst feste und stabile Schäume erzeugen. Im Gegensatz dazu weist gCMP eine sehr starke pH-Abhängigkeit auf. Wie in Abb. 29 dargestellt, lagen die Festigkeiten der gCMP-Schäume im sauren pH-Bereich sogar über denen des aCMP, während sie im neutralen und leicht basischen Bereich stark an Festigkeit einbüßten.

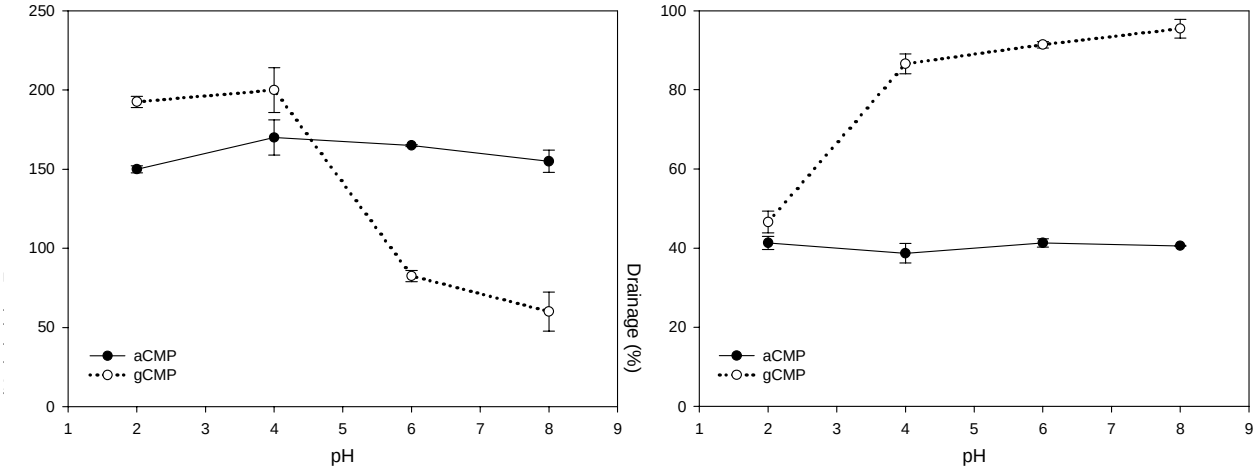


Abb. 29: Schaumfestigkeit (links) und Drainage (rechts) von aCMP und gCMP in Abhängigkeit des pH-Werts bei 1 % Konzentration und 10,0 mS/cm Ionenstärke.

Ein ähnliches Verhalten lässt sich bei den Ergebnissen der Drainage beobachten. Die aCMP-Schäume wiesen über den gesamten pH-Bereich eine deutlich geringere Drainage bei konstanten Werten von 40 % auf, während die gCMP-Schäume nur im extrem sauren Milieu mäßig stabil waren. Einige der gCMP-Schäume bei höheren pH-Werten zerfielen so schnell, dass eine Messung der Drainage nicht mehr möglich war.

Die starken Unterschiede, besonders der Schaumstabilität, lassen auf einen signifikanten Einfluss der Glykosylierung bezüglich des Grenzflächenverhaltens von CMP schließen. Bei gCMP ragen nach Assoziation der Moleküle an die Grenzfläche die gebundenen Glykane als Seitenketten mit stark negativer Ladung in die wässrige Phase. Die Größe der Zucker hat zusätzlich sterische sowie hydrophile repulsive Kräfte zur Folge. Dadurch wird eine geordnete Anlagerung der hydrophoben Peptid-Domänen gestört. Ferner werden noch in der wässrigen Phase gelöste gCMP-Moleküle daran gehindert, in die Grenzfläche zu adsorbieren, welche im Vergleich zu aCMP geringer dicht besetzt werden kann. Mit dem Verlust der negativen Ladung von gCMP im stark sauren Milieu ($pH < 4{,}0$) waren die dabei analysierten gCMP-Schäume betreffend der Schaumstabilitäten deutlich verbessert gegenüber höheren pH-Werten.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 15187 N).

Einfluss unterschiedlich Transglutaminase-behandelter Magermilchpulverzusätze auf die Gelbildungs- und Struktureigenschaften säureinduzierter Milchprotein-Gele
Influence of transglutaminase-treated milk powders on the gelation and structure properties of acid-induced milk protein gels
Christopher Guyot

Das Enzym Transglutaminase (TG) katalysiert die Quervernetzung von Proteinen über kovalente Bindungen zwischen den proteingebundenen Aminosäuren Glutamin und Lysin. Durch diese neuen Verbindungen ergeben sich z. B. im Bereich fermentierter Milchprodukte wie Joghurt neue Möglichkeiten der Struktur- und somit Qualitätsverbesserung. Bei der Herstellung von TG-behandeltem Joghurt kann der Enzymeinsatz dabei unterschiedlich erfolgen:

- Inkubation der Ausgangsmilch mit TG vor der eigentlichen mikrobiellen Fermentation (sequenzielles Verfahren),
- gleichzeitige Zugabe von Enzym und Starterkultur (simultanes Verfahren) und
- Anwendung von vorher TG-behandelten Milchproteinpulvern.

Der Einsatz des Enzyms bei der Joghurtherstellung führt zu einer verbesserten Textur, einem höheren Wasserbindevermögen und einem angenehmeren und cremigeren Mundgefühl. Insbesondere im wachsenden Marktsegment fettarmer und fettreduzierter Joghurte lassen sich diese positiven Effekte der TG-Reaktion beobachten. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, durch eine Transglutaminase-Behandlung die bei der Joghurtherstellung notwendige Trockenmassen-Erhöhung bei vergleichbaren Fließeigenschaften des Endprodukts zu reduzieren.

Bisherige Studien zur Strukturverbesserung im Joghurt wurden dabei überwiegend mit Hilfe des sequenziellen oder simultanen Verfahrens durchgeführt, während nahezu keine Informationen zum Einsatz von TG-behandelten Milchproteinpulvern vorliegen. Gerade diese Anwendung rückt jedoch immer mehr in den Fokus des Interesses, da hierbei keine zusätzlichen Änderungen des Herstellungsprozesses notwendig sind. Daher kommt der Frage, inwieweit der Einsatz von speziell TG-behandeltem Milchproteinpulver die Produkteigenschaften von Joghurt verändern und verbessern kann, eine große Bedeutung zu.

Um den Einfluss der behandelten Milchproteinpulver genauer zu bestimmen, wurden unterschiedlich TG-behandelte Milchpulver hergestellt und anhand von Säuerungsversuchen mit Glucono-δ-lacton ihr Gelbildungsverhalten und die resultierenden Geleigenschaften analysiert. Dabei zeigte sich, dass sich durch eine TG-Behandlung die Geleigenschaften deutlich verändern. So findet die Gelbildung bei gleichem Säuerungsverlauf zeitlich früher statt und das entstandene Gel weist am Ende der Säuerung einen höheren Speichermodul-Wert (Gelfestigkeit) auf (Abb. 30).

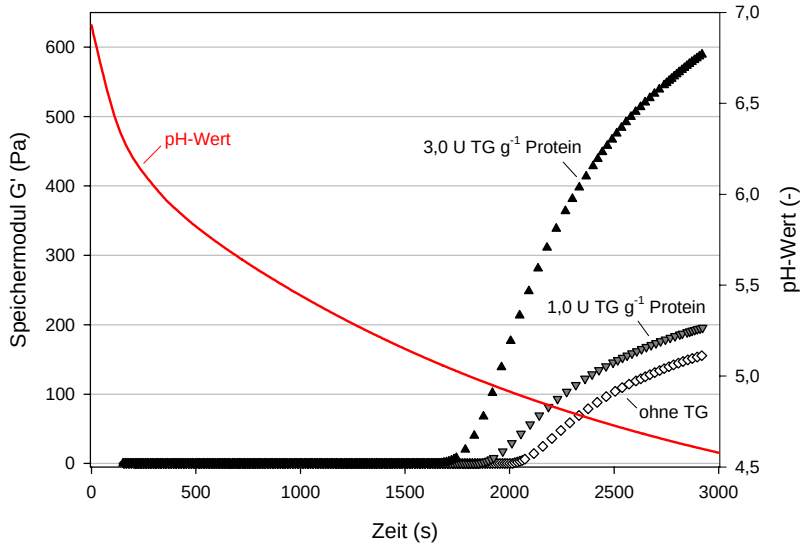


Abb. 30: Glucono-δ-lacton-induzierte Gelbildung von 5%igen Milchprotein-Suspensionen, hergestellt mit unterschiedlich TG-behandelten Magermilchpulvern

Diese Ergebnisse der Strukturverbesserung lassen sich auch auf den Fall der mikrobiellen Säuerung bei der Joghurtherstellung übertragen. Hierfür wurden unterschiedliche Magermilchjoghurte unter Verwendung der TG-behandelten Milchpulver hergestellt und anschließend hinsichtlich ihrer Produkteigenschaften wie Viskosität, Strukturstärke, Serumbindevermögen und sensorischem Eindruck untersucht. Es ließ sich beobachten, dass - analog zum simultanen Verfahren mit gleichzeitiger Zugabe von Enzym und Starterkultur - eine Verbesserung der Produkteigenschaften durch einen Einsatz des TG-behandelten Milchpulvers eintrat. So weisen die Joghurts mit zunehmendem Vernetzungsgrad der verwendeten Pulver eine Steigerung der Viskosität unter gleichzeitiger Abnahme der Serumlässigkeit auf (Abb. 31).

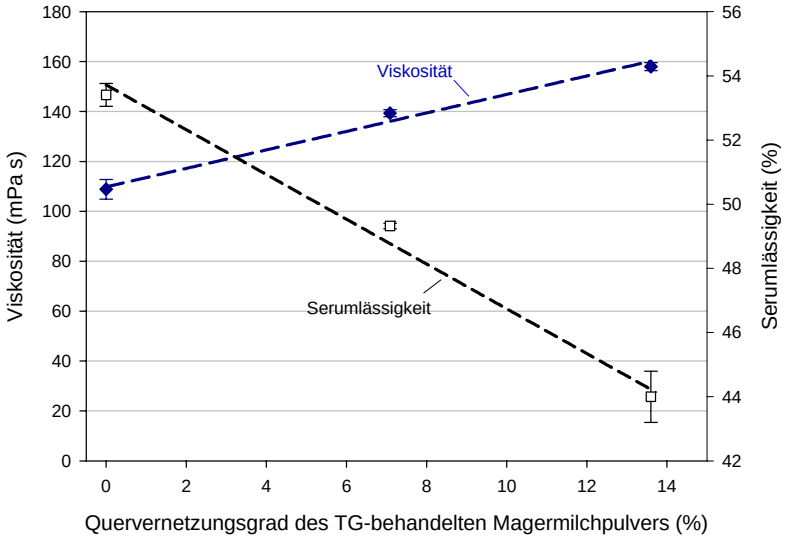


Abb. 31: Viskosität und Serumlässigkeit von gerührten Magermilchjoghurten, hergestellt mit TG-behandelten Magermilchpulvern mit unterschiedlichem Protein-Quervernetzungs-grad

Bei Verwendung des mit einer geringen Enzymkonzentration von 0,5 U/g Protein inkubierten Magermilchpulvers konnte zudem eine deutliche Verbesserung der Cremigkeit und des Mundgefühls der entsprechenden Joghurtprobe festgestellt werden.
Innerhalb dieser Versuche konnte somit gezeigt werden, dass durch einen gezielten Einsatz von Transglutaminase-behandeltem Milchpulver zur Herstellung von Magermilchjoghurt die Produkteigenschaften und letztendlich die Verbraucherakzeptanz gesteigert werden kann.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 15044 N).

Impact of pH on the solubility of proteins in the bulk solutions of egg white, whey protein and their binary mixture.

Einfluss des pH-Wertes auf die Proteinlöslichkeit in Systemen aus Eiklarproteinen, Molkenproteinen und deren Mischung

Malgorzata Kuropatwa

Protein-protein interactions and formation of protein complexes which may occur in the bulk solution and at the gas-liquid interface play an important role in the foam formation and stabilisation. In this study the interactions between two good foaming agents: egg white and whey proteins were investigated. Whey proteins have their pI in the pH range between 4,2-5,3 (Kilara and Harwalker, 1996). Variations of pH cause similar changes in the electrostatic charges of the whey protein molecules. In comparison, egg white is a more complex system of proteins with different physicochemical properties, e.g. their isoelectric point (pI). Ovalbumin, for instance, has a pI at pH 4.6 while lysozyme at pH 10,7 (Kilara et al., 1996). This interesting physicochemical property of lysozyme, namely pI at alkaline pH value and the pH-dependent charge of lysozyme (positive under physiological conditions) are responsible for the electrostatic interactions with other, oppositely charged proteins contained in the protein system. The pH values were chosen to represent characteristically different environmental conditions. At pH 5 the major egg white and whey proteins in the mixture are at the isoelectrical point and have a neutral net charge, while at pH 9 the proteins possess high net charges and may interact electrostatically.

The individual solutions of egg white protein (EWP) and whey proteins (WP) as well as a 50:50 (w/w) EWP:WP mixture with total protein concentration of 5 g/L (w/w) were prepared. The sodium chloride solution (Merck, Darmstadt, Germany) of 5 g/L and 90 mM was used as a solvent. The solutions were gently stirred until the protein powders were dissolved and then held at 10 ºC overnight to allow for equilibration and complete protein hydration. Afterwards, at room temperature (22 °C) the pH was adjusted to 5 and 9.

Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-Page) was performed under non-reducing conditions on commercially available “EXCEL” gradient gels (8-18 % T) according to the procedure described by Guilmineau, Krause and Kulozik (2005). After the pH adjustment the primary protein solutions were centrifugated at 15.000 g for 10 min separating supernatant used in following analysis. All samples (primary protein solutions and their supernatant) were transferred onto the gel. Electrophoretic separation occurred on the basis of molecular weight forming for every sample an electrophoresis profile of the bands. The integrated optical density of the bands on the profile of the primary protein solutions and in the supernatants were determined and compared. The decrease of the solubility (DS) of the pro-

teins indicating protein-protein interactions occurring after pH adjustment was calculated according to Eq. (1):

$$DS\ [\%] = 100 - \left(\frac{V_{sp}}{V_s} \times 100 \right) \quad (1)$$

where: DS - decrease of the solubility; V_{sp} – integrated optical density volume of the band in supernatant; V_s - integrated optical density volume of the band in the primary solution.

In order to assess how the different pH conditions (pH 5 and 9) influence the protein-protein interactions in the EWP/WP-mixtures, the protein content in the primary protein solutions and their supernatants were determined using SDS-Page gel electrophoresis. Qualitatively, hardly any difference between the composition of protein in the bulk solution and the supernatant, obtained after the centrifugation of these solutions could be observed. As can be seen, using the example profile for pH 9 (Fig. 32) all major protein fractions were found in bulk solution as well as in the supernatant.

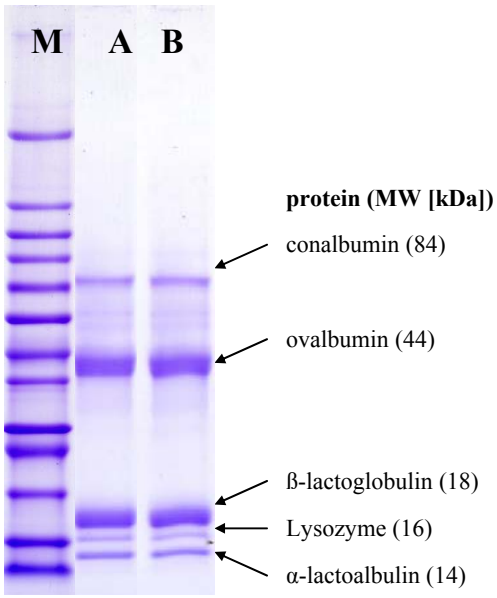


Fig. 32: Profile of SDS-Page gel electrophoresis obtained for the primary solution and supernatant of the 50:50 (w/w) EWP:WP mixture at pH 9. M - marker; A - solution; B - supernatant.

However, using quantitative analysis of the SDS-Page gel electrophoresis, some interesting effects of the protein interactions in the EWP/WP-mixtures depending on pH value could be observed. Table 1 shows the values of decrease in protein solubility (%), which were observed in the supernatant after centrifugation, compared to the primary protein solutions.

After the addition of whey proteins to egg white (50:50; w/w), the amount of insoluble lysozyme observed at pH 5 decreased down to 8%, compared to the amount of lysozyme in the pure EWP sample (12%). In contrast, at pH 9 a higher amount of insoluble lysozyme (21%) was detected in the EWP/WP-mixture than in the pure EWP solution (6%).

There was only a slight influence of the presence of EWP on the solubility of ß-lactoglobulin at pH 5. In any case, in the EWP/WP-mixture at pH 5 a lower value of insoluble ß-lactoglobulin than in the pure whey protein solution was obtained. At pH 9 nearly the whole content (97,5-97,7%) of ß-lactoglobulin remains soluble in the whey protein solution as well as in the mixture (50:50 w/w).

Table 3: Amount of insoluble protein aggregates, separated from the solution during centrifugation, obtained by SDS-page gel electrophoresis for EWP, WP and in their mixtures at pH 5 and 9

pH value	Protein ratio EWP:WP % (w:w)	Decrease of the solubility [%]	
		Lysozyme	ß-Lg
5	100:0	12.4	-
	50:50	8.2	1.7
	0:100	-	5.8
9	100:0	6.4	-
	50:50	21.4	2.2
	0:100	-	2.5

The solubility of lysozyme was affected by pH value and the presence of whey protein in the solution (Table 3). The decrease of lysozyme solubility in the EWP/WP-mixture, compared to the EWP solution, which occurred at pH 9, indicates the electrostatic interactions in the bulk solution between oppositely charged lysozyme and whey protein. In spite of the possible involvement of whey proteins in the complex formation with lysozyme, no significant decrease of whey protein solubility at the pH 9 was observed. This can be explained by the much higher concentration of whey proteins and their ratio to the lysozyme in the EWP/WP-mixture. Therefore, the decrease of whey protein solubility compared to the total concentration of whey protein in the supernatant was probably too low to be detected. An opposite effect concerning the interactions between lysozyme and whey proteins was observed at pH 5. At this pH the lysozyme molecules possess high electrostatic charge while the whey proteins are neutrally charged. In this case, the presence of whey proteins in the solution decreases the possibility of lysozyme to interact electrostatically. This explains the higher content of lysozyme observed in the soluble phase of the EWP/WP-mixture compared to the pure EWP solution.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie - BMWi/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert ProjektNr. AiF-FV 14258N).

Enzymatische Hydrolyse von κ-Casein unter Hochdruck

Enzymatic hydrolysis of κ-Casein under high hydrostatic pressure

Martin Heinrich, Sabine Lauber

Casein, die Hauptproteinkomponente in Milch, ist ein Oberbegriff für eine Gruppe von Phosphoproteinen, bestehend aus α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Casein. Diese Proteine liegen nur zu etwa 5 bis 20 % frei in Milch vor, während der Großteil zu sphärischen Dispersionkolloiden, den Caseinmicellen, organisiert ist. Aufbau und Struktur dieser Micellen sind Gegenstand

zahlreicher Untersuchungen. Eine endgültige Aussage diesbezüglich konnte zum bisherigen Zeitpunkt trotz intensiver Bemühungen noch nicht getroffen werden.

Eine Möglichkeit, tieferen Einblick in die Bildung und Organisation der Micellen zu erhalten, stellt die Hochdrucktechnologie dar. Mit der Applikation hoher Drücke lassen sich strukturrelevante Wechselwirkungen beeinflussen, d.h. lösen oder neu knüpfen. So können in Proteinen und Proteinaggregaten Zustände erzeugt werden, wie sie unter atmosphärischen Bedingungen beispielsweise nur durch den Einsatz chaotroper Reagenzien realisiert werden können.

Für Caseinmicellen bedeutet das, dass durch die Wahl geeigneter Druck- und Temperatur-Parameter ohne den Einsatz von Chemikalien eine reversible oder irreversible Dissoziation erreicht werden kann. Wie Gebhard, Doster, Friedrich und Kulozik (2006) zeigen konnten, dissoziiert die Caseinmizelle ab einem Druck von etwa 50 MPa. Bis zu einem Druck von 250 MPa ist dies ein reversibler Prozess, die Mizellen kehren wieder in einen mizellaren Zustand ähnlicher Größenordnung zurück. Bei Drücken oberhalb der 250 MPa ist die Micelldissoziaton irreversibel. Die Kombination der Hochdrucktechnik mit anderen Behandlungsmethoden, wie der Dialyse oder der enzymatischen Partialhydrolyse von Proteinkomponenten könnte einen tieferen Einblick in die Funktion der veränderten Systemgrößen bei der Mizellbildung bzw. -Rückbildung erlauben.

Das Enzym Chymosin spaltet Peptidbindungen zwischen hydrophoben und aromatischen Aminosäuren, wobei hochspezifisch die Phe^{105}-Met^{106} Bindung des κ-Caseins hydrolysiert wird. κ-Casein wird dabei in Para-κ-Casein und CMP gespalten. Die CMP-Freisetzung kann gut mittels RP-HPLC (Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography) verfolgt und somit als Indikator für die Enzymaktivität herangezogen werden.

Versuche zur Hochdruckinaktivierung von Chymosin zeigten, dass die Enzymaktivität selbst nach einer Behandlung mit 200 MPa bei rund 45 % lag, wobei die Behandlungsdauer keinen oder nur einen sehr geringen Einfluss auf das Inaktivierungsergebnis zu haben schien. Erste Untersuchungen von Ohima et al. aus dem Jahr 1987 bestätigen darüber hinaus, dass eine enzymatische Hydrolyse unter Druck möglich ist. Allerdings wurde dort lediglich die Labgelbildung bei Drücken bis zu 120 MPa untersucht Es fand also keine explizite Untersuchung hinsichtlich der CMP Freisetzung statt.

Ziel dieser Arbeit war es, die formalkinetischen Parameter der Chymosinreaktion bei Drücken zwischen 150 und 250 MPa zu ermitteln (in diesem Druckbereich dissoziiert die Micelle reversibel). Dabei sollte gezielt die CMP-Freisetzung und damit die spezifische κ-Casein-Hydrolyse verfolgt werden, um weiterführend die Rolle dieser Proteinfraktion bei der Micellrückbildung nach einer Hochdruckbehandlung zu beurteilen. Wie sich zeigte, kann die Chymosinreaktion als Reaktion 1. Ordnung beschrieben werden:

$$\frac{CMP(t)}{CMP_{max}} = 1 - e^{-k \cdot t} \quad \text{mit}$$

CMP(t):	CMP-Konzentration in der Probe zum Zeitpunkt t
CMP_{max}:	CMP-Konzentration bei $t = \infty$
t:	Reaktionszeit
k:	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante

Wie in Abb. 33 zu erkennen, ist die Reaktion bis zum Druckaufbau relativ weit fortgeschritten: etwa 40 % des k-Caseins sind bis zum Druckaufbau bereits hydrolysiert. Allerdings wird auch deutlich, dass die Enzymreaktion unter Druck deutlich langsamer verläuft als unter Normaldruck. Für einen direkten Vergleich der beiden Reaktionen können sowohl für die atmosphärische Reaktion als auch für die reine Reaktion unter Druck (rechte Skalenachse) anhand der κ-Casein-Hydrolyse unter der Annahme einer Reaktion 1. Ordnung die Geschwindigkeitskonstanten ermittelt und zu einander in Relation gesetzt werden.

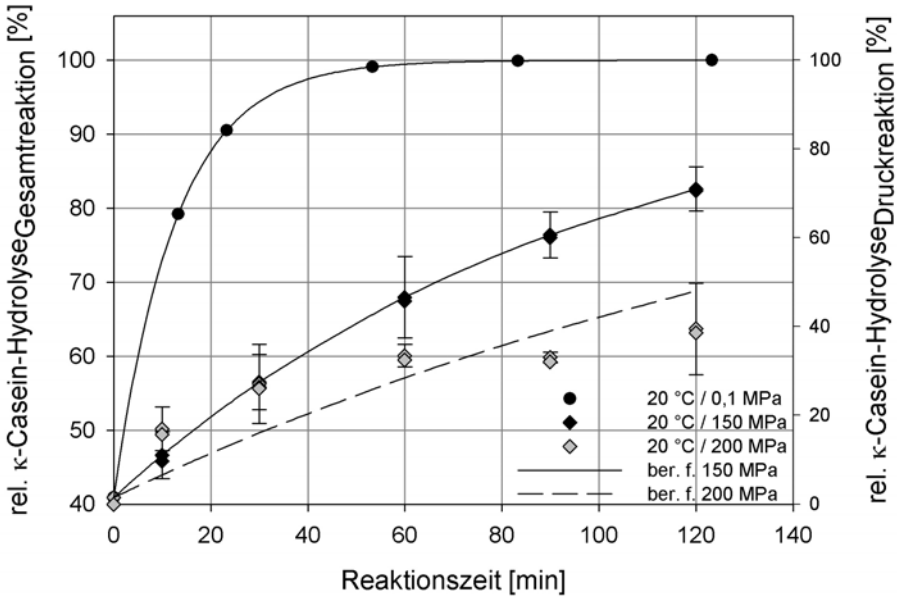


Abb. 33: Vergleichende Darstellung der Hydrolysereaktion bei Normaldruck und unter Hochdruck

Die Ergebnisse weiterer Druck-Temperatur-Einstellungen sind in Tabelle 1 dargestellt. Bei Drücken oberhalb der 200 MPa konnte in diesem Versuchsaufbau keine Chymosinaktivität mehr verzeichnet werden. Möglicherweise wird die enzymatische Reaktion in diesem Druckbereich gehemmt oder aber das Enzym verliert seine Spezifität. Letzteres bedeutet, dass andere Hydrolyseprodukte als CMP und Para-κ-Casein entstehen könnten.

Tab: 4: Formalkinetische Parameter von Chymosin bei unterschiedlichen Druck- und Temperaturparametern

150 MPa

T [°C]	k_{Druck}±Standardabw. [10^{-3} min^{-1}]	R^2 [-]	k_{Atm}±Standardabw. [10^{-3} min^{-1}]	R^2 [-]	Rel. Aktivität (k_{Druck}/k_{Atm}) [%]
10	6,99 ± 0,89	0,84	45,40 ± 3,70	0,98	15,40
20	10,20 ± 1,53	0,90	78,50 ± 4,30	0,98	13,00
30	8,87 ± 0,79	0,90	111,70 ± 2,60	0,97	7,94

200 MPa

T [°C]	k_{Druck}±Standardabw. [10^{-3} min^{-1}]	R^2 [-]	k_{Atm}±Standardabw. [10^{-3} min^{-1}]	R^2 [-]	Rel. Aktivität (k_{Druck}/k_{Atm}) [%]
10	2,64 ± 0,34	0,88	45,40 ± 3,70	0,98	5,81
20	5,33 ± 0,66	0,88	78,50 ± 4,30	0,98	6,79
30	2,32 ± 0,38	0,93	111,70 ± 2,60	0,97	2,08

Erste Versuche hinsichtlich des Einflusses der Partialhydrolyse auf das Reassoziationsverhalten von Caseinmicellen deuten darauf hin, dass mit steigendem Hydrolysegrad die Partikelgröße nach der Hochdruckbehandlung zunimmt. Es bleibt zu klären, ob die entstehenden Partikel tatsächlich micellar sind oder ob bereits entstehende Mikrogelpartikel aus der einsetzenden Labgelbildung detektiert werden. Darüber hinaus soll ein Zusammenhang zwischen dem κ-Casein-Hydrolysegrad und der resultierenden Partikelgröße nach der Entspannung auf Normaldruck ermittelt werden.

Literatur:

Gebhardt, R.; Doster, W.; Friedrich, J.; Kulozik, U. (2006): Size distribution of pressure decomposed casein micelles studied by dynamic light scattering and AFM. Eur. Biophys. J. 35, 503–509

Ohima, K.; Fukami, K.; Shimizu, S.; Gekko, K. (1987): Milk curdling by rennet under high pressure. Journal of Food Science 52 (1), 84-87

Molkenproteinbasierte Hydrogele zur Verkapselung von Heidelbeerextrakt

Whey protein based hydrogels for entrapment of Bilberry extract

Michael Betz, Alexander Tolkach

Der Konsum phenolischer Pflanzeninhaltsstoffe wird mit zahlreichen gesundheitsfördernden Effekten in Verbindung gebracht. Heidelbeeren (Vaccinium myrtillus) enthalten große Mengen solcher bioaktiver Phenole, wobei insbesondere ihr hoher Anthocyangehalt und das damit verbundene antioxidative Potenzial eine wichtige Rolle spielen. Der Einsatz von anthocyanreichem Heidelbeerextrakt (HBE) zur Lebensmittelanreicherung erscheint daher gerade vor dem Hintergrund eines stark wachsenden Marktes für funktionelle Lebensmittel sehr interessant. Aus technologischer Sicht ist der lebensmittelbezogene Einsatz von Anthocyanen allerdings mit einigen Herausforderungen verknüpft. So weisen Anthocyane außerhalb ihrer natürlichen Umgebung nur geringe Stabilität auf. Milieubedingungen, wie sie in vielen Lebensmitteln vorherrschen, führen im Allgemeinen zum schnellen Abbau. Um Anthocyane in extrahierter Form als Lebensmittelzusatzstoff nutzen zu können, muss ihre Lebenszeit verlängert werden. Dies kann über die Einbettung des Extraktes in eine Matrix erreicht werden, die ein die Anthocyane stabilisierendes Mikromilieu (pH ≤ 3) erzeugt. Gleichzeitig kann durch eine Verkapselung die gezielte Freisetzung der Anthocyane im Magen-Darm-Trakt ermöglicht werden.

Molkenproteine sind in der Lage bei sauren Bedingungen (pH ≥ 1,5) thermisch induzierte wasserunlösliche Gele zu bilden und eignen sich daher als Matrixmaterial. Ziel der Arbeit war es, thermisch erzeugte Gele aus Molkenproteinisolat hinsichtlich ihrer Verkapselungseignung für HBE zu untersuchen. Dazu erfolgte u.a. die Bestimmung der Gelfestigkeit sowie die Untersuchung der zeitabhängigen HBE-Freisetzung aus Geltabletten mit konstanter Größe in simuliertem Magensaft, zunächst ohne Pepsin (SGF, pH 1,2). Ziel dabei war, das Rückhaltevermögen der Gelnetzwerke für die Anthocyane zu beurteilen. Die Bestimmung der Anthocyankonzentration im SGF erfolgte spektralphotometrisch (Extinktion bei 520 nm) sowie mittels HPLC. Es wurde festgestellt, dass die Konzentrationszunahme (dC/dt) im SGF direkt zur jeweiligen HBE-Konzentration C im Gel proportional ist und die diffusionsbedingte Freisetzung somit formalkinetisch durch eine Reaktion 1. Ordnung beschrieben werden kann:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_{t=\infty}}\right) = -k \cdot t \qquad (1)$$

k stellt die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion dar und ist ein Maß für die Freisetzungsgeschwindigkeit. C_t enstpricht der Anthocyankonzentration im Gel zum Zeitpunkt *t* bezogen auf die Konzentration C_∞ nach kompletter Freisetzung. In Abb. 34a ist die Freisetzungsgeschwindigkeit des HBE aus Molkenproteinisolat-Gelen sowie der Anthocyanabbau in Abhängigkeit von unterschiedlichen Erhitzungsbedingungen dargestellt.

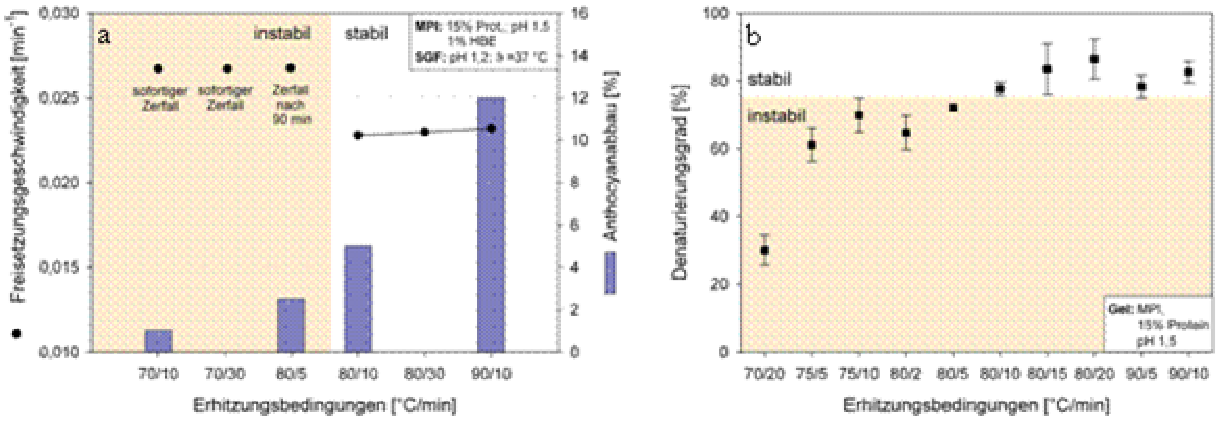


Abb. 34: a) Freisetzungsgeschwindigkeit der Anthocyane aus Molkenproteingelen (MPI, pH 1,5) und Anthocyanabbau (HBE-Lösung, pH 1,5) sowie b) Gesamtdenaturierungsgrad der Molkenproteine α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin bei unterschiedlichen Erhitzungsbedingungen.

Es wird deutlich, dass bei einer Erhitzungstemperatur von 70 °C, unabhängig von der Erhitzungsdauer, kein SGF-stabiles Gel (d.h. Gelzerfall während 7h in SGF) erhalten wird. Dies ist auf eine unzureichende Molkenproteindenaturierung und damit eingeschränkte Gelnetzwerkbildung zurückzuführen. Abb. 34b zeigt den Zusammenhang zwischen den Erhitzungsbedingungen und dem Gesamtdenaturierungsrad der Molkenproteine α-Laktalbumin und β-Lactoglobulin. Erst ab einer Denaturierung von 78 %, der ab einer Erhitzung auf 80 °C für 10 min erreicht wird, ist die Gelstruktur ausreichend ausgebildet und das Gel SGF-stabil. Eine weitere Steigerung der thermischen Belastung führt zu höheren Denaturierungsgraden und zunehmendem Anthocyanabbau. Die ebenfalls damit einhergehende gröbere Porenstruktur der Gele führt außerdem zu einer leichten Zunahme der Freisetzungsgeschwindigkeit, wie Abb. 1a verdeutlicht. Aus diesem Grund kann eine Erhitzung der Molkenproteinisolat-Lösungen auf 80 °C für 10 min als optimal im Hinblick auf die Verkapselung von HBE betrachtet werden.

Die Freisetzung der Anthocyane aus der Gelmatrix erfolgt diffusionsbedingt und hängt daher von der Permeabilität der Gelmatrix ab. Abb. 35 zeigt die Freisetzungsgeschwindigkeit der Anthocyane aus unterschiedlichen Molkenproteingelen in Abhängigkeit von deren Proteingehalt.

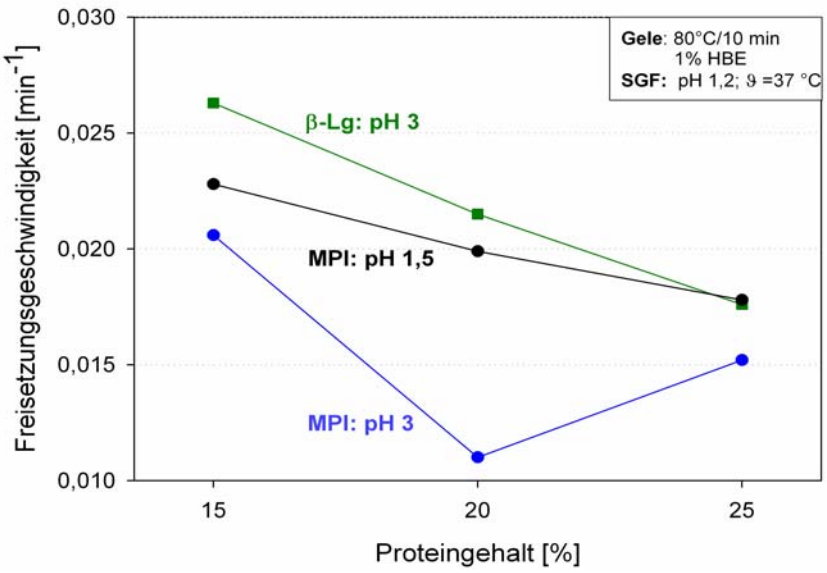


Abb. 35: Freisetzungsgeschwindigkeit (Geschwindigkeitskonstante k in Gleichung (1)) der Anthocyane in Abhängigkeit vom Proteingehalt unterschiedlich zusammengesetzter Molkenproteingele (MPI: Molkenproteinisolat-Gel; β-Lg: β-Lactoglobulin-Gel, HBE: Heidelbeerextrakt)

Mit steigender Proteinkonzentration erhöht sich die Gelnetzwerkdichte, die Porosität nimmt entsprechend ab. Die Freisetzungsgeschwindigkeit nimmt aufgrund der verringerten Permeabilität gegenüber den niedermolekularen Anthocyanen ab. Dieser Zusammenhang konnte für Molkenproteinisolat-Gele mit pH 1,5 sowie reine β-Lactoglobulin-Gele mit pH 3 belegt werden, wie Abb. 2 verdeutlicht. Bei Molkenproteinisolat-Gelen mit pH 3 wurde die minimale Freisetzung bei einer Proteinkonzentration von 20 % erreicht. Eine weitere Erhöhung des Proteingehaltes auf 25 % führte im Gegensatz zu den anderen Gelsystemen zur schnelleren Freisetzung. Nachdem reine β-Lactoglobulin-Gelen mit pH 3 dieses Minimum nicht zeigen, kann es wahrscheinlich auf den α-Lactalbumin-Gehalt im Molkenproteinisolat (β-Lactoglobulin/ α-Lactalbumin ≈ 4) zurückgeführt werden. Die Klärung dieser Beobachtung ist Gegenstand laufender Untersuchungen. Die allgemein langsamere Freisetzung der Anthocyane aus Molkenproteinisolat-Gelen mit pH 3 gegenüber Gelen mit pH 1,5 ist mit dem zunehmenden Einfluss von kovalenten Disulfidbindungen auf das Gelnetzwerk bei steigendem pH-Wert erklärbar. Gele mit pH 3 wiesen die 1,6 fache Gelstärke der Gele mit pH 1,5 auf. Als optimal im Bezug auf Freisetzungsgeschwindigkeit, technische Umsetzbarkeit und Vergleichbarkeit wurde auf Basis dieser Ergebnisse eine Proteinkonzentration von 20 % für weitere Versuche ausgewählt. Sowohl für Gelsysteme mit pH 1,5 als auch pH 3 war bei dieser Proteinkonzentration die Verkapselung von bis zu 20 % HBE (Protein/HBE=1:1) unter Aufrechterhaltung der Gelmatrixstabilität in SGF umsetzbar.

Dank: Dieses Projekt wird im Rahmen eines DFG/AiF-Cluster-Projektes aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 15611 N)

Arbeitsgruppe Rheologie und Mikrostruktur

Leitung: Dipl.-Ing. Katharina Daimer / Dipl.-Ing. Sebastian Karasch

Homogenisierung von Milch mittels Lochblenden im Vergleich zu konventionellen Flachventilen und Einfluss der Prozessführung auf das Homogenisierergebnis

Homogenisation of milk with orifices valves versus flat valves and influence of processing on the homogenisation result

Sebastian Karasch

In der Milchwirtschaft ist die Hochdruckhomogenisierung von Milch mit Flachventilen Stand der Technik. Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurde die Lochblendentechnik als ein neuartiges Verfahren auf ihre Eignung für die Homogenisierung von Milch untersucht, weiterentwickelt und mit einem konventionellen Hochdruckhomogenisator verglichen. Durch gezielte Modifikationen der Blendengeometrien sowie der Realisierung und Optimierung einer zweistufigen Prozessführung (Kombiblende) konnte die Homogenisiereffektivität der Blendentechnik deutlich gesteigert werden.

Die folgenden Ergebnisse zeigen die Potenziale und Grenzen des neuartigen Homogenisierverfahrens auf und ermöglichen es, die dispersitätsbestimmenden Vorgänge bei der Homogenisierung besser zu verstehen. Des Weiteren wird der Einfluss der Erhitzungsbedingungen und der Homogenisatorstellung dargestellt. Bei beiden Verfahren wurde mit einer zweistufigen Prozessführung gearbeitet. Das Druckverhältnis der beiden Homogenisierstufen (Thomazahl; Th) wurde auf 0,15 eingestellt.

Untersuchungen mit pasteurisierter Milch und aseptisch homogenisierter UHT-Milch machen deutlich, dass sich der konventionelle Hochdruckhomogenisator und die Blendentechnik bei hohen Dispersphasenanteilen bezüglich der erzielbaren Partikelgrößen maßgeblich unterscheiden (Abb. 36). Ab einem Fettgehalt von ca. 15 % erzeugt der Hochdruckhomogenisator mit Flachventilen deutlich größere Fettpartikel als die Kombiblende. Bei niedrigeren Dispersphasenanteilen unterscheiden sich die beiden Homogenisierverfahren nur geringfügig.

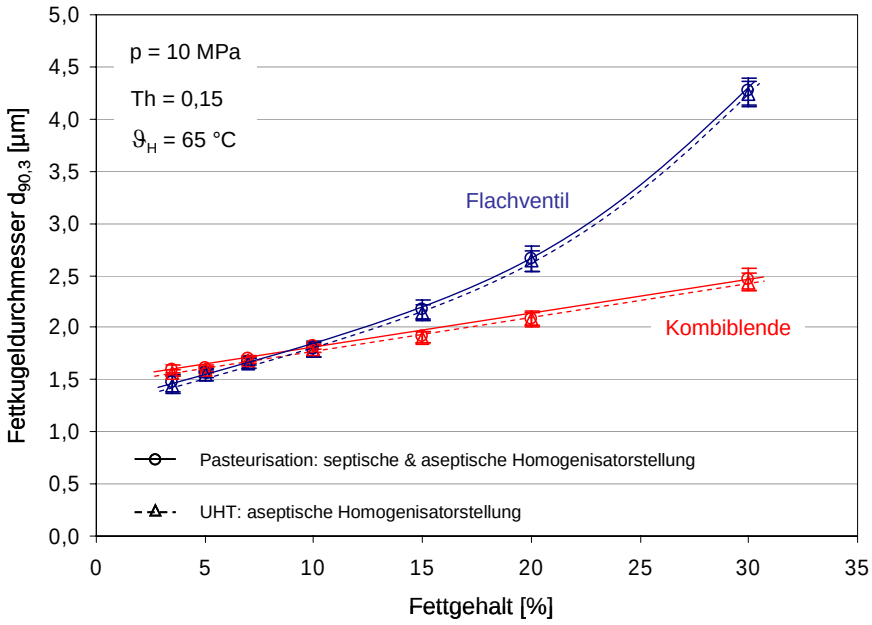


Abb. 36: Fettkugeldurchmesser d90,3 unterschiedlich prozessierter Milch und Sahne

Des Weiteren ist in Abb. 1 zu erkennen, dass die Homogenisatorstellung (septisch/aseptisch) im Falle pasteurisierter Milch keinen Einfluss auf das Homogenisierergebnis hat. Ebenso zeigt eine der Homogenisierung vorangestellte UHT-Erhitzung keine nennenswerten Auswirkungen auf die erzielbare Fettkugelgröße. Die geringfügig niedrigeren $d_{90,3}$-Werte der aseptisch homogenisierten UHT-Milch sind auf eine effektivere Grenzflächenstabilisierung mittels denaturierter Molkenproteine zurückzuführen.

Erfolgt die UHT-Erhitzung jedoch nach dem Homogenisierschritt führt der Prozess zu einem vollständig anderen Dispersitätsergebnis (Abb. 37).

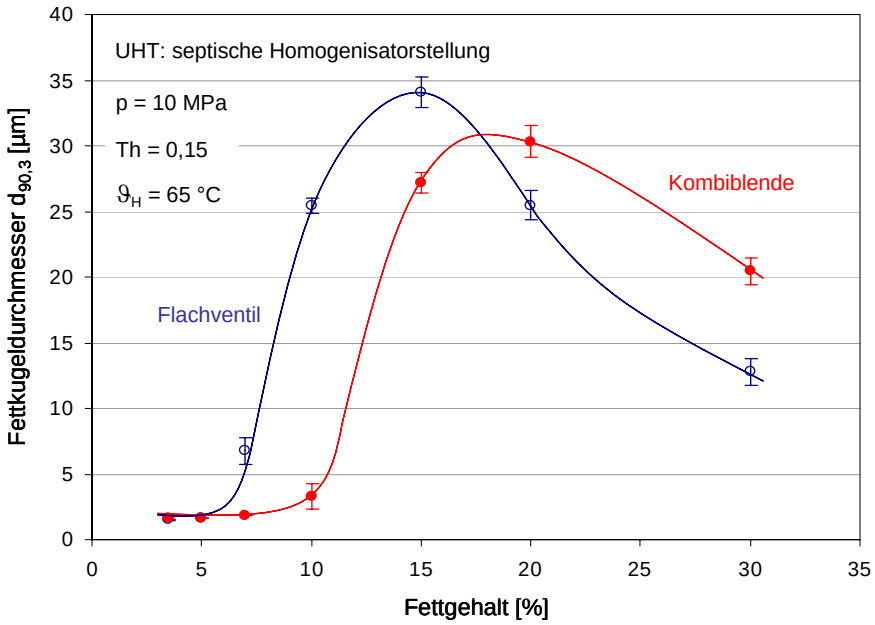


Abb. 37: Fettkugeldurchmesser d90,3 septisch homogenisierter UHT-Milch und UHT-Sahne

In Abb. 37 ist zu erkennen, dass die septische Homogenisierung von UHT-Milch ab einem gewissen Fettgehalt zu einem starken Anstieg der Fettkugelgröße führt. Hierbei fällt auf, dass die Kombiblende erst bei höheren Fettgehalten als der konventionelle Hochdruckhomogenisator diesen Partikelgrößenanstieg aufweist.

Die mit steigendem Fettgehalt auftretende Partikelgrößenzunahme sowohl von pasteurisierter Milch als auch von UHT-Milch kann unterschiedliche Ursachen haben. Das stetig ungünstiger werdende Protein/Fett-Verhältnis und die niedrige Grenzflächenbelegungsgeschwindigkeit der Proteine können zu Koaleszenzerscheinungen führen. Zum anderen können Aggregationsvorgänge, bedingt durch das Anlagern von Kaseinen und Molkenproteinen an mehreren Fettkugeln gleichzeitig, der Grund für diese Partikelgrößenzunahme sein. Mit Hilfe von Vergleichsmessungen der Partikelgröße nach einer Desaggregation der Fettkugeln mittels Verdünnung in SDS-Lösung kann zwischen diesen beiden Effekten differenziert werden. SDS hat die Eigenschaft durch eine effiziente Anlagerung an die Phasengrenzfläche Fettkugelaggregate aufzulösen und die einzelnen Fettkugeln zu stabilisieren. In Abb. 38 sind die primären Fettkugeldurchmesser (desaggregiert) der unterschiedlich prozessierten Milch dargestellt.

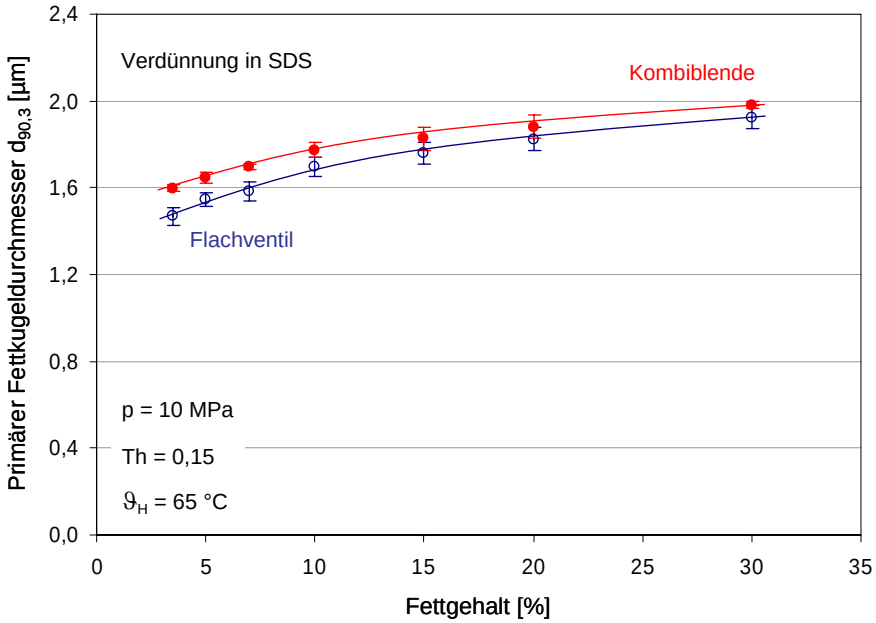


Abb. 38: Primärer Fettkugeldurchmesser d90,3 unterschiedlich prozessierter Milch und Sahne (Mittelwerte aus allen Prozessvarianten)

In Abb. 38 ist zu erkennen, dass der Hochdruckhomogenisator mit Flachventilen eine geringfügig höhere Zerkleinerungseffektivität aufweist als die Kombiblende. Homogenisatorstellung und Erhitzungsbedingungen zeigen keinen Einfluss auf die primäre Fettkugelgröße.

Ein Vergleich der primären und realen Fettkugeldurchmesser von pasteurisierter bzw. aseptisch homogenisierter UHT-Milch macht deutlich, dass bis zu einem Fettgehalt von 10 % eine Aggregation der Fettkugeln nicht für die Partikelgrößenzunahme verantwortlich gemacht werden kann. Bei niedrigen Dispersphasenanteilen muss die Partikelgrößenzunahme folglich bei beiden Homogenisierverfahren ausschließlich auf die Zunahme der Kollisionshäufigkeit der Fettkugeln mit steigendem Fettgehalt und den dadurch vermehrt auftretenden Koaleszenzerscheinungen zurückgeführt werden. Bei höheren Fettgehalten führt jedoch das ungünstige Protein/Fett-Verhältnis zu Aggregationserscheinungen. Während diese beim konventionellen Hochdruckhomogenisator bereits ab einem Fettgehalt von 10 % das Homogenisierergebnis dominieren, zeichnet sich die Kombiblende auch bei höheren Fettgehalten durch geringe Aggregationserscheinungen aus. Hierfür könnten die hochturbulenten Strömungsbedingungen in der Freistrahlzone der Blendeneinheit verantwortlich sein, durch welche zwar die Kollisionshäufigkeit der Fetttropfen steigt, die Kontaktzeiten jedoch so kurz sind, dass es zu keiner Aggregatbildung kommt. Zudem ist bei der Kombiblende die Verweilzeit der Fetttropfen in hochturbulenten Strömungsbedingungen länger, welche die Fetttropfen auch ohne vollständige Belegung ihrer Phasengrenzfläche hydrodynamisch stabilisieren und somit eine ausreichende Grenzflächenstabilisierung ermöglichen.

Bei der septischen Homogenisierung von UHT-Milch ist der fettgehaltsabhängige Partikelgrößenanstieg ebenfalls auf Aggregationserscheinungen zurückzuführen. Allerdings ist hier die UHT-bedingte Denaturierung der Molkenproteine, welche sich aufgrund der Homogenisierung bereits an die Phasengrenzfläche der Fetttropfen angelagert haben, als Ursache zu nennen. Hierbei werden reaktive Gruppen frei, die zu den beobachteten Aggregationserscheinungen führen. Die Verschiebung des Aggregationsbeginns zu höheren Fettgehalten bei der

Kombiblende deutet auf Unterschiede bezüglich der Grenzflächenbesetzung der Fettkugeln hin. Eine diesbezügliche Beweisführung sowie klärende Untersuchungen zum fettgehaltsabhängigen Aggregationsverlauf bei der septischen Homogenisierung von UHT-Milch stehen noch aus.

Die dargestellten Ergebnisse machen deutlich, dass die erreichbare Fettkugelgröße von Milch mit niedrigem Fettgehalt von der Effektivität des Tropfenaufbruchs sowie der Koaleszenzrate der Fetttropfen limitiert wird. Bei hohen Dispersphasenanteilen bestimmen jedoch, insbesondere bei der konventionellen Hochdruckhomogenisierung, Aggregationserscheinungen das Homogenisierergebnis. Des Weiteren wurde deutlich, dass die Homogenisatorstellung bei pasteurisierten Produkten keinen Einfluss auf das Dispersitätsergebnis zeigt, während für eine zufrieden stellende Homogenisierung von UHT-Milch mit einem Fettgehalt > 5 % eine aseptische Homogenisatorstellung erforderlich ist.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 14073 N)

Beeinflussung der physikalisch-chemischen und funktionellen Eigenschaften von Eigelb durch enzymatische und enzymatisch-thermische Behandlung

Impact of an enzymatic and enzymatic-thermal treatment on the physico-chemical and functional properties of hen's egg yolk

Katharina Daimer

Eigelb ist ein hervorragender natürlicher Emulgator für das Erzeugen von Lebensmittelemulsionen, dessen Potenzial jedoch noch lange nicht vollständig genutzt wird. Die hohe kompositorische Vielfalt an Inhaltsstoffen und die hohe Trockenmasse des Eigelbs (bis zu 52 %) machen eine Prozessierung schwierig.

Heutzutage wird Eigelb mit Phospholipase A_2 (PLA_2) behandelt, wodurch Lyso-Phospholipide entstehen, die eine höhere Emulgieraktivität in O/W-Emulsionen aufweisen als die originären Phospholipide. Positiver Nebeneffekt dieser Behandlung ist eine hohe Hitzestabilität des Eigelbs, da die Proteinaggregation und Gelbildung in Folge einer Erhitzung ausbleiben. Modifiziertes Eigelb kann zur Erhöhung der mikrobiologischen Sicherheit bei höheren Temperaturen und längeren Heißhaltezeiten erhitzt werden und bleibt immer noch zur Weiterverarbeitung geeignet.

Einfluss auf die physikalisch chemischen Eigenschaften

Die Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften von modifiziertem Eigelb wurden systematisch erfasst. Die Proteinlöslichkeit und Proteindenaturierung wurde vor und nach einer enzymatischen bzw. enzymatisch-thermischen Behandlung untersucht. Um die Effekte der Modifizierung besser zuordnen zu können, wurde das Eigelb durch Zentrifugation in seine wasserlösliche (Plasma) und wasserunlösliche Fraktion (Granula) getrennt.

Plasma besteht zu 85 % aus LDL-Mizellen, deren Oberfläche von Phospholipiden stabilisiert wird. Die Hitzestabilität des Eigelbs konnte auf strukturelle Veränderungen an der Oberfläche der Mizellen zurückgeführt werden, die aus der Abspaltung der Fettsäure resultiert. Es konnte keine Denaturierung der LDL-Apoproteine nachgewiesen werden, während die restlichen Proteine kein verändertes Denaturierungsverhalten nach thermischer Behandlung zeigten.

Die Granula liegen im unbehandelten Eigelb als unlösliche Komplexe vor, in denen High-Density-Lipoproteine (HDL) und Phosvitin durch Ca-Phosphat-Brücken miteinander verbun-

den sind. Nach einer Modifizierung mit PLA_2 kommt es zur Auflösung der granulären Struktur. Während die Granula-Aggregate eine mittlere Größe von ca. 2 µm aufweisen, können in der modifizierten Granula-Fraktion nur Partikel mit einer mittleren Größe von etwa 0,9 µm gefunden werden. Die Modifizierung bewirkt folglich einen Aufbruch der Aggregate und Proteine, die zuvor unlöslich waren, können in Lösung gehen.

Es können also zwei indirekte Effekte der enzymatischen Modifizierung mittels PLA_2 auf Eigelb festgestellt werden, die primär nicht mit der Funktion des Enzyms PLA_2 zusammenhängen: Die LDL-Apoproteine aggregieren durch die Umstrukturierung der Mizellen-Oberfläche selbst bei intensiver Hitzeeinwirkung nicht mehr und bleiben löslich. Die Granula werden durch die PLA_2-Behandlung aufgebrochen, es entstehen kleinere granuläre Fragmente und die Proteine der Granula-Fraktion können in Lösung gehen.

Auswirkung auf die Funktionalität

Die emulgierenden Eigenschaften von enzymatisch behandeltem Eigelb sind gegenüber unbehandeltem Eigelb verbessert. Es konnte gezeigt werden, dass dies nicht nur an dem Vorhandensein der Lyso-Phospholipide liegt, wie bis jetzt angenommen, sondern dass die erhöhte Emulgieraktivität mit dem Aufbruch und der gesteigerten Proteinlöslichkeit der Granula zusammenhängt.

In früheren Studien wurde nachgewiesen, dass durch eine Proteindenaturierung infolge einer rein thermischen Behandlung von Eigelb die Emulsionseigenschaften verbessert werden können. Die denaturierten Proteine weisen zwar aufgrund ihrer geringeren Flexibilität eine etwas schlechtere Emulgieraktivität auf, trotzdem überwiegen die positiven Effekte. Emulsionen, die mit erhitztem Eigelb hergestellt werden, zeigen eine höhere Stabilität gegenüber Aufrahmung, eine geringere Aggregationsneigung der Fetttröpfchen und zusätzlich sind diese Emulsionen wesentlich unempfindlicher gegenüber veränderten Milieubedingungen. Bei Einsatz von erhitztem Eigelb konnte im Gegensatz zu nicht erhitztem Eigelb keine Abhängigkeit der Emulsionseigenschaften von pH und NaCl- Konzentration festgestellt werden.

In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, ob sich durch eine Erhitzung von enzymatisch behandeltem Eigelb synergistische Effekte aus der verbesserten Emulgieraktivität des modifizierten Eigelbs und der höheren Emulsionsstabilität bei Einsatz von thermisch behandeltem Eigelb ergeben.

PLA_2-modifiziertes Eigelb wurde bei zwei pH-Werten (pH 4 und pH 6,5) bei Temperaturen von 54 – 90 °C für je 12 min erhitzt, um unterschiedliche Grade an Proteindenaturierung zu erreichen (Proteinkonzentration 20 mg/ml, 0,55 M NaCl). Aufgrund der hohen Hitzestabilität des Eigelbs, wurde selbst bei 90 °C/ 12 min nur eine Proteindenaturierung von max. 45 % erreicht und das modifizierte Eigelb wies nach der Erhitzung keine signifikant erhöhte Viskosität auf. Anschließend wurden Emulsionen mit 30 % Ölanteil mittels einstufiger Homogenisierung bei 200 bar hergestellt. Die Emulsionseigenschaften wurden mit dem Grad an Proteindenaturierung korreliert. Beispielhaft sind der Aggregationsfaktor und die Aufrahmung der Emulsionen dargestellt. Der Aggregationsfaktor wird aus dem Verhältnis der Tröpfchenaggregatgröße zum individuellen Durchmesser eines einzelnen Öltröpfchens ermittelt. Dementsprechend bedeutet ein Aggregationsfaktor von 1, dass keine Öltröpfchen aggregiert sind.

Die Eigenschaften von Emulsionen aus modifiziertem Eigelb zeigen verbesserte Eigenschaften, wenn die Proteine durch eine Erhitzung teilweise denaturiert wurden. Die Aggregationsneigung der Fetttröpfchen konnte durch eine zusätzliche Erhitzung des modifizierten Eigelbs verringert werden (Abb. 39).

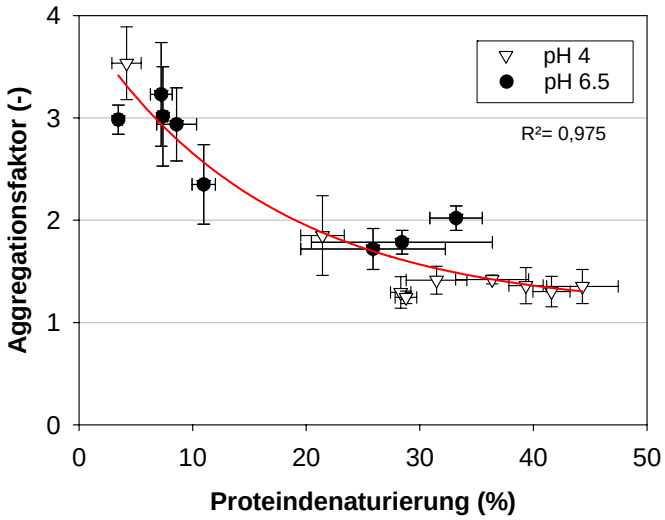


Abb. 39: Aggregationsfaktor von Fetttröpfchen in Emulsionen mit 30 % Ölanteil, stabilisiert mit enzymatisch und thermisch behandeltem Eigelb bei pH 4 und pH 6,5. (NaCl-Konzentration = 0,55 M)

In Übereinstimmung damit zeigen Emulsionen mit höherer Proteindenaturierung eine geringere Aufrahmung (Abb. 40).

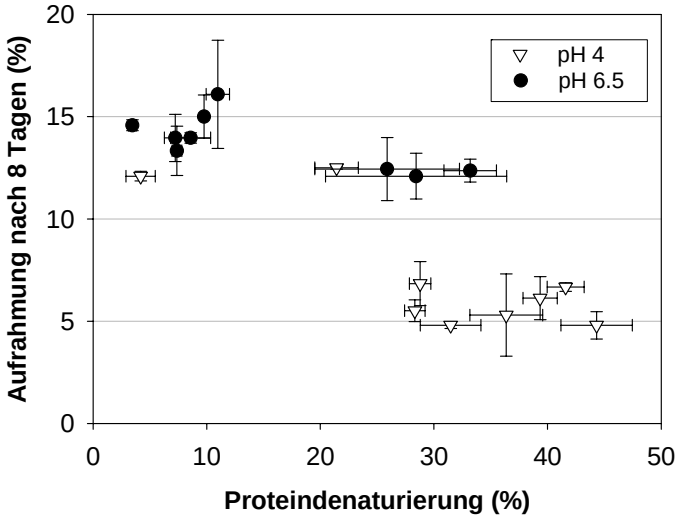


Abb. 40: Aufrahmung nach 8 Tagen von Emulsionen (30 % Ölanteil) hergestellt mit enzymatisch und thermisch behandeltem Eigelb bei pH 4 und pH 6,5. (NaCl-Konzentration = 0,55 M)

Bei pH 4 sind die positiven Effekte stärker ausgeprägt als bei pH 6,5, da der isoelektrische Punkt (IEP) der grenzflächenaktiven Proteine eher im neutralen pH-Bereich liegt. Bei pH 4 sind die Proteine fern ihres IEP und elektrostatische Abstoßung zwischen den Grenzflächen

verhindert zusätzlich einen Kontakt zwischen den Öltröpfchen. Der größere Abstand zwischen den Öltröpfchen bei pH 4 bewirkt eine weniger dichte Öltröpfchenpackung in der aufgerahmten Phase, was sich in einer geringeren Aufrahmung ausdrückt.

Die Emulgiereigenschaften von modifiziertem Eigelb können also durch eine intensive thermische Behandlung, bei der Proteindenaturierungsgrade von mindestens 30 % erreicht werden, zusätzlich verbessert werden.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AIF-FV 14041 N)

ZIEL-Nachwuchsforschergruppe "Bioaktive Peptide und Proteintechnologie"

ZIEL- Junior Research Group: Bioactive peptides and protein technology

Leitung: Seronei Chelulei Cheison PhD

Influence of Temperature on the hydrolysis of β-lactoglobulin by bovine Trypsin

Seronei Chelulei Cheison

Protein interaction with an enzyme during hydrolysis is influenced by the operating conditions namely temperature, pH and enzyme concentration as well as substrate heat-denaturing. Each of these conditions may be of importance beyond merely influencing the ‘speed’ of the reaction. In this way, particularly in the case of the temperature and the pH, the enzyme may be denatured at regions above their optimum activity. This is primarily because enzymes, being proteins, are denatured by heat and pH extremes which force the globular structures to re-arrange. It may happen, too, that enzymes are constrained and this ‘stress’ forces them to behave in unusual ways dissimilar to those known about their peptide bond preferences. In addition, the substrate solubility and/or viscosity depend on the temperature and pH (the latter with respect to the isoelectric pH) and these are bound to influence the speed of hydrolysis.

To date, the operating assumption has been that enzyme hydrolytic properties characterised using standard substrates, remains fairly stable and predictable when the same enzyme is used in the hydrolysis of actual substrates. Although some effort was made to hydrolyse β-lactoglobulin at denaturing conditions (Hernández-Ledesma *et al.*, 2006), the results of that report were possibly undermined by the reference to time of hydrolysis rather than which and how many peptide bonds were hydrolysed. The degree of hydrolysis, DH, defines the number of peptide bonds hydrolysed as a ratio of the original peptide bonds in a protein. Were this quantity used to monitor the case of Thermolysin in the reported study, it would have been possible to report whether by hydrolysing the same number of peptide bonds the enzyme attacked similar peptide bonds at different temperatures.

It therefore remains unreported and unclear whether hydrolyses patterns are affected by the operating conditions and what this translates to in terms of the peptides produced. The literature is silent on the effects of the operating conditions beyond the time-course hydrolysis curves that show the enzyme activity differences with respect to the pH, temperature and enzyme to substrate (E/S) ratios. It is of interest to the NFG to find out what the enzyme does

to the substrate at different combinations of the operating conditions in order to publish a complete characterisation of the products in order to provide a working database.

Bovine Trypsin (EC 3.4.21.4) is a serine proteinase like Chymotrypsin and Elastase with well defined substrate specificity, at least using assay substrates. It is reported to cleave the Carboxy-terminals of ε-amino group-containing basic amino acids Lysine and Arginine (Olsen *et al.*, 2004), except when they are bonded with Proline (Fig. 41).

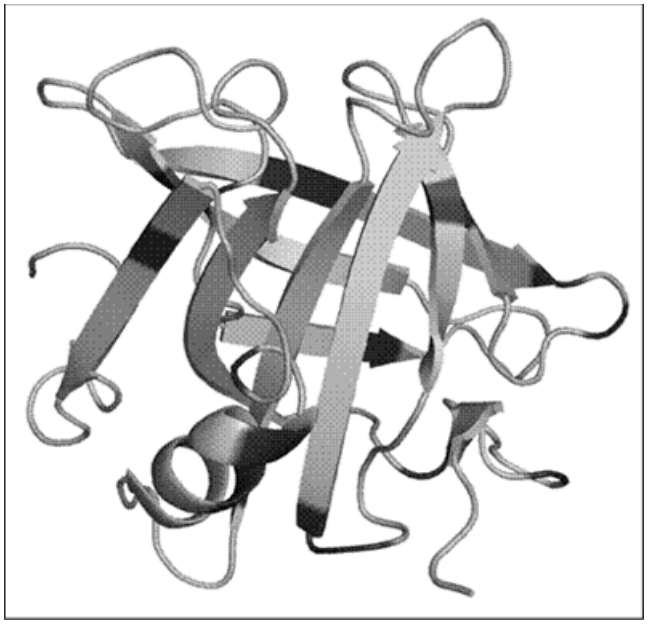


Fig. 41: Molecular structure of bovine beta lactoglobulin showing Trypsin's preferable attack bonds in dark colour

It can be assumed for hydrolysis processes and yet no published information was encountered in the literature that details whether and how those operating conditions and substrate pretreatments like heat-denaturing influence the peptide bond preference. Because it is fairly well characterised, it serves as a logical beginning for investigations into any deviations from the rule. This is because any deviations in the reported behaviour can logically be explained by the variations introduced during use.

In a bid to find out how the enzyme is controlled and influenced by the hydrolysis operating parameters, we set out to hydrolyse purified bovine beta-lactoglobulin (β-Lg) produced at the Chair (Tolkach & Kulozik, 2007) with bovine Trypsin at various combinations of temperature, E/S ratios and to degrees of hydrolysis (DHs) ranging from zero to about 6.5%. Heat-denaturing before hydrolysis was also investigated in view of the molecular re-organisation in order to understand how such pre-treatment influences the hydrolysis properties.

Because of the limiting nature of the peptide bonds available for Trypsin in β-Lg, it is predicted that the highest DH attainable with Trypsinolysis would be 10.55%. This means that by the time a DH of 6.5% is reached, about 50% of the Trypsin hydrolysable bonds in β-Lg would be hydrolysed. This level of the DH was found reasonable to be able to reliably characterise the hydrolysates by the mass analysis methods (prominently the matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry) because of the fewer number of peptides generated, their relatively large molecular sizes and in order to limit the interference from the analysis matrix during MALDI-TOF operation.

It was found out (Fig. 42) that the enzyme stability was greatly influenced by the operating temperature to the extent that the residual activity was diminished at 50°C making the high catalytic activity and the high denaturing a tricky trade-off. A choice of which operating temperature to use will draw from this knowledge in future.

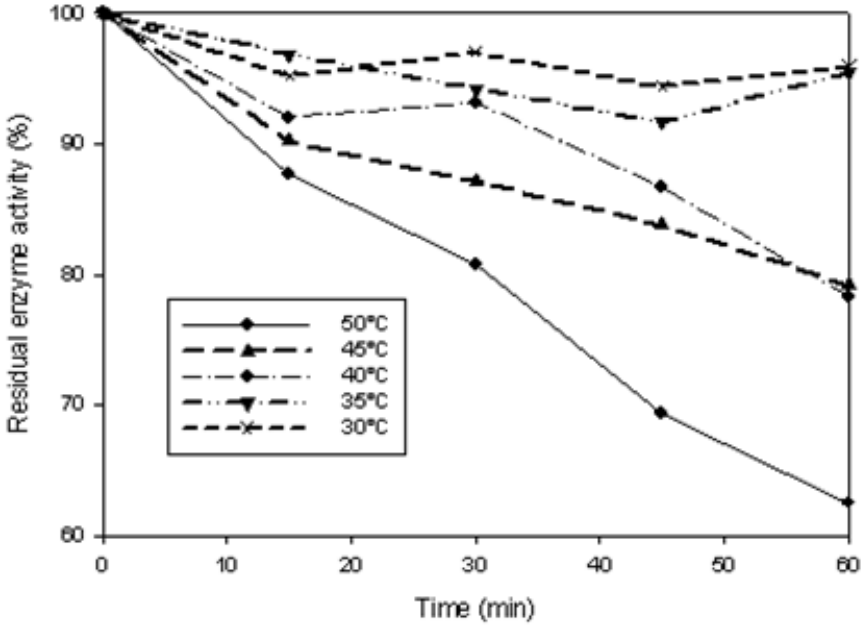


Fig. 42: Effect of operating temperature on the stability of Trypsin showing residual activity in 1hr

On the direct effect of the hydrolysis temperature on the enzyme hydrolytic activity, Fig. 43 confirms that Trypsin showed higher hydrolytic action on β-Lg at temperatures close to and above 40 °C while at 30 °C the enzyme required a long time to hydrolyse the substrate to a DH equal to 5 %. A combination of factors likely played a role in the activity and behaviour of the enzyme. The effect of the enzyme on the whey protein hydrodynamics has been reported (Pelegrine & Gasparetto, 2005). At lower temperatures, too, β-Lg exists in dimers which dissociate at temperatures between 30 and 50 °C, a 'denaturing' process which has an influence on the access of some bonds within the protein.

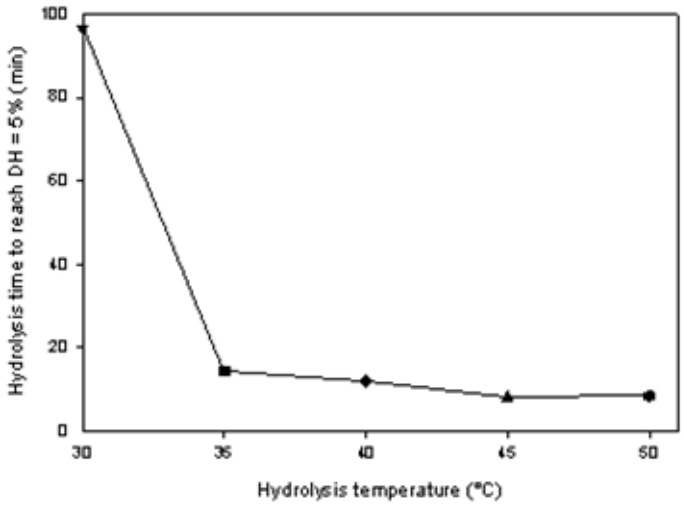


Fig: 43: Effect of hydrolysis temperature on the time required to hydrolyse beta-Lg by Trypsin to DH=5 %

The hydrolysates were characterised using MALDI-TOF/MS with α-cyano-4-hydroxycinnamic acid (ACHCA) as the matrix. The results depicted in Fig. 44 show that the enzyme was evidently influenced by the temperature. Fig. 44 confirms that at temperatures between 30 and 40 °C, Trypsin left some intact β-Lg while attacking the resultant peptides. At higher temperatures, however, at the same DH, the enzyme had depleted the substrate. It is likely that this attack pattern released peptides that differed both quantitatively and qualitatively from those released at the lower temperatures and our work will shift to characterisation of the hydrolysates using LC-MS.

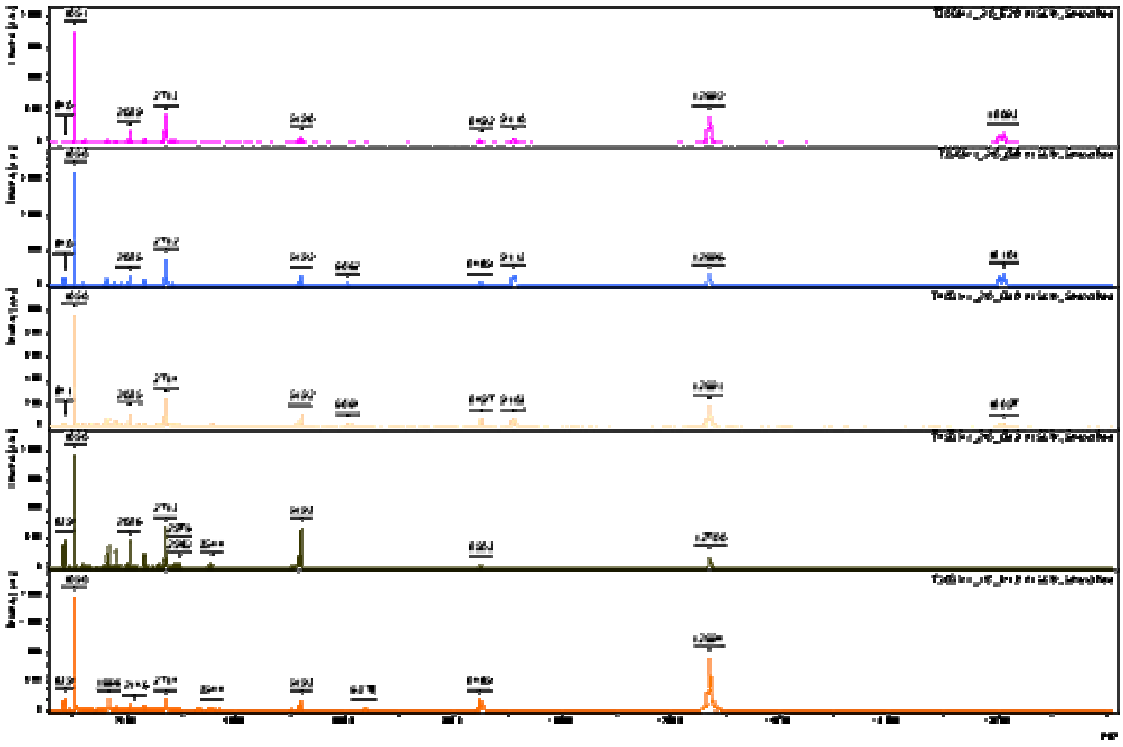


Fig: 44: Characterisation of the hydrolysates of β-Lg produced at different temperatures (DH=1%) by MALDI-TOF/MS

One likely modification or processing tool to help with the manipulation of the substrate is β-Lg aggregation. It is postulated that aggregation may lead to masking of some otherwise accessible peptide bonds in the substrate and this is likely to influence not only the attack patterns but also the products. In order to appreciate the effect on hydrolysis on likely aggregation of the hydrolysates, particle size measurements were taken (Fig. 45).

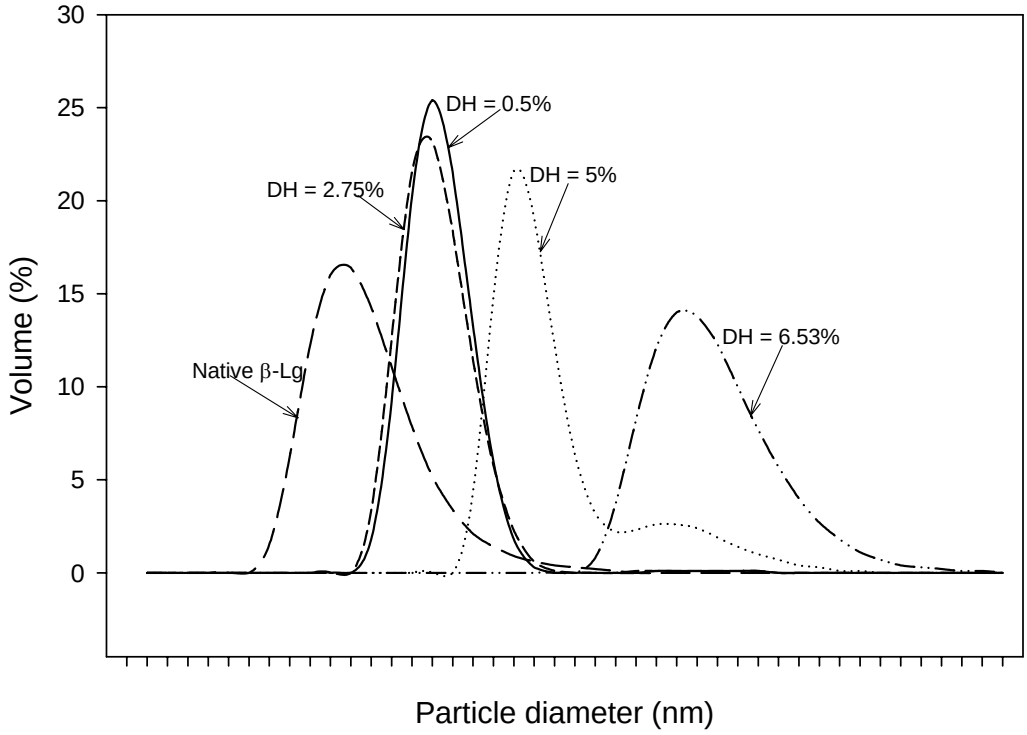


Fig. 45: Effect of the DH on particle the sizes of beta-Lg hydrolysates

A striking result emerged in the measurements, where the progress in the hydrolysis process led to an increase in the particle sizes rather than a reduction as would be expected with a reduction in the sizes of the peptides. The increase in the particle size with increasing DH (reduction in peptide sizes) may imply a hydrophobic-interaction by those peptides with near-homologous hydrophobicity as a result of the increasing build-up of the ash in the hydrolysis process. It is fairly well known that salts, high temperature and acidic pH favour increased hydrophobic interactions (Cheison *et al.*, 2007).

The results already received from this work point to the likelihood of a significant influence of the hydrolysis process conditions not only on the enzyme catalytic activity but on the pattern of attack. More results will be available in due course from the mass spectra to ascertain the breakdown patterns and products as a function of the operating conditions and/or substrate handling before hydrolysis.

Outlook

The NFG was joined by MSc Elena Leeb who will be doing her doctorate working with hydrolysis of caseino macropeptide. She will investigate the influence of the operating conditions and the glycosylation of the protein on the breakdown patterns and possible production of bioactive peptides.

References:

Cheison, S. C., Wang, Z. & Xu, S.-Y. (2007). Use of macroporous adsorption resin for simultaneous desalting and debittering of whey protein hydrolysates. *International Journal of Food Science and Technology*, **42**, 1228-1239.

Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., Recio, I. & Amigo, L. (2006). Effect of β-lactoglobulin hydrolysis with thermolysin under denaturing temperatures on the release of bioactive peptides. *Journal of Chromatography A*, **1116**, 31-37.

Olsen, J. V., Ong, S.-E. & Mann, M. (2004). Trypsin cleaves exclusively C-terminal to arginine and lysine residues. *Mol Cell Proteomics*, **3**, 608-614.

Pelegrine, D. H. G. & Gasparetto, C. A. (2005). Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, **38**, 77-80.
Tolkach, A. & Kulozik, U. (2007). Reaction kinetic pathway of reversible and irreversible thermal denaturation of β-lactoglobulin. *Le Lait*, **87**, 301-315.

Dissertationen

Tolkach, A.: Thermisches Denaturierungsverhalten von Molkenproteinfraktionen: Selektive Denaturierung - Fraktionierung mit Membranen - Reaktions-, Auffaltungs- und Aggregationskinetik, 18. Januar 2008

Higl, B.: Bedeutung der Verfahrenstechnik und des Glaszustands für die Stabilität von Mikroorganismen während der Lyophilisation und Lagerung

Diplom- und Masterarbeiten

Streichele, Elisabeth (Bachelor Thesis): „Einfluss von Eiklarproteinzusatz auf die rheologischen und sensorischen Eigenschaften von Rührjoghurt und Joghurtosmose“

Leeb, Elena (Master Thesis): Untersuchungen zur Säurestabilität mikroverkapselter probiotischer Keime

Zielonka, Stefanie (Bachelor Thesis): Untersuchung der Lagerstabilität mikroverkapselter probiotischer Keime

Albold, Sabine (Bachelor Thesis): Stabilisierung von probiotischen Keimen durch Mikroverkapselung mittels Milchproteinen

Junianto, Junianto (Bachelor Thesis): Proteinfraktionierung von Milch mittels innovativer keramischer Gradientenmembranen

Faddouli, Faoud (Master Thesis): Homogenisierung von Milch mittels neuartiger Lochblendtechnik und Einfluss der Prozessführung auf die Produkteigenschaften

Nikolaeva, Tatiana (Master Thesis): Inaktivierung von Chymosin durch thermische und Ultrahochdruckbehandlung

Vetisch, Yvonne: Einfluss des Herstellungsprozesses auf die physikalischen Eigenschaften von Mikrokapseln bei der Emulsionstechnik

Strixner, Thomas Günther: Charakterisierung der Emulgieraktivität unterschiedlich glykolysierter Fraktionen von Caseinomakropeptid

Semester- und Bachelorarbeiten

Bernard, Thomas: Längenabhängige Untersuchung des Abspülverhaltens von Deckschichten

Dombrowski, Jannika: Der Einfluss von Eiklar auf die Struktur und die sensorischen Eigenschaften von Streichrahm

Dorner, Andrea: Optimierung membrantrenntechnischer Verfahren zur Herstellung von ESL-Milch

Rauh, Valentin: Ermittlung der formalkinetischen Parameter von Chymosin in Serumproteinfreien Caseinlösungen unter Hochdruck

Vorträge

Betz, M., Tolkach, A., Kulozik, U.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen: wasserunlösliche Mikrokapselsysteme zur Stabilisierung und kontrollierten Freisetzung von bioaktiven Inhaltsstoffen aus der Heidelbeere, Sitzung des Projektbegleitenden Auschusses für das AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Karlsruhe, 25. Juni 2008

Betz, M.: Mikroverkapselung bioaktiver Inhaltsstoffe mittels Mischgelen aus Molkenproteinen und Polysacchariden, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Betz, M.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP 1: Untersuchungen zur Gelbildung Doktorandentreffen im Rahmen des AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen; AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Braunschweig, 14. November 2008

Cheison, S.C.: Production of food-protein derived bioactive peptides in enzymatic membrane reactors, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Cheison, S.C., Finale, C.T., Kulozik, U.: Bioaktive Peptide aus Milchproteinen – Möglichkeiten zur gezielten Erzeugung und Anreicherungsmethoden, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 25./26. September 2008

Cheison, S.C., Kulozik, U.: Targeted and controlled production of bioactive peptides from whey proteins: Factors affecting the trypsin enzyme specificity for β-Lactoglobulin, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Cheison, S.C., Kreuß, M., Krause, I.: Fraktionierung und analytische Charakterisierung von funktionellen Peptiden, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Daimer, K.: Einfluss einer thermischen und enzymatischen Behandlung auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Eigelb und Auswirkungen auf die Emulsionseigenschaften, DLG Fachtagung „Eier und Eitechnologie“, Leinfelden-Echterdingen, 14./15. April 2008

Daimer, K.: Fraktionierung von Eigelb zur gezielten Nutzung der Funktionalität einzelner Komponenten beim Emulgieren, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Först, P.: A low resolution 1-H Nmr study to investigate the protective mechanism of sorbitol during vacuum drying of a probiotic micro-organism, 9th International Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science, Reykjavik/Island, 15.-17. September 2008

Först, P., Bauer, S.: Vergleich von Trocknungsverfahren und Prozesseinflüssen für Starter- und probiotische Kulturen, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Guyot, C., Heidebach, T., Kulozik, U.: Enzymatische Vernetzung von Proteinen in fermentierten Milcherzeugnissen und Käse - Kinetik und Effekte, Landesverband Bayerischer und Sächsischer Molkereifachleute und Milchwirtschaftler e.V., Käsereitechnologischer Sonderlehrgang 2008, Kempten, 5./6. März 2008

Guyot, C., Kulozik, U.: Einsatz von Glutathion zur Minimierung des inhibitorischen Effekts bei der Herstellung Transglutaminase-behandelter Milchprodukte, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Guyot, C., Lauber, S., Kulozik, U.: Optimierung der Quervernetzung durch Transglutaminase in gerührtem Joghurt, Sitzung des projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/FEI-Forschungsvorhaben 15044 N, Freising, 1. August 2008

Guyot, C.: Funktionalisierung von Proteinen durch enzymatische Vernetzung, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Heidebach, T., Kulozik, U.: Neuartige Methoden zur Mikroverkapselung von probiotischen Keimen mittels enzymatischer Gelbildung von Milchproteinen, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Heidebach, T., Kulozik, U.: Mikroverkapselung probiotischer Keime mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Milchproteinen, 2. Sitzung des projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/FEI-Forschungsvorhaben AIF-FV 15327 N, Freising, 19. September 2008

Heidebach, T.: Mikroverkapselung von sensitiven Mikroorganismen mittels schonender Methoden in Gelen aus vernetzten und aggregierten Proteinen, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Heinrich, M.: Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln – Auswirkungen auf Milch und ihre Inhaltsstoffe, Hochdrucktagung 2008 „Kaltes Kochen und Pasteurisieren mit Hochdruck – faszinierende Möglichkeiten zur Herstellung innovativer Produkte“, Wien/Österreich, 16. September 2008

Kaufmann, V., Schmidt, V., Scherer, S., Kulozik, U.: Verfahrenskonzepte zur Herstellung von ESL-Milch: Einflussfaktoren auf die Produktqualität und –stabilität, Jahrestagung der Molkereischulen, Kempten, 26. April 2008

Kaufmann, V., Schmidt, V., Scherer, S., Kulozik, U. Microfiltration and thermal treatment to extend the shelf life of milk: Factors affecting product quality and stability, IDF-Technology Week, Quebec/Kanada,12.-16. Mai 2008

Kaufmann, V., Kulozik, U.: Verlängerung der Haltbarkeit von Milch mittels Mikrofiltration und thermischer Behandlung: Einflussfaktoren auf die Produktqualität und -stabilität, Arbeitstagung der Sachverständigen / Amtsingenieure für das Molkereiwesen, Münster, 22.-25. April 2008

Kaufmann, V., Kulozik, U.: Verfahrenstechnische Einflußfaktoren auf die Qualität und Stabilität von ESL-Milch, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 25./26. September 2008

Kreuß, M.: Reinigung und Isolierung hochwertiger Proteinkomponenten mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Kreuß, M.: Techno-funktionelle Eigenschaften glykosylierter und unglykosylierter Fraktionen von Caseinomakropeptid, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Kühnl, W., Piry, A., Tolkach, A.,Grein, T., Ripperger, S., Kulozik, U.: Impact of physicochemical feed properties on deposit layer formation and filtration in the microfiltration of milk proteins, World Filtration Congress, Leipzig, 14.-18. April 2008

Kühnl, W., Piry, A., Kulozik, U.: Vergleich von Gradienten- mit Standardmembranen und Einfluss kolloidaler Wechselwirkungen auf den Filtrationsprozess, Sitzung des projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/FEI-Forschungsvorhaben AIF-FV 14740 N, Freising, 11. September 2008

Kulozik, U., Tolkach, A., Kreuß, M.: Fractionation techniques based on membrane technology in a hybrid mode for the separation of bioactive peptides, ECI Conference - The Role of Structure in Biological, Chemical and Environmental Separations, San José/Costa Rica, 6.-11. Januar 2008

Kulozik, U.: Fraktionierung biologisch aktiver Lebensmittelkomponenten mittels Membrantrenntechnik in Kombination mit Chromatographie und thermischen Verfahren, Sitzung des Arbeitsausschusses Membrantechnik, Frankfurt/Main, 17. Januar 2008

Kulozik, U., Röck, S.: Autocatalytic multistage gel formation reaction in dairy based systems in relation to compositional factors, 5th IDF Symposium on Cheese Ripening, Bern/Schweiz, 9.-13. März 2008

Kulozik, U.: Trends in dairy research and technology - Driving forces for innovation, ICEF 10 - International Congress of Food and Engineering, Vina del Mar/Chile, 20.-24. April 2008

Kulozik, U.: Developments in downstream processing of whey for new product, 5th International Whey Conference, Paris/Frankreich, 8./9. September 2008

Kulozik, U.: Membrane adsorption technology for the removal of contaminants in complex biological media, MDRU Workshop on Strategies for the decontamination of (pet) food raw materials, Verden, 23./24. September 2008

Kulozik, U.: Bedeutung der Mikrostruktur von Lebensmitteln für Funktionalität und technologische sowie biologische Verfügbarkeit, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Kulozik, U.: Selective fractionation of proteins in a systems engineering approach, BioTrends 2008 – SusChemEng Conference, Sustainable Biochemical and Chemical Engineering, Dortmund, 5./6. November 2008

Kuropatwa, M.: Einfluss des Eiklareinsatzes auf die Funktionalität von Milchmischsystemen, DLG Fachtagung „Eier und Eitechnologie“, Leinfelden-Echterdingen, 14./15. April 2008

Piry, A., Kühnl, W.: Effect of membrane length, membrane resistances and process conditions on the fractionation of milk proteins by microfiltration, World Filtration Congress, Leipzig, 14.-18. April 2008

Piry, A., Kühnl, W., Tolkach, A., Kulozik, U.: Einfluss von Membranmaterial und -konfiguration sowie Prozessbedingungen auf die Grenzflächenvorgänge bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Piry, A., Kühnl, W.: Gewinnung innovativer Produktkomponenten aus Milch und Molke mittels neuartiger Modulkonzepte und optimierter Prozesstechnologie, Sitzung des projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/FEI-Forschungsvorhaben AIF-FV 14740 N, Freising, 11. September 2008

Piry, A., Kühnl, W.: Proteinfraktionierung mittels Membranen: Innovative Konzepte zur Optimierung des Stoffdurchgangs und Steigerung der Ausbeute, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Santivarangkna, C.: Protective substances and protection mechanisms in drying processes of starter cultures, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Siegert, N., Tolkach, A.: Innovative Verfahren zur Bestimmung und Anreicherung bioaktiver Glykoverbindungen aus Milch für die Entwicklung von prebiotischen Lebensmitteln: Ergebnisbericht Teilprojekt TUM, Projekttreffen BioChancePLUS, Friedrichsdorf, 15. Januar 2008

Siegert, N., Tolkach, A: Innovative Verfahren zur Bestimmung und Anreicherung bioaktiver Glykoverbindungen aus Milch für die Entwicklung von prebiotischen Lebensmitteln: Abschlussbericht Teilprojekt TUM, Abschlusstreffen BioChancePLUS, Geesthacht, 27. Mai 2008

Siegert, N., Tolkach, A.: Prozessstabilität glykosylierter Peptide und Proteine: Berücksichtigung von Prozess- und Milieueinflüssen zur Gewährleistung der natürlichen Struktur und deren physiologischer Eigenschaften, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Tolkach, A.: Particle formation of whey proteins during heat treatment: Mathematical modelling and process control, ICEF 10 - International Congress of Food and Engineering, Vina del Mar/Chile, 20.-24. April 2008

Tolkach, A.: Reaktionskinetik von thermisch ausgelösten Proteinveränderungen und deren Modellierung, Hochschultag der TU München, Freising, 27. Juni 2008

Tolkach, A.: Natürlich glykosylierte Proteine: Funktionalität, Eigenschaften und Nachweis am Beispiel der Sialinsäure, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Tolkach, A.: Nano- und Mikrostrukturen aus Milchproteinen: Möglichkeit zur Erzeugung technologischer und biologischer Funktionalität, Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“, Freising-Weihenstephan, 23./24. Oktober 2008

Tolkach, A., Kulozik, U.: Thermische Denaturierung von Molkenproteinen – Modellierung und Voraussagbarkeit der resultierenden Partikelgrößen, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 25./26. September 2008

Tolkach, A., Kulozik, U.: Membrananwendungen für neue Wertstoffe aus Molke und Milch, ProcessNet "Infotag Membrantechnik: Neue Entwicklungen beim Membraneinsatz in Food and Beverage", Frankfurt/Main, 18. November 2008

Tolkach, A., Schkoda, P., Hinrichs, J., Kulozik, U.: Retention of calcium in fresh cheese manufacture by means of milk nanofiltration pre-concentration, 1st IDF/INFRA International Symposium on Minerals & Dairy Products, St. Malo/Frankreich, 1.-3. Oktober 2008

Toro Sierra, J. P., Kulozik, U.: Energieeinsparung in einer UHT-Anlage durch Entwicklung einer Strategie zur Vermeidung von Ablagerungen, Arbeitstagung der Sachverständigen / Amtsingenieure für das Molkereiwesen, Münster, 22.-25. April 2008

Toro Sierra, J.P., Kulozik, U.: Bericht der Prüfstelle für Milchwirtschaftliche Maschinen und Anlagen - Weihenstephan, Arbeitstagung der technischen Sachverständigen / Amtsingenieure für das Molkereiwesen, Münster, 22.-25. April 2008

Posterpräsentationen

Betz, M.: Adsorptive Entzuckerung von Apfel- und Orangensaft mittels Natrium-Zeolith Y als verfahrenstechnische Alternative zur Membrantrenntechnik, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Betz, M., Tolkach, A., Kulozik, U.: Whey Protein Gels for Encapsulation of Anthocyanins, IWC 2008, Paris/Frankreich, 7.-9. September 2008

Bulca, S., Lauber, S., Kulozik, U.: Heat induced changes on the casein micelle under UHT conditions and their influence on the cheese making process, 5th IDF Symposium on Cheese Ripening, Bern/Schweiz, 9.-13. März 2008

Heidebach, T., Kulozik, U.: Microencapsulation of probiotics by means of enzymatically induced cross linking of dairy proteins, ICEF 10 - International Congress of Food and Engineering, Vina del Mar/Chile, 20.-24. April 2008

Heidebach, T., Kulozik, U.: Microencapsulation of probiotics by means of enzymatically induced cross-linking of dairy proteins, IDF Dairy Science and Technology Week, Quebec/Kanada, 12.-16. Mai 2008

Daimer, K., Kulozik, U.: Veränderung von grenzflächenaktiven Komponenten in Eigelb durch eine enzymatische Modifizierung mittels Phospholipase A2 und die Auswirkung auf die Emulsionseigenschaften, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Daimer, K.: Enzymatic modification by Phospholipase A2 alters egg yolk's interfacially active components, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Daimer, K.: Enzymatic modification by Phospholipase A2 alters egg yolk's interfacially active components, Food Colloids 2008, Le Mans, Frankreich, 6.-13. April 2008

Guyot, C., Kulozik, U.: Enzymatic protein cross-linking and textural effects in stirred type yoghurt systems, ICEF 10 - International Congress of Food and Engineering, Vina del Mar/Chile, 20 - 24. April 2008

Karasch, S., Kulozik, U.: Einfluss verschiedener Homogenisierverfahren auf die Produkteigenschaften von Milch und Sahne, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Santivarangkna, C., Higl, B., Kulozik, U., Först, P.: Injuries, Viability and Storage Stability of Lactic Acid Bacteria Preserved by Vacuum Drying as an Alternative in Industrial Starter Culture Drying, LAB9–Symposium on Lactic Acid Bacteria, Egmon aan Zee/Niederlande, 31. August - 4. September 2008

Santivarangkna, C., Higl, B., Kulozik, U., Först, P.: Vacuum Drying: A Potential Alternative Process for the Preservation of Industrial Starter Cultures, DECHEMA – Jahrestagung der Biotechnologen, Bremen, 28 - 30. Mai 2008

Siegert, N., Tolkach, A., Kulozik, U.: Einfluss verschiedener Prozessparameter auf die Stabilität sialinsäurehaltiger Glyokoproteine der Milch als Voraussetzung für den Erhalt der bioaktiven Eigenschaften, DECHEMA-GVC Jahrestreffen der ProcessNet-Fachausschüsse, Freising-Weihenstephan, 10.-14. März 2008

Siegert, N., Tolkach, A., Kulozik, U.: Thermal Stability of Sialoglycoproteins from milk using the example of Caseinomacropeptid, ICEF 10 - International Congress of Food and Engineering, Vina del Mar/Chile, 20.-24. April 2008

Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

AiF -FV 15044 N „Optimierung der Proteinquervernetzung durch Transglutaminase in gerührtem Joghurt“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 1. Juli 2008 in Freising-Weihenstephan

AiF-FV 15047 N „Prozessoptimierung zur Herstellung von länger haltbarer Frischmilch (ESL) unter Verwendung von thermischen und Membranverfahren“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 1. Juli 2008 in Freising-Weihenstephan

Forschungsprojekt BMBF BioChancePlus-2 „Innovative Verfahren zur Analytik und Anreicherung bioaktiver Oligosaccharide“, Projekttreffen am 15. Januar 2008 in Friedrichsdorf

Forschungsprojekt BMBF BioChancePlus-2 „Innovative Verfahren zur Analytik und Anreicherung bioaktiver Oligosaccharide“, Abschlußtreffen am 27. Mai 2008 in Geesthacht

AiF -FV 14740 N „Gewinnung physiologischer und technologisch wirksamer Milchproteinkomponenten mittels neuartiger Membranfraktionierungskonzepte und optimierter Prozesstechnologie“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 11. September in Freising-Weihenstephan

AiF - FV 15327 N „Mikroverkapselung probiotischer Keime mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Milchproteinen, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 19. September 2008 in Freising-Weihenstephan

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. 25./26. September 2008 in Freising-Weihenstephan

Technologie-Seminar „Prozess- und Trenntechnik für funktionelle Substanzen in Lebensmitteln: Gewinnung, Optimierung und Stabilisierung“ 23./24. Oktober 2008 in Freising-Weihenstephan

AiF -FV 15187 N „Funktionalität und Stabilität einzelner Fraktionen von Caseinomakropeptid sowie deren Beeinflussung durch Prozesse“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 16. September 2008 in Freising-Weihenstephan

AiF -FV 15327 N „Mikroverkapselung probiotischer Keime mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Milchproteinen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 19. September 2008 in Freising-Weihenstephan

Typprüfungen

Negele Messtechnik, Egg a. d. Günz, Typprüfungs eines Pt-100-Temperaturfühlers vom Typ TFP-68P mit ESP-G und CleanAdapt für den Einsatz in Milcherhitzern im Juni 2008

Coldelite/Carpigiani, Bologna/Italien, Typprüfung von Dauererhitzern für Milch vom Typ Compacta RTX für die Herstellung von Speiseeis aus Rohmilch im Oktober 2008

Exkursionen

12.-16. Mai 2008	Fachexkursion mit 35 Studenten des Studiengangs „Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel“ zu Lebensmittel – und Zulieferbetrieben im Raum Tirol, Voralberg, St. Gallen (Fa. Bühler AG, Bischofszell Narhungsmittel AG, Nestlé Deutschland AG, Herbert Ospelt Anstalt, Filtrox AG, Milei GmbH, Multivac)
18.07.2008	Fachexkursion mit 15 Studenten des Studiengangs „Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel“ sowie des Studiengangs „Molekulare Biotechnologie“ im Rahmen der Vorlesung „Aseptik und Sterilprozesstechnik“, zur Fa. Isotron Deutschland GmbH, Allershausen

Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien

Folgende Gymnasien werden im Rahmen des TUM – Programms „Partnerschaft Schule“ betreut:

Dom-Gymnasium, Freising	Oberstudiendirektor Alfons Strähhuber
Staatliches Gymnasium, München-Moosach	Oberstudiendirektor Dr. Peter Riedner
Katharinen-Gymnasium, Ingolstadt	OStD Dr. Reinhard Kammermayer
Gnadenthal-Gymnasium, Ingolstadt	OStD Kurt Müller

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Vorsitzender (Chairman) im Standing Committee of Dairy Science and Technology der International Dairy Federation (IDF) (bis April 2008)
- Geschäftsführer der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan
- Mitglied im Editorial Board von International Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)

- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V., Bonn sowie des Technologieausschusses des Verbandes Deutscher Marktmolkereien (VDM)
- Geschäftsführer des Departments für Ingenieurwissenschaften für Lebensmittel und nachwachsende Rohstoffe (ab November 2007)
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet (DECHEMA, VDI) im Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“

Besucher

07.02.2008	Carole Tonello, NC Hyperbatic, Burgos, Spanien
26.09.2008	Dr. Tanaboon Sajjaanantakul, Head of Department of Food Science and Technology und Kollegen, Kasetsart University, Thailand

Veröffentlichungen

Bönisch, M.P., Huss, M., Weitl, K., Kulozik, U.: Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. International Dairy Journal, 17. Jg., 1360-1371, 2007

Bönisch, M.P., Kulozik, U.: Verstärkung der Geleigenschaften, Teil I, Deutsche Molkereizeitung 129. Jg., 8/2008, S. 20-23

Bönisch, M.P., Kulozik, U.: Verstärkung der Geleigenschaften, Teil II, Deutsche Molkereizeitung 129. Jg., 9/2008, S. 24-26

Cheison, S., Finale, Chr., Koech, R., Kulozik, U.: Use of response surface methodology fort he optimization of whey protein hydrolysis, Journal of Food Biochemistry, 2008

Daimer, K., Kulozik, U.: Impact of a treatment with phospholipase A2 on the physicochemical properties of hen egg yolk, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56. Jg., S. 4172-4180, 2008

Daimer, K.: Das Potential des Pasteurisierens von Eigelb, Food Design 1/2008, S. 29-30

Daimer, K., Kulozik, U.: Mehr als nur haltbar – Das Pasteurisieren von Eigelb hat Potenzial, Food Design, 1. Jg., S. 31-32, 2008

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Transglutaminase-induced casein gelation for the microencapsulation of probiotic cells; International Dairy Journal 19. Jg., S. 77-84, 2009

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Mikroverkapselung von probiotischen Keimen mittels Milchproteinen; Der Lebensmittelbrief, September/Oktober 2008, S.287-289

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Mikrokapseln schützen probiotische Keime; Laborpraxis, 12/2008 S. 20-22

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Milchproteine zur Mikroverkapselung von probiotischen Keimen, Deutsche Molkereizeitung, 129. Jg., 15/2008, S. 28-31, 2008

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Mittels Caseingelen - Neuartige Methoden zur Mikroverkapselung von probiotischen Keimen, Lebensmitteltechnik, 40. Jg, 51-52, 03/2008

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells, International Dairy Journal 2008, XXXX

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Mikroverkapselung von probiotischen Keimen mittels Milchproteinen, Ernährung aktuell, 19. Jg., 287-288, September / Oktober 2008

Higl, B., Santivarangkna, C., Först, P.: Bewertung und Optimierung von Gefrier- und Vakuumtrocknungsverfahren in der Herstellung von mikrobiellen Starterkulturen, Chemie Ingenieur Technik 8/2008, 80. Jg., S. 1157-1164, 2008

Karasch, S., Kulozik, U.: Hochdruckhomogenisierung von Milch mit modifizierten Lochblenden im Vergleich zu konventionellen Flachventilen, Chemie Ingenieur Technik 8/2008, 80. Jg., S. 1117-1124, 2008

Kaufmann, V., Kulozik, U.: Sterilfiltration und Keimabreicherung durch Mikrofiltration und Kombinationsverfahren, Deutsche Milchwirtschaft 7/2008, S. 234-236, 2008

Köhler, K., Karasch, S., Schuchmann, H., Kulozik, U.: Energiesparende Homogenisierung von Milch mit etablierten sowie neuartigen Verfahren, Chemie Ingenieur Technik 8/2008, S. 1107-1116, 2008

Kreuß, M., Kulozik, U.: Membran-Adsorptions-Chromatographie, Molkerei Technologie 3/2008, S. 36-38, 2008

Kühnl, W., Piry, A., Kulozik, U.: Einfluss des Membranwiderstands auf die Filtrationsleistung bei der Proteinfraktionierung entlang von Mikrofiltrationsmodulen, Chemie Ingenieur Technik 8/2008, 80, Jg., S. 1199-1205, 2008

Kulozik, U.: Structuring dairy products by means of processing and matrix design, in: Aguilera, J.M., Lillford, P.J.: Food Materials Science - Principles and Practice, New York 2008, S. 439-473

Kulozik. U., Ripperger, S.: Innovative Einsätze der Membrantrenntechnik in der Lebensmitteltechnologie, Chemie Ingenieur Technik 8/2008, 80. Jg., S. 1045, 2008

Kuropatwa, M., Kulozik, U.: Proteinmischsysteme als innovativer Ansatz zur Entwicklung der Struktur von Milchprodukten, Deutsche Milchwirtschaft 58. Jg., S. 352-354, 2008

Piry, A., Kühnl, W., Kulozik, U.: Optimierung der Filtrationsleistung bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration - Teil 1: Einfluss von Prozessvariablen auf die Filtrationsleistung entlang einer Membran, Deutsche Molkereizeitung, 16/2008, 59. Jg., S. 572–574, 2008

Piry, A., Kühnl, W., Kulozik, U.: Optimierung der Filtrationsleistung bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration - Teil 2: Vergleich der konventionellen Querstromfiltration mit Gradientenmembranen sowie dem UTP-Konzept, Deutsche Molkereizeitung,18/ 2008, 59. Jg, S. 675 – 677, 2008

Piry, A., Kühnl, W., Tolkach, A., Kulozik, U.: Length dependency of flux and protein permeation in crossflow microfiltration of skimmed milk, Journal of Membrane Science, 2008, S. 887-894, 2008

Santivarangkna, C., Higl, B., Först, P.: Protection mechanisms of sugar during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures, Food Microbiology, 25. Jg., S. 429-441, 2008

Santivarangkna, C., Kulozik, U., Först, P.: Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes, Journal of Applied Microbiology, 105. Jg, S. 1-13, 2008

Tolkach, A., Kulozik, U.: Kinetische Modellierung der thermischen Denaturierung von a-Lactalbumin im sauren Bereich und in Anwesenheit eines Calciumkomplexbildners, Chemie Ingenieur Technik, 80. Jg., 8/2008, S. 1165-1173, 2008

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik und Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung

Adresse

Weihenstephaner Steig 22
TU München-Weihenstephan
D-85350 Freising

Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung
Giggenhauser Str. 35
D- 85354 Freising

Telefon: 0 81 61/491-124
Telefax: 0 81 61/491-222
Internet: www.ivv.fraunhofer.de
E-Mail: info@ivv.fraunhofer.de

Personal:

Leitung: Prof. Dr. Horst-Christian Langowski
Inhaber des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik

Tel. 0 81 61/491-101
Fax 0 81 61/491-111
E-Mail: horst-christian.langowski@ivv.fraunhofer.de

Forschung

Anforderungen an die Verpackung zum Qualitätserhalt von UHT-Milch
Wolfgang Danzl, Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik und Fraunhofer IVV,
Klaus Rieblinger; Fraunhofer IVV

Problemstellung:

Die Herausforderung für die Verpackung steriler Milchprodukte besteht im nötigen Schutz des Füllguts vor Verkeimung sowie vor Sauerstoff und Lichteinfluss. Für UHT-Milch und weitgehend auch Frischmilch haben sich aufwendige Kartonverbunde etabliert. Aus wirtschaftlichen Gründen bleibt es aber ein Ziel, den Verpackungsaufwand so weit zu minimieren, wie es für den Qualitätserhalt und die vorgesehene Lagerdauer akzeptabel erscheint. So gibt es immer wieder Überlegungen, beispielsweise für die Verpackung von Frischmilch auch transparente Kunststoffe, vor allem PET zu verwenden. UHT-Milch erfordert wegen ihrer langen Lagerdauer eine hohe Barriere und entsprechenden Verpackungsaufwand, aber auch

dort ist ein reduzierter Verpackungsaufwand denkbar, beispielsweise durch Weglassen der Aluminiumschicht im Kartonverbund.

Betrachtet man den produktschädigenden Lichteinfluss auf Milch, spielt Sauerstoff eine entscheidende Rolle. Aus der Literatur ist die Entstehung von Methional in Milch, eine für den Lichtgeschmack von Milch typische Verbindung, aus der Aminosäure Methionin bekannt.

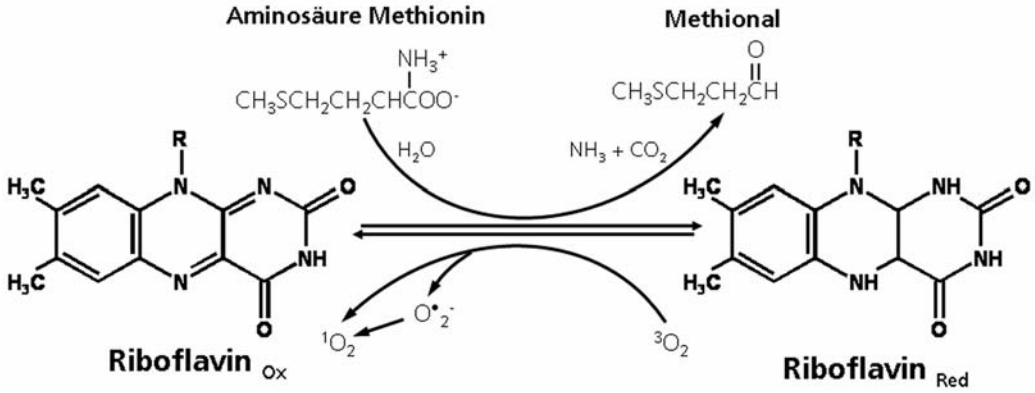


Abb. 1: Bildung von Lichtgeschmack in Milch durch sensibilisierte Oxidation von Methionin zu Methional

Projektziel:

Um die Unsicherheiten über die Anforderung an die Verpackung für UHT-Milch, ESL-Milch und Frischmilch zu beseitigen, sind Kenntnisse über den genauen Einfluss von Licht und Sauerstoff auf die Produktqualität, hier: die Bildung des Lichtgeschmacks erforderlich. Dazu wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Der Restsauerstoffgehalt in abgefüllten Milchpackungen aus dem Handel wurde untersucht
- Sauerstoffverbrauchskinetiken von UHT-Milch mit unterschiedlichen Fettgehalten wurden ermittelt
- Ein Lichtlagertest von UHT-Milch nach Umfüllen in Glasflaschen wurde zusammen mit einer sensorischen und analytischen Bewertung durchgeführt

Ergebnisse:

Für den Qualitätserhalt von UHT-Milch ist eine effektive Entfernung des physikalisch gelösten Sauerstoffes notwendig. Ein Screening von verschiedenen UHT-Milchproben aus dem Handel sollte Aufschluss über die bisher üblichen Sauerstoffbelastungen geben. Die Messungen wurden mittels eines faseroptischen, auf dem Prinzip des Fluoreszenzlöschung basierenden Messsystems durchgeführt. Die Ergebnisse dieses Screenings sind in Abb. 2 dargestellt.

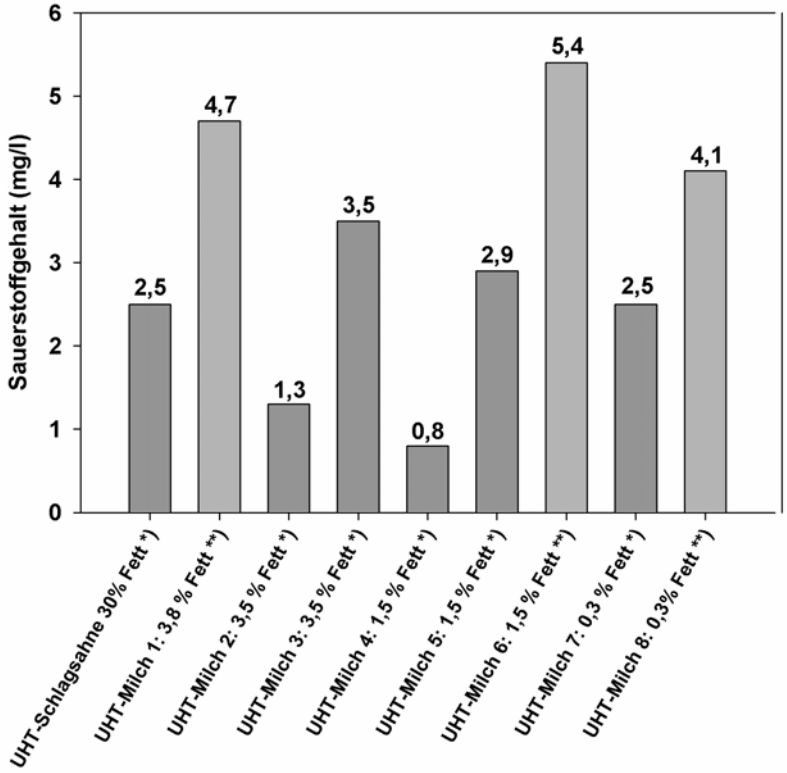


Abb. 2: Gelöster Sauerstoff in UHT-Milchproben aus dem Handel in Kartonverbundverpackungen von Packmittelhersteller A *) bzw. Packmittelhersteller B **)

Die Konzentrationen an Sauerstoff in den unterschiedlichen Kartonverbundverpackungen bewegen sich in einem Bereich von 0,8 bis 5,4 mg/l und spiegeln etwa die Streubreite wider, die in bereits vorangegangen Untersuchungen [1, 2] gefunden wurde. Deutlich ist der Unterschied verschiedener Verpackungshersteller zu sehen. Milch im Kartonverbund A hat im Mittel weniger Gelöstsauerstoff (0,8 - 3,5 mg/l) als Milch im Kartonverbund B (4,1 - 5,4 mg/l). Der Grund liegt in der unterschiedlichen technologischen Vorbehandlung der Milch und den unterschiedlichen Abpackverfahren. Da Sauerstoff bereits in geringeren Mengen bei Belichtung von Milch zu Ausbildung von Fehlaromen führen kann, wären die bisher gefunden Sauerstoffmengen für ein Abpacken von Milch in lichtdurchlässigen Verpackungen durchgängig zu hoch.

Der Lichteinfluss auf die Kinetik des Sauerstoffverbrauchs unter Handelsbeleuchtungen wurde wie folgt untersucht. In Sauerstoffmesszellen (siehe Abb. 3) wurde UHT-Milch mit unterschiedlichen Fettgehalten (0,3; 1,5 und 3,5 %) gefüllt und gasdicht verschlossen. Zusätzlich wurde eine UHT-Schlagsahne (Fettgehalt 30 %) untersucht. Die Proben wurden sowohl unter typischen Handelsbeleuchtungen (Leuchtstofflampen, Beleuchtungsstärke 2000 Lx) als auch dunkel gelagert. Die Sauerstoffaufnahme der Produkte wurde über die Abnahme des Kopfraumsauerstoffgehaltes ermittelt. Der Kopfraumsauerstoffgehalt wurde mittels einer Clarkelektrode bestimmt.

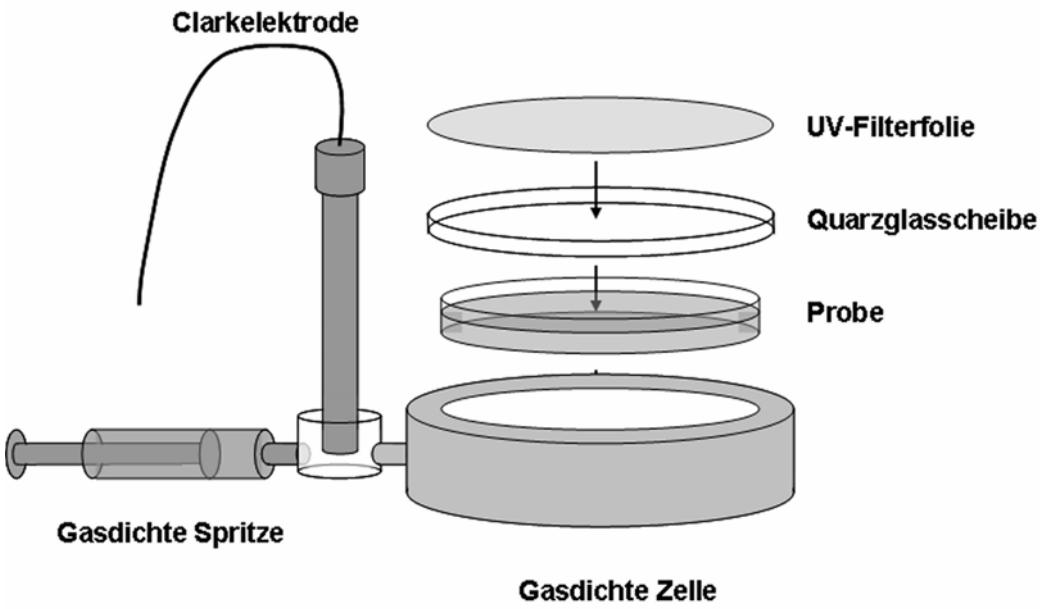


Abb. 3: Schematische Darstellung einer Sauerstoffmesszelle zur Bestimmung der Oxidationskinetiken von Milch und Milchprodukten

Die Versuche wurden unter synthetischer Luft mit einer Anfangssauerstoffkonzentration von 20 % durchgeführt. Durch regelmäßiges Spülen der Messzelle mit synthetischer Luft wurde sichergestellt, dass keine Limitierung des verfügbaren Sauerstoffes die Kinetiken verfälschen konnte. Die Messergebnisse der Sauerstoffaufnahme der verschiedenen Arten von UHT-Milch sind in Abb. 4 dargestellt.

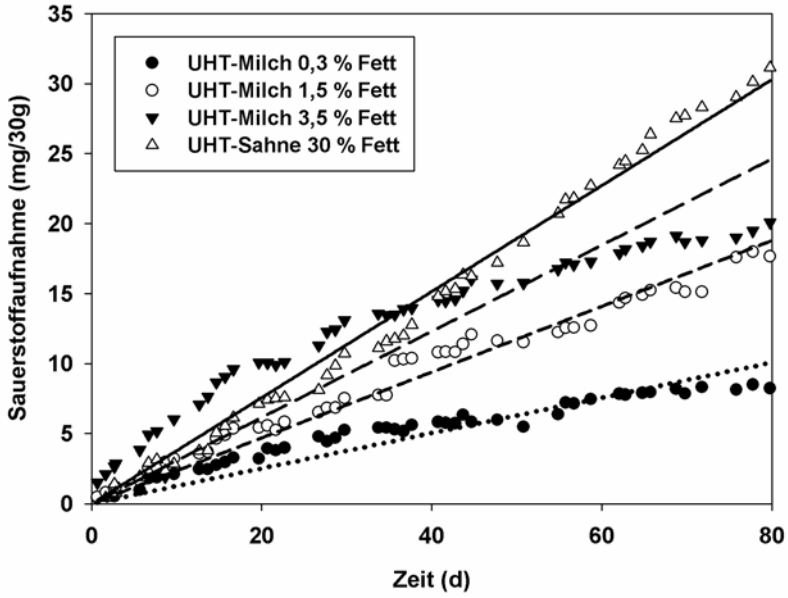


Abb. 4: Sauerstoffaufnahme von UHT-Milch mit unterschiedlichen Fettgehalten (0,3 %, 1,5 % und 3,5 % Fett) bzw. H-Schlagsahne (30 % Fett) unter Belichtung während der Lagerung (Leuchtstoffröhren, 2000 lx, 20 °C)

Fast alle Milchproben zeigten die für sensibilisierte Oxidationsreaktion typische lineare Oxidationskinetik unter Licht. Deutlich zeigte sich eine Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme vom Fettgehalt. Allerdings tritt bei der UHT-Milch mit einem Fettgehalt von 3,5 % eine Abweichung der Kinetik von einem linearen Verhalten auf. Es ist zu vermuten, dass die Ursache hierfür eine Diffusionslimitierung des für die Fettoxidation im Probenvolumen verfügbaren Sauerstoffs ist.

Bei gegeben hohen Sauerstoffkonzentrationen bildeten sich in der belichteten Milch bzw. Sahne vor allem Abbauprodukte aus der Fettoxidation. Diese ließen sich gaschromatographisch nachweisen. Ein Lichtgeschmack kann auch bei geringen Sauerstoffkonzentrationen gebildet werden, wird aber bei höheren Sauerstoffkonzentrationen durch ein ranziges Aroma aus der Fettoxidation überdeckt [1, 2]. Ein ähnliches Ergebnis erhält man auch bei unterschiedlichen Fettgehalten in der Milch: Bei niedrigen Fettgehalten wird der Lichtgeschmack deutlicher wahrgenommen, bei höheren Fettgehalten findet sich vor allem eine oxidative Note in der Sensorik der belichteten Milchproben.

Der Einfluss von Licht auf den Riboflavingehalt in Milch wurde ebenfalls untersucht. UHT-Milch mit unterschiedlichen Fettstufen wurde keimarm in transparente Glasflaschen (200 ml) umgefüllt. Diese wurden verschlossen, wobei der gesamte O_2-Gehalt auf 2 mg/l eingestellt wurde, und unter Leuchtstoffröhren bei einer Beleuchtungsstärke von 2000 lx gelagert. Von den Proben wurde in definierten Zeitabständen mittels HPLC der Riboflavingehalt bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 5 dargestellt.

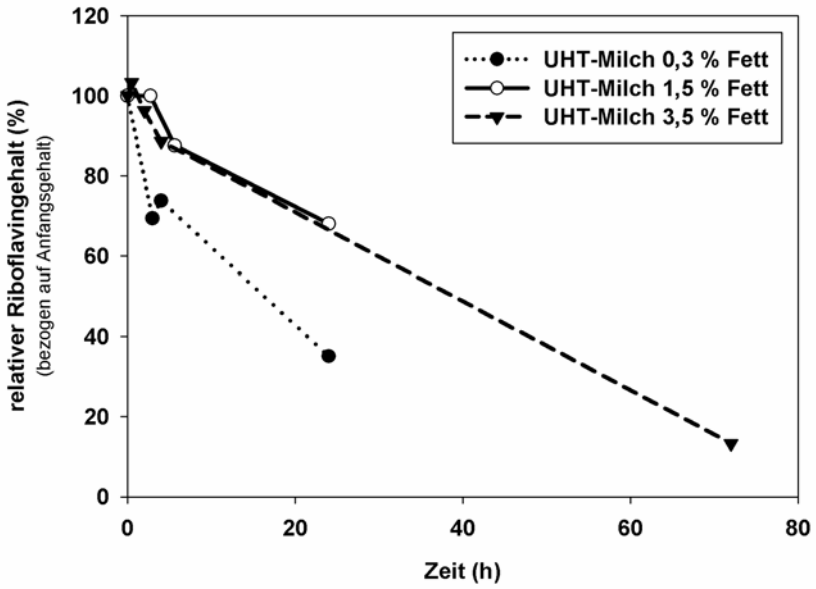


Abb. 5: Abnahme der relativen Riboflavingehalte (bezogen auf die Anfangsgehalte) von UHT-Milch mit unterschiedlichen Fettstufen während der Belichtung (Leuchtstofflampen 2000 lx, 20 °C)

Riboflavin wird somit während der Lagerung unter Licht in Milch schnell abgebaut. Es zeigte sich zusätzlich, dass Riboflavin in sehr fettarmer Milch (0,3 %) sensibler auf Licht reagiert als in Milch mit moderaten Fettgehalten (1,5 und 3,5 % Fett).

Schlussfolgerungen

Milch ist ein sehr lichtsensibles Lebensmittel, das einerseits zur Bildung eines speziellen Lichtgeschmacks durch die Oxidation von Methionin neigt, andererseits aber auch zur Bildung von Fettoxidationsprodukten. Bei steigenden Fettgehalten und steigenden Sauerstoffgehalten in der Milch verschieben sich die Schadreaktionen zur Fettoxidation. Der Lichtgeschmack mit dem typischen „kohlartigen“ Aromaeindruck tritt dann zurück und es entsteht mehr eine oxidative, ranzige Note.

Von den wertgebenden Bestandteilen leidet weiterhin äußerst stark das Riboflavin unter einer kombinierten Einwirkung von Licht und Sauerstoff und zwar innerhalb von Zeiten, die für die Bildung von Fettoxidationsprodukten noch gar nicht relevant sind.

Für die Verpackung von Milch und Milchprodukten kann man somit auf eine ausreichende Lichtschutzwirkung nicht verzichten. Zusätzlich wirken sich niedrige Sauerstoffgehalte positiv auf den Qualitätserhalt verpackter Milch aus.

Literatur:

(1) K. Rieblinger, D. Sandmeier: Untersuchungen zum Einfluss von gelöstem Sauerstoff auf die sensorische Qualität von Frisch- und UHT-Milch. Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan 2007, ISSN 1613-7167, S. 170-172

(2) W. Danzl, K. Rieblinger: Lichteinfluss auf verpackte Milch. Deutsche Molkerei Zeitung 2009, 3, S. 29-31

Das Projekt wurde dankenswerterweise finanziell unterstützt von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V.

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

Geschäftsführung:
Nadja Siegert, Michael Betz, Wolfgang Kühnl
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3534 -5317 -3855
Telefax: 08161-71-4384
Email: gf@verband-weihenstephan.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Verbandsinformation 2008 (Stand 31.12.2008)

Mitglieder insgesamt: 1357 (Vorjahr: 1.336)

Mitgliedsbeitrag: 20,00 Euro

Versammlungen: Vorstandssitzung am 13.03.2008
Vorstandssitzung am 24.09.2008
Mitgliederversammlung am 25.09.2008

Geförderte Exkursionen

13.05.-16.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 34 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Vorarlberg, Liechtenstein, St. Gallen.

13.05.-16.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Maschinen- und Apparatekunde (Prof. Dr. Karl Sommer) der TUM mit 37 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in der Schweiz.

02.06.-05.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 21 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Niederbayern und Schwaben.

27.10.-30.10. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 31 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Österreich.

Ehrungen anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung

Preis für „herausragende wissenschaftliche Arbeiten“

Erstmalig wurde in diesem Jahr zusätzlich zum Preis „herausragender Diplom-/Masterarbeiten“ ein Preis für die beste Bachelorarbeit und die beste Doktorarbeit verliehen.

Der mit 500 € dotierte Preis für die beste Bachelorarbeit ging in diesem Jahr an **Frau B. Sc. Julia Hörmann** aus Fürstenfeldbruck und wurde am Hochschultag verliehen. Frau Hörmann verfasste Ihre Bachelorarbeit zum Thema: Validierung einer Methode zur Bestimmung von Fructan mittels HPAEC/PAD.

Der zum 13. Mal in Folge ausgeschriebene Preis des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. für die beste Diplom-/Masterarbeit, der mit 1000 € dotiert ist, wurde anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung am 25. September 2008 **Frau M. Sc. Elena Leeb** aus Ingolstadt verliehen.

In ihrer Arbeit beschäftigte sie sich mit Untersuchungen zur Säurestabilität mikroverkapselter probiotischer Keime.

Der erstmalig vergebende Preis der besten Doktorarbeit (2000 €) erhielt **Herr Dr.-Ing. Alexander Tolkach**. Er schloss im Januar 2008 seine Dissertation mit dem Titel: Thermisches Denaturierungsverhalten von Molkenproteinfraktionen am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie mit summa cum laude ab.

Der Verband gratuliert allen Preisträgern sehr herzlich und freut sich auch zukünftig über Studenten und Wissenschaftler die sich in der Lebensmittelforschung in Weihenstephan engagieren.

Ehrung langjähriger Verbandsmitglieder

Neben den studentischen Preisträgern werden bereits seit vielen Jahren langjährige Mitglieder des Verbandes anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung geehrt.

In diesem Jahr konnte Herrn Josef Betz, Freising; Herrn Heinrich Gärtner, Altenerding; Herrn Helmut Müller, Bad Aibling und Herrn Johann Bauer zu ihrer 40jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Professor Rehmann überreichte den anwesenden Jubilaren einen Krug mit der Aufschrift: „Zur Erinnerung an Weihenstephan“.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-/Bachelorarbeiten, Diplom-/Masterarbeiten, sowie Doktorarbeiten von Verbandsmitgliedern

Präambel

Der Verein Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1300 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für herausragende Studien- / Forschungsleistungen die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Semester- oder Bachelorarbeit: 500 €
- Diplom- oder Masterarbeit: 1000 €
- Doktorarbeit: 2000 €

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

- Der/die Ausgezeichnete muss Mitglied beim Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. sein.
- Es muss sich um eine herausragende Arbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtnote handeln.
- Die Arbeit muss aus dem Themenbereich der Lebensmittelforschung kommen.

Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular bei der Geschäftsstelle des Verbands der Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. zu folgenden Daten eingereicht:

- Semester- oder Bachelorarbeit: bis 30. April
- Diplom- oder Masterarbeit: bis 30. Juni
- Doktorarbeit: bis 30. Juni

Die Arbeit darf als ältestes Datum (Abgabetermin beim Lehrstuhl) den 30. April/Juni des Vorjahres tragen. Der Preis für Semester- / Bachelorarbeit wird zum Weihenstephaner Hochschultag verliehen. Die Preise für Diplom- Master und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Vorstand des Verbands ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der TUM und der Fachhochschule Weihenstephans. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidaten den Bedingungen dieser Verleihungsrichtlinien entsprechen, prüft die eingereichten Unterlagen und benennt die Preisträger. Sie ist berechtigt, sich Beurteilungen von dritter Seite zu beschaffen und Kandidaten zur persönlichen Beurteilung einzuladen. Die Entscheidung der Jury ist unanfechtbar. Ein Rechtsanspruch auf Zuerkennung eines Preises besteht nicht.

Antragsformulare können beim Geschäftsführer des Verbands angefordert werden.

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

Adresse

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik – WZW
Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising

Telefon: 08161-71-4205
Telefax: 08161-71-4384

Vorstand

1. Vorsitzender	Prof. Dr. Jakob Stöckl
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Hans Schraml
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Timo Winkelmann
Geschäftsführer	Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik

Zweck und Ziele der Fördervereinigung

Die Fördervereinigung wird getragen von ca. 70 Mitgliedsunternehmen aus der Milch- und Lebensmittelindustrie. Die Vereinigung hat die Aufgabe, insbesondere die milchwissenschaftliche Forschung an der TU München in ihrer ganzen Breite zur Fortentwicklung der gesamten Milch- und Lebensmittelwirtschaft zu fördern. Die Vereinigung verfolgt ausschließlich und unmittelbar gemeinnützige Zwecke im Sinne des Abschnitts steuerbegünstigte Zwecke der Abgabenordnung. Sie sucht dies zu erreichen durch:

- Bereitstellung von Mitteln für Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, insbesondere der milchwissenschaftlichen Forschung,
- Förderung des Nachwuchses durch Stipendien,
- ständigen Gedanken- und Erfahrungsaustausch mit der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, den land- und milchwirtschaftlichen Organisationen, wissenschaftlichen Gesellschaften, Anstalten und Instituten des In- und Auslandes, durch Tagungen und Vorträge.

Unterstützt werden die am Campus Weihenstephan milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen in Form von Mitteln für neue Forschungsgebiete entweder direkt milchbezogen oder auch auf die Lebensmitteltechnologie allgemein bzw. für spezifische Ausstattungen. Oftmals werden dadurch Vorarbeiten initiierbar, die später zu öffentlich geförderten, vorwettbewerblich durchgeführten Gemeinschaftsforschungsprojekten führen, so dass die bereit gestellten Mittel mehrfach multipliziert werden. Die Vergabe der Forschungsmittel bzw. die Auswahl der beantragten Vorhaben nimmt der Vorstand vor, wobei ein aus dem Mitgliederkreis gewähltes Kuratorium mit 12 Industrievertretern den Vorstand berät. Die Kuratoriumsmitglieder haben eine Amtszeit von 3 Jahren.

Die Mitgliedsunternehmen ermöglichen mit ihren nach der Unternehmensgröße (Umsatz) gestaffelten Beiträgen eine substratspezifische Forschung in allen relevanten Disziplinen (Physiologie, Mikrobiologie und Produktsicherheit, Analytik, Technologie und technische Innovation, Betriebswirtschaft und Biofunktionalität), die sich vorrangig mit zukunftsgerichteten Fragestellungen in der Milch- bzw. Lebensmittelwissenschaft befassen kann, die ohne diese Förderung nicht zustande kommen könnten. Insofern übernimmt die Branche hiermit ein hohes Maß an Verantwortung und Engagement in Bezug auf eine stetige Innovation einer Branche, die seit jeher eine Leitfunktion für die gesamte Lebensmittelbranche übernimmt.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

- **„Analyse der Mikroflora von Rohmilch im jahreszeitlichen Verlauf“**
  Abteilung Mikrobiologie
- **„Anforderungen an die Verpackung zum Qualitätserhalt von UHT-Milch“**
  Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
- **„Fraktionierung von bioaktiven Fettkugel-Membran-Bestandteilen“**
  Abteilung Technologie
- **„Design, Produktion, Fraktionierung, Identifizierung und Bioaktivität von Enzymhydrolysaten aus nativen und modifizierten Molkenproteinen“**
  Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnologie
- **„Verwendung von somatischen Zellen der Milch als Indikatoren der Gravidität“**
  Abteilung Physiologie
- **„Cholesterol in the milk: Comparative quantification of candidate genes for cholesterol transfer in *Bos taurus* (cow) and *Bubalis bubalis* (buffalo)“**
  Abteilung Physiologie

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die öffentlich durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) geförderten Forschungsprojekte im Rahmen der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“, die über den Arbeitskreis für industrielle Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) ausgeschrieben werden. An derartigen Vorhaben beteiligen sich Mitglieder der Fördervereinigung unter Einsatz von Mitgliedsbeiträgen regelmäßig, so dass eine enge Anbindung der Wissenschaft an industrierelevante Fragestellungen gewährleistet ist.

Beitragsordnung

1. Unternehmen		
Mindestbeitrag	500,00 €	bis 10 Mio. € Umsatz
	1.000,00 €	über 10 - 50 Mio. € Umsatz
	2.500,00 €	über 50 - 125 Mio. € Umsatz
	3.750,00 €	über 125 - 250 Mio. € Umsatz
	5.000,00 €	über 250 Mio. € Umsatz
2. Einzelmitglieder		
Mindestbeitrag	100,00 €	

Informationstransfer - Mitgliederinformation

Ein wichtiges Hilfsmittel zum Informationsaustausch ist der **"Wissenschaftliche Jahresbericht",** der mit Unterstützung der Vereinigung zusammengestellt wird. Neben diesem Bericht sind auch regelmäßige Rundschreiben ein wesentlicher Beitrag zur Informationspolitik der Vereinigung.

Außerdem wurde in den letzten Jahren eine **Informationsveranstaltung „Weihenstephan von innen – die milchwissenschaftlich forschenden Institute stellen sich vor“** durchgeführt, um die Mitglieder oder interessierte Unternehmen über die Aktivitäten und Möglichkeiten zur Nutzung der Einrichtungen in Weihenstephan zu informieren. An diesem Konzept zur Interaktion mit den Mitgliedern soll weiterhin festgehalten werden.

Ferner führt die Fördervereinigung gemeinsam mit dem `Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V.´ die „**Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung“** durch, die sich als Branchentreffpunkt mit ca. 230-250 Teilnehmern einen festen Platz im Austausch zwischen Forschung und Industrie erarbeitet hat, jedoch Wert auf branchenübergreifende Beiträge legt.

Im Rahmen von spezifischen Aktivitäten werden regelmäßig **Transferseminare** für Technologie- bzw. Wissensübertragung angeboten, zu denen die Mitglieder und Interessierte gesondert eingeladen werden. Die Institute bieten jederzeit **Beratung** auch für unternehmensspezifische Fragestellungen (Technologie- bzw. Investitionsentscheidungen, Produktions- und Absatzoptimierung, Krisenmanagement) an.

Ferner steht die Fördervereinigung in engem Kontakt mit Industrieverbänden wie dem Milchindustrie-Verband (MIV) und dem Verband Deutscher Maschinen- und Anlagenbau e.V. (VDMA), die als Multiplikatoren wirken und Forschungsergebnisse in ihre jeweiligen Netzwerke hineintragen.

Interessierte Neumitglieder können das nachstehend abgedruckte Beitrittsformular verwenden.

Vereinigung zur Förderung der
Milchwissenschaftlichen Forschung
an der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan e.V.

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik - WZW
85354 Freising, Weihenstephaner Berg 1
Telefon: 0 81 61 / 71 42 05
Telefax: 0 81 61 / 71 43 84
Bankverbindung: Sparkasse Freising
Konto 171 876 - BLZ 700 510 03

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

Ich (wir) erkläre(n) meinen (unseren) Beitritt zur Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. ab ..... und werde(n) gemäß Satzung/Beitragsordnung einen jährlichen Förderungsbeitrag von € .....……..... leisten. Die Bedingungen der Mitgliedschaft sind mir (uns) aus den mir (uns) übermittelten Satzungen der Vereinigung bekannt.

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ....….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

Der technische Teil des wissenschaftlichen Jahresberichtes will den Leserkreis auch in diesem Jahr über Neuigkeiten in der milchwirtschaftlichen Technologie informieren und auf neue Produkte und Angebote von Milch verarbeitenden Unternehmen hinweisen. Die Herausgeber danken den im Folgenden aufgeführten Firmen, die zu diesem Zweck eine Anzeige zur Verfügung gestellt haben und den Druck des Jahresberichtes unterstützten.

Verzeichnis der Fachfirmen

		Seite
1.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	165
2.	Bayernland eG, Nürnberg	161
3.	J. Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	170
4.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	166
5.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	171
6.	frischli Milchwerke GmbH, Rehburg-Loccum	170
7.	GKC Dr. Öttl & Partner GmbH, Eching/Kronwinkl, Ndb.	173
8.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	164
9.	GQM mbH, Landshut	169
10.	Hofmeister Champignon Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	169
11.	Hochland AG, Heimenkirch	160
12.	Humana Milchunion eG, Everswinkel	161
13.	Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft e.V., München	172
14.	Milchwerke Schwaben eG, Ulm	160
15.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	167
16.	Molkerei Meggle GmbH, Wasserburg a. Inn	167
17.	Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	159
18.	Nordmilch AG, Bremen	168
19.	TÜV SÜD Management Service GmbH, München	163
20.	Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen	162
21.	Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	164