TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München

Jahresbericht 2010

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2010
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 2010 bis 31. Dezember 2010

53. Band 2010
Weihenstephan, März 2011

IMPRESSUM

Herausgeber:

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.
Geschäftsführung, Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising

Fax: 08161-71 -4384
Tel: 08161-71 -2507
wmbl@wzw.tum.de
www.verband-weihenstephan.de

Verantwortlich für den Inhalt:

Univ.-Prof. Dr. Dr. Heinrich H.D. Meyer, Univ.-Prof. Dr.-Ing. U. Kulozik, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer, Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier, Univ.-Prof. Dr. Jutta Roosen, Univ.-Prof. Dr. H.C. Langowski

Der Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung am „Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL)“ und am „Wissenschafts-zentrum Weihenstephan (WZW)“ 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 zu Händen der Geschäftsführung erbeten.

Printed in Germany, 2011

ISBN 978-3-939182-34-4

© Alle Rechte dieses urheberrechtlich geschützten Werkes, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, bleiben vorbehalten. Es ist ohne ausdrückliche Genehmigung des Herausgebers nicht gestattet, dieses Buch oder Teile daraus in irgendeiner Form zu vervielfältigen. Unter dieses Verbot fällt insbesondere die Aufnahme in elektronische Datenbanken und die Vervielfältigung auf CD-ROM.

Inhaltsverzeichnis

Seite

Vorwort 1

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie 2
Personal 2
Ernennungen, Ehrungen 3
Forschung 4
I. Laktationsphysiologie 5
II. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt 8
III. Reproduktionsbiologie 12
IV. Wachstumsphysiologie, myotrope Therapeutika und Anabolika 17
V. Wildtierbiologie 19
VI. Bioanalytik 19
Dissertationen, Diplomarbeiten, Master- und Bachelorarbeiten 24
Vorträge 26
Tagungen des Lehrstuhls 30
Veröffentlichungen 30

Versuchsstation Veitshof 34
Personal 34
Lehre 35
Forschung 35

ZIEL – Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft 36
Personal 36
Forschung 36
Vorträge 42
Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen 43
Medienarbeit 43
Veröffentlichungen 43

Seite

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung ... 44
Personal ... 44
Einführung ... 44
Forschung ... 45
Master- und Bachelorarbeiten ... 45
Veröffentlichungen ... 46
Vorträge ... 48

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie ... 50
Personal ... 50
Einführung ... 51
Forschung ... 51
Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Betrieben ... 51
Arbeitsgruppe: Molekulare Ökologie von *Listeria monocytogenes* ... 58
Arbeitsgruppe: Regulation überlappender Gene von pathogenen *Escherichia coli* durch Umweltsignale & Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmittel ... 61
Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen ... 65
Bacillus cereus und aerobe Sporenbildner ... 71
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten ... 76
Veröffentlichungen ... 78

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie ... 80
Personal ... 80
Vorwort ... 81
Auszeichnungen ... 82
Forschung ... 82
Arbeitsgruppe: Bioprozesstechnik / Aseptik ... 82
Arbeitsgruppe: Mikrostrukturaufklärung und -gestaltung ... 96
Arbeitsgruppe: Proteintechnologie ... 99
Arbeitsgruppe: Membrantechnologie ... 110
ZIEL-Nachwuchsforschergruppe „Bioaktive Peptide und Proteintechnologie“ ... 121
Dissertationen, Bachelorarbeiten, Diplom- und Masterarbeiten ... 126
Vorträge ... 129
Posterpräsentationen ... 133
Veröffentlichungen ... 134
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen ... 136
Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien ... 137
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen ... 138

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung – IVV 139
Personal 139
Forschung 139

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 146
Struktur des Verbandes 146
Zielsetzungen des Verbandes 147
Versammlungen und geförderte Exkursionen 147
Ehrungen 148
Verleihungsrichtlinien 150

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 151
Vorstand 151
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 151
Beitragsordnung 152
Informationstransfer – Mitgliederinformation 153

Technischer Teil 155

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 (bis 30.06.2010)	-3510
	Dr. vet. med. Heike Kliem	08161 986 8442
	PD Dr. agr. Michael W. Pfaffl	-3511
	Dr. Irmgard Riedmaier	5520
	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. Stefanie Schilffarth (bis 15.07.2010)	08161 986 8442
	Dr. vet. med. Steffi Wiedemann (bis 31.03.2010)	08161 986 8470
	Dr. med. Enrique Viturro del Rio	08161 984 9998
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Renate Schöpf (bis 31.05.2010)	-5549
	Daniela Königsdorf (seit 15.05.2010)	-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Inge Celler, TA	-5559
	Brigitte Dötterböck, TA	-5544
	Stefanie Dommel, TA	-4422
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	-4422
	Angela Sachsenhauser, TA	-5559
	Waltraud Schmid, TA	-5544
		-4421

Gäste:

Dr. Tsuyoshi Abe, Div. 3 Molecular Genetics, Department of Technology, National Livestock Breeding Center (NLBC), Fukushima, Japan: seit 15.10.2009

Dr. Ashok Kumar Mohanty, Animal Biotechnology Centre, National Dairy Research Institute, Karnal, Indien: 21.04.2010 - 14.05.2010

Frederik Hult Jakobsen, UMB 1430 AS, Herumsveien 21 A, 1432 AS, Norwegen, 05.07.2010 – 31.08.2010

Dr. Ajay Dang, DCP Division, National Dairy research Institute, Karnal-132001, Haryana, Indien, 05.10.2010 – 02.11.2010

Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus Aracatuba, Curso de Medicina Veterinária Departamento de Apoio, Producao e Saude Animal, Rua Clovis Pestana, 793 – B. Dona Amélia, CEP 16050-680 – Aracatuba, Sao Paulo, Brasilien, 30.11.2010 – 01.02.2011

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Diplom-Agrar-Ingenieure: Katrin Danowski (seit 01.08.2008); Gregor Schlamberger (bis 28.02.2010); Tanja Sigl (seit 01.10.2008)

M.Sc. Agrarwissenschaft: Diana Sorg (seit 01.04.2009)

Tierärzte: Christian Altenhofer (seit 06.12.2010); Katharina Dolle (seit 01.04.2009); Ursula Köhler (seit 01.05.2008); Sonja Spiegler (seit 01.09.2007)

Diplom-Biologen: Anna Gröbner (seit 01.08.2007); Helga Gruber (seit 01.02.2008); Jakob Müller (seit 16.01.2008)

Ernährungswissenschaft: Christiane Becker (seit 01.06.2007); Veronika Pistek (seit 01.03.2010)

Master Chemie-Ingenieur: Andréa Hammerle-Fickinger (bis 28.02.2010)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie: Rainer Fürst (seit 01.06.2007); Sabine Masanetz (bis 28.02.2010); Swanhild Urde Meyer (seit 01.02.2008); Michael Wierer (seit 01.09.2006)

Ehrungen, Ernennungen

Frau Dr. med. vet. Steffi Wiedemann hat im Januar 2010 von der Universität Kiel einen Ruf für eine Juniorprofessur für Tiergesundheit erhalten. Sie ist an der neuen Wirkungsstelle seit 01. April 2010 tätig.

Die Zeitschrift Laborjournal führt regelmäßig Zitationsvergleiche im Bereich der Lebenswissenschaften durch http://www.laborjournal.de/rubric/ranking/index.lasso. Die letzte Erhebung erfolgte für den Bereich Physiologie http://www.laborjournal.de/rubric/ranking/R09_11/start.lasso. Nachdem beim Zitationsvergleich der Arbeiten von 2000 bis 2002 eine Publikation von Herrn Dr. Michael Pfaffl auf Platz 4 rangierte, wurde beim Zitationsvergleich der Arbeiten von 2003 bis 2006 erneut eine Publikation von Herrn Pfaffl auf Position 5 der "meist zitierten Artikel" platziert. Michael Pfaffl avanciert damit auf Position 22 der "meist zitierten Köpfe" der Physiologen des deutschsprachigen Raumes.

Herrn Michael Pfaffl gratulieren wir zu diesem herausragenden Erfolg und freuen uns natürlich sehr, dass unser Lehrstuhl wieder dabei ist.

Herr Dr. Michael W. Pfaffl fungierte im Jahr 2010 bei der Zeitschrift METHODS in der 4. Ausgabe von Vol. 50 als Guest Editor. Das Thema dieses Heftes ist „The ongoing Evolution of qPCR".

Herrn Dr. Patrick Gürtler wurde am 17. November der DMK-Förderpreis (Geldpreis sowie Urkunde) für 2010 verliehen für seine Arbeit zu „Long-term feeding of genetically modified maize (MON 810) – Metabolism of recombinant DA and the novel protein in the dairy cow".

Frau Dr. Riedmaier erhielt für ihre Doktorarbeit mit dem Thema „Development of mRNApatterns for screening of anabolic agents in bovine and primate tissues" am 29. November 2010 den Nachwuchspreis der Johannes B. Ortner-Stiftung für herausragende Nachwuchswissenschaftler.

Prof. Heinrich H.D. Meyer wurde in drei Gremien der International Dairy Federation IDF berufen:

-IDF Standing Committee on Farm Management (SC FM)
-IDF Standing Committee on Animal Health (SC AH)
-IDF Standing Committee on Residues and Chemical Contaminants (SC RCC)

Verleihung der Ortner-Preise (v.l.n.r.): Melanie Hammer, Christoph Michalski, Waschma Sahin, TUM-Präsident Wolfgang A. Herrmann, Mingdong Zhou, Stifter Johannes B. Ortner, Kilian Langenbach, Irmgard Riedmaier, Prof. Arnulf Melzer
vom TUM-Fundraising-Team, Barbara Roder

Seminar Tierwissenschaft

Endokrinologisch-Molekularbiologisches Kolloquium

Folgende Vorträge wurden von Gastreferenten übernommen:

20.01.2010: „Metabolische Effekte von beta-Ecdyson"
Referent: Prof. Dr. Wolfgang Wuttke, Leiter der Abt. Klinische und Experimentelle Endokrinologie, Medizinische Fakultät Universität, Göttingen

21.04.2010: „Next Generation Sequencing – Das SOLiD System - Technologie und Applikationen – RNA Sequencing - miRNA - SAGE - andere Applikationen"
Referent: Dr. Thomas Rygus, Applied Biosystems, Darmstadt

26.04.2010: „MicroRNA Seminar"
Referentin: Dr. Hazel Pineiro, Exiqon, Vedbaek, Dänemark

01.05.2010: „Performance and metabolic parameters of high-yielding dairy cows during early lactation and during energy restriction and realimentation at 100 DIM"
Referent: Josef Groß, Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

12.05.2010: „Application of proteomics and related techniques for discovery of biomarkers influencing lactation and health in farm animals"
Referent: Dr. Ashoka Kumar Mohanty, Animal Biotechnology Centre, National Dairy Research Institute, Karnal, Indien

23.06.2010: „Ovarian endothelin in the network to control reproduction and cancer"
Referent: Prof. Dr. Rina Meidan, The Hebrew University of Jerusalem, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural, Food and Environmental Quality Sciences, Rehovot, Israel

01.12.2010: „Pig epigenetics"
Referentin: Prof. Dr. Ruqian Zhao, Director of Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Nanjing Agricultural University, China

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Analyse des Metaboloms von Milchkühen in der Früh- und Spätlaktation basierend auf Kernspinresonanzspektroskopie und Massenspektrometrie

Nuclear magnetic resonance and mass spectrometry-based milk metabolomics in dairy cows during early and late lactation

Klein, M.S.[1]; Almstetter, M.F.[1]; Schlamberger, G.; Nürnberger, N.[1]; Dettmer, K.[1]; Oefner, P.J.[1]; Meyer, H.H.D.; Wiedemann, S.; Gronwald, W.[2]: Journal of Dairy Science 93 (2010) 1539-1550

In dieser Studie wurde eine Reihe von Metaboliten in der Milch von Kühen in der Frühlaktation und solchen in der Spätlaktation gemessen. Es wurden solche Metaboliten betrachtet, die im Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel stehen. Dabei war das Ziel der Studie zu prüfen, ob es Korrelationen gibt zwischen der metabolischen Situation der Kuh und einzelnen Metaboliten in der Milch. Diese Metaboliten sollten ihrer Aussagekraft entsprechend identifiziert werden. Die Proben stammten von Tieren der Rasse Brown Swiss (9200 kg, n = 58) und der Rasse Fleckvieh (8300 kg, n = 48). Von jeder Rasse standen Proben aus der Frühlaktation, der Mitte der Laktation und der Spätlaktation zur Verfügung. Mittels Kernspinresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance spectroscopy NMR) und Gas-Chromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (gas chromatography-mass spectrometry GC-MS) konnten 44 Metaboliten in der Milch erfasst werden. Die Ergebnisse zeigen für verschiedene Biomarker des Energiestoffwechsels wie Aceton und β-Hydroxybutyrat eine deutliche Korrelation zum Stoffwechselstatus der Kühe ($r = 0,69$, $P < 0,05$), besonders in der Frühlaktation.

[1] Institute of Functional Genomics, University of Regensburg
[2] Institut für Biophysik und physiologische Biochemie der Universität Regensburg

Die Korrelationen zwischen der α-amino-Buttersäure (bekannt auch beim Menschen im Hungerzustand) und Glycin wurden hier besonders bei den Tieren mit der sehr hohen Milchleistung gefunden ($r = 0,66$, $P < 0,05$).

Effekte kontinuierlichen Melkens während der Trockenphase oder des einmal täglichen Melkens in den ersten 4 Wochen der Laktation auf den Metabolismus und die Produktivität von Milchkühen

Effects of continuous milking during the dry period or once daily milking in the first 4 weeks of lactation on metabolism and productivity or dairy cows

Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Viturro, E.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.[3]: Journal of Dairy Science 93 (2010) 2471-2485

Ziel dieser Arbeit war, die Effekte von drei Melkregimen auf das metabolische Profil sowie auf die Milchproduktion zu vergleichen. 32 Braunviehkühe wurden aleatorisch den Behandlungsgruppen (n = 12 Kühe / Gruppe) zugeteilt: 1. Kontrollgruppe (C), mit 56 Tagen Trockenphase vor der Kalbung und zweimal täglichem Melken während der Laktation; 2. ODM-Gruppe, in der die Kühe nur einmal täglich in den ersten 4 Wochen der Laktation gemolken wurden; und 3. die CM-Gruppe, in der die Kühe keine Trockenphase vor der Kalbung hatten. Die Blutglukosekonzentration sank zwischen Woche 1 und 4 ausschließlich in der Gruppe C. Serumkonzentrationen von NEFA und BHBA waren in den ersten 4 Wochen der Laktation im Vergleich mit der ODM- sowie der CM-Gruppe signifikant erhöht.

In Gruppe C war eine verminderte Rückenfettdicke während der frühen Laktation und eine Abnahme des Body Condition Scores deutlich stärker ausgeprägt als bei den Kühen der ODM- sowie der CM-Gruppe. Die Milchleistung war in der Kontrollgruppe (11.310 ± 601 kg/305 Tage) um 16% höher im Vergleich mit der ODM- (9,531 ± 477 kg/305 Tage) sowie der CM-Gruppe (9,447 ± 310 kg /305 Tage). Der Eiweißanteil war jedoch in der CM-Gruppe (3.91%) im Vergleich mit der Kontrollgruppe (3.52%) deutlich erhöht.

Eine schnelle Methode zur Analyse von Cholesterin in boviner Milch und Möglichkeiten ihrer Anwendung

Rapid method for cholesterol analysis in bovine milk and options for applications

Viturro, E.; Meyer, H.H.D.; Gissel, C.[4]; Kaske, M.[3]: Journal of Dairy Research 77 (2010) 85-89

Untersucht wurde die Anpassung einer kolorimetrischen Technik für die Analyse von Cholesterin in Rohmilch. Im Gegensatz zu chromatographischen Verfahren erlaubt diese Technik eine schnelle und günstige Messung dieses Metabolits in Milchproben, ohne die für wissenschaftliche Zwecke gewünschte Präzision zu verlieren. Ein Intra-Assay- und Inter-Assay-Variationskoeffizient (CV) von 4.8% und 9.1% wurden gemessen. Die Wiederfindung zugesetzten Cholesterins war auch befriedigend günstige Messung dieses Metabolits in Milchproben, ohne die für wissenschaftliche Zwecke gewünschte Präzision zu verlieren. Ein Intra-Assay- und Inter-Assay-Variationskoeffizient (CV) von 4.8% und 9.1% wurden gemessen. Die Wiederfindung zugesetzten Cholesterins war auch befriedigend (98.1 bis 106.3%). Allerdings muss die Milchfettextraktion innerhalb von 48 Stunden nach der Probenentnahme durchgeführt werden und die Variation von Fett sowie des Cholesterinwertes innerhalb des Melkens muss berücksichtigt werden.

---

[3] Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine, Hannover

[4] Gissel-Institut, Laboratory for Bacteriology and Food Hygiene, Hannover

Supplementierung der Ration von Milchkühen mit Pansen geschützten konjugierten Linolsäuren während der Spätträchtigkeit und Frühlaktation: Effekte auf Milchinhaltsstoffe, Milchmenge, Blutmetaboliten und die Genexpression in Lebergewebe

Rumen-protected conjugated linoleic acid supplementation to dairy cows in late pregnancy and early lactation: effects on milk composition, milk yield, blood metabolites and gene expression in liver

Sigl, T.; Schlamberger, G.; Kienberger, H.[5]; Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.[3]:
Acta Veterinaria Scandinavica 52 (2010) 16

Konjugierte Linolsäuren sind ungesättigte Fettsäuren mit 18 Kohlenstoffatomen, die mehrere Doppelbindungen zwischen den Kohlenstoffatomen der Kette haben. Das Ziel der Studie war es, die Effekte auf Milchinhaltsstoffe und metabolische Schlüsselparameter, durch die CLA-Ergänzung der Ration von Milchkühen in den ersten vier Laktationswochen, zu untersuchen.

An fünf erstkalbige Braunviehkühe wurde, beginnend zwei Wochen vor der erwarteten Kalbung, täglich 7,5 g CLA (50 % *c*9,*t*11- und 50 % *t*10,*c*12-CLA) und anschließend während der ersten vier Laktationswochen täglich jeweils 20 g CLA (50 % *c*9,*t*11- und 50 % *t*10,*c*12-CLA) verfüttert. Weitere fünf erstkalbige Braunviehkühe erhielten eine CLA freie Ration und dienten als Kontrollgruppe.

Das CLA-Supplement wurde von den Milchkühen nur unzureichend akzeptiert: nur etwa 61,5 % der vorgelegten Menge wurden von den Tieren aufgenommen. Die verfütterten CLA waren im Milchfett der Tiere, die die CLA supplementierte Ration erhielten, nachweisbar. Der Gehalt an *c*9,*t*11- und *t*10,*c*12-CLA im Milchfett war bei der CLA-Gruppe im Vergleich zu der Kontrollgruppe höher. Im Durchschnitt konnte während des kompletten Behandlungszeitraumes ein Abfall der gesättigten Fettsäuren sowie ein höherer Gehalt an einfach ungesättigten und *trans*-Fettsäuren im Milchfett der CLA supplementierten Kühe ermittelt werden.

In unserer Studie konnten keine signifikanten Ergebnisse durch die Verfütterung von *c*9,*t*11- und *t*10,*c*12-CLA auf die Milchmenge und die Milchinhaltsstoffe sowie auf metabolische Schlüsselparameter im Blut nachgewiesen werden. Außerdem waren durch die CLA-Supplementierung keine signifikanten Effekte auf die Genexpression von PPARα, PPARγ, SREBP-1 und TNFα im Lebergewebe erkennbar.

Die Verfütterung von *c*9,*t*11- und *t*10,*c*12-CLA in den ersten vier Wochen nach der Kalbung hatte keine Auswirkungen auf die metabolischen Schlüsselparameter im Blut und die Milchinhaltsstoffe der frischabkalbenden Kühe. Die Milchfettzusammensetzung veränderte sich hinsichtlich eines höheren Gehaltes an *c*9,*t*11- und *t*10,*c*12-CLA im Milchfett. Das vermehrte Vorkommen von langkettigen Fettsäuren im Milchfett der CLA supplementierten Kühe deutete darauf hin, dass die massive peripherale Lipomobilisation während der Frühlaktation durch die Verfütterung von CLA nicht beeinflusst war.

---

[5] Lehrstuhl für Tierzucht, Technische Universität München

II. Lebensmittel, Ernährung, Umwelt

Langzeitwirkungen von Mykophenolsäure auf die Expression von Immunglobulinen und Zytokinen in Schafen

Long-term effects of mycophenolic acid on the immunoglobulin and inflammatory marker-gene expression in sheep white blood cells

Dzidic, A.; Meyer H.H.D.; Bauer, J.[6]; Pfaffl, M.W.: Mycotox Res 26 (2010) 235-240

Mykophenolsäure (MPS) zeigt immunsuppresive Wirkungen und wird in der Humanmedizin bei Organtransplantationen eingesetzt. In der Landwirtschaft trifft man MPS oft als Nebenprodukt in schlechten Silagen an. Ziel der Studie war es, den Einfluss von MPS auf die Expression von Immunglobulinen (Igα, Igε, Igμ and Igγ2) und pro-inflammatorischen Zytokinen (TNFα, IL-1α, IL-1ß, IL-2 and IL-6) in Leukozyten (WBC) beim Schaf zu untersuchen. Es wurden 9 gesunde Schafe für 9 Wochen mit 300 mg MPS pro Tier und Tag behandelt und 9 unbehandelten Schafen gegenübergestellt. Mittels real-time qRT-PCR konnte die Expression von Immunglobulinen und inflammatorischen Markergenen exakt und zuverlässig quantifiziert werden. Es wurden keine Effekte von MPS auf die Höhe der Genexpression der Immunglobuline (Igα, Igε, Igμ and Igγ2) gefunden. Auch IL-2 and IL-6 zeigten ein konstantes Expressionsverhalten über die 9-wöchige Behandlung und wurden nicht durch MPS reguliert. TNFα zeigte eine signifikant erhöhte mRNA Expression nach einer Woche Behandlung, während IL-1α eine Abregulation nach 2 und 5 Wochen zeigte. Zusammenfassend ist zu sagen, dass hohe orale MPS Konzentrationen kaum immunmodulatorische Effekte auf die Expression von Immunglobulinen sowie Zytokinen in WBC aufweisen.

Einfluss von Probiotika und Inulin auf die Darmphysiologie von jungen Schweinen

Inulin and probiotics in newly weaned piglets: effects on intestinal morphology, mRNA expression levels of inflammatory marker genes and haematology

Mair, Ch.[7,8]; Plitzner, Ch.[7]; Pfaffl, M.W.; Schedle, K.[7]; Meyer, H.H.D.; Windisch, W.[8]: Archives of Animal Nutrition 64 (2010) 304-321

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Effekt von Inulin (Prebiotikum) und eines Probiotikums auf die zootechnische Leistung, Mikroflora, intestinale Morphologie sowie immunologische und hämatologische Parameter zu untersuchen. In einem Versuch wurden 48 Absetzferkel in vier Gruppen eingeteilt: Kontrolle, Inulin (4 g/kg Frischmasse), Probiotika (1x109 KBE/kg Frischmasse, bestehend aus Enterokokken, Lactobacillen und Bifidobakterien) sowie Synbiotika (Kombination aus Inulin und Probiotika). Die zootechnischen Leistungen der Ferkel wurden in einem 28-tägigen ad libitum Fütterungsversuch mit konventionellem Trockenfutter erhoben. In gewonnenen Chymusproben wurden die Mengen ausgewählter Bakteriengruppen sowie der Gehalt an Milchsäure, kurzkettigen Fettsäuren und Ammoniak bestimmt. Des Weiteren wurden morphologische Untersuchungen der GIT Gewebeproben durchgeführt und die Zotten sowie Krypten vermessen. Zusätzlich wurde eine mRNA Expressionsanalyse von Markern des Zellzyklus sowie von Transkriptions- und Entzündungsfaktoren in ausgewählten Geweben und im Blut durchgeführt. Inulin und Probiotika hatten keinen signifikanten Einfluss auf die zootechnische Leistung über die gesamte Versuchsperiode.

---

[6] Lehrstuhl für Tierhygiene, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan
[7] Institute of Animal Nutrition, Products and Nutrition Physiology, VIBT – Vienna Institute of BioTechnology
[8] BOKU – University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria

Im Bezug auf die Mikroflora zeigte Inulin höhere aerobe Gesamtkeimzahlen im Magen und Jejunum ($p<0,05$), sowie eine verringerte Anzahl an Enterokokken im Colon ($p<0,05$). Bedingt durch Inulin war die Essigsäurekonzentration erniedrigt ($p<0,01$) und gleichzeitig die Milchsäure im Colon erhöht ($p<0,05$). Die morphologischen Untersuchungen ergaben nur geringfügige Unterschiede bei der Anzahl an Becherzellen. Probiotika konnten die Milchsäurebakterien im distalen GIT sowie die gram-negativen Anaeroben im Colon erhöhen ($p<0,01$). Weiters war der Trockenmassegehalt in Magen und Colon durch Probiotika erniedrigt ($p<0,05$), wohingegen die Essigsäure im Colon höhere Werte aufwies ($p<0,05$). Änderungen in der Histometrie durch den Einsatz von Probiotika zeigten sich vorwiegend im Dünndarm mit längeren Zotten im Jejunum ($p<0,10$) und einer höheren Anzahl an neutralen Becherzellen in den ilealen Zotten ($p<0,05$). Die mRNA Expressionen der inflammatorischen Markergene und Transkriptionsfaktoren, welche im Dünndarm keine Veränderungen in den Probiotikagruppen aufwiesen, zeigten im Colon und in den Leukozyten eine Aufregulation ausschließlich für die Probiotika behandelte Gruppe.

Insgesamt agierten beide Futteradditive bei einzelnen Parametern synergistisch. Nichtsdestotrotz wurden häufig ausgeprägte individuelle Effekte der experimentellen Faktoren beobachtet. Im Weiteren waren die Effekte nicht nur auf den Colon begrenzt, sondern wurden im Verlauf des gesamten GIT beobachtet.

Einfluss von Inulin und Laktulose auf die intestinale Morphologie bei Kälbern

Effects of inulin and lactulose on the intestinal morphology of calves

Masanetz, S.; Wimmer, N.; Plitzner, C.[7]; Limbeck, E.; Preißinger, W.[9]; Pfaffl, M.W.: Animal 4 (2010) 739-744

Es wurde bereits mehrfach gezeigt, dass Präbiotika wie etwa Inulin oder Laktulose einen positiven Einfluss auf die Gesundheit von Mensch und Tier haben können. Diese Einflüsse werden über die Stimulation probiotischer Bakterien und deren Metabolismus im Darm des Wirtes erzielt. Infolge dieser Erkenntnisse wurden Präbiotika bereits als mögliche Alternativen zu den mittlerweile nicht mehr zugelassenen antibiotischen Wachstumsförderern in der Haltung Lebensmittel liefernder Tiere gehandelt. Dem Einfluss von Inulin und Laktulose auf die intestinale Morphologie wurde in einer Fütterungsstudie mit 42 Kälbern nachgegangen.

Nach einer 20-wöchigen Fütterungsperiode zeigten Tiere der Inulin-Gruppe signifikant erhöhte tägliche Zunahmen im Vergleich zu der Laktulose-Gruppe. Die Kontrolltiere lagen zwischen diesen beiden Gruppen. Gleichzeitig zeigten die Laktulose gefütterten Tiere eine verminderte Aufnahme des Milchaustauschers. Umgekehrt verhielt sich die Zottenlänge sowohl im Jejunum ($P=0.07$) als auch im Ileum ($P<0.05$), wo Laktulose zu längeren, Inulin jedoch zu kürzeren Villi führte. Dazu passend war die Dichte an proliferierenden Zellen im Ileum in der Inulin-Gruppe tendenziell verringert und in der Laktulose-Gruppe erhöht ($P=0.08$). Beide Präbiotika tendierten zu einer Verminderung der Becherzellen in ilealen Zottenspitzen ($P=0.07$).

[9] Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Poing- Grub

Zusammengefasst zeigen diese Ergebnisse einen klaren Effekt der Präbiotika Inulin und Laktulose auf die Tiergesundheit. Allerdings unterscheiden sich diese Effekte zwischen den beiden Substanzen. Während Inulin trotz einer verringerten Oberfläche im Dünndarm die Leistungsparameter verbesserte und nachgewiesen über verbesserte Blutwerte auch die Eisenabsorption positiv beeinflusst haben könnte, führte die Fütterung von Laktulose zu einer Verschlechterung der Tierleistung trotz verbesserter Darmarchitektur.

Einfluss von verzweigtkettigen Aminosäuren auf das Wachstumsverhalten, Blutmetaboliten, Enzymkinetik und deren Transkription in Ferkeln

The effects of branched-chain amino acid interactions on growth performance, blood matabolites, enzyme kinetics and transcriptomics in weaned pigs

Wiltafsky, M.K.[10]; Pfaffl, M.W.; Roth, F.X.[10]: British Journal of Nutrition 103 (2010) 964-976

Die Auswirkungen von übermäßigem Leucin in der Nahrung wurde in zwei Wachstumsversuchen mit Schweinen untersucht. In jedem Versuch wurden 48 Schweine (8 bis 25 kg) in sechs Versuchsgruppen eingeteilt. Behandlung 1 war eine positive Kontrolle. Die anderen Behandlungen hatte marginale Isoleucin- (Versuch 1) oder Valinkonzentrationen (Versuch 2). Die diätetischen Leucin Konzentrationen wurden schrittweise in den Behandlungen 2 bis 5 erhöht. In Behandlungsgruppe 6 wurden die Auswirkungen eines gleichzeitigen Überschusses von Leucin und Valin in Isoleucin limitierter Fütterung untersucht (Versuch 1), oder von Leucin und Isoleucin in Valin limitierter Fütterung (Versuch 2) untersucht.

Eine Erhöhung der diätetischen Leucin verminderte die Wachstumsleistung und erhöhte den Leucingehalt im Plasma und die Serum α-Ketoisocaproat Konzentartionen in einer linearen Dosis-Wirkungsbeziehung. Die erhöhten Isoleucin und Valin Plasmakonzentrationen und das Serum-α-Keto-β-Methylvalerinat und α-Ketoisovalerat zeigten einen erhöhten Katabolismus. Eine lineare Erhöhung der basalen verzweigtkettigen Ketosäuren-Dehydrogenase Aktivität in der Leber bestätigt dies. Keine größeren Veränderungen traten im mRNA Expressionsmuster der Enzyme des verzweigtkettigen Aminosäuren Katabolismus auf. In der Leber jedoch sank der mRNA Spiegel von Wachstumshormon-Rezeptor (GHR) und Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) signifikant mit zunehmender diätetischen Leucin Konzentrationen. Zusammenfassend ist zu sagen, dass überschüssiges Leucin in der Nahrung den Abbau von verzweigtkettigen Aminosäuren hauptsächlich durch posttranskriptionelle Mechanismen erhöht. Die Auswirkungen des Leucin Überschusses auf die Wachstumshormonachse bedarf weiterer Untersuchungen.

Langzeitfütterung von gentechnisch verändertem Mais (MON810) – Verbleib der cry1Ab DNA und des rekombinanten Proteins im Stoffwechselprozess der Milchkuh

Long-term feeding of genetically modified corn (MON810) – Fate of cry1Ab DNA and recombinant protein during the metabolism of the dairy cow

Guertler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Wiedemann, St.; Preißinger, W.[9]; Albrecht, C.; Spiekers, H.[9]; Schwarz, F.J.[10]; Meyer, H.H.D.: Livestock Science 131 (2010) 250-259

Der Verbleib der cry1Ab DNA und des Cry1Ab Proteins wurde im Rahmen eines 25-monatigen Langzeitfütterungsversuchs mit Milchkühen der Rasse Fleckvieh untersucht. Diese wurden in zwei Gruppen aufgestellt (je 18 Tiere) und mit Rationen gefüttert, die entweder transgenen Mais (Event MON810) oder die nicht-transgene Vergleichssorte enthielten.

---

[10] Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

Wöchentlich wurden Proben von allen Futterkomponenten, sowie monatlich auch Milch-, Blut- und Kotproben gezogen. Alle zwei Monate wurden auch Harnproben genommen. Für die Analytik wurden quantitative und qualitative PCR-Nachweissysteme und ein hochsensitiver ELISA entwickelt und an die verschiedenen Matrices angepasst. Diese Nachweismethoden wurden entsprechend der Richtlinien zum Nachweis von GVO validiert.

Die Untersuchungen ergaben, dass transgene Komponenten in Blut, Milch und Harn nicht detektierbar waren.Lediglich im Kot von transgen gefütterten Tieren konnte das Cry1Ab Protein nachgewiesen werden. Transgene DNA war auch hier nicht nachweisbar. Folglich konnte auch kein Übergang von transgenen Komponenten aus dem Futter in die Milch oder ins Blut der Kühe gezeigt werden.

Abbau des Cry1Ab Proteins aus gentechnisch verändertem Mais (MON810) im Verhältnis zum Gesamtprotein des Futters im Verdauungsprozess der Milchkuh

Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion

Paul, V.; Guertler, P.; Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.: Transgenic Research 19 (2010) 683-689

In dieser kurzen Studie wurde die Verdaulichkeit des Cry1Ab Proteins im Vergleich zum Gesamtprotein mittels ELISA und Western Blot untersucht. Diese fand im Rahmen des 25-monatigen Langzeitfütterungsversuchs mit gentechnisch verändertem Mais (MON810) bei Milchkühen statt. Acht Proben der partiellen totalen Mischration (PTMR; je 4 transgen und nicht-transgen) und 44 Kotproben (26 transgen, 18 nicht-transgen) wurden untersucht. Zusätzlich wurden im Anschluss an diesen Langzeitversuch Proben der Inhalte von Pansen, Abomasum, Blinddarm, Dünndarm und Dickdarm von je sechs Kühen untersucht. Die Analysen erfolgten mittels ELISA und BCA. Ausgehend vom Futter konnte eine Abnahme der relativen Cry1Ab Konzentration im Kot auf 44% festgestellt werden, was auf einen schnelleren Abbau des Cry1Ab Proteins hindeutet. Die relative Cry1Ab Konzentration in den Magen- und Darminhalten variierte zwischen 0,38 µg/g Gesamtprotein im Abomasum und 3,84 µg/g Gesamtprotein im Pansen. Western Blot Analysen zeigen einen Abbau des Cry1Ab Proteins in Fragmenten mit 42 kDa, 34 kDa und 17 kDa, wobei das 34 kDa große Fragment das dominanteste Abbauprodukt darstellt.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Cry1Ab Protein weniger stabil ist im Vergleich zu anderen Proteinen im Futter.

Langzeiteffekte einer Fütterung mit gentechnisch verändertem Mais (MON810) auf die Leistung laktierender Milchkühe

Effects of long-term feeding of genetically modified corn (event MON810) on the performance of lactating dairy cows

Steinke, K., Guertler, P., Paul, V., Wiedemann, S., Ettle, T.[9], Albrecht, C., Meyer, H.H.D., Spiekers, H.[9], Schwarz, F.J.[10]; Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 94 (5) (2010) 185-193

Um mögliche Effekte einer Fütterung mit gentechnisch verändertem Mais (MON810) auf die Gesundheit und Leistung von Milchkühen zu untersuchen, wurde ein Langzeitversuch über 25 Monate durchgeführt, bei dem je 18 Tiere entweder mit gentechnisch verändertem Mais oder mit der nicht-transgenen Vergleichssorte gefüttert wurden. Beim Futter konnten weder in der chemischen Zusammensetzung, noch im Energiegehalt Unterschiede zwischen dem transgenen und dem nicht-transgenen Mais festgestellt werden. Eine durchschnittliche tägliche Auf-

nahme von 6 mg Cry1Ab Protein fand während der ersten Laktation statt. In der zweiten Laktation stieg die mittlere tägliche Aufnahme auf 6,1 mg Cry1Ab pro Tag. Die Fütterung mit gentechnisch verändertem Mais hatte keinen Einfluss auf die Futteraufnahme und die Milchleistung in beiden Laktationszeiträumen. In Bezug auf die Zusammensetzung der Milch und die Tiergesundheit konnte ebenfalls kein Unterschied festgestellt werden zwischen den beiden Versuchsgruppen.

III. Reproduktionsphysiologie

Wirkung von Prostaglandin F2 alpha auf lokale luteotrope und angiogene Faktoren während der induzierten funktionellen Luteolyse im Rinder Gelbkörper

Effect of prostaglandin F2 alpha on local luteotropic and angiogenic factors during induced functional luteolysis in the bovine corpus luteum

Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Biology of Reproduction 82 (2010) 940-947

Die essentielle Bedeutung von Prostaglandin F2 alpha (PDGF) für die Induktion der Luteolyse ist klar bewiesen. Jedoch sind die Folgeeffekte auf lokale luteotrope Faktoren (Oxytocin, OXT) und sein Rezeptor, Insulin ähnlicher Wachstumsfaktor (IGF1), Progesteron (P) und sein Rezeptor (PR), Vasoendothel Wachstumsfaktor A (VEGF) und der Kapillar-Destabilisierungsfaktor Angiopoietin 2 (ANGPT) zeitabhängig nicht klar definiert. Ziel der Untersuchungen war es, die Gewebekonzentrationen dieser Faktoren zu erfassen nach induzierter Luteolyse mit PDGF (Tag 8 – 12). Neben Gewebekonzentrationen (EIA, RIA) wurde auch die mRNA Expression mittels RT-PCR erfasst. Gelbkörper (CL) n = 5/Gruppe wurden vor (0 h) sowie 0,5, 2, 4, 12, 24, 48 und 64 h nach der PDGF Injektion durch transvaginale Ovariektomie gewonnen.

Protein Konzentrationen fielen zwischen 0,5 und 2 h signifikant ab. Die mRNA war bis 12 h signifikant runterreguliert. ANGPT 2 war dagegen für mRNA und Protein bis 2 h signifikant hochreguliert und fiel nach 4 h stark. Dagegen stieg die IGF1BP1 mRNA ab 2 h kontinuierlich an.

Der akute Abfall von luteotropen Faktoren sowie akute Veränderungen von ANGPT 2 und VEGF A lassen vermuten, dass die Modulation der vaskulären Stabilität eine Schlüsselfunktion hat innerhalb der Kaskade von Regulationen die zur funktionalen Luteolyse führen.

Adrenomedullin Signalling im Gelbkörper des Rindes während Brunstzyklus, Gravidität und Luteolyse

Adrenomedullin signalling in bovine corpus luteum during oestrous cycle, gravidity and induced luteolysis

Schilffarth S., Berisha B.: Albanian Journal of Agricultural Sciences 2 (2010): 9-17

Untersuchungen zu "nichtklassischen" Regulatoren der Angiogenese könnten neue Perspektiven für das Verständnis der Angiogenese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen öffnen. Das Ziel dieser Arbeit war es die mRNA-Expression von Adrenomedullin (AM), Co-Faktor-Aktivitäts-modifizierendes Protein 2 (RAMP-2) und Calcitonin-Rezeptor-ähnliches-Rezeptor (CALCLR) im bovinen Gelbkörper (CL) während verschiedenen physiologischen Stadien zu charakterisieren. Experiment 1: CL wurden in folgende Stadien eingeteilt: Tage 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-16, >18 (nach Regression) des Brunstzyklus und in frühe und späte Trächtigkeit (<4 and >4 Monate). Experiment 2: induzierte Luteolyse.

Den Kühen wurde an den Zyklustagen 8-12 ein PGF2alpha Analog (Cloprostenol) injiziert und die CL mittels transvaginaler Ovariektomie vor und nach 0,5, 2, 4, 12, 24, 48 und 64 h nach PGF2alpha entnommen. Es wurde die real-time RT-PCR angewendet, um die mRNA Expression der untersuchten Faktoren zu bestimmen. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die untersuchten Faktoren in die Mechanismen der CL- Funktion, insbesondere während der letzten Monate der Gravidität, involviert sein könnten.

Induzierung der Endothelin 2 Expression durch das Luteinisierungshormon und Hypoxie
Induction of endothelin-2 expression by luteinizing hormone and hypoxia: Possible role in bovine corpus luteum formation
Klipper, E.[11]; Levit, A.[11]; Mastich, Y.[11]; Berisha, B.; Schams, D.; Meidan, R.[11]: Endocrinology 151 (2010) 1914-1922

Ziel war es, die Regulation von Endothelin 2 (EDN2) und die mögliche Bedeutung im Rinderovar zu erforschen. EDN2 mRNA wurde im Gelbkörper (CL) und während der follikulären-lutealen Übergangsphase induziert nach GnRH untersucht. EDN2 war nur im jungen CL erhöht und war nicht mehr nachweisbar im ausgereiften CL. Im jungen CL, EDN2 mRNA konnte hauptsächlich in Lutealzellen aber nicht in Endothelzellen nachgewiesen werden.

In präovulatorischen Follikeln wurde EDN2 in Ganulosazellen exprimiert und nicht in der Theka interna. An kultivierten Granulosazellen wurde der Effekt von LH und Hypoxie auf die EDN2 Expression getestet. Es konnten mit beiden Faktoren deutliche stimulierende Wirkungen nachgewiesen werden. Dies wurde auch mit einer humanen GC Linie bestätigt. Hypoxie verstärkte auch VEGF und Cyclooxygenase 2. Humanes Choriongonadotropin hatte eine ähnliche Wirkung. Diese Ergebnisse lassen schlussfolgern, dass erhöhtes EDN2 im frühen CL, induziert durch den präovulatorischen LH Gipfel und Hypoxie, die CL Bildung beschleunigen durch Verstärkung von Angiogenese, Zellproliferation und Differenzierung.

Regulierung der Gelbkörper-Entwicklung und Funktionserhaltung unter besonderer Berücksichtigung der Angiogenese und der Wirkung von PGF2-alpha
Regulation of corpus luteum development and maintenance: specific roles of angiogenesis and action of prostaglandin F2α
Miyamoto, A.[12]; Shirasuna, K.[12]; Shimizu, T.[12]; Bollwein, H.[13]; Schams, D.: in press

Die Entwicklung des Gelbkörpers (CL) nach der Ovulation erfolgt sehr rasch in wenigen Tagen. Hierbei werden die Theka- und Granulosazellen in Lutealzellen umgewandelt und mit neu gebildeten Blutkapillaren versorgt. Hierbei spielen lokal produzierte Faktoren (Fibroblasten Wachstumsfaktor, Vasoendothel Wachstumsfaktor, Insulin ähnliche Wachstumsfaktoren, vasoaktive Faktoren wie Stickstoffmonoxyd, Angiotensin 2 und Endothelin 1, Steroidhormone, Oxytocin und Prostaglandine) eine wichtige Rolle. Die Hauptfunktion des Gelbkörpers ist Progesteron zu produzieren, um eine etwaige Gravidität abzusichern.

---

[11] Department of Animal Sciences, The Robert H. Smith Faculty of Agriculture, Food, and Environment, The Hebrew University of Jerusalem, Israel
[12] Graduate School of Animal and Food Hygiene, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan
[13] Clinic for cattle, University of Veterinary Medicine Hannover

Ungenügende Luteinisierung und Angiogenese führt zu verminderter Progesteronproduktion, und damit zu reduzierter Embryonen-Entwicklung und Fertilität. PGF2-alpha, lokal besonders während der CL-Entwicklung produziert, verstärkt die Progesteronproduktion direkt oder indirekt durch Stimulierung der Bildung von VEGF und FGF2. Dies erklärt auch, warum exogene Prostaglandine während der CL-Anbildungsphase keine luteolytische Wirkung haben. Die Wechselwirkung zwischen luteotropen und luteolytischen Faktoren sowie Stimulation und Hemmung von angiogenen Faktoren während CL-Anbildung und Funktion haben essentielle Bedeutung für die CL-Funktion.

Die Expression von Leptin und seines Rezeptors während verschiedener physiologischer Stadien im Rinderovar

The expression of leptin and its receptor during different physiological stages in the bovine ovary

Sarkar, M.; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha B.: Molecular Reproduction & Development 77 (2010) 174-181

Das hormonale Produkt des obese-Gens Leptin zirkuliert im Blutkreislauf und korreliert mit Fettreserven und Appetit. Beim Rind spielt Leptin auch eine Rolle für die Ovarfunktion. Die lokale Produktion sowie mögliche auto-parakrine Wirkungen sind unbekannt. Deshalb wurde im Gelbkörper (CL) die Expression von Leptin sowie Rezeptor (Ob-R) während des Zyklus, Luteolyse sowie im graviden CL untersucht. Zusätzlich wurde die Expression auch in Follikeln während der Endreifung in Theka (T) und Granulosa (GC) separat geprüft. Die mRNA wurde mittels RT-PCR (qPCR) getestet. Die höchste Expression wurde in kleinen Follikeln (3 – 5 mm, Östradiol < 0,5 ng/ml FF) gefunden mit signifikanter Runterregulierung während der folgenden Endreifung und steigenden Östradiolkonzentrationen.

Im Gelbkörper stieg die Expression mit der Entwicklung an und fiel nach der Luteolyse ab. Während der Gravidität konnten keine regulatorischen Veränderungen bei hoher Expressionsintensität im CL gemessen werden. Die hohe lokale Expression im Ovar lässt lokale Wirkungen für die Follikelreifung sowie CL Funktion vermuten.

Die Expression von *Thrombopoietin* und seines Rezeptors während unterschiedlicher physiologischer Stadien im Rinderovar

The Expression of Thrombopoietin and its Receptor During Different Physiological Stages in the Bovine Ovary

Sarkar, M.; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Reproduction in Domestic Animals, in press

Die mögliche Bedeutung von Thrombopoietin (TPO) für die Ovarfunktion ist unbekannt. Deshalb wurde die Expression der mRNA von TPO und seines Rezeptors (c-MPL) im CL Gewebe sowie im Follikelgewebe geprüft. Die mRNA wurde mit RT-PCR sowie das Protein mit ELISA untersucht. In der frühen und späten Lutealphase sowie nach Luteolyse konnten im CL die höchste Expression gemessen werden. Während der Gravidität war im CL die Expression konstant und niedrig. Die TPO Gewebekonzentration zeigte einen ähnlichen Verlauf. Im Follikel war die TPO und c-MPL mRNA Expression in GC und T in kleinen Follikeln am höchsten und fiel mit weiterem Wachstum und ansteigenden Östradiolwerten signifikant ab. Die Ergebnisse lassen eine lokale Wirkung von TPO und seines Rezeptors im Ovar vermuten.

In vitro Systeme für die Erkennung früher embryo-maternaler Dialoge im Eileiter des Rindes

In vitro systems for intercepting early embryo-maternal cross-talk in the bovine oviduct

Ulbrich, S.E.; Zitta, K.[14]; Hiendleder, S.[15]; Wolf, E.[14]**:** Theriogenology 73 (2010) 802-816

Ein umfassendes Verständnis der komplexen Embryo-maternalen Wechselwirkungen während des Präimplantationszeitraums erfordert die Analyse von sehr frühen Stadien der Schwangerschaft. Diese sind aufgrund der geringen Größe des Embryos und den lokalen parakrinen Interaktionen mit der Gebärmutterschleimhaut in vivo schwer durchzuführen. Holistische Transkriptom und Proteom-Analysen zur Untersuchung der frühen Embryo-maternalen Wechselwirkungen im Eileiter benötigen zudem eine ausreichende Menge an definierten Zellen aus standardisierten experimentellen Studien. Der vorliegende Übersichtsartikel beschreibt verbreitete Kulturmethoden und bewertet sie bezüglich ihrer Eignung für Studien, die sich mit der physiologischen Interaktion von Embryonen und der maternalen Umgebung befassen. Die kurzfristige Kultur von bovinen Eileiterepithelzellen in Suspension bietet genau definierte und funktionelle Eileiterepithelzellen in ausreichender Menge für Experimente, bei denen die natürliche Umwelt der Eileiter in vivo nachgeahmt werden soll.

Auswirkungen einer verkürzten präovulatorischen Follikelphase auf die genitale Durchblutung und die Konzentration endometrialer Steroidhormonrezeptoren beim Rind

Effects of a shortened preovulatory follicular phase on genital blood flow and endometrial hormone receptor concentrations in Holstein-Friesian cows

Bollwein, H.[13]; Prost, D.[13,16]; Ulbrich, S.E.; Niemann, H.[16]; Honnens, A.[13]: Theriogenology 73 (2010) 242-249

Das Ziel dieser Studie war es, die Auswirkungen der Länge der präovulatorischen Follikelphase auf die genitale Durchblutung beim Rind zu untersuchen. Bei 50 Deutschen Holstein Kühen wurde mit einem modifizierten OvSynch Programm der Eisprung synchronisiert, indem die zweite GnRH-Injektion 40h (G40) oder 60h (G60) nach der PGF2alpha Injektion gegeben wurde. Die dritte Gruppe (S, n = 17) erhielt keine zweite GnRH-Injektion. Die Kühe der Gruppe G40 hatten 24 Stunden vor Ovulation geringere Follikeldurchmesser und einen niedrigeren follikulären Blutfluss als Kühe der Gruppe S. Sieben Tage nach dem Eisprung unterschieden sich der Durchmesser des Gelbkörpers und die Progesteronkonzentration zwar nicht zwischen Kühen der Gruppen G40 und S, aber der luteale Blutfluss war bei Kühen von Gruppe G40 niedriger als bei Kühen der Gruppen G60 und S. Weder die Durchblutung der Gebärmutter noch die Genexpression von Hormonrezeptoren der Gebärmutterschleimhaut waren unterschiedlich. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass eine verkürzte präovulatorische Follikelphase während einer Ovulationssynchronisation vor allem Auswirkungen auf den Eierstock und weniger auf die Gebärmutter haben.

---

[14] Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology, and Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA), Gene Center, LMU Munich

[15] JS Davies Epigenetics and Genetics Group, School of Agriculture, Food & Wine and Research Centre for Reproductive Health, The University of Adelaide, Roseworthy Campus, Adelaide, Australia

[16] Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Mariensee, Neustadt

Eine erhöhte proapoptotische Genexpression von XAF1, CASP8 und TNFSF10 im bovinen Endometrium während der frühen Gravidität ist nicht mit vermehrter Apoptose korreliert

Enhanced proapoptotic gene expression of XAF1, CASP8 and TNFSF10 in the bovine endometrium during early pregnancy is not correlated with augmented apoptosis

Groebner, A.E., Schulke, K.; Unterseer, S.; Reichenbach, H.D.[17]; Reichenbach, M.[14]; Büttner, M.[18]; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Placenta 31 (2010) 168-177

Mit der rapiden Elongation des Trophoblasten vor der Implantation findet gleichzeitig eine massive Freisetzung von Interferon tau (IFN-τ) durch Trophoblastzellen des Embryos statt. Aufgrund der proapoptotischen Eigenschaften von IFN-τ haben wir den Effekt des Schwangerschaftserkennungssignals auf den programmierten Zelltod in der Gebärmutterschleimhaut analysiert. Die mRNA Expression der proapoptotischen Gene XIAP factor-1 (XAF1), Caspase 8 (CASP8) und TNF-Superfamilie Liganden 10 (TNFSF10) waren signifikant in der Gebärmutterschleimhaut von trächtigen Tieren erhöht. Eine IFN-τ abhängige Induktion wurde innerhalb eines in vitro Ko-Kulturmodells endometrialer Zellen vor allem in Stromazellen bestätigt. Allerdings wurden weder eine erhöhte Caspase-Aktivität noch eine Erhöhung von apoptotischen Zellen im Uterus trächtiger Tiere gefunden. Obwohl IFN-τ die Expression von proapoptotischen Gene induziert, findet also keine gleichzeitige Zunahme von apoptotischen Ereignissen statt. Diese Ergebnisse deuten auf eine spezifische Regulation der IFN stimulierten Gene auf die Freisetzung von IFN-τ hin und lassen vermuten, dass zusätzliche Mechanismen den ungünstigen programmierten Zelltod von Endometriumszellen verhindern.

Unterschiedliche Entwicklung und Testosteronsekretion bei Zebu-Bullen (*Bos indicus*) und Kreuzungsbullen (*Bos indicus* x *Bos taurus*) sowie Büffeln (*Bubalus bubalis*) während des Wachstums

Divergent development of testosterone secretion in male zebu (Bos indicus) and crossbred cattle (Bos indicus x Bos taurus) and buffaloes (Bubalus bubalis) during growth

Gulia, S.[19]; Sarkar, M.; Kumar, V.[19]; Meyer, H.H.D.; Prakash, B.S.: Tropical Animal Health and Production 42 (2010) 1143-1148

Bos indicus x *Bos taurus* Bullen zeigen eine bemerkenswert späte Pubertät und niedrige Fertilität, welche bislang nicht verstanden ist. Unsere endokrinologischen Untersuchungen zeigen, dass bei den Kreuzungstieren der Testosterongehalt in allen Phasen signifikant niedriger ist als bei *Bos indicus* oder *Bos taurus* Bullen des gleichen Entwicklungsstadiums. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die Kreuzungstiere nicht genetisch stabilisiert sind.

Bei Bullen des Murrah-Büffels zeigte sich zwar eine deutlich verzögerte Pubertätsentwicklung, auch endokrinologisch, aber adulte Tiere wiesen eine normale Fertilität bei entsprechenden Hormonwerten auf.

---

[17] Institute of Animal Breeding, Bavarian State Institute for Agriculture, Grub
[18] Bavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleißheim
[19] Dairy Cattle Physiology Division, National Dairy Research Institute, Karnal, India

Seminalplasma vom Eber beeinflusst die Synthese von Prostaglandinen im Schweine Eileiter

Seminal plasma affects prostaglandin synthesis in the porcine oviduct

Kaczmarek, M.M.[20]; Krawcynski, K.[20]; Blitek, A.[20], Kiewisz, J.[20]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[20]: Theriogenology 74 (2010) 1207-1220

Bioaktive Substanzen im Seminalplasma können die zelluläre Zusammensetzung, Struktur und Funktion im Genitaltrakt verändern. Dies trifft besonders für den Eileiter zu. Deshalb wurde geprüft, ob eine intrauterine Infusion von Seminalplasma die Prostaglandinsynthese im Schweineeileiter beeinflussen kann. Deshalb wurden verschiedene Enzyme der Prostaglandinsynthese getestet. Am Tag 1 der Seminalplasma Infusion waren die wichtigsten Enzyme der PGF und PGE Synthese herunter reguliert. Am Tag 5 konnte eine gewisse Aufregulierung festgestellt werden. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass Seminalplasma die Prostaglandinsynthese im Eileiter beeinflusst.

Wirkung von Luteinisierungshormon und Tumornekrosefactor alpha auf die VEGF Sekretion von kultivierten Schweine Endometrium Stromazellen

Effect of luteinizing hormone and tumour necrosis factor-alpha on VEGF secretion by cultured porcine endometrial stromal cells

Kaczmarek, M.M.[20]; Blitek, A.[20]; Schams, D.; Ziecik, A.J.[20]: Reproduction in Domestic Animals 45 (2010) 481-486

Die Bedeutung des Vasoendothel Wachstumsfaktors (VEGF) für die Vaskularisierung und Zellpermiabilität im Endometrium ist bereits gut dokumentiert. Wenig ist bekannt über die Stimulation der VEGF Sekretion im Endometrium während der Gravidität. Deshalb wurde die Wirkung von Luteinisierungshormon (LH) und Tumornekrosefaktor alpha (TNF alpha) auf die VEGF Expression und Sekretion von Endometrium Stromazellen während der Frühgravidität beim Schwein untersucht. Mittels RT-PCR konnte eine höhere m-RNA Expression sowie Protein Sekretion (RIA) nachgewiesen werden. Es wird daraus geschlossen, dass beide Stimulatoren als potente Modulatoren für adaptive Veränderungen im uterinen Gefäßsystem während der Frühgravidität beim Schwein in Frage kommen.

IV. Wachstumsphysiologie, myotrope Therapeutika und Anabolika

Einfluss von Trenbolonacetat plus Estradiol auf verschiedene Stoffwechselwege in der bovinen Leber

Effect of trenbolone acetate plus estradiol on transcriptional regulation of metabolism pathways in bovine liver

Becker, C.; Riedmaier, I.; Reiter, M.[21]; Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation 2 (2010) 257-265

Es ist zu erwarten, dass verschiedene Stoffwechselwege von der exogenen Zufuhr von anabolen Steroiden beeinflusst werden, was die Leber zu einem vielversprechenden Organ in der Biomarkersuche macht. Ein Versuch mit 18 Ngunifärsen wurde durchgeführt, in dem 9 Tiere mit einer anabolen Kombination aus Trenbolonacetat und Estradiol behandelt wurden.

[20] Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland
[21] BioEPS GmbH, Freising

Die restlichen 9 Tiere dienten als Kontrollgruppe. In der Analyse der Genexpression mittels RT-qPCR konnten signifikante Unterschiede in verschiedenen Gengruppen (Rezeptoren, Protein- und Cholesterolstoffwechsel, endokrine Faktoren und Hormonausscheidung) detektiert werden. Die biostatistische Auswertung der Daten mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) zeigte, dass es möglich sein könnte, in der Leber ein Muster von Genexpressionsbiomarkern zur Erkennung des Missbrauchs anaboler Steroide zu etablieren.

Beeinflussung der Genexpression in Muskelgewebe bei Macaca fascicularis durch Testosteron und SARM

Monitoring gene expression in muscle tissue of macaca fascicularis under the influence of testosterone and SARM

Reiter, M.[21]; Tichopad, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation 1 (2010) 73-79

Durch eine Abnahme der endogenen Produktion von Östradiol und Testosteron bei rückläufiger Gonadenfunktion kommt es häufig zu Krankheiten wie Osteoporose und Sarkopenie. Zur alternativen Behandlung dieser Krankheiten wurden so genannte selektive Androgen Rezeptor Modulatoren (SARM) entwickelt. Darunter versteht man synthetische Moleküle, welche die nützlichen zentralen und peripheren Eigenschaften von Testosteron besitzen, jedoch kaum Nebenwirkungen aufweisen.

In Kooperation mit TAP Pharmaceuticals Inc., Lake Forest, USA und Covance, Münster wurde ein Versuch an macaca fascicularis durchgeführt, bei welchem der Einfluss eines neuen SARM auf die Genexpression in Biopsieproben der Androgen-sensitiven Muskeln m. quadriceps und m. triceps mit dem natürlichen Testosterons verglichen wurde.

Hierbei wurden Cathepsin L, calpain 3 und insulin like growth factor binding protein 3 als signifikant reguliert identifiziert, wobei hierbei kein Unterschied zwischen dem SARM und natürlichem Testosteron festgestellt wurde. Diese Gene stellen erste Biomarkerkandidaten für die Analyse einer missbräuchlichen Anwendung dar.

Einfluss des Leptin G-2548A Polymorphismus auf Leptin Levels und anthropometrische Messungen in gesunden Spanischen Jugendlichen

Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents

Riestra, P.[22]; Garcia-Anguita, A.[22]; Viturro, E.; Schoppen, S.[22]; de Oya, M.[22]; Garcés, C.[22]: Annals of Human Genetics 74 (2010) 335-339

Polymorphismen am Leptin (LEP) Gen werden bei Erwachsenen seit langem mit der Leptinkonzentration im Blut und mit Obesitas assoziiert. Bei Kindern wurde dies bisher nicht ausreichend untersucht. In dieser Studie wurde die Beziehung zwischen dem LEP G2548A Polymorphismus und Leptinkonzentration, Körpergröße und anderen Parametern untersucht. Hierbei wurden 880 Schulkinder (12-16 j.a.) analysiert. Bei männlichen Probanden mit dem AA-Genotyp wurde eine geringere Blutleptinkonzentration als bei Probanden mit dem GA- ($p<0.008$) oder dem GG-Genotyp ($p<0.001$) gefunden. Der Anteil am A-Allel war bei übergewichtigen Probanden signifikant erniedrigt ($\chi 2$: 4.58, $p = 0.032$).

---

[22] Lipid Metabolism Laboratory, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

V. Wildtierbiologie

Wechselwirkung zwischen Rangordnung und Plasma Testosteron und Cortisol beim Rothirsch

Relationship between rank and plasma testosterone and cortisol in red deer males (Cervus elaphus)

Bartos, L.[23], Schams, D., Bubenik, G.A.[24], Kotrba, R.[23], Tomanek, M.[25]: Physiology & Behavior 101 (2010) 628-634

Es sollte geprüft werden, inwieweit eine Veränderung der Sozialstruktur in einer Gruppe von Rothirschen sich auf die Wechselbeziehung Rankordnung und Testosteronspiegel auswirken. Eine Gruppe von 12 erwachsenen Hirschen wurde separat gehalten (Periode 1). Danach wurden 9 Junghirsche hinzugegeben (Periode 2). Während einer definierten Beobachtungszeit wurden die Interaktionen beobachtet und Blutproben entnommen während der 2 Beobachtungsperioden. Die Zugabe von jungen Hirschen änderte das agonistische Verhalten der erwachsenen Hirsche. Alte Hirsche attackierten bevorzugt Hirsche mit niedriger Hierarchie. Hirsche mit hoher Rankordnung hatten niedrigere Testosteronwerte innerhalb der Erwachsenengruppe (Periode 1). Nach Hinzugabe der Junghirsche war es gerade das Gegenteil (Periode 2). In Periode 1 hatten die Tiere höhere Cortisolwerte als in Periode 2. Als Kontrolle wurden Erwachsene und Junghirsche zusammen gehalten. Keine hormonellen Veränderungen wurden gemessen. Die Ergebnisse belegen klar den Einfluss der sozialen Umgebung von erwachsenen Hirschen. Veränderungen bewirken Wechsel im Rang sowie Testosteron und Cortisol-Blutspiegel.

VI. Bioanalytik

Bedeutung der Qualitätskontrolle von mRNA und microRNA für die Analytik mittels RT-qPCR

mRNA and microRNA quality control for RT-qPCR analysis

Becker, C.; Hammerle-Fickinger, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: Methods 50 (2010) 237-243

Hammerle-Fickinger, A.; Riedmaier, I.; Becker,C.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.; Ulbrich, S.E.: Validation of extraction methods for total RNA and miRNA from bovine blood prior to quantitative gene expression analyses. Biotechnology Letters 32 (2010) 35-44

Die Methodik der quantitativen RT-PCR ist derzeit der Goldstandard für die Messung von Genexpressionsunterschieden. Messenger RNAs (mRNAs) sind jedoch sehr labile Moleküle, die auf Grund des ubiquitären Vorkommens von Nukleasen einem ständigen Risiko der Degradierung unterworfen sind. Der immense Einfluss der Probenqualität auf die quantitative Aussage der Messung wurde für mRNAs klar dargelegt. Die Qualitätskontrolle von mRNAs mittels automatisierter Elektrophorese wird von den MIQE Richtlinien als essentieller Routineschritt in der Probenvorbereitung angesehen.

---

[23] Department of Ethology, Institute of Animal Science, Praha, Czech Republic
[24] Department of Integrative Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada
[25] Biology of Reproduction, Institute of Animal Science, Praha, Czech Republic

Die vorliegende Studie zeigt den Einfluss der Extraktionsmethode auf die Qualität und Quantität der mRNA als auch der microRNA. In der zweiten Studie konnte klar bewiesen werden, dass auch in der Untersuchung von microRNAs mittels real-time RT-PCR ein Zusammenhang zwischen dem Degradierungsgrad und dem Ergebnis der RT-PCR besteht. Somit sollte eine Qualitätskontrolle auch bei neuen Anwendungen wie der Expressionsanalytik von mRNAs oder microRNAs durchgeführt werden.

Vergleich der Analyse des Metaboloms in Blutplasma- und Blutserumproben mittels Gas-Chromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS)
Comparison of serum versus plasma collection in gas chromatography – Mass spectrometry-based metabolomics
Dettmer, K.[26]; Almstetter, M.F.[26]; Appel, I.J.[26]; Nürnberger, N.[26]; Schlamberger, G.; Gronwald, W.[26]; Meyer, H.H.D.; Oefner, P.J.: Electrophoresis 31 (2010) 2365-2373

In der vorliegenden Studie wurden Blutserum-, EDTA-Blutplasma-, und mit Acetylsalicylsäure versetzte EDTA-Blutplasmaproben (EDTA-ASA) hinsichtlich Ihrer Eignung für Studien des Metaboloms getestet. „Fingerabdrücke“ des Metaboloms wurden mit Gas-Chromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie erstellt und die Daten mit der Leco Chroma-TOF® Software ausgewertet. Insgesamt wurden 6, 9 und 21 Merkmale mit einer Fehlerrate von < 5 % mittels INCA beim Vergleich von EDTA-Blutplasma- mit EDTA-ASA-Blutplasma- und Blutserumproben, sowie Blutserum- mit EDTA-ASA-Blutplasmaproben gefunden. Um sicher zu stellen, dass beobachtete Signalintensitäten am Massenspektrometer auch wirklich von den Metaboliten und deren Konzentration selbst her stammen, wurden 19 Aminosäuren, Glukose und 6 organische Säuren, die mit stabilen Isotopen gekennzeichnet waren, als interne Standards verwendet und gemessen. An der gemessenen Konzentration der Standards wurde die Quantifizierung der Metaboliten vorgenommen. Lediglich die Konzentration von Laktat und Citrat waren in den EDTA-Blutplasma- und den Blutserumproben geringer, während die Konzentration aller anderen Metaboliten in den drei Probentypen vergleichbar waren.

Statistische Aspekte des Designs von quantitativen real-time PCR Experimenten
Statistical aspects of quantitative real-time PCR experiment design
Kitchen, R.R.[27]; Kubista, M.[28, 29]; Tichopad, A.: Methods 50 (2010) 231-236

Versuche mit quantitativer real-time PCR werden von einer biologischen wie auch einer technischen Streuung beeinflusst. Durch eine Optimierung des Experimentdesigns wird versucht, die Quellen der technischen Streuung zu minimieren. Die Qualität eines Versuches wird häufig mit Hilfe der Powerberechnung geschätzt. In diesem Artikel wird eine Methode vorgestellt, welche an Hand eines Pilotversuches ein optimales Experimentdesign mit optimalem Einsatzort und optimaler Anzahl an Probenreplikaten entworfen wurde, und mit welcher ebenfalls eine Powerschätzung vorgenommen werden kann.

---

[26] Institute of Functional Genomics, University of Regensburg
[27] School of Physics, University of Edinburgh, Edinburgh EH8 9AB,UK
[28] TATAA Biocenter, Göteborg, Sweden
[29] Institute of Biotechnology AS CR, Videnska, Prague, Czech Republic

Zusätzlich wird ein Effekt der Normalisierung mit einem Referenzgen und ihre mögliche negative Auswirkungen diskutiert. Zuletzt wird schließlich eine Software vorgestellt, mit welcher man alle hier erwähnten Berechnungen durchführen kann.

Normalisierungsstrategien für microRNA Profiling Experimente: Ein 'normaler' Weg zu einer verborgenen komplexen Ebene?
Normalization strategies for microRNA profiling experiments: a „normal" way to a hidden layer of complexity?
Meyer, S.U.; Pfaffl, M.W., Ulbrich, S.E.: Biotechnol Lett 32 (2010) 1777-1788

MicroRNA (miRNA)-Profiling ist ein erster wichtiger Schritt bei der Bestimmung der miRNA Funktionen. Real time quantitative PCR (RT-qPCR) und Hybridisierungsmicroarray-Verfahren sowie Ultra-Hochdurchsatz-Sequenzierung von miRNAs (kleine RNA-seq) sind beliebte und verbreitete Profiling-Methoden. Alle diese drei Profiling-Methoden sind gekennzeichnet durch eine signifikante Einführung von Bias. Normalisierung, ein häufig unterschätzter Aspekt der Datenprozessierung, kann systematische, technische oder experimentelle Variation minimieren und besitzt dadurch signifikanten Einfluss auf die Detektion differentiell exprimierter miRNAs. Zurzeit existiert keine allgemein gebräuchliche Normalisierungsmethode für einen der drei miRNA-Profiling Methoden. Zahlreiche Normalisierungsmethoden werden derzeit verwendet, von denen einige ähnlich zu mRNA-Profiling-Methoden sind, während andere wiederum für miRNA-Datensätze spezifisch modifiziert bzw. entwickelt wurden. Die charakteristischen Eigenschaften der miRNA-Moleküle, ihre Zusammensetzung und die daraus resultierende Datenverteilung der Profiling-Experimente fordern die Wahl einer angemessenen Normalisierungsmethode heraus. Basierend auf miRNA-Profiling Studien und vergleichenden Studien über Normalisierungsmethoden und deren Eigenschaften stellt dieser Review einen kritischen Überblick über häufig verwendete sowie neu entwickelte Normalisierungmethoden für miRNA RT-qPCR, miRNA-Hybridisierungsarrays und kleine RNA-seq Datensätze bereit. Die Schwerpunkte beziehen sich auf die Komplexität, deren Bedeutung und das Potential für weitere Optimierung der Normalisierungsmethoden für miRNA-Profiling-Datensätze.

Quantitative PCR
The ongoing evolution of qPCR (Guest Editor´s Introduction)
Pfaffl, M.W.: Methods 50 (2010) 215-216

Die RT-PCR zum spezifischen Nachweis der mRNA ist seit der Erfindung in den 80er Jahren durch Kary Mullis zu einem Routinewerkzeug in jedem molekularbiologischen Labor geworden. Die Weiterentwicklung der klassischen RT-PCR ist die quantitative oder real-time RT-PCR (qRT-PCR), die erstmals 1991 vorgestellt wurde und neben qualitativen Aussagen auch eine exakte Quantifizierung ermöglicht.

Die qPCR hat erhebliche Vorteile bei der Quantifizierung geringer Kopienzahlen in Biopsien oder in einzelnen Zellen. Um das gesamte quantitative Potential der qPCR auszuschöpfen ist ein umfassendes Verständnis der zugrundeliegenden Methode, Amplifizierungskinetik sowie der Fehlerquellen nötig. Leider sind wir weit davon entfernt, die optimalen PCR Arbeitsabläufe, die höchste Sensitivität, die geringsten Varianzen, die beste RNA Integrität oder das ultimative Echtzeit PCR Gerät zu bauen, die alle unentbehrlich für eine optimale PCR-Amplifikation und authentische Ergebnisse sind. Die bis dato entwickelte Methodik muss mit

zunehmenden analytischen Herausforderungen weiterentwickelt werden, was uns zum folgenden Thema des PCR Sonderheftes führt - The ongoing evolution of qPCR.

In diesem Kompendium haben wir auf einige ausgewählte Anwendungsbereiche zusammengefasst, die uns besonders wichtig für die zukünftige Forschung und Diagnostik erscheinen: MIQE Richtlinien und Standardisierung der Methode, Analytik von microRNAs, hochauflösende Schmelzkurvenanalyse (HRM), Copynumber Variationen (CNV), quantitative single-cell Expressionsanalytik, zirkulierende Tumorzellen (CTC), zirkulierende Nukleinsäuren (CNA) und nicht zuletzt die qPCR Datenanalyse.

Fazit - Die letzten zwei Jahrzehnte in der Anwendung der PCR und real-time PCR wurden durch wichtige methodische Fortschritte geprägt. Die entwickelten MIQE Richtlinien sollen uns helfen, die qPCR besser zu standardisieren und in Folge die Ergebnisse besser und aussagekräftiger zu machen. Aber wir müssen uns bewusst sein, dass die Evolution der qPCR weiter fortschreitet und immer ein wichtiges Glied in der molekularbiologischen Forschung bleiben wird.

Qualitätskontrolle für quantitative PCR basierend auf dem Amplifikations-Kompatibilitätstest

Quality control for quantitative PCR based on amplification compatibility test

Tichopad, A.; Bar, T.[30]; Pecen, L.[29]; Kitchen, R.R.[27]; Kubista, M.[28,29]; Pfaffl, M.W.: Methods 50 (2010) 308-312

Quantitative real-time PCR wird zur Routine überall dort eingesetzt, wo eine genaue Quantifizierung von Nukleinsäuren nötig ist. Fehler in der Quantifizierung sind jedoch kaum zu vermeiden, sobald eine Inhibition oder andere Störfaktoren, wie z.B. die Bildung von Primerdimeren, in der Reaktion vorkommen. Obwohl verschiedene, gut etablierte Methoden diese Fehler schon während der Probenaufbereitungsphase kontrollieren können, beinhalten all diese Methoden eine Manipulation der Probe, die möglicherweise zu einer Beeinflussung des Ergebnisses führen kann. In diesem Artikel soll eine auf der multivariaten Datenanalyse basierende statistische Methode präsentiert werden, welche die Amplifikationsdaten der PCR Reaktion untersuchen kann und anschließend einen qualitätsbezogenen Rückschluss zu jeder Probe erlaubt. Diese Methode untersucht zwei oder mehrere ausgewählte Merkmale der Amplifikationstrajektorie und berechnet anschließend eine Z-Score Statistik für jede Probe. Ausreißer werden dann mit Hilfe der schließenden Statistik gegenüber einer Referenzgruppe oder gegenüber der Gesamtheit aller Proben aussortiert. An Hand von einem Versuch mit künstlicher Inhibition konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zu einer auf univariaten Statistik basierten Methode diese Methode deutlich bessere Ergebnisse aufweist.

[30] Labonnet Ltd. Itamar St. 10/1, Ramat-Gan, Israel

Darstellung des Genexpressionsprofils geschlechtlicher Unterschiede in HIF1- abhängigen adaptiven kardialen Antworten auf chronische Hypoxie

Gene expression profiling of sex differences in HIF1-dependent adaptive cardiac responses to chronic hypoxia

Bohuslavova, R.[29]; Kolár, F.[31]; Kuthanova, L.[29]; Neckar, J.[31]; Tichopad, A.; Pavlinkova, G.[29]: Journal of Applied Physiology 109 (2010): 1195-1202

Obwohl die physiologische Antwort auf eine chronische Hypoxie heutzutage gut beschrieben ist, bleiben die Anpassungsmechanismen der Lunge und des Herzens weitgehend unbekannt. Hierfür wurde die Hypothese, dass eine adaptive Antwort auf eine chronische Hypoxie ein Ergebnis der veränderten Genexpression der rechten und linken Ventrikel ist, erhoben und getestet. Dieser Artikel beschreibt die Befunde der Genexpressionsprofilierung bei Herzen von sich adaptiv auf Hypoxie anpassenden Mäusen. Von den 11 untersuchten Kandidatengenen waren sieben Gene bei Männchen und vier bei Weibchen in den rechten Ventrikeln reguliert. In dem Expressionsprofil der linken Ventrikel wurde nur eine Änderung des Vegfa-Genes bei hypoxischen Männchen gefunden. Hiermit wurde gezeigt, dass eine Hypoxie eine selektive Genexpressionswirkung vorwiegend auf die rechten Ventrikel aufweist und dass beide Ventrikel voneinander unabhängig reagieren können. Eine gezielte Untersuchung des HIF1-Genes bei HIF1-inaktiven Tieren ergab, dass HIF1 eine wichtige Rolle bei der Anpassungsfähigkeit von Lunge und Herz spielt. Zuletzt wurde gezeigt, dass beide Geschlechter in Ihrer Antwort auf eine Hypoxie unterschiedliche Expressionsmechanismen aktivieren.

Effekte des Bacillus firmus auf die Expression von Zytokinen und Toll-like Rezeptoren in murinem Nasopharynx assoziierten lymphatischen Gewebe nach intranasaler Immunisierung mit inaktivierten Influenza Typ A Viren

Adjuvant effect of Bacillus firmus on the expression of cytokines and toll-like receptors in mouse nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT) after intranasal immunization with inactivated influenza virus type A

Zanvit, P.[32]; Tichopad, A.; Havlicková, M.[33]; Novotna, O.[32]; Jirkovská, M.[34]; Kolostova, K.[35]; Cechová, D.[32]; Julak, J.[32]; Sterzl, I.[32]; Prokesova, L.[32]: Immunology Letters 134 (2010) 26-34

Auf Grund der bestehenden Gefahr einer Neuentwicklung einer hochpathogenen Typ-A Influenza ist eine potente und kreuz-protektive mukosale Vakzinierung erwünscht. Mit Hilfe von delipidierten Bacillus firmus (DBF) als Adjuvans wurde eine mukosale Immunisierung mit einem inaktiven Influenza-A-Virus bei Mäusen durchgeführt. Der Mechanismus eines adjuvanten Effektes wurde anschließend im NALT (Nasal Lymphoid Tissue) untersucht. Ein Vergleich wurde durchgeführt zwischen der Immunisierung mit: i) dem inaktivierten Influenzavirus A (H1N1) alleine, ii) dem DBF alleine und iii) der Mischung von DBF und Virus. Die Genexpression ausgewählter Zytokine (IL-2, IFN-γ, IL-4, IL-6, und IL-10), Type-I Interferone (IFN-α4, IFN-α11, IFN-α12, IFN-β), Toll-like Rezeptoren (TLR2, TLR3, TLR7, TLR9), sowie iNOS und CCR7 wurde mittels qPCR an 7 verschiedenen Zeitpunkten gemessen.

---

[31] Institute of Physiology AS CR, v.v.i., and Centre for Cardiovascular Research, Prague, Czech Republic

[32] Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Institute of Immunology and Microbiology, Prague, Czech Republic

[33] National Institute of Public Health, Srobárova, Prague, Czech Republic

[34] Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Institute of Histology and Embryology, Prague, Czech Republic

[35] Charles University in Prague, Third Faculty of Medicine, Department of Tumor Biology, Prague, Czech Republic

Die intranasale Verabreichung von DBF und der Mischung von Virus und DBF verursachte eine erhöhte Expression von IFN-γ, IL-6 und IL-10, Type-I Interferonen, iNOS, und pDC-Marker im NALT. Das DBF zeigte sich als effektiver Stimulus der angeborenen Immunität nach einer intranasalen Immunisierung. DBF beschleunigte nicht nur, sondern erhöhte und verlängerte die antivirale Antwort.

Verzögerung des intra-erythrozytischen Zyklus und Erhöhung der Expression von Arzneimittel-Transporter Genen bei Plasmodium falciparum durch Behandlung mit Medikamenten gegen Malaria

Antimalarial exposure delays Plasmodium falciparum intra-erythrocytic cycle and drives drug transporter genes expression

Veiga, M.I.[36,37]; Ferreira, P.E.[36,37]; Schmidt, B.A.[36]; Ribacke, U.[37]; Björkman, A.[36]; Tichopad, A.; Gil, J.P.[36,37,38]: PLoS One 5 (2010) 1-8

Eine multiple Drug-Resistenz bei Plasmodium falciparum ist das Haupthindernis auf dem Weg zu einer erfolgreichen Kontrolle der Malaria. Zelluläre Resistenzmechanismen, die mit der metabolischen Aktivität zusammenhängen, wurden auch in eukaryotischen Zellen, wie z.B. Krebszellen, nachgewiesen. Neuste Beobachtungen weisen darauf hin, dass ein solcher Mechanismus in Plasmodium falciparum auftritt. Deswegen wurde der Effekt von Mefloquine auf den Zellzyklus von drei P. falciparum Klonen (3D7, FCB, W2) mit unterschiedlichen Arzneimittelanfälligkeiten untersucht. Gleichzeitig wurde die Expression von vier Genen, die für bestätigte und mutmaßliche Arzneimitteltransporter (pfcrt, pfmdr1, pfmrp1 and pfmrp2) kodieren, gemessen. Mefloquine induzierte eine Dosis- und Klon-abhängige Verzögerung im intra-erythrocytären Zyklus des Parasiten. Der Einfluss der Substanz auf den Fortschritt des Zellzyklus wurde dann unter Nutzung eines nicht-linearen Regressionsmodels mit der Genexpression zusammengeführt, um die spezifische substanzinduzierte Expression zu bestimmen. Dies ergab eine milde, aber signifikante Induktion der Genexpression um bis zu 1,5 fach durch Mefloquine.

Habilitationen, Dissertationen und Diplomarbeiten und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Christiane Becker, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 07.12.2010, „Impact of anabolics on miRNA and mRNA abundance in steroid target organs“

---

[36] Malaria Research Lab, Department of Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

[37] Drug Resistance and Pharmacogenetics Group, Institute of Biotechnology and Bioengineering, Centre of Molecular and Structural Biomedicine, University of Algarve, Faro,Portugal

[38] Laboratory of Molecular Anthropology and Health, Department of Anthropology, Binghamton University, Binghamton, New York, United States of America

Masterarbeiten

Isabella Almstätter, Molekulare Biotechnologie**:** „Effects of the pharmacological agent and volatile aroma compound 1,8-cineole on porcine intestinal epithelium"

Nevena Kirova, Molekulare Biotechnologie**:** „Prostaglandins in the bovine endometrium during early pregnancy"

Andreas Nuber, Biologie: „Ligandenbindung an die bovine PPAR-Familie"

Finn Rieken, Molekulare Biotechnologie: „Direct visualization of receptor oligomerization by total internal reflection fluorescence microscopy"

Bachelorarbeiten

Scarlet Beck, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchungen zu Polymorphismen des bovine Toll-like-Rezeptor 2"

Nicole Berner, Biochemie: „Vergleich zweier Methoden zur *in vivo* und *in vitro* Isolation von bovinen Euterepithelzellen aus der Milch"

Katharina Buhl, Biologie: „Cortisol als Indikator für metabolischen Stress"

Manuela Decker, Ernährungswissenschaft: „Untersuchung des Einflusses einer anabolen Behandlung auf die Genexpression im Lebergewebe von Kälbern mit Hilfe von RT-qPCR"

Erik Dolch, Molekulare Biotechnologie: „Lipidstoffwechsel in Milchkühen: Expression wichtiger Genregulatoren im Cholesterinmetabolismus"

Anna Federlein, Ernährungswissenschaft: „Abhängigkeit des Cholesteringehaltes der Milch vom Ovulationszyklus"

Vanessa Kahl, Ernährungswissenschaft: „Einfluss einer exogenen Zufuhr anaboler Steroidhormone auf die Genexpression im Lebergewebe von Kälbern"

Wolfgang Mischko, Molekulare Biotechnologie: „Entwurf und Optimierung von Primern wichtiger Gene der Proteinbiosynthese in den Euterepithelzellen"

Andrea Müller, Molekulare Biotechnologie: „Etablierung einer RNA Extraktionsmethode für bovines Fettgewebe und Analyse von Genexpressionsveränderungen, welche durch den Gebrauch von anabolen Steroiden verusacht werden"

Kim Pawelka, Molekulare Biotechnologie: „Investigation of DNA methylations using High-Resolution-Melt analysis"

Anne Potzel, Ernährungswissenschaft: „Validation of qPCR measurements in bMEC culture models"

Lara Riehl, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchung des Cry1Ab-Proteins mittels ELISA in Fasanenproben nach Verfütterung von Bt-Mais"

Lisa Schürch, Molekulare Biotechnologie: „Quantitative Erfassung von Glycogen in Mikrobioptaten der Rinderleber"

Katharina Wolf, Molekulare Biotechnologie: „Entwicklung von diagnostischen enzymatischen Mikromethoden zur Quantifizierung von Glykogen und Triacylglyceriden in Feinnadel-Leberbiopsien"

Vorträge

Becker, C.:
„Influence of anabolic combinations of an androgen and an estrogen on biochemical pathways in bovine ovary"
International Symposium of Hormone and Veterinary Drug Residue Analysis, Ghent, Belgien, 04.06.2010

Berisha, B.:
„Aspects of food biotechnology"
Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Kosovo, 05.05.2010

„Ovarian function in ruminants"
Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Kosovo, 12.05.2010

„Biotechnology - the current trends of development"
Agriculture University of Tirana, Albania, 14.12.2010

„The advances of biological sciences during the past 40 years"
Agriculture University of Tirana, Albania, 15.12.2010

„Physiological angiogenesis – mechanisms of regulation"
Agriculture University of Tirana, Albania, 16.12.2010

Fürst, R.:
„Analysis of estrogen receptor expression and methylation status in male growing piglets"
43rd Annual Conference of Physiology and Pathology of Reproduction and 35th Mutual Conference on Veterinary and Human Reproductive Medicine, München, 25.02.2010

Gruber, H.:
„Eintragspfade und Degradation von Bt-Protein in landwirtschaftlich genutzten Böden"
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL); 2.1 P Frühjahrs-Arbeitsbesprechung, Freising, 03.03.2010

„Nachweis von Cry1Ab-Protein im Boden nach dreijährigem Bt-Maisanbau"
Fachkolloquium: Untersuchungen zum GVO-Anbau in Sachsen, Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, Köllitsch-Sachsen, 26.04.2010

Kliem, H.:
„Hormone und ihre Wirkungen"
Seminar „Einführung in die Eigenbestandsbesamung" der Niederbayerischen Besamungsgenossenschaft, Rotthalmünster, 01.03.2010

Meyer, S.:
„Quantification of microRNAs – MIQE challenges and solutions"
International qPCR Symposium "The ongoing evolution of qPCR", Wien, Österreich, 07.-09.04.2010

„Existing Methods and New Developments for RT-PCR Analysis in R"
International qPCR Symposium "The ongoing evolution of qPCR", Wien, Österreich, 07.-09.04.2010

„Comparison of Normalization Strategies for miRNA Profiling Analyses"
EMBL Advanced Training Centre, Heidelberg, 07.07.2010

Meyer, H.H.D.:

„Zucht auf neue Produktionsmerkmale"
Gemeinsames Symposium „Das ‚gläserne' Tier: Ein- und Ausblicke in Genome und Gene von Haustieren" der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina und der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (ÖAW), Wien, Österreich, 10.–12.03.2010

„Lebensmittel-Produktion in einer sich ändernden Welt – Aufgaben der molekularen Tierwissenschaften"
Gemeinsames Seminar Tierwissenschaft, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 28.04.2010

„Milch – der besondere Saft"
'Salon ə97', Bayer. Rundfunk 2, München, 18.05.2010

„Milch: Neues aus der molekularen Wissenschaft"
Tag der Agrarwissenschaften der Technischen Universität München, Freising-Weihenstephan, 17.06.2010

„Charakterisierung alter Rinderrassen – Vergleich der Eigenschaften des intramammären Immunsystems mit Epithelzellkulturen aus der Milch"
Sitzung des wissenschaftlichen Beirates des Tierparks Arche Warder, 23.07.2010

„Neue bioanalytische Methoden zur Sicherung der Lebensmittelqualität"
Agrarwissenschaftliches Symposium des Hans Eisenmann-Zentrums, Freising, 20.09.2010

„Effects of metabolic challenges and milking regimens on liver adaptation physiology, metabolism and productivity of dairy cows"
SAPI Silver Jubilee and International Conference on "Physiological Capacity Building in Livestock under Changing Climate Scenario", Izatnagar, Indien, 11.-13.11.2010

„Transkriptions Biomarker-Signaturen nach Doping: mi-RNA, mRNA, Imprinting"
Symposium „Missbrauchspotenzial molekularbiologischer Erkenntnisse im Sport" des Bundesinstitutes für Sportwissenschaft, Bonn, 18.11.2010

Pfaffl, M.W.:

„Recent advances and new perspectives in qRT-PCR"
Advances in Genomics Symposium 2010, ICC, Ghent, Belgien, 28.-29.01.2010

„Neueste Entwicklungen im Bereich der qPCR"
Bayerisches Landesuntersuchungsamt, Oberschleißheim, 10.03.2010

„Quantification of microRNAs - MIQE challenges and solutions"
International Symposium qPCR 2010 – The ongoing evolution of qPCR, Wien, Österreich, 07.-09.04.2010

„mRNA & microRNA integrity - the key to success in real-time RT-PCR"
qPCR Advanced Kurs, Mistelbach, Österreich. 06.-08.05.2010

„How to adapt the MIQE guidelines to microRNA expression profiling."
International Symposium: Developments in Real-Time PCR - Research and Molecular Diagnostics, Göteborg, Sweden, 31.05.-03.06.2010

„mRNA & microRNA integrity - the key to success in real-time RT-PCR"
Invited speakers seminar & qPCR Workshop: Developments in Real-Time PCR - Research and Molecular Diagnostics, Göteborg, Sweden, 01.06.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen France Tour, Seminar at ESPCI Paris Tech, Paris, France, 23.06.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen France Tour, Seminar at University of Lyon, IBCP - Institut de Biologie et Chimie des Protéines Lyon, France, 24.06.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen France Tour, Seminar at University of Monpellier, Centre Régional de Lutte contre le Cancer (CRLC) de la région Languedoc-Roussillon, Montpellier, France, 25.06.2010

„mRNA & microRNA integrity - the key to success in real-time RT-PCR"
EMBL Course Following MIQE Recommendations, EMBL, Heidelberg, Germany, 05.-09.07.2010

„Quantification strategies and efficiency determination"
EMBL Course Following MIQE Recommendations, EMBL, Heidelberg, Germany, 05.-09.07.2010

„Neue bioanalytische Methoden zur Sicherung der Lebensmittelqualität"
Agrarwissenschaftliches Symposium am Hans Eisenmann Zentrum, Freising-Weihenstephan, Germany, 20.09.2010

„The use of high throughput transcriptomics for biomarker development - Anwendung der Transkriptomanalyse im Hochdurchsatz zur Etablierung von Biomarkern"
1. Joint LGL-LMU-TUM Technologie Symposium Hochleistungssequenzierung und Tierseuchendiagnostik, LMU Veterinärmedizinische Fakultät in Oberschleißheim, Germany, 30.09.2010

„Quantification of microRNAs - MIQE challenges and solutions"
qPCR Symposium USA, San Francisco Bay Area, Clarion Hotel San Francisco Airport, Millbrae, CA, USA. 01.-04.11.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen US Tour, John P. McGovern Texas Medical Center Commons Building, Houston, USA, 03.11.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen US Tour, Tufts University School of Medicine, Lecture Hall Harrison Ave Jaharis508, Boston, USA, 04.11.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen US Tour, Joseph B. Martin Conference Center at Harvard Medical School, Boston, USA, 05.11.2010

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen US Tour, Conference Center - Le Meridien Cambridge, Cambridge, USA, 05.11.2010

„The use of qPCR and high throughput transcriptomics for biomarker development. From concept to drug - Cell culture applications in drug discovery & development"
21st BD-STCS Workshop, Hotel Europe, Basel, Switzerland, 16. 11. 2010

Schams, D:

„A brief historical overview and outlook of corpus luteum research in ruminants"
Eingeladener Redner des 8th International Ruminant Reproduction Symposium, Anchorage, Alaska, 03.-14.09.2010

„Corpus luteum physiology"
Postgraduate course "Reproductive Endocrinology in Vertebrates", Uppsala, Sweden, 19.10.2010

Sigl, G.:
„Effects of different milking regimes on metabolism and productivity of dairy cows"
Klinikseminar, Tierärztliche Hochschule Hannover, 05.01.2010

Sigl, T.:

„CLA supplementation of dairy cows in early lactation: effects on milk composition and gene expression in liver tissue"
Klinikseminar, Tierärztliche Hochschule Hannover, 26.01.2010

Ulbrich, S. E.:

„The Fluidigm® dynamic gene expression array revealed embryo-maternal tolerance mechanisms in the bovine endometrium prior to implantation"
Advances in Genomics Symposium 2010, Ghent, Belgien, 28.01.2010

„Analytik von epigenetischen Mechanismen auf Genomebene"
Gemeinsames Symposium „Das ‚gläserne' Tier: Ein- und Ausblicke in Genome und Gene von Haustieren" der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina und der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (ÖAW), Wien, Österreich, 10.–12.03.2010

„Methylation analysis of estrogen receptor alpha in bovine endometrium"
Cost-Gemini Conference, Soustons, Frankreich, 01.10.2010

Viturro, E.:

„Milk cholesterol – Significance for human health"
National Dairy Research Institute, Karnal, Indien, 23.02.2010

Tagungen des Lehrstuhls

Kleinkonferenz zum Forschungsvorhaben „Erhöhung des Milchproteingehaltes: Eine Perspektive für Milcherzeuger, Verbraucher und Industrie"
Seminarraum Wasserwerk am Veitshof, Freising, 02.07.2010

Exkursionen

Exkursion Agrarwissenschaft mit 45 Studierenden
24.-28. Mai 2010 nach Norddeutschland, Brüssel und in die Rheinpfalz

Exkursion im Rahmen der Vorlesung Ökophysiologie und Epidemiologie der Wildtiere 15.01.2010

Exkursion im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie" am 28.06.2010 Hallertauer Ziegenhof Kellner, Tegernbach

Exkursion im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie" am 15.07.2010
Milchprüfring Bayern, Wolnzach

Veröffentlichungen

37 Experimentelle Originalarbeiten

Bartos, L., Schams, D., Bubenik, G.A., Kotrba, R., Tomanek, M.: Relationship between rank and plasma testosterone and cortisol in red deer males (*Cervus elaphus*). Physiology & Behavior 101 (2010) 628-634

Becker, C.; Hammerle-Fickinger, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: mRNA and microRNA quality control for RT-qPCR analysis. Methods 50 (2010) 237-243

Becker, C.; Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Effect of trenbolone acetate plus estradiol on transcriptional regulation of metabolism pathways in bovine liver. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation, Suppl. 2, 2 (2010) 257-265

Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Effect of prostaglandin F2 alpha on local luteotropic and angiogenic factors during induced functional luteolysis in the bovine corpus luteum. Biology of Reproduction 82 (2010) 940-947

Bohuslavova, R.; Kolár, F.; Kuthanova, L.; Neckar, J.; Tichopad, A.; Pavlinkova, G.: Gene expression profiling of gender differences in HIF1-dependent adaptive cardiac responses to chronic hypoxia. Journal of Applied Physiology 109 (4) (2010): 1195-1202

Bollwein, H.; Prost, D.; Ulbrich, S.E.; Niemann, H.; Honnens, A.: Effects of a shortened preovulatory follicular phase on genital blood flow and endometrial hormone receptor concentrations in Holstein-Friesian cows. Theriogenology 73 (2010) 242-249

Dettmer, K.; Almstetter, M.F.; Appel, I.J.; Nürnberger, N.; Schlamberger, G.; Gronwald, W.; Meyer, H.D.; Oefner, P.J.: Comparison of serum versus plasma collection in gas chromatography – Mass spectrometry-based metabolomics. Electrophoresis 31 (2010) 2365-2373

Dzidic, A.; Meyer H.H.D.; Bauer, J.; Pfaffl, M.W.: Long-term effects of mycophenolic acid on the immunoglobulin and inflammatory marker-gene expression in sheep white blood cells. Mycotox Res 26 (2010) 235-240

Groebner, A.E., Schulke, K.; Unterseer, S.; Reichenbach, H.D.; Reichenbach, M.; Büttner, M.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Enhanced proapoptotic gene expression of XAF1, CASP8 and TNFSF10 in the bovine endometrium during early pregnancy is not correlated with augmented apoptosis. Placenta 31 (3)(2010) 168-177

Guertler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Wiedemann, St.; Preißinger, W.; Albrecht, Chr.; Spiekers, H.; Schwarz, F.J.; Meyer, H.H.D.: Long-term feeding of genetically modified corn (MON810) – Fate of cry1Ab DNA and recombinant protein during the metabolism of the dairy cow. Livestock Science 131 (2010) 250-259

Gulia, S.; Sarkar, M.; Kumar, V.; Meyer, H.H.D.; Prakash, B.S.: Divergent development of testosterone secretion in male zebu (Bos indicus) and crossbred cattle (Bos indicus x Bos taurus) and buffaloes (Bubalus bubalis) during growth. Tropical Animal Health and Production 42 (2010) 1143-1148

Hammerle-Fickinger, A.; Riedmaier, I.; Becker,C.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.; Ulbrich, S.E.: Validation of extraction methods for total RNA and miRNA from bovine blood prior to quantitative gene expression analyses. Biotechnology Letters 32 (2010) 35-44

Kaczmarek, M.M.; Blitek, A.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Effect of luteinizing hormone and tumour necrosis factor-alpha on VEGF secretion by cultured porcine endometrial stromal cells. Reproduction in Domestic Animals 45 (2010) 481-486

Kaczmarek, M.M.; Krawcynski, K.; Blitek, A., Kiewisz, J.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Seminal plasma affects prostaglandin synthesis in the porcine oviduct. Theriogenology 74 (2010) 1207-1220

Kitchen, R.R.; Kubista, M.; Tichopad, A.: Statistical aspects of quantitative real-time PCR experiment design. Methods 50 (2010) 231-236

Klein, M.S.; Almstetter, M.F.; Schlamberger, G.; Nürnberger, N.; Dettmer, K.; Oefner, P.J.; Meyer, H.H.; Wiedemann, S.; Gronwald, W.: Nuclear magnetic resonance and mass spectrometry-based milk metabolomics in dairy cows during early and late lactation. Journal of Dairy Science 93 (2010) 1539-1550

Klipper, E.; Levit, A.; Mastich, Y.; Berisha, B.; Schams, D.; Meidan, R.: Induction of endothelin-2 expression by luteinizing hormone and hypoxia: Possible role in bovine corpus luteum formation. Endocrinology 151 (2010) 1914-1922

Mair, Ch.; Plitzner, Ch.; Pfaffl, M.W.; Schedle, K.; Meyer, H.H.D.; Windisch, W.: Inulin and probiotics in newly weaned piglets: effects on intestinal morphology, mRNA expression levels of inflammatory marker genes and haematology. Archives of Animal Nutrition 64 (2010) 304-321

Masanetz, S.; Wimmer, N.; Plitzner, C.; Limbeck, E.; Preißinger, W.; Pfaffl, M.W.: Effects of inulin and lactulose on the intestinal morphology of calves. Animal 4:5 (2010) 739-744

Meyer, S.U.; Pfaffl, M.W., Ulbrich, S.E.: Normalization strategies for microRNA profiling experiments: a „normal" way to a hidden layer of complexity? Biotechnol Lett 32 (2010) 1777-1788

Miyamoto, A.; Shirasuna, K.; Shimizu, T.; Bollwein, H.; Schams, D.: Regulation of corpus luteum development and maintenance: specific roles of angiogenesis and action of prostaglandin F2α. 20b-Miyamoto.indd 1

Paul, V.; Guertler, P.; Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.: Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. Transgenic Research 19 (2010) 683-689

Pfaffl, M.W.: The ongoing evolution of qPCR (Guest Editor´s Introduction): Methods 50 (2010) 215-216

Reiter, M.; Tichopad, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Monitoring gene expression in muscle tissue of macaca fascicularis under the influence of testosterone and SARM. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation 1 (2010) 73-79

Riestra, P.; Garcia-Anguita, A.; Viturro, E.; Schoppen, S.; de Oya, M.; Garcés, C.: Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents. Annals of Human Genetics 74 (2010) 335-339

Sarkar, M.; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha B.: The expression of leptin and its receptor during different physiological stages in the bovine ovary. Molecular Reproduction & Development 77 (2010) 174-181

Schilffarth S, Berisha B.: Adrenomedullin signalling in bovine corpus luteum during oestrous cycle, gravidity and induced luteolysis. Albanian Journal of Agricultural Sciences 2010: 2 (10): 9-17.

Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Viturro, E.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.: Effects of continuous milking during the dry period or once daily milking in the first 4 weeks of lactation on metabolism and productivity or dairy cows. Journal of Dairy Science 93 (2010) 2471-2485

Sigl, T.; Schlamberger, G.; Kienberger, H.; Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.: Rumen-protected conjugated linoleic acid supplementation to dairy cows in late pregnancy and early lactation: effects on milk composition, milk yield, blood metabolites and gene expression in liver. Acta Veterinaria Scandinavica 52 (2010) 16

Steinke, K., Guertler, P., Paul, V., Wiedemann, S., Ettle, T., Albrecht, C., Meyer, H.H.D., Spiekers, H., Schwarz, F.J.: Effects of long-term feeding of genetically modified corn (event MON810) on the performance of lactating dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 94 (5) (2010) 185-193

Sarkar, M.; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: The Expression of Thrombopoietin and its Receptor During Different Physiological Stages in the Bovine Ovary. Reproduction in Domestic Animals, in press

Tichopad, A.; Bar, T.; Pecen, L.; Kitchen, R.R.; Kubista, M.; Pfaffl, M.W.: Quality control for quantitative PCR based on amplification compatibility test. Methods 50 (2010) 308-312

Ulbrich, S.E.; Zitta, K.; Hiendleder, S.; Wolf, E.: In vitro systems for intercepting early embryo-maternal cross-talk in the bovine oviduct. Theriogenology 73 (2010) 802-826

Veiga, M.I.; Ferreira, P.E.; Schmidt, B.A.; Ribacke, U.; Björkman, A.; Tichopad, A.; Gil, J.P.: Antimalarial Exposure Delays Plasmodium falciparum Intra-Erythrocytic Cycle and DriesDrug Transporter Genes Expression. PLoS One 5 (8) (2010) 1-8

Viturro, E.; Meyer, H.H.D.; Gissel, C.; Kaske, M.: Rapid method for cholesterol analysis in bovine milk and options for applications. Journal of Dairy Research 77 (2010) 85-89

Wiltafsky, M.K.; Pfaffl, M.W.; Roth, F.X.: The effects of branched-chain amino acid interactions on growth performance, blood metabolites, enzyme kinetics and transcriptomics in weaned pigs. British Journal of Nutrition 103 (2010) 964-976

Zanvit, P.; Tichopad, A.; Havlicková, M.; Novotna, O.; Jirkovská, M.; Kolostova, K.; Cechova, D.; Julak, J.; Sterzl, I.; Prokesova, L.: Adjuvant effect of Bacillus firmus on the expression of cytokines and toll-like receptors in mouse nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT) after intranasal immunization with inactivated influenza virus type A. Immunology Letters 134 (2010) 26-34

4 Mitteilungen für die Praxis

Becker, C.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.: RNA quality control in miRNA expression analysis. Agilent Application Note 5990-5557 EN

Huggett, J.; Noir, A.A.; Pfaffl, M.W.: qPCR Roundtable - Current Technologies and Future Applications. European Pharmacological Review; Issue 2 (2010): 17-19

Pfaffl, M.W.: MIQE Richtlinien - Qualität und Richtigkeit von qPCR-Ergebnissen steigern. Laborwelt, ISSN 1611-0854, Spezial Ausgabe PCR – Dezember 2010 (6): 30-31

Schilffarth, S.; Berisha, B.: Adrenomedullin signalling in bovine corpus luteum during oestrous cycle, gravidity and induced luteolysis. Albanian Journal of Agricultural Sciences 10, Nr. 2 (2010) 9-17

2 Reviews, Buchkapitel

Gruber, H.; Paul, V.; Spiekers, H.; Meyer, H.H.D.; Müller, M.: Eintragspfade und Degradation von Bt-Protein in landwirtschaftlich genutzten Böden. Schriftenreihe zur 3. Fachtagung „Gentechnik für Umwelt- und Verbraucherschutz“, Oberschleißheim, 02.12.2009, Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Tagungsband (2010) S. 23-37, ISBN 978-3-942018-02-9

Meyer, H.H.D.; Spiekers, H.; Schwarz, F.; Guertler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Preißinger, W.; Albrecht, C.; Wiedemann, S.: Einsatz von transgenem Mais (MON810) bei Milchkühen. Schriftenreihe zur 3. Fachtagung „Gentechnik für Umwelt- und Verbraucherschutz“, Oberschleißheim, 02.12.2009, Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Tagungsband (2010) S. 12-22, ISBN 978-3-942018-02-9

Versuchsstation Veitshof

Adresse

Veitsmüllerweg 4
D-85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-984 9999
Telefax: 08161-984 9999

Personal

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

Allgemeines

a) Bodennutzung

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

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2010	56	Kühe
	17	Kalbinnen
	28	Jungrinder
	16	Kälber

	117	Rinder
	==========	
und	6	Ziegen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:

9623 kg Milch, 344,3 kg Eiweiß, 3,58 % Eiweiß, 415,5 kg Fett, 4,32 % 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 von Rind, Schwein und Kaninchen wurden Anatomie und Physiologie des männlichen und weiblichen Genitaltrakts ausführlich erläutert. Im Rahmen von praktischen Übungen konnten Studierende Kühe der Milchviehherde rektalisieren und erlernten die Prinzipien von Zykluskontrolle und Brunstbeobachtung. 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.

Folgende Seminare wurden durchgeführt:

- Einführung in die klinische Arzneimitteltestung anhand von Tiermodellen
- Biostatistik und Chemometrie in der klinischen Forschung und Diagnostik
- Pheromone, Ovarphysiologie, Zyklus und Gravidität bei Luchs und Elefant

Forschung

Bestimmung von stoffwechselphysiologischen und molekularbiologischen Einflüssen auf den Milchproteingehalt während der Laktation bei unterschiedlichem Leistungsniveau und Milchproteingehalten von Kühen

Durchführung metabolischer Challenges und intravenöser Glucosetoleranztests zur Untersuchung der metabolischen Reaktion von Rindern bei unterschiedlichem Leistungsniveau und Milchproteingehalt

Gewinnung von Leberproben zur Untersuchung der Expression von Genen des Fett-, Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsels und zur Bestimmung von biochemischen Parametern

Gewinnung von Muskelproben zur Untersuchung der Glucoseaufnahme im peripheren Gewebe

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

Untersuchungen zum Zusammenhang von Zellzahlgehalt in der Milch und dem Brunstzyklus.

Gewinnung von Milchproben zur Bestimmung der Cholesterin- und Progesteronkonzentration über zwei Brunstzyklen.

Etablierung einer primären Euterepithelzellkultur aus Milch.

Extraktion von Leukozyten aus der Milch während der Frühträchtigkeit.

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

Gewinnung von Antikörpern gegen Laktoferrin, Interleukin-8, Interferon-tau, Salbutamol, Ractopamin und Immunglobulin-G in Kaninchen sowie gegen Immunglobulin-G in Ziegen zur Entwicklung von Enzymimmunoassays.

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.

Nach dem Ausscheiden der letzten Mitarbeiter im Jahr 2009 wurden von Prof. Weindlmaier verschiedene Arbeiten auch im Jahr 2010 fortgeführt.

Forschung

Molkereistruktur und ihre Bedeutung für die Milchpreisfindung

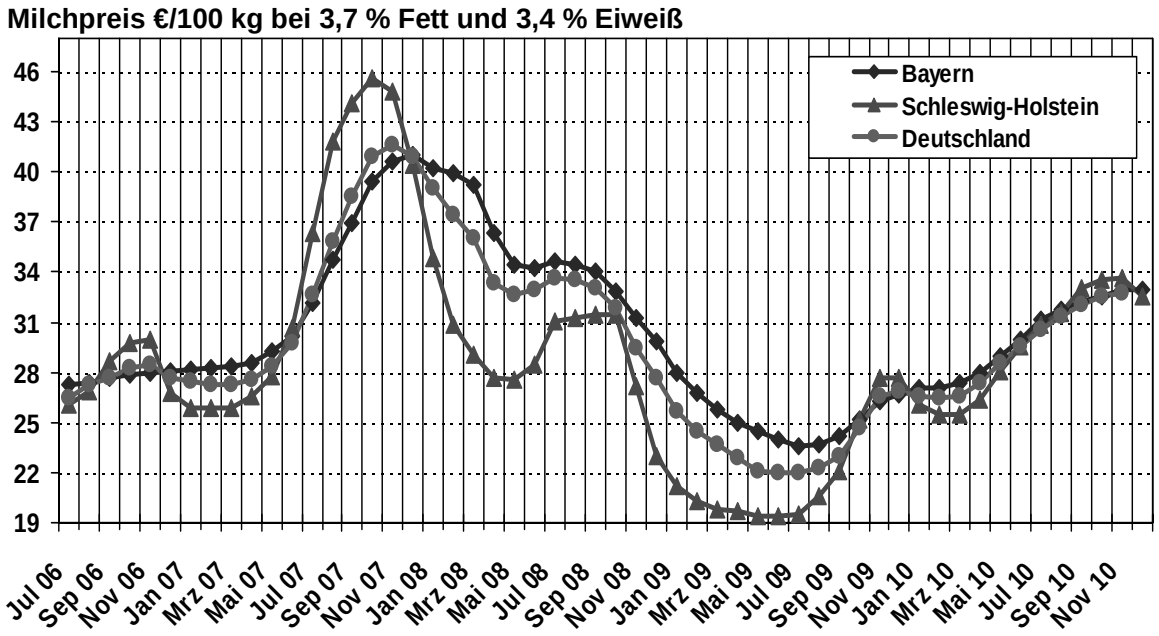
Dairy structure and their meaning for the determination of raw milk prices

Weindlmaier, H.

Bei Überlegungen zur Höhe der Milcherzeugerpreise sind aus betriebswirtschaftlicher Sicht zwei wichtige Rahmenbedingungen zu berücksichtigen: Erstens ist die Höhe des gezahlten Milchpreises für viele Milcherzeuger von zentraler Bedeutung für die Höhe ihres Einkommens. Beispielsweise stammten etwa 51 % der Verkaufserlöse der bayerischen Landwirtschaft im Jahr 2008 aus dem Verkauf der Milch sowie der damit verbunden Rind- und Kalbfleischproduktion.[1] Der ausgezahlte Milchpreis ist jedoch auch für die Molkereien von nicht minder großer Bedeutung. Je nach Produktionsrichtung sind etwa 50 – 90 % der Kosten einer Molkerei Rohstoffkosten.

Die Milcherzeugerpreise weisen sowohl zwischen den einzelnen Bundesländern als auch zwischen den einzelnen Regionen eines Landes sowie im Zeitablauf erhebliche Unterschiede auf. Im Jahr 2009 betrug der durchschnittliche Milchpreis bei 3,7 % Fett und 3,4 % Eiweiß (ab Hof, o. MwSt) 25,50 Ct/kg in Bayern und 22,05 Ct/kg in Schleswig-Holstein (vgl. Abb. 1).

[1] Vgl. Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten (2008): Bayerischer Agrarbericht 2010.



Quelle: Eigene Darstellung basierend auf BMELV, Stat. Monatsberichte, Milchpreis ab Hof o. MwSt.; Dez. 2010
ZMB (2011): Dairy World / Marktinfo Milch, S. 8, 26.01.2011.

Abb. 1: Milcherzeugerpreise in ausgewählten Ländern, Juli 2006 – Dezember 2010

Interessant ist, dass im Jahr 2010 die Länderdurchschnittspreise weitgehend konvergierten. Die Ursache dafür wird darin gesehen, dass die norddeutschen Molkereien 2010 von den günstigen Versandmilchpreisen profitierten. Dennoch sind die Unterschiede zwischen einzelnen Molkereien nach wie vor beachtlich. Bundesweit betrug 2009 der Unterschied zwischen der am besten und der am schlechtesten auszahlenden Molkerei nach dem AMI Milchpreisvergleich bei 4,2 % Fett und 3,4 % Eiweiß 7 ct/kg. Im Dezember 2010 betrug der Unterschied zwischen der am besten und der am schlechtesten auszahlenden Molkerei in Bayern 4,11 ct/kg. In Norddeutschland (Niedersachsen plus Schleswig-Holstein) war die Differenz mit 6,25 ct/kg noch größer.[2:]

Bestimmungsfaktoren für die Höhe der Milcherzeugerpreise

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, wovon der Rohmilchpreis, den der einzelne Milcherzeuger erhält, abhängig ist. Im Vordergrund steht in diesem Beitrag die Frage, ob und inwieweit die Molkereistruktur darauf einen Einfluss hat.

Abb. 2 zeigt, dass wir vier Gruppen von Bestimmungsfaktoren der Milcherzeugerpreise unterscheiden müssen. Entscheidend für die Rohmilchpreise sind erstens die Marktentwicklungen und die realisierten Maßnahmen der Marktpolitik. Diese bestimmen die Absatzmöglichkeiten und Erlöse, welche die Molkerei für die aus der Rohmilch hergestellten Produkte erzielt. Diese wiederum werden u.a. bestimmt durch die Nachfrage auf den Milchproduktmärkten im In- und Ausland. Vor allem die letzten Jahre haben gezeigt, dass die Entwicklung der Weltmarktpreise für Milchprodukte erheblichen Einfluss auch auf die Milchpreise in der EU und in Deutschland haben. Wichtig sind auch die Maßnahmen der EU-Milchmarktordnung. Aufgrund der Entscheidungen im Rahmen der Reform der GAP 2003 in Luxemburg sowie beim Health Check im November 2009 ist allerdings der Einfluss der Maßnahmen der Milchmarktordnung stark zurück gegangen und wird weiter zurück gehen.

2 Preise basieren auf Online-Milchpreisbarometer von top-agrar.

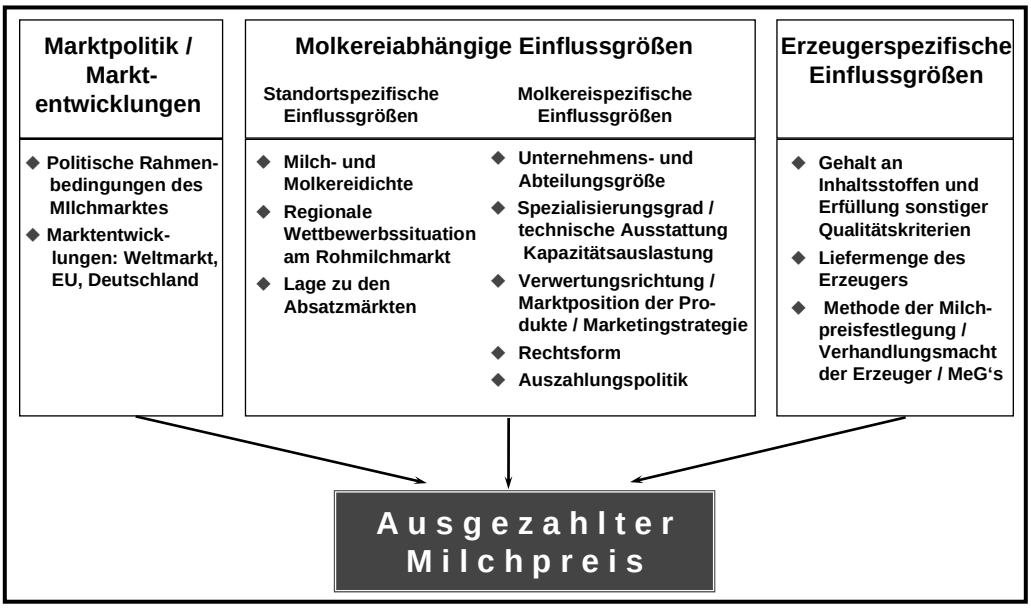


Abb. 2: Bestimmungsfaktoren für die Höhe der ausgezahlten Milchpreise

Als zweite Gruppe von Preisdeterminanten sind eine ganze Reihe von Einflussfaktoren zu nennen, die von der jeweiligen Molkerei, an die die Milch geliefert wird, abhängig sind. Die erste Untergruppe sind die standortspezifischen Einflussgrößen, etwa die Milchdichte in einer Region und die Molkereidichte sowie die regionale Wettbewerbssituation, die kurzfristig nur sehr begrenzt aktiv beeinflusst werden können.

Große Bedeutung für die Milcherzeugerpreise haben schließlich die molkereispezifischen Einflussgrößen. Diese können aktiv vom Management gesteuert werden. Auf diese Einflussgrößen wird im Folgenden näher eingegangen.

Der vierte Einflusskomplex für die realisierten Milcherzeugerpreise hängt unmittelbar von den Milcherzeugern bzw. Milcherzeugergruppierungen ab. Entscheidend ist der Gehalt der vom einzelnen Milcherzeuger an die Molkerei gelieferten Milch an Inhaltsstoffen sowie die Erfüllung verschiedener Qualitätskriterien der Milch (z.B. Anteil der S-Klasse, Keim- und Zellzahl, Vorhandensein spezifischer Merkmale, etwa Biomilch oder gentechnikfreie Milch). In der letzten Dekade hat auch die Liefermenge der einzelnen Erzeuger an Bedeutung gewonnen, da Erzeuger mit großer Liefermenge häufig höhere Milcherzeugerpreise durchgesetzt haben. Eine steigende Bedeutung kommt schließlich der Verhandlungsmacht der Erzeuger bzw. der Erzeugergemeinschaften zu.

Der Einfluss molkereispezifischer Einflussgrößen auf die Höhe der Milcherzeugerpreise

Bei den molkereispezifischen Einflussgrößen der Milcherzeugerpreise kommt zweifellos der Unternehmens- und Betriebsstättengröße eine erhebliche Bedeutung zu.

Eine erste wichtige Ursache sind die Möglichkeiten, die Unternehmen mit großen Betriebsstätten bzw. großen Produktionsabteilungen haben, die Stückkosten in der Produktion, Verwaltung, Logistik etc. zu senken. Die gegenwärtigen Herstellungsmengen in deutschen Molkereien liegen überwiegend in einem Bereich, in dem noch erhebliche weitere Kosteneinsparungen möglich erscheinen. Allerdings ermöglichen große Betriebsstätten nur dann tatsächlich Kosteneinsparungen, wenn diese eine hohe Auslastung aufweisen. Mittelgroße Betriebsstätten mit hoher Auslastung produzieren häufig billiger als Unternehmen mit großen Verarbeitungsbetrieben, die schlecht ausgelastet sind.

Tabelle 1 liefert am Beispiel einiger Produktgruppen Hinweise auf die tatsächliche Größenstruktur in der deutschen Milchverarbeitung. In der Tabelle ist jeweils die Anzahl der nehmen angegeben, in denen das entsprechende Produkt hergestellt wird. In der zweiten Zeile ist aufgeführt, welcher Anteil der Unternehmen eine Produktionsmenge herstellen, die auf der Basis von Modelluntersuchungen für mindestens notwenig gehalten wird, um die Möglichkeiten der Stückkostendegression zumindest einigermaßen zu nutzen.[3] Die Tabelle macht deutlich, dass die Produktionsmengen je Molkereiunternehmen nach wie vor relativ niedrig sind: Beispielsweise haben nur gut ein Fünftel der Molkereiunternehmen eine Herstellmenge von mehr als 50.000 t Konsummilch und mehr als 5.000 t Butter. In der Käseherstellung sind es immerhin knapp ein Drittel der Unternehmen, die eine Herstellmenge von mehr als 10.000 t aufweisen. Zum Vergleich ist darauf hinzuweisen, dass in den größten deutschen und europäischen Käsereien mittlerweile ein Output von mehr als 100.000 t Käse pro Jahr erzielt wird.

Tabelle 1: Entwicklung der Produktionsstruktur deutscher Molkereien

Anzahl der Molkereiunternehmen, die das aufgeführte Produkte herstellen:	Jahr	
	1997	2006
Konsummilch	202	125
davon mehr als 50.000 t/a in %	18,3	21,6
Butter und ähnliche Erzeugnisse	157	96
davon mehr als 5.000 t/a in %	17,8	20,9
Käse	217	154
davon mehr als 10.000 t/a in %	22,6	31,6

Quelle: Eigene Zusammenstellung basierend auf BMELV (2007): Die Unternehmensstruktur der Molkereiwirtschaft in Deutschland und eigenen Berechnungen.

Große Molkereiunternehmen haben grundsätzlich wesentliche Vorteile im Marketing, in der Markenführung, in der Produktentwicklung und in der Internationalisierung. Die erforderlichen finanziellen Mittel für Produktinnovation, für die Werbung und für den Aufbau einer internationalen Präsenz in Zukunftsmärkten sind so hoch, dass diese ein mittelständisches Molkereiunternehmen kaum aufbringen kann. Beispielsweise gab das mit einem Tochterunternehmen auch für die deutsche Milchindustrie wichtige holländische Unternehmen FrieslandCampina im Durchschnitt der Jahre 2008 und 2009 jährlich 53 Mio. € für Forschung und Entwicklung aus. Mehr als 500 Spezialisten sind in diesem Bereich in acht Entwicklungszentren beschäftigt.[4] Danone Deutschland gab im Jahr 2009 einen Betrag von 207 Mio. € für Werbung aus, die Molkerei Müller etwa 82 Mio. €.[5]

[3] Dabei wird davon ausgegangen, dass das jeweilige Produkt in den einzelnen Unternehmen nur in einer einzigen Betriebsstätte hergestellt wird. Vgl. auch BUSCHENDORF, H.; WEINDLMAIER, H. (2007): Kosteneinsparungen durch optimierte Strukturen in der Molkereiwirtschaft. In: Deutsche Milchwirtschaft, 58. Jg., Nr. 2, S. 63-67.

[4] Vgl. http://www.hollandtrade.com/vko/zoeken/showbouwsteen.asp?bstnum=2542 (10.06.2009); FrieslandCampina (2010): Annual report 2009; FrieslandCampina (2010): Welcome to Royal FrieslandCampina, In: http://www.bcfevent.nl/page/287/87 (05.07.2010).

[5] Vgl. Zentralverband der deutschen Werbewirtschaft ZAW (2010): Werbung in Deutschland 2010. Berlin: Verlag edition ZAW, S. 178-179.

Große Unternehmen mit mehreren spezialisierten Betriebsstätten für verschiedene Produktbereiche haben zum einen die Möglichkeit, je nach Marktsituation die Schwerpunkte der Verarbeitung der anfallenden Rohmilch zu variieren. Zum anderen sind sie in der Lage, niedrige

Nettoverwertungen in einem Produktbereich durch hohe Nettoverwertungen in andern Bereichen zu kompensieren. So wichtig eine Spezialisierung im Produktionsprogramm heute aus Kostengründen ist, so riskant ist diese unter dem Aspekt zeitlich unterschiedlicher Entwicklungen in der Verwertung einzelner Produkte. Unter Risikogesichtspunkten weisen daher Molkereiunternehmen mit mehreren spezialisierten Produktionsstätten erhebliche Vorteile auf und sind nicht so abhängig von der steigenden Volatilität der Milchpreise am Weltmarkt.

Große Molkereiunternehmen sind in der Lage, Kosteneinsparungen in der Beschaffung von Produktionsfaktoren und Kapital zu realisieren: Durch die Bündelung von Einkaufsmacht ist es möglich, günstigere Rabattstaffeln bei der Beschaffung von Fruchtzubereitungen, Reifungskulturen, Verpackungsmaterialien etc. nutzen zu können. Auch in der Eigenkapitalbeschaffung sowie bei der Beschaffung von Fremdkapital weisen große Unternehmen eindeutig Vorteile auf.

Die Größe der Molkereiunternehmen und die damit zusammenhängende Möglichkeit der Bündelung von Absatzmengen hat nicht zuletzt erheblichen Einfluss auf die Machtposition in den Verhandlungen mit Abnehmern der Produkte, insbesondere den Giganten des Lebensmittelhandels. Die Forderungen der bäuerlichen Seite nach einer stärkeren Konzentration der Molkereiwirtschaft werden tatsächlich häufig wie folgt formuliert: „Eine höhere Konzentration ist eine Voraussetzung dafür, um mit dem Lebensmittelhandel auf Augenhöhe verhandeln und damit höhere Milchproduktpreise durchsetzen zu können“. Aktuelle Konzentrationsvorgänge, etwa die Fusion der Nordmilch AG und der Humana Milchindustrie GmbH, wurden u.a. mit diesem Argument begründet. Dennoch darf dieses Argument nicht überbewertet werden: Solange in der EU erhebliche Überschüsse am Milchmarkt gegeben sind und die Abnehmer immer wieder alternative Anbieter im In- und Ausland finden, die aufgrund des Absatzdrucks gezwungen sind, ihre Produkte auch zu einem niedrigeren Preis abzugeben, bleibt diese Waffe relativ stumpf.

Größe bedeutet allerdings nicht unbedingt höhere Milchpreise! Die potentiellen Vorteile der Größe werden in der Praxis häufig durch Managementfehler und unterlassene interne Anpassungsmaßnahmen konterkariert. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass Konzentrationsvorgänge häufig erst dann erfolgen, wenn eine oder beide (alle) beteiligten Molkereien in wirtschaftliche Turbulenzen geraten sind. Naturgemäß dauert es dann mehrere Jahre, bis sich die neu erreichte Größe in einer besseren Auszahlungsmöglichkeit niederschlägt.

Unabhängig von der Größe hängt der Auszahlungspreis noch von zwei weiteren wichtigen molkereispezifischen Einflussgrößen ab. Es ist dies zum einen der regionale Wettbewerb und die Leistungsfähigkeit der Molkereien in der Region. Diesbezüglich liegt ein deutliches Süd-Nordgefälle vor. Im Durchschnitt der Jahre 2005 – 2009 lag der Milchpreis in Bayern um 2,32 Ct/kg (bei 3,7 % Fett und 3,4 % Eiweiß, o. MwSt.) höher als in Schleswig-Holstein. Zum anderen spielt die jeweilige Auszahlungspolitik der Molkerei eine wichtige Rolle. Hier geht es um die Frage, wie der erwirtschaftete Überschuss einer Molkerei verwendet wird: Wird dieser überwiegend als Milchgeld oder als Gewinn (etwa bei Privatmolkereien) ausgeschüttet oder wird dieser thesauriert und zur Sicherung der nachhaltigen Unternehmensexistenz und Leistungskraft in Molkereiunternehmen reinvestiert.

Tabelle 2 zeigt den Zusammenhang zwischen der Größe von Molkereiunternehmen im Jahr 2008 und dem durchschnittlichen Auszahlungspreis. Die Erzeugerpreise beziehen sich auf Milch mit 4,2 % Fett und 3,4 % Eiweiß inkl. Zu- und Abschläge. Bei Unternehmen mit mehreren Betriebsstätten sind die Preise in den verschiedenen Betriebsstätten angegeben.

Im oberen Teil von Tabelle 2 sind die 10 größten Molkereiunternehmen Deutschlands im Jahr 2008 aufgeführt (Rangfolge nach Umsatz), im unteren Teil jene 10 Molkereien, die im Durchschnitt der Jahre 2004 - 2008 die höchsten Milcherzeugerpreise bezahlt haben. Es zeigt sich, dass – in Anpassung an die regionale Wettbewerbssituation – in der Liste der Unternehmen mit den höchsten Milcherzeugerpreisen nur zwei Unternehmen (Molkerei Alois Müller und Campina GmbH) enthalten sind, die auch zu den Top 10 nach Unternehmensgröße zählen. Einschränkend ist allerdings darauf hinzuweisen, dass die hohen Milcherzeugerpreise auch nur in den süddeutschen Standorten dieser Unternehmen bezahlt wurden.

Tabelle 2: Molkereigröße versus Höhe der Auszahlungspreise

Rang Umsatz / Rang Milchpreis	Unternehmen	Umsatz im Jahr 2008 Mio. €	Milchmenge im Jahr 2008 Mio. kg	Ø Auszahlungspreis 2004 - 2008 bei 500 t ct/kg*
1	Nordmilch Konzern	2500,00	4100,00	29,4
2	Humana Gruppe	2301,00	3000,00	30,9
3	Müller Gruppe	1769,00	2150,00	32,9 / 31,4
4	FrieslandCampina	1482,00	983,00	32,7 / 31,8 / 30,9
5	Hochwald	1170,00	1900,00	32,4 / 32,0 / 31,1
6	Hochland	1100,00	496,00	32,4
7	Bayernland	1000,00	700,00	31,9
8	Zott	790,00	670,00	32,6
9	Ehrmann Konzern	664,00	441,00	32,6
10	Meggle	635,00	420,00	32
1	MW Berchtesgadener Land	167,00	216,00	33,7
2	Milchunion Hocheifel	620,00	1076,00	33,4
3	MW Oberfranken West	206,00	389,00	33,1
4	MW Ingolstadt-Thalmässing	56,00	109,00	32,9
5	Molkerei Alois Müller Aretsried	1768,00	2150,00	32,9
6	Weißenhorner Molkerei GmbH	n.v.	26,00	32,7
7	Emmentalerwerk Kimratshofen	110,00	320,00	32,7
8	Campina GmbH	1482,00	983,00	32,7
9	Molkereigenossenschaft Rothenburg	n.v.	21,00	32,7
10	Stegmann	180,00	250,00	32,7

Quelle: Eigene Darstellung nach molkerei industrie. Branchenübersicht Milchindustrie 2010 und SCHOCH, R. (2009): Das waren Preise zum Träumen. AMI-Milchpreisvergleich 2009. In: dlz agrarmagazin, Nov. 2009, S. 168-174.

Fazit

Die Analyse in diesem Beitrag zeigt, dass die Größe der Molkereiunternehmen und -betriebsstätten einen wichtigen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit einer Molkerei hat. Eine Molkereistruktur mit großen Unternehmen und Betriebsstätten eröffnet damit auch das Potential, den Milchlieferanten hohe Milcherzeugerpreise zu bezahlen. Es wird jedoch auch deutlich gemacht, dass die Höhe der jeweiligen Auszahlungspreise von einer Vielzahl weiterer Einflussfaktoren bestimmt wird, durch welche die Vorteile der Größe konterkariert werden können. Eine Molkereistruktur mit großen Unternehmen und Betriebsstätten allein reicht nicht aus, um hohe Auszahlungspreise zu garantieren.

Vorträge

Weindlmaier, Hannes

„Entwicklungen am Milchmarkt - Perspektiven und Strategien der deutschen Milch- und Molkereiwirtschaft“
Vortragsreihe der Hans-Eisenmann-Akademie, Freising-Weihenstephan, 20.01.2010.

„Aktuelle Rahmenbedingungen der Milch- und Molkereiwirtschaft – Handlungsbedarf der Milcherzeuger und Molkereien“
19. Unternehmertag der Höheren Landbauschule Bayreuth, Himmelkron, 18.02.2010.

„Perspektiven und Strategien der Milch- und Molkereiwirtschaft“
Fachtagung des Verbands für landwirtschaftliche Fachbildung Neumarkt, Hollerstetten, 24.02.2010.

Moderation einer Podiumsdiskussion des Milchindustrieverbandes und des Deutschen Bauernverbandes mit den Sprechern der im Bundestag vertretenen Parteien beim Milchforum 2010 zum Thema: „Landwirte treffen Politiker“
Estrel Hotel in Berlin, 18.03.2010.

„Perspektiven auf dem Milchmarkt: Einflussfaktoren auf Angebot und Nachfrage, Absatz und Handel“
Kompetenzseminar für die landw. Betriebsführung der LfL Bayern, Rohrdorf, 02.11.2010.

„Perspektiven auf dem Milchmarkt: Einflussfaktoren auf Angebot und Nachfrage, Absatzmärkte und Handelsströme“
Kompetenzseminar für die landw. Betriebsführung der LfL Bayern, Barbing, 29. 11. 2010.

„Rahmenbedingungen und Perspektiven auf dem Milchmarkt: Globale Entwicklungen von Angebot und Nachfrage, Konsequenzen für die Molkereiwirtschaft“
Kompetenzseminar der LfL Bayern für die landw. Betriebsführung, Weichering, 01. 12.2010.

Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen

Auf Einladung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz Teilnahme an einer Gesprächsrunde „Milch- und Molkereisektor“ am 16.02.2010 an der Universität Göttingen.

Mitglied der Jury im Förderwettbewerb Ernährung NRW des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz sowie des Ministeriums für Wirtschaft, Mittelstand und Energie des Landes Nordrhein-Westfalen. In diesem Zusammenhang: Schriftliche Bewertung der eingereichten Wettbewerbsbeiträge und Teilnahme an der Jurysitzung am 29.09. – 30.09.2010 in Düsseldorf.

Mitglied im Beirat des Kompetenzzentrums Milch – Schleswig-Holstein (KMSH) mit Bewertung der Projektbeiträge und Teilnahme am KMSH-Jahrestreffen am 21.10.2010 in Kiel.

Gutachter im Zusammenhang mit der Besetzung des Lehrstuhls „Ökonomie der Milch- und Ernährungswirtschaft“, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Beratung, Medienarbeit

In Zusammenarbeit mit einer im Molkereisektor etablierte Consulting Erstellung eines Gutachtens zum Thema: „Weitere wirtschaftliche Selbständigkeit der Tirol Milch oder Einbringung der Tirol Milch in die Berglandmilch: Potentielle Chancen und Risiken." Gutachtenerstellung und Vortrag der Ergebnisse vor dem Vorstand und Aufsichtsrat sowie vor der Generalversammlung der Tirol Milch am 25.08.2010 in Innsbruck.

Experteninterview mit Dow Jones Milchmarkt Monitor zum Thema: „Neuordnung des Milchmarktes" am 13.12.2010.

Veröffentlichungen

Dustmann, H.; Weindlmaier, H. (2010): Der Endverbraucher der Zukunft – Erwartungen und Anforderungen an die Nahrungsmittelindustrie. In: Meyer, A. H. (Hrsg.): Lebensmittel heute – Qualität & Recht. Hamburg: Behrs, S. 17-31.

Weindlmaier, H.; Huber, A. (2010): Viel Milchgeld verbrennt auf der Straße. In: top agrar 2/2010, R10-R12.

Weindlmaier, H. (2010): Chancen und Probleme der Internationalisierung der deutschen Molkereiwirtschaft. Teil 1: Bedeutung der Internationalisierung für die deutsche Molkereiwirtschaft. In: dmz Deutsche Molkereizeitung 10/2010, S. 20-23; Teil 2: Erfolgsfaktoren der Internationalisierung milchverarbeitender Unternehmen. In: dmz Deutsche Molkereizeitung, 11/2010, S. 23-27.

Weindlmaier, H. (2010): Internationalisierung als strategische Herausforderung der deutschen Molkereiwirtschaft. Milchwissenschaftliche Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL), Technische Universität München, S. 40-50.

Weindlmaier, H. (2010): Kostensenkungspotentiale in der Molkereiwirtschaft. In: molkereiindustrie, Teil 1: 07/10, S. 17-20; Teil 2: 08/10, S. 21-24.

Weindlmaier, H. (2010): Mengensteuerung am Milchmarkt: Ein immer wieder aktuelles Problem. In: Agra-Europe, EU-Nachrichten, Sonderbeilage; dmz Deutsche Molkereizeitung 23/2010, S. 30 – 33; Online auf der website des Milchindustrieverbandes. http://www.milchindustrie.de/ vom 27.10.2010.

Weindlmaier, H. (2010): Molkereistruktur und Milchpreisfindung. In: Mais Die Fachzeitschrift für den Maisanbauer, Nr. 4/2010, S. 120-123.

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung

Adresse

Alte Akademie 16
D- 85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-71-3516
Telefax: 08161-71-4501
Internet: http://www.mcr.wi.tum.de
E-Mail: mcr@tum.de

Personal:

Leitung:	Prof. Dr. Jutta Roosen	-3318
Sekretariat:	Flax Renate	-3316
	Brandstetter Helga	-3316
Wissenschaftler:	PD Dr. Gedrich Kurt	-3985
	Dr. oec.troph Drescher Larissa	-3974
	Dr. oec.troph Zängler Thomas	-5086
	Dipl.-Ökotroph. Dittrich Juliane	-5087
Doktoranden:	Aue Katja M.Sc.	-3297
	Bieberstein Andrea M.Sc.	-3577
	Köttl Barbara M.Sc.	-3949
	Leithold Franziska M.Sc.	-3869
	Dipl.-Ökotroph. Lax Jutta	-3869
	Mecking Rebecca M.Sc.	-3577
	Olearius Götz M.A.	-3972
	Dipl.-Ökotroph.(FH) Richter Almut	-3316
	Dipl.-Ökotroph. Wagner Kornelius	-4215
	Zell Christine M.Sc.	-4215

Forschung

Erklärung von Geschlechterunterschieden bei der Wahrnehmung von Lebensmittelrisiken
Andrea Bieberstein M.Sc.

Marketingstudien stellten systematische Unterschiede der Geschlechter bei der Wahrnehmung von Lebensmittelrisiken fest, wobei Frauen in der Regel besorgter waren als Männer. Studien, die versuchen, die Ursache dieser Unterschiede systematisch zu untersuchen, fehlen und sind ohne Bezug zur Gendertheorie.

Ziel dieses Projektes ist es, Geschlechterunterschiede in der Wahrnehmung von Lebensmittelrisiken systematisch zu untersuchen, indem der Kontext von Lebensmittelrisiken betrachtet wird. Basierend auf einem psychologisch „kontextualistischen“ Ansatz wird untersucht, ob Lebensmittelrisiken für Frauen und Männer unterschiedlich konstruiert sind, indem die mit Lebensmittelrisiken verbundenen Kognitionen analysiert werden.

Die Untersuchung von Kognitionen bezüglich Lebensmittelrisiken dient zum einen einem besseren Verständnis der Risikowahrnehmung und -evaluation von Menschen allgemein und ist interessant für die Entwicklung von Strategien zur Risikokommunikation. Andererseits können die Kognitionen von Frauen und Männern bezüglich Lebensmittelrisiken aktuelle Geschlechterverhältnisse widerspiegeln.

Zur Aufdeckung von kognitiven Strukturen bildet die Means-End-Chain Theorie den methodologischen Hintergrund und das Laddering-Verfahren die Methode. Die Laddering-Technik ermöglicht die Abbildung der Kognitionen und grundlegenden Motive, die Individuen im Bezug auf bestimmte Lebensmittelrisiken besitzen. Für die Datenerhebung werden im Frühjahr 2011 Interviews statt. Das Projekt ist von der DFG gefördert.

Einkauf, Verwendung und Verderb von frischen und verpackten Lebensmitteln in Verbraucherhaushalten, Dr. Thomas Zängler, Inna Ivanova M.Sc.

Im Kern geht es um die Hypothese, dass die Verwendung von in Dosen verpackten Lebensmitteln in Verbraucherhaushalten einen Beitrag zur Reduzierung von Lebensmittelverderb bei den Verbrauchern leisten und damit ein effizienter und umweltfreundlicher Umgang mit Lebensmitteln möglich ist.

Der Auftraggeber möchte mit der Beauftragung der Untersuchung die Frage klären, wie und in welchen Zeitabständen Einkäufe von in Dosen verpackten Lebensmitteln und ihrer Konkurrenzprodukte (v. a. Frische, TK) geplant und getätigt werden und welcher Anteil frisch eingelagerter Lebensmittel während der Lagerhaltung verdirbt und dann entsorgt werden muss. Lebensmittelabfälle, die durch die Verarbeitung von Frischware in der Lebensmittelindustrie und bei den Verbrauchern entstehen, sind nicht Gegenstand des Interesses.

Ziel des Projektvorhabens ist es,

- Aussagen über den Einkauf und Einsatz von frischen und konservierten Lebensmitteln für die Speisenzubereitung (Lebensmittelmix) in privaten Haushalten zu treffen,
- die Menge/Masse (Art/Umfang) an während der Lagerhaltung verdorbenen frisch gekauften Lebensmittel in Relation zu den verzehrten Lebensmitteln zu ermitteln,
- die Menge/Masse (Art/Umfang) an konservierten Lebensmitteln zu ermitteln, die nach Erreichen des Mindesthaltbarkeitsdatums entsorgt werden in Relation zu den verzehrten Lebensmitteln und die Ergebnisse nach sozi-ökonomisch unterschiedlichen Verbrauchern zu differenzieren.

Masterarbeiten

Albrecht Stephanie: „Bestehen Geschlechtsunterschiede in den kognitiven Netzwerken bezüglich Lebensmittelrisiken? Eine Analyse mittels der Methode des „Concept Mapping“ am Beispiel von Pestizidrückständen“

Eisenschmidt Kathrin: „Geschenkkaufmotive und Fairtrade-Produkte. Eine Studie zu Schnittblumen”

Hao Sun: „Internal Consumer Test Methods for Food Product Development“

Jahnke Alina: „Produktgestaltung als Marketinginstrument für die Zielgruppe Senioren am Beispiel von Joghurtprodukten“

Jekle Anette: „Das Wetterfax für die Landwirtschaft – Eine Kundenzufriedenheitsanalyse“

Karayicheva Iryna: „Ein kausalanalytisches Modell zur Erklärung des Kundenzufriedenheitsindexes bei Privatkunden der Telefonica“

Keusen Daniela: „Hemmnisse von deutschen Verbrauchern im europäischen E-Commerce“

Knippertz Andrea: „The effect intrinsic and extrinsic product attributes on product choice“

Kuklinski Juliane: „Patient Compliance in der medikamentösen Behandlung der Hypertonie“

Maierhofer Christine: „Could Emotional Music Influence Consumer Behavior? “

Peng Huiqin: „Consumers Acceptance and Willingness to Pay for Nanotechnology Based Food Packaging“

Schlotfeldt Bettina: „Konsumentenverhalten in Krisenzeiten: Der Einfluss der Wirtschaftskrise auf die Kaufentscheidung bei Gebrauchsgütern“

Teufelhart Quirin: „Einfluss privater Qualitätsstandards auf den Handel zwischen Osteuropa und den EU-15 Ländern am Beispiel von Obst und Gemüse“

Zant Maria-Luise: „Glaubwürdigkeit: Erfolgsfaktor des Umwelt- und Soziosponsorings – Operationalisierung eines latenten Konstrukts“

Zell Christine: „Implementierung und Auswertung einer Google AdWords Kampagne am Beispiel eines mittelständischen Lebensmittelunternehmens“

Bachelor-Thesis

Dähn Selina: „Nanotechnologie in Lebensmitteln – eine Betrachtung aus Sicht der Lebensmitteltechnologie/ -industrie, der Verbraucher und der Gesetzgebung“

Woortmann Veronika: „Die Erstellung von Fragebögen zur Nutzerevaluierung der „Informationsplattform Qualifood“ des Fleischprüfring Bayern e.V.“

Wiss. Veröffentlichungen (incl. Reviews) in referierten Zeitschriften (peer reviewed abstracts)

Revisiting social trust with regard to gendered perception to new food technologies: the case of nanofood
Bieberstein, A., Vandermoere, F., Roosen, J., Blanchemanche, S., Marette S.: Psychology of Trust, chapter 7. Nova Science Publishers, New York, USA (forthcoming)

Rational choice regulation and risk communication. Uncertainty transfer from risk assessment to public
Blanchemanche, S., Marette, S., Roosen, J., Verger P.: Health Risk & Society 12(3) (2010) 271-292

Leptin Plasma Levels in the General Population: Influence of Age, Gender, Body Weight and Medical History
Fulda, S., Leiseisen, J., Wolfram, G., Himmerich, S., Gedrich, K., Pollmächer, T., Himmerich, H.: Protein & Peptide Letters 17, 1436-1440

Essential actions for caterers to promote healthy eating out among European consumers: results from a participatory stakeholder analysis in the HECTOR projekt
Lachat, C., Naska, A., Trichopoulou, A., Engeset, D., Fairgrieve, A., Marques H.A., Kolsteren, P., on Behalf of the hector Consortion (including Gedrich, K.,) Public Health Nutr 13

Welfare Impact of Information with Experiments: The Crucial Role of the Price Elasticity of Demand
Marette, S., Lusk, J.L., Roosen, J.: Economics Bulletin 30(2) (2010) 1585-1593

Functional Food, Uncertainty and Consumers` Choices: A Lab Experiment with Enriched Yoghurts for Lowering Cholesterol
Marette, S., Roosen, J., Blanchemanche, S., Feinblatt-Mélèze, E.: Food Policy 35(5) (2010) 419-428

Soft drinks: time trends and correlates in twenty-four European countries
Naska, A., Bountziouka, V., Trichopoulou, A. and the Dafne Participants (incl. Gedrich, K., Karg, G., Wagner, K.) A cross-national study using the DAFNE (Data Food Networking) databank. Public Health Nutr 13, 1346-1355

Trends in Consumer Affairs
Roosen, J., Zängler, T.W.: Hauswirtschaft und Wissenschaft Jg. 58 (2010) H.2, 91-96

Value Elicitation using BDM and a Discrete Choice Mechanism
Roosen, J., Marette, S., Blanchemanche S.: Economics Bulletin 30(2) (2010) 1554-1563

A new FFQ designed to measure the intake of fatty acids and antioxidants in children
Stiegler, P., Sausenthaler, S., Buyken, A.E., Rzehak, P., Czech, D., Linseisen, J., Kroke, A., Gedrich, K., Robertson, C., Heinrich, J. Public Health Nutr 13, 38-46

The morality of attitudes toward nanotechnology: About God, techno-scientific progress, and interfering with nature
Vandermoere, F., Blanchemanche, S., Bieberstein, A., Marette, S., Roosen, J.: Journal of Nanoparticle Research 12(2) (2010) 373-381

The public understanding of nanotechnology in the food domain: The hidden role of views on science, technology, and nature
Vandermoere, F., Blanchemanche, S., Bieberstein, A., Marette, S., Roosen, J.: Public Understanding of Science (2010) Forthcoming

Weitere Veröffentlichungen

Goddard, E., Schramm, C., Huang, W., Yang, Y., Drescher, L.: Value Added Meats: Measuring Past Successes and Predicting Future Winners. Working Paper, University of Alberta, Edmonton, Kanada

Buchbeiträge

Zängler, T.W.: Expenditures of Private Households in Selected European Countries. In: Smyczek, Slawomir; Glowik, Mario (Ed.): Consumer Behaviour and Marketing Strategies of Companies in the European Market. Katowice: University of Katowice, 2010, p. 27-42

Marette, S., Roosen, J.: Bans and Labels with Controversial Technologies. In: Lusk, J.L., Roosen, J., Shogren J. (editors). Handbook of the Economics of Food Consumption and Polica. Oxford University Press, forthcoming.

Vorträge

Aue, K.: **Poverty and Health Behaviour – Comparing socio-economic status and a combined poverty indicator as a determinant of health behaviour.** EAAE/AAEA Seminar "The Economics of Food, Food Choice and Health, September 15-17, Freising, Germany

Bieberstein, A., Vandermoere, F., Roosen, J., Blanchemanche, S., Marette, S.: **Revisiting social trust with regard to gendered perception to new food technologies: the case of nanofood.** Presentation at the first joint EAAE/AAEA seminar "The Economics of Food, Food Choice and Health", Freising, Germany, September 16th

Cash, S.B., Drescher, L.S.: **Addressing childhood obesity: An economic and policy challenge.** FSN Track Session Paper. AAEA, CAES, & WEA Joint Annual Meeting, July 25-27, Denver, USA

Drescher, L.S.: **Cohort analysis of food-at-home and away-from-home expenditures in Germany**. INRA Seminar, October 11, Paris, France

Drescher, L.S., Roosen J.: **Analysis of the retirement-consumption puzzle for food-at-home and away-from-home expenditures in Germany.** Selected Poster Paper presented at the 1st joint EAAE/AAEA Seminar (115th EAAE Seminar) "The Economics of Food, Food Choice, and Health", September 15-17, Freising, Germany

Drescher, L.S.: **Consumer trust and the individual consumption decision. Is there really a relationship?** (In German). Agrarökonomisches Seminar, Department of Agricultural Economics and Rural Development, 04. Mai 2010, Georg-August-University Göttingen, Germany

Mecking, R.-A.: **Kommunikation zwischen Konsument und Lebensmitteleinzelhandel: Chancen zur Einflussnahme für den Konsumenten?** Tagung „Konsum2010 Vergnügen/Verwenden/Verbrauchen/Verschwenden" 19.-20.11.2010, Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Roosen, J.: **Wissenschaft: Moderne Methoden der Konsumforschung – Ein Update.** Cluster Forum Ernährung, Consumer Insights – Konsumententrends erkennen und erfolgreiche Lebensmittelkonzepte entwickeln. TU München-Weihenstephan, 2. December 2010.

Roosen, J., Bieberstein A.: **Risikokommunikation zwischen Wissenschaft, Politik und Öffentlichkeit.** Workshop auf der Ferienakademie für Studentinnen und junge Wissenschaftlerinnen der Evangelischen Akademie Tutzing, Mobil und Global, 15.-17.10.2010.

Roosen, J.: **Experimental Economics in Consumer Studies.** Presentation at EC-DG Research Workshop Consumer Science for Today and Tomorrow – Challenges for Research in the Area "Food, Health and Well-being", Brussels, 11 November 2010.

Roosen, J.: **The Effect of Information Choice and Discussion on Consumer Willingness-to-Pay for Nanotechnologies in Food.** Research Seminar, INRA Rennes, 21 September 2010

Roosen, J.: **Consumers` Choices and Perception of NanoFood in France and Germany.** Seminar presentation at the Department of Agricultural Economics, University of Kiel, 6. July 2010

Roosen, J.: **Consumers` Choices and Perception of NanoFood in France and Germany.** Seminar presentation at the Department of Agricultural Economics, University Hohenheim, 6. May 2010

Roosen, J.: **The Effect of Information Choice and Discussion on Consumer Willingness-to-Pay for Nanotechnologies in Food.** Brown Bag Seminar, University of Bozen, 30 March 2010.

Roosen, J.: **Verbraucherschutz durch Verbraucherinformation und Marktregulierung – Erfahrungen aus der Verbraucherforschung.** Landesanstalt für Gesundheit und Lebensmittel, Schleißheimer Forum, 24 March 2010.

Roosen, J., Olearius, G.: **The dynamics in consumer expenditure and purchasing data.** Presented at the Workshop on Statistical Methods and Models of the Institute of Advanced Studies, Technische Universität München, 1. February 2010.

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. Thilo Fuchs	-3859
	Dr. Genia Lücking	-5091
	Dr. Stefanie Müller	-3945
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Kristina Schauer	-3859
	Dr. Herbert Seiler	-2257
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Tobias Bauer	-5091
	Dipl.Biol. Anne Bleicher (bis 31.03.2010	-3945
	Dipl.Biol. Nicole Büchl	-5570
	Dipl.Biol. Lea Fellner (seit 15.03.2010)	-3945
	Dipl.Biol. Elrike Frenzel	-3518
	Dipl.Biol. Daniela Kaspar	-3851
	Dipl.Biol. Anna Krementowski (seit 01.12.2010)	-3851
	Dipl.Biol. Richard Landstorfer (seit 15.02.2010)	-3945
	Dipl.oec.troph. Evi Lang Halter	-3518
	Mag.rer.nat. Gernot Rieser	-5570
	Dipl.oec.troph. Verena Schmidt	-5570
	Dipl.Biol. Samir Velagic (bis 28.02.2010)	-5091
Technische	Michaela Bauer	-3504
Mitarbeiter:	Daniela Eder	-3520
	Angela Felsl	-5357
	Rita Festl	-5566
	Petra Hartberger	-5566
	Gertrud Huith	-3946
	Angela Kempe	-5566
	Hildegard Maier	-5564
	Romy Renner	-3520
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-3517
	Laura Tschernek (Azubi)	-3520

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*, *Yersinia enterocolitica* 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. Unsere Diagnostikabteilung wird von Dr. Mareike Wenning geleitet (Tel. 71-2257).

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, sowie die Beschreibung neuer, aus Lebensmitteln isolierter Arten bildet.

Forschung

Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten

Gruppenleiterin: Mareike Wenning

Die Qualität vieler Lebensmittel und auch pharmazeutischer Produkte wird maßgeblich über deren mikrobielle Flora determiniert. So können unerwünschte Kontaminanten in Lebensmitteln zu Verderb führen, erwünschte Organismen hingegen über gezielte Fermentation oder Reifung wertgebende Produktcharakteristika erst entstehen lassen. Für die Kontrolle und Gewährleistung guter mikrobiologischer und sensorischer Qualität ist deshalb ein Verständnis der Zusammensetzungen und Dynamiken mikrobieller Populationen sowie ihrer potentiellen Einflussnahme auf die Produktqualität erforderlich.

Der Fokus unserer Forschungsgruppe liegt auf den Mikrobiota unterschiedlicher Habitate wie Rohmilch und daraus entstehender Produkte, Wein oder dem pharmazeutischen Produktionsumfeld, wobei sowohl die Erfassung und Beschreibung der Biodiversität als auch die Analyse von Populationsveränderungen oder Stabilitäten innerhalb der Floren von Interesse sind.

Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern Typisieren z. T. auch unterhalb der Artgrenze. Für die Analyse der Artzusammensetzungen wird hauptsächlich FTIR-Spektroskopie genutzt, die als phänotypische Fingerprinting-Methode auch zur Typisierung und aufgrund hoher Automatisierung gut zur Bewältigung hoher Probenaufkommen geeignet ist. Neben der Weiterentwicklung der für die Identifizierung notwendigen Datenbanken im Hinblick auf eine möglichst breite Erfassung der Biodiversität werden auch neue Bakteriengattungen und -arten charakterisiert und beschrieben.

Mikrobiologische Qualität von mikrofiltrierter und pasteurisierter ESL-Milch

Microbiological quality of microfiltered and pasteurized ESL milk

Verena Schmidt

Von Seiten der Lebensmittelindustrie sowie der Verbraucher besteht eine große Nachfrage nach Lebensmitteln mit verlängerter Haltbarkeit. Im Zuge dieses Trends wurde vor 25 Jahren ein kombiniertes Verfahren aus Mikrofiltration und Pasteurisation (MF/PAST) zur Herstellung von extended shelf life (ESL) Milch entwickelt. Diese Milch hat bei Kühllagerung ein MHD von ca. 3 Wochen und zeigt einen Frischegeschmack vergleichbar mit pasteurisierter Milch. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen jedoch keine Daten zur mikrobiellen Florazusammensetzung und zu haltbarkeitslimitierenden Faktoren vor. In der aktuellen Studie wurden Floraanalysen von MF/PAST-Handelsmilchen durchgeführt und dabei auch Arten und Häufigkeit verderbsinduzierender Mikroorganismen untersucht. Es wurden 140 Packungen (28 Chargen à 5 Packungen) MF/PAST Milch von 5 verschiedenen Herstellern (H I-V) in Deutschland, Österreich und der Schweiz analysiert, welche bei 8°C bis zum MHD-Ende gelagert worden waren. Die Keimzahlen zeigten mit Werten von < 1 bis 8.04 $\log_{10}$ cfu ml^{-1} eine sehr große Varianz (Tabelle 1). Während mehr als 50% der Proben eine hervorragende Qualität mit < 3 $\log_{10}$ cfu ml^{-1} hatten, waren 8% der Proben verdorben (> 6 $\log_{10}$ cfu ml^{-1}).

Tabelle 1: Verteilung der aeroben Gesamtkeimzahlen von MF/PAST Handelsmilchen am MHD-Ende nach Lagerung bei 8°C.

log 10 cfu ml^{-1}	% (Anzahl) an Packungen	% (Anzahl) Packungen				
		H I	H II	H III	H IV	H V
<1	34 (47)		100 (25)	52 (13)		36 (9)
1 - < 3.00	20 (28)	20 (5)		8 (2)	28 (7)	56 (14)
3.00 – < 4.00	24 (34)	48 (17)		20 (5)	44 (11)	4 (1)
4.00 – < 5.00	11 (16)	16 (8)		8 (2)	20 (5)	4 (1)
5.00 – < 6.00	3 (4)	8 (3)			4 (1)	
6.00 - 8.40	8 (11)	8 (7)		12 (3)	4 (1)	
Gesamtanzahl Packungen	**140**	**40**	**25**	**25**	**25**	**25**

Die dominierende Flora in den MF/PAST Milchen waren high GC gram-positive *Microbacterium* Spezies, detektiert in 64.8% der Packungen. Die zweithäufigste Gruppe waren Sporenbildner der Genera *Bacillus, Brevibacillus, Lysinibacillus* and *Paenibacillus* (in 20.8% der Packungen). Daneben wurden auch Milchsäurebakterien (in 4,8% der Packungen *Streptococ-*

cus mitis/oralis/parasanguinis, Streptococcus thermophilus) und die gram-negativen Spezies *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Chryseobacterium haifense*, *Moraxella osloensis* und *Sphingomonas* sp. (in 8,0% der Packungen) isoliert. Während *Microbacterium* Spezies und Milchsäurebakterien während der Kaltlagerung bei 8°C nicht zu verderbsrelevanten Keimzahlen heranwuchsen, führten fast alle detektierten gram-negativen sowie Stämme der Sporenbildner *B. cereus*, *B. weihenstephanensis* und einige *Paenibacillus* Spezies zum vorzeitigen Verderb mit Keimzahlen zwischen 7.75 und 8.40 $\log_{10}$ cfu/ml (Tabelle 2). Die vergleichsweise hitzelabilen gram-negativen Bakterien gelangten dabei durch Rekontamination nach der Pasteurisation in die Milch, wahrscheinlich während des Abfüllprozesses. Die sporenbildenden Bakterien dagegen überlebten aufgrund ihrer Hitzeresistenz die Pasteurisation.

Tabelle 2: Verderbsorganismen von MF/PAST Handelsmilchen am MHD-Ende nach Lagerung bei 8°C.

Verderbsorganismus	**$\log_{10}$ cfu/ml**	**Hersteller**	**Charge**	**Anzahl Packungen**
Paenibacillus sp., *B. cereus*	6.22 – 8.08	I	3	5
B. weihenstephanesis	5.75 – 5.79	I	5	2
B. cereus, Paenibacillus odorifer	6.11	I	5	1
Sphingomonas sp.	5.75	IV	4	1
Paenibacillus sp.	7.57	IV	5	1
Psychrobacter glacincola	8.40	V	2	1
Chryseobacterium sp.	8.32	V	2	1
Acinetobacter junii / *johnsonii*	8.07	V	5	1
				Gesamt 13

Nicht immer waren alle fünf untersuchten Packungen einer Charge von Verderb betroffen. So betraf die Reinfektion mit gram-negativen jeweils nur ein bis zwei der fünf analysierten Packungen und es waren auch nicht immer alle Packungen einer Charge mit verderbsauslösenden Sporenbildnern infiziert. Des Weiteren wurden nur bei drei der fünf Hersteller verdorbene Packungen detektiert, wohingegen die Milch von zwei Herstellern (H II und V) Keimzahlen im Bereich nahe der Detektionsgrenze bis <5 log Einheiten hatte.

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

Isolierung und Charakterisierung neuer Bakterienarten und -gattungen

Isolation and characterisation of novel bacteria

Gernot Rieser

Die exakte Zuordnung von Bakterienstämmen zu bereits beschriebenen oder neuen Taxa beruht auf der Charakterisierung der Stämme durch einen polyphasischen Ansatz. Dieser Ansatz beinhaltet im Allgemeinen die Untersuchung genetischer, biochemischer und physiologischer Merkmale. In der aktuellen Arbeit wurden Stämme einer neuen Gattung aus der Familie *Pro-*

pionibacteriaceae und einer neuen Art aus der Gattung *Micrococcus* beschrieben. Im Rahmen verschiedener Arbeiten zur Untersuchung der mikrobiellen Biodiversität in Luft- und Oberflächen-Proben aus pharmazeutischen Reinräumen und Arztpraxen sowie der mikrobiologischen Analyse von Lebensmittelproben wurden mehrere Bakterienstämme isoliert, die auf Basis von 16S rRNA-Gensequenzvergleichen nicht eindeutig einer valide beschriebenen Spezies zuzuordnen waren. Neun dieser Stämme wurden mit dem Ziel einer exakten taxonomischen Zuordnung genauer charakterisiert.

Darunter befanden sich fünf Stämme, WS4599, WS4600, WS4601^T, WS4602 und WS4603, mit identischer 16S rRNA-Gensequenz, welche die größten Ähnlichkeiten zu den Spezies der Gattung *Micrococcus* aufwiesen (96,7 - 98%). Die phylogenetische Untersuchung auf Basis der 16S rRNA- (Abb. 1) und *recA*-Gensequenzen zeigte eine isolierte phylogenetische Position dieser fünf Stämme innerhalb der Mikrokokken.

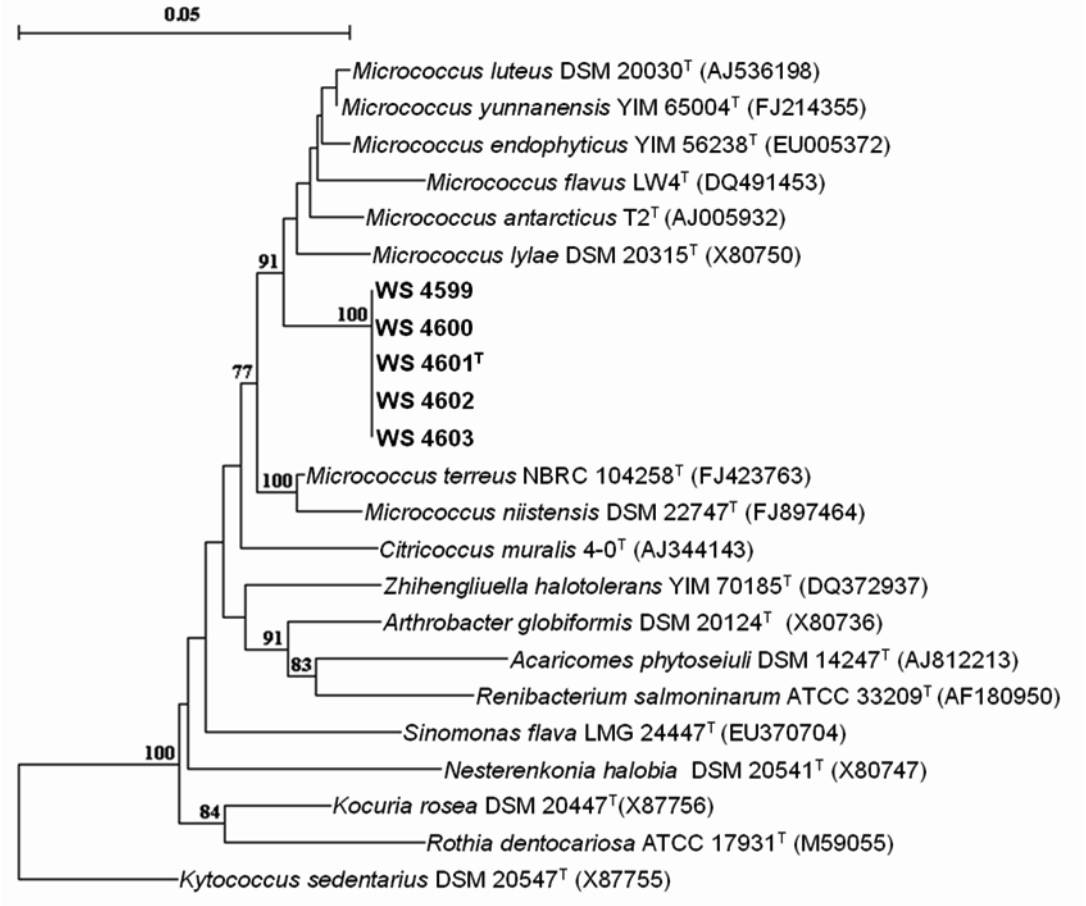


Abb.1: Phylogenetischer Baum basierend auf 16S rRNA Gensequenzen der Stämme WS4599, WS4600, WS4601T, WS4602, WS4603 und nahe verwandten Taxa (Neighbour-joining Methode). Nur Bootstrap values >70% (500 replications) wurden angegeben. Die Sequenz von Kytococcus sedentarius DSM 20547T (X87755) wurde als Outgroup verwendet. Balken, 5% Sequenzunterschied.

Weitere vier Stämme, WS4616^T, WS4617, WS4623 und WS4624, mit einer 16S rRNA-Gensequenzähnlichkeit zwischen 99,9% und 100%, wiesen die größten Ähnlichkeiten im 16S rRNA-Gen zu Spezies der Familie *Propionibacteriaceae* auf, wobei die Ähnlichkeiten zu den Typspezies aller beschriebenen Gattungen dieser Familie bei 90,3 – 94,1% lagen.

In phylogenetischen Bäumen, die auf Basis der 16S rRNA- (Abb. 2) und *recA*-Gensequenzen der Stämme WS4616^T, WS4617, WS4623 und WS4624 erstellt wurden, bildeten diese vier Stämme einen eigenen Zweig innerhalb der Familie *Propionibacteriaceae*.

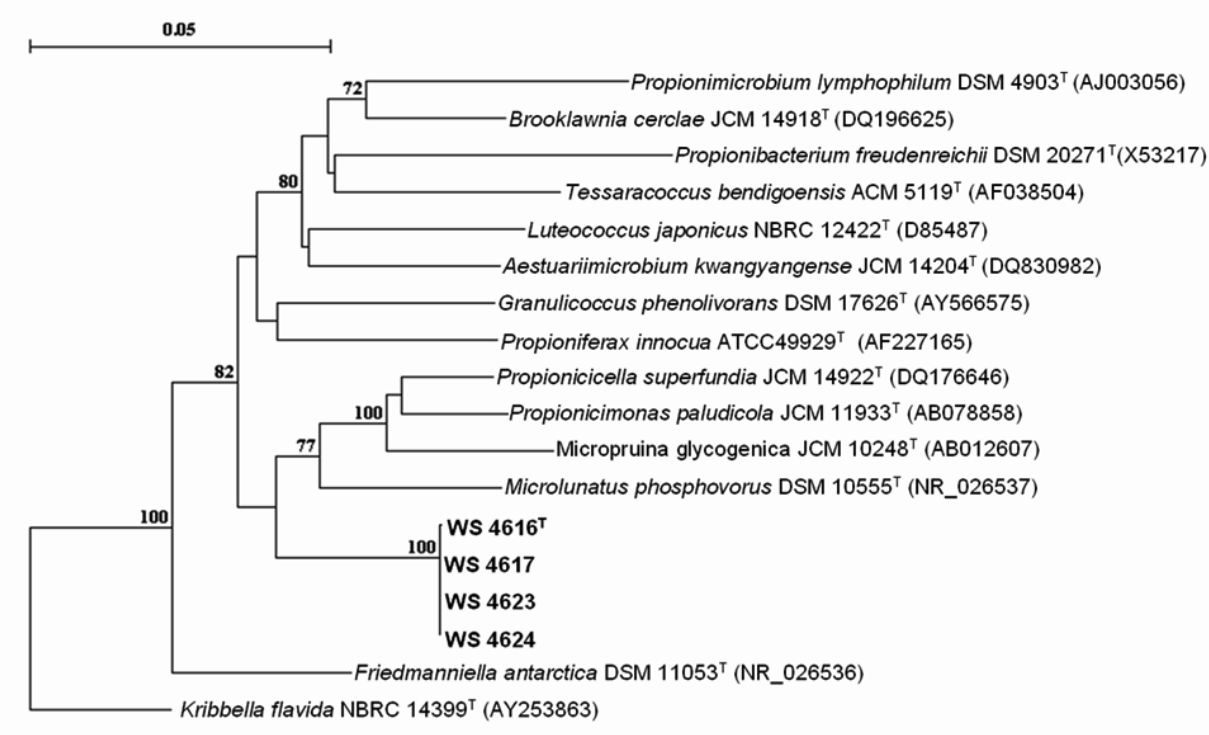


Abb.2: Phylogenetischer Baum basierend auf 16S rRNA Gensequenzen der Stämme WS4616T, WS4617, WS4623, WS4624 und den Typstämmen beschriebener Gattungen der Familie Propionibacteriaceae (Neighbour-joining Methode). Nur Bootstrap values >70% (500 replications) wurden angegeben. Die Sequenz von Kribbella flavida NBRC 14399T (AY253863) wurde als Outgroup verwendet. Balken, 5% Sequenzunterschied.

Durch die biochemische Untersuchung zellulärer Komponenten, wie der respiratorischen Quinone, des Peptidoglykans und der zellulären Fettsäuren und die Bestimmung physiologischer Merkmale, wie die Aktivität von Enzymen und die Fähigkeit zur Assimilation verschiedener Substrate, konnten die isolierten Stämme zusätzlich von bereits beschriebenen Taxa abgegrenzt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie führen zur Annahme, dass es sich bei WS4599, WS4600, WS4601^T, WS4602 und WS4603 um die Stämme einer neuen Spezies der Gattung *Micrococcus* und bei den Stämmen WS4616^T, WS4617, WS4623 und WS4624 um die Vertreter einer neuen Spezies einer neuen Gattung innerhalb der Familie *Propionibacteriaceae* handelt.

Untersuchung natürlicher standortspezifischer Hefepopulationen und ihre Bedeutung für die Qualität spontan vergorener Weine

Analyses of natural, site-specific yeast populations and their impact on the quality of spontaneously fermented musts

Nicole R. Büchl, Daniel Gerhards[1], Christian von Wallbrunn[1]

[1] Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Mikrobiologie und Biochemie, Von-Lade-Straße 1, 65366 Geisenheim

Die Qualität spontan vergorener Moste wird stark von den aus dem Weinberg stammenden Wildhefen beeinflusst. Spontan vergorene Weine haben gegenüber den mit Startern fermentierten Produkten ein sowohl in positiver als auch negativer Hinsicht stärker ausgeprägtes Aroma. Die Umstände, unter welchen ein positives Aroma und damit ein überdurchschnittlich gewinnbringend zu vermarktender Wein entsteht, sind jedoch weitgehend unbekannt.

Die Entscheidung von Weinproduzenten zur Spontangärung birgt daher immer ein erhebliches Risiko, Weine mit Fehltönen zu produzieren, die sich nur unter wirtschaftlichen Einbußen vermarkten lassen.

Im Rahmen des Projektes werden Daten zweier Jahrgänge (2009 und 2010) erarbeitet, die die natürlichen Hefepopulationen ausgewählter Standorte für die Produktion von Riesling möglichst detailliert beschreiben und Auskunft darüber geben, welcher Teil der Flora den Verarbeitungsprozess übersteht und sich während der Gärung entwickelt. Untersucht werden sechs Standorte im Rheingau und an der Mosel. Zur Beurteilung der Daten erfolgt der Weinausbau jedes Standorts parallel als Spontangärung und zur Kontrolle als Reinzuchtvariante unter Verwendung der Rieslinghefe Oenoferm®Freddo (Erbslöh, Geisenheim).

Über Populationsanalysen werden während der Traubenreifung bis zur Ernte die Hefefloren im Weinberg erfasst sowie deren Entwicklung von der Verarbeitung der Trauben und der Mostbehandlung über das erste Gärdrittel verfolgt. Die Identifizierung der über 10 000 Hefeisolate pro Jahrgang erfolgt mittels FTIR-Spektroskopie und z.T. über DNA-Sequenzierung. Bislang liegen die Ergebnisse des ersten Jahrgangs 2009 vor, bei welchem erwartungsgemäß auf den Trauben zu Beginn der Beerenreife ein hoher Prozentsatz oxidativer Hefen isoliert wurde (z.B. *Cryptococcus* sp., *Rhodotorula* sp., *Aureobasidium* sp.). Dagegen stieg 2-3 Wochen vor der Lese die Zahl der isolierten fermentativen und damit gärungsrelevanten Hefearten deutlich an. In Tabelle 1 ist eine Übersicht der fermentativen Arten im ersten Jahrgang sowie deren prozentuale Verteilung gegeben.

Tabelle 1: Überblick der fermentativen Hefearten des Jahrgangs 2009.

Spezies	Anteil an Isolaten
Saccharomyces cerevisiae	57,0 %
Hanseniaspora uvarum	16,0 %
Candida oleophila	4,0 %
Metschnikowia sp.	1,0 %
Torulaspora delbrueckii	0,6 %
Pichia sp.	0,3 %
Candida boidinii	0,1 %

Diese gärungsrelevanten Arten wurden mit Hilfe von Hierarchischer Clusteranalyse der FTIR-Spektren sowie unterschiedlicher molekularbiologischer Verfahren auf Stammebene typisiert. So wurden für alle Nicht-Saccharomyceten RAPD-PCR-Analysen mit universellen OPA-Primern durchgeführt.

Für die gärungsrelevanteste Spezies *Saccharomyces cerevisiae* wurden zwei PCR-Systeme mit artspezifischen δ-Primern getestet und konnten aufgrund des sehr guten Differenzierungspotentials und einer hohen Reproduzierbarkeit zur Typisierung der Isolate des Jahrgangs 2009 eingesetzt werden. Wie in Abbildung 1 beispielhaft dargestellt, wurden standortspezifische Fragmentmuster detektiert, die nur bei Isolaten desselben Standorts zu finden waren (09-S5-G3-Spa-062: Standort 5-Gärungszeitpunkt 3-Spontangärungsansatz a- Isolat 062). Ebenso traten aber auch identische Muster bei Isolaten unterschiedlicher Standorte auf (S4 und S5).

Bei Standort S4 trat dasselbe Muster zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten (G3 und G4) und in beiden Parallelgäransätzen (Spa und Spb) auf. Auch in den Reinzuchtansätzen (Rz) zeigten Isolate dasselbe Fragentmuster wie die verwendete Rieslinghefe Oenoferm®Freddo. Dies belegt, dass mit Hilfe der δ-PCR-Systeme identische Isolatmuster in zeitlich versetzten Proben und unterschiedlichen Gäransätzen wiedergefunden werden können. Somit eignet sich die Methode zum Vergleich von *S. cerevisiae*-Isolaten aus mehreren Jahrgängen und zur Unterscheidung zwischen Wild-*S. cerevisiae*-Isolaten und der eingesetzten Reinzuchthefe.

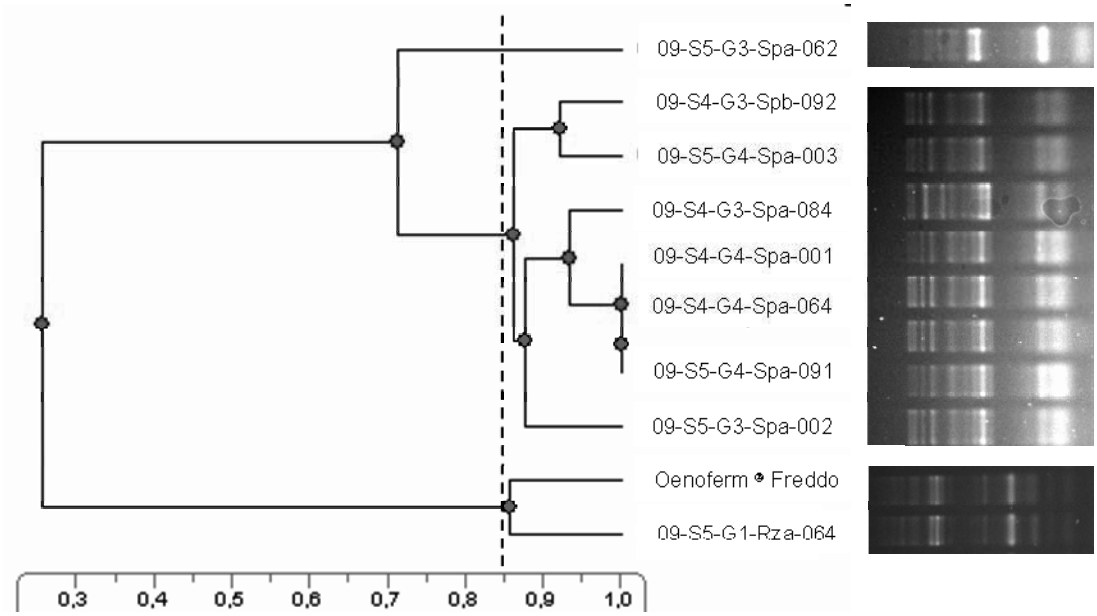


Abb. 1: UPGMA-Dendrogramm unterschiedlicher S. cerevisiae-Isolate des Jahrgangs 2009 basierend auf Fragmentmustern der δ-PCR. Die Stammgrenze wurde bei 0,85 gewählt, was einer Homologie von 85% entspricht.

Einen weiteren Untersuchungsteil des Projektes stellt die sensorische Beurteilung der Weine und die chemische Analyse von Gärungsparameter dar. So werden die Moste über den Verlauf der Gärung hinsichtlich wichtiger Parameter und wertbestimmender Inhaltsstoffe mittels HPLC, GC-MS, GC in Kopplung mit verschiedenen Detektoren (S und N) und enzymatischer Methoden analysiert. Diese umfassenden Bestimmungen flüchtiger und nichtflüchtiger, aromawirksamer Substanzen ergänzen die im Vordergrund stehenden sensorischen Untersuchungen mit einem geschulten Verkostergremium.

Über die Verknüpfung von Sensorik und Zusammensetzung der Hefepopulationen mittels statistischer Methoden sollen Korrelationen zwischen Spontanhefeflora und Aromaentwicklung der Weine aufgezeigt werden. Auf diese Weise sollen Leithefen oder Populationskonstellationen, die mit positiver oder negativer Aromaentwicklung einhergehen detektiert werden.

Diese Arbeiten wurden aus Mitteln des FEI (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.), des AiF (Arbeitskreis für industrielle Forschung), des BMWi (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) gefördert (Projekt-Nummer 16008N).

Arbeitsgruppe: Molekulare Ökologie von *Listeria monocytogenes*

Gruppenleiterin: Stefanie Müller

Listeria monocytogenes ist ein Gram-positives, stäbchenförmiges, fakultativ anaerobes Bakterium. Dieser Keim ist ubiquitär verbreitet, er kommt in der Umwelt in Gewässern, im Boden und auf Pflanzen vor. Wirte, die von *L. monocytogenes* kolonisiert werden, sind neben dem Menschen auch verschiedene weitere Säugetiere, Fische und Schalentiere. Ein Grund für die ubiquitäre Verbreitung ist vermutlich die große Anpassungsfähigkeit dieses Mikroorganismus. Diese Anpassungsfähigkeit spiegelt sich auch in der Genomsequenz wieder, 7 % aller *Listerien*-Gene codieren für regulatorische Proteine, die eine Anpassung der Expression an bestimmte Umweltbedingungen erlauben. *L. monocytogenes* kann sich in einem Temperaturbereich von 0 - 45 ºC, bei pH-Werten von 4,1 – 9,6 und bei Salzkonzentrationen von bis zu 10 % vermehren. Dies hat zur Folge, dass sich *L. monocytogenes* auch bei Kühlschranktemperatur in Lebensmitteln vermehren kann.

Eine Infektion mit *L. monocytogenes* verläuft in vielen Menschen mit einem funktionsfähigen Immunsystem asymtomatisch. Kommt es zur Ausbildung eines Krankheitsbildes, so spricht man von Listeriose. Anfällig für die Entwicklung einer Listeriose sind vor allem ältere Menschen, immunsupprimierte Personen, Schwangere und deren ungeborene Kinder. Das Krankheitsbild ist sehr vielseitig, was eine rasche Diagnose und eine adäquate Behandlung mit Antibiotika häufig erschwert. In der harmlosen Form kommt es zu Bauschschmerzen und Durchfallerkrankungen, jedoch ist der Keim durch seine Fähigkeit, die Blut-Hirnschranke zu überqueren auch in der Lage eine Hirnhautentzündung hervorzurufen. Durch überqueren der Blut-Plazenta-Schranke kommt es in Schwangeren häufig zu einer Infektion des Fötus, was in einer Fehlgeburt oder einer Sepsis des Neugeborenen resultieren kann. Die Mortalitätsrate von Patienten, die eine Listeriose ausbilden, beträgt 30 %. Diese hohe Letalitätsrate hat zur Folge, dass *L. monocytogenes* ein viel beachteter lebensmittelpathogener Keim ist.

Der Forschungsschwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt auf der molekularen Charakterisierung der Anpassung von *L. monocytogenes* an verschiedenste Stressbedingungen, denen der Keim im Lebensmittel oder in der Umwelt ausgesetzt sein kann, sowie auf der Identifizierung von Regulationsmechanismen, die diesen Anpassungen zugrunde liegen.

Wirkung von Nitrat und Nitrit auf *Listeria monocytogenes*
Effects of nitrate and nitrite on Listeria monocytogenes
Daniela Kaspar, Daniela Eder, Stefanie Wüstner

Zur Konservierung wird manchen Lebensmitteln, wie z.B. Rohwürsten oder Schnittkäse, Nitrit oder Nitrat zugegeben. Neben den positiven Effekten der Umrötung und der Aromabildung bei durch Starterkulturen gereifter Rohwurst wurde postuliert, dass die Zugabe von Nitrat oder Nitrit auch einen negativen Einfluss auf das Wachstum von unerwünschten pathogenen Bakterien hat bei Schnittkäse und Rohwurstprodukten hat, wobei durch bakterielle Aktivitäten aus Nitrat auch Nitrit und weitere toxische Stickstoffverbindungen entstehen können.

Im Rahmen eines vom FEI/AiF geförderten Projektes (AiF_15835 N) soll analysiert werden, auf welche Weise Nitrit in *L. monocytogenes* auf molekularer Ebene wirkt. *L. monocytogenes* ist laut Annotation des Genoms nicht in der Lage, Nitrat oder Nitrit zu verstoffwechseln, und besitzt vermutlich auch keine Regulatoren, die in Abhängigkeit von Nitrat- oder Nitrit die Genexpression regulieren. Interessanterweise hemmt die Zugabe von Nitrit (200 mg/l) das Wachstum von *L. monocytogenes* in BHI-Medium. Globale Transkriptionsstudien ergaben, dass die Zugabe von Nitrit zum Wachstumsmedium nicht nur in einer Hemmung des Wachstums, sondern auch in einer Änderung des Transkriptionsprofils resultiert.

Unter den Genen, deren Transkription in Gegenwart von Nitrit reprimiert wird, befinden sich die Gene des *pyr*-Operons (Abb. 1), deren Produkte eine Funktion bei der Pyrimidin- und somit bei der Proteinbiosynthese haben. Die *pyr*-Gene werden in Gegenwart von Nitrit kaum transkribiert.

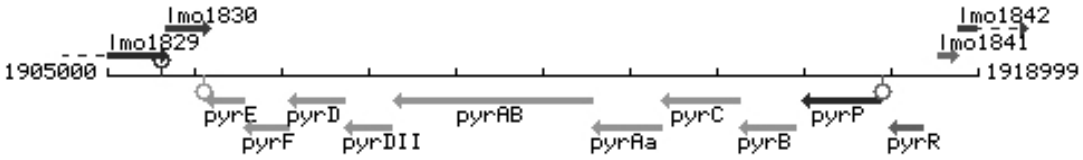


Abb. 1: **Genomische Anordnung der Gene des pyr Operons von Listeria monocyotgenes EGD-e** (http://genolist.pasteur.fr/ListiList). Das pyr Operon umfasst die Gene pyrP, pyrB, pyrC, pyrAa, pyrAB, pyrDII, pyrD, pyrF und pyrE, deren Produkte an der Pyrimidin-Biosynthese beteiligt sind.

Die in den Microarray-Analysen beobachtete Veränderung der Transkription wurde anhand des Gens lmo1835 (*pyrAB*) mittels qRT-PCR bestätigt (Abb.2).

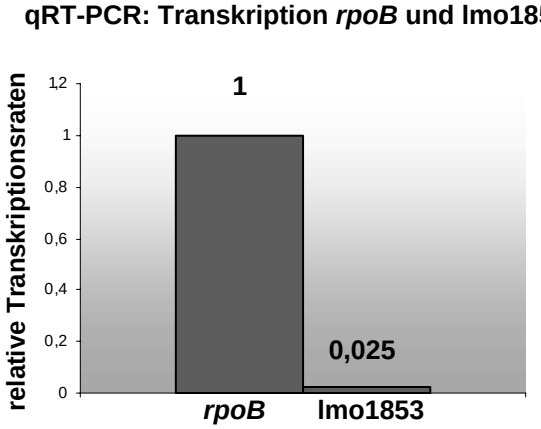


Abb. 2: Analyse der Transkription des Gens lmo1835 (pyrAB) in L. monocytogenes EGDe in An- bzw. Abwesenheit von Natrium-nitrit (200 mg/l) mittels qRT-PCR.

Aufgetragen ist das Verhältnis der Transkription des Gens lmo1835 aus Nitrit-induzierten Kulturen im Vergleich zu nicht Nitrit-induzierten Kulturen. Als „House-Keeping"-Gen, dessen Transkription nicht durch Nitritzugabe beeinflusst wird, wurde rpoB gewählt. Das Verhältnis Transkription von rpoB aus Nitrit-induzierten Kulturen/Transkription von rpoB aus Kontrollkulturen wurde auf 1 gesetzt.

Auf welche Weise Nitrit die Transkription der *pyr*-Gene hemmt, ob durch einen direkten Effekt durch Interaktion mit einem Transkriptionsregulator oder einen indirekten Effekt, z. B. durch Interaktion mit einem Enzym und anschließende Feedback-Hemmung ist noch unklar. Die starke Repression der Transkription von Genen, deren Produkte an der Pyrimdin-Biosynthese beteiligt sind, könnte das verminderte Wachstum von *L. monocytogenes* EGDe in Gegenwart von Natriumnitrit erklären.

Interessanterweise konnte in *in vitro* Versuchen gezeigt werden, dass das Wachstum von weiteren Gram-positiven Infektionserregern wie *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus aureus* nicht bzw. kaum durch die Zugabe von 200 mg/l Natriumnitrit gehemmt wird. Transkriptionsstudien der *pyr*-Gene dieser Organismen ergaben, dass deren Transkription nicht durch die Zugabe von Natriumnitrit reprimiert wird. In weiterführenden Arbeiten soll die differentielle Wirkung von Nitrit auf unterschiedliche Gram-positive Infektionserreger aufgeklärt werden.

In weiteren Analysen wurde im Hochdurchsatzverfahren der Einfluss verschiedener im Lebensmittel relevanter Parameter wie Sauerstoffverfügbarkeit, Temperatur, Osmolarität, pH-Wert und Ab- bzw. Anwesenheit von Natriumnitrit sowie die Kombination der verschiedenen Parameter auf das Wachstum von *L. monocytogenes* EGDe analysiert. Insgesamt wurden 300 verschiedenen Wachstumsbedingungen getestet. Hierbei am auffälligsten war, dass eine Kombination aus Absenken des pH-Wertes (eingestellt mit Milchsäure) und Anwesenheit von Natriumnitrit (200 mg/ml) effektiv das Wachstum von *L. monocytogenes* EGDe hemmt. Bei einem pH-Wert von 5,5 kann in Abwesenheit von Natriumnitrit ein geringes Wachstum der bakteriellen Kultur beobachtet werden, wohingegen in Gegenwart von $NaNO_2$ (200 mg/l) schon ab einem pH-Wert von 6 kein Wachstum mehr zu beobachten ist (Abb. 3).

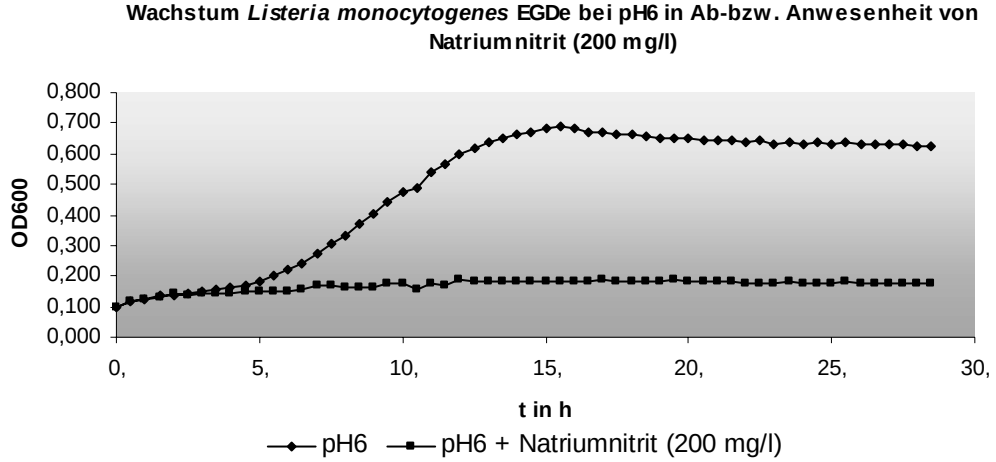


Abb. 3: Wachstumsverhalten von L. monocytogenes in BHI pH 6 (eingestellt mit Milchsäure) bei 24 °C in An- und Abwesenheit von 200 mg/l Nitrit. Aufgetragen ist die optische Dichte der Zellen bei 600 nm gegen die Inkubationszeit in Stunden. Im Gegensatz zu den Zellen ohne Nitrit (Raute) weisen die Zellen mit Nitrit (Quadrat) kein Wachstum mehr auf.

Um diesen inhibitorischen Effekt der Kombination pH6/$NaNO_2$ auf die *Listeria*-Zellen detailliert zu untersuchen, wurden globale Transkriptionsstudien durchgeführt. Hierbei wurde das Transkriptionsprofil einer einstündig pH6 induzierten Kultur mit dem Transkriptionsprofil einer Kultur verglichen, die für einer Stunde bei pH6 und gleichzeitig in Anwesenheit von Natriumnitrit inkubiert wurde. Die Ergebnisse der Microarray-Studien machen deutlich, dass die Anwesenheit von Nitrit bei einem sauren pH-Wert immense Auswirkungen auf die Trankription von *L. monocytogenes* EGDe hat. Insgesamt konnte eine differentielle Transkription von über 300 Genen in Anwesenheit von Nitrit bei einem sauren pH-Wert beobachtet werden. Unter den Genen, deren Transkription induziert wird, befinden sich viele Gene, für deren Produkte eine Beteiligung an der Stressresistenz postuliert ist. Unter den Genen, deren Transkription reprimiert ist, befinden sich viele, die für Enzyme codieren, die an der Synthese von Makromolekülen der Zelle beteiligt sind. Die Zellen scheinen Ihren Schwerpunkt auf das Überleben und nicht auf die Vermehrung zu richten. Weiterhin lassen die erhaltenen Daten vermuten, dass *L. monocytogenes* EGDe mit einer allgemeinen Stressantwort auf Nitritstress bei sauren pH-Bedingungen reagiert, eine gerichtete Nitritstress-Antwort konnte bisher nicht identifiziert werden.

Diese Arbeiten wurden aus Mitteln des FEI (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.), des AiF (Arbeitskreis für industrielle Forschung), des BMWi (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) gefördert (Projekt-Nummer 15835N).

Arbeitsgruppe: **Regulation überlappender Gene von pathogenen *Escherichia coli* durch Umweltsignale & Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln**

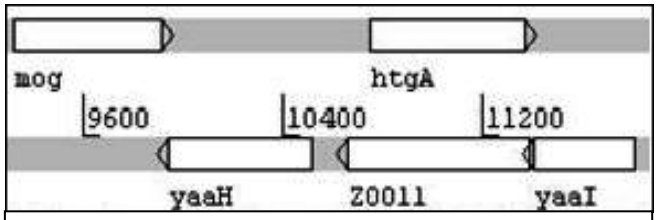
Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

DNA könnte, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort theoretisch sechs verschiedene Proteine kodieren. In der Natur sind vor allem zweifach überlappende Gene bekannt, selten aus einigen Viren dreifache Überlappungen. Obwohl viele Bakteriophagen eine größere Anzahl überlappender Gene aufweisen und deren Genome mit den bakteriellen in einem Gleichgewicht stehen, sind beschriebene überlappende Gene aus Bakterien vergleichsweise rar. Das Projekt widmet sich überlappenden und neuen Genen, die für das Wachstum von pathogenen *Escherichia coli* in der Umwelt wichtig sind. Wir konzentrieren uns hierbei besonders einen enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) Stamm, der blutigen Durchfall und unter Umständen Nierenversagen mit tödlichem Ausgang verursachen kann. Bei diesem Bakterium weiß man zudem wenig über die Ökologie und der in natürlichen Habitaten notwendigen Gene. Unsere Untersuchungen sind Teil des Projektes "FOG-Theory" im DFG Schwerpunkt InKoMBio SPP 1395. Hierzu kooperieren wir mit dem Lehrstuhl „Datenanalyse und Visualisierung“ von Prof. D. Keim an der Universität Konstanz und dem Lehrstuhl “Telekommunikation und Angewandte Informationstheorie“ von Prof. M. Bossert an der Universität Ulm.

Ein weiterer Teil der Arbeitsgruppe widmete sich der Ökologie von pathogenen Bakterien in Lebensmitteln, hier insbesondere *Listeria monocytogenes*. Dieses Bakterium kommt vermutlich mehr oder weniger überall vor und ist mit Pflanzen assoziiert. 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. Zwar ist die Inzidenz für *L. monocytogenes* nicht sehr hoch, dafür hat dieses Bakterium die höchste Mortalitätsrate aller durch Lebensmittel übertragenen Keime.

Expressionsstudien überlappender Gene in EHEC und verwandten Bakterien
Expression studies of overlapping genes in EHEC and related bacteria
Lea Fellner

Viele Details der Virulenzgene und der Wirt-Bakterium-Interaktionen von EHEC wurden bisher aufgedeckt, doch ist relativ wenig über die Gene bekannt, die es EHEC ermöglichen, außerhalb eines Wirtes in der Umwelt zu persistieren. Studien an Pseudomonaden aus der Literatur zeigten, dass eine Reihe von Genen nur unter nicht-Laborbedingungen aktiv ist. In Zusammenarbeit mit unseren Kooperationspartnern wurde nun in EHEC nach vielversprechenden neuen und bisher hypothetischen offenen Leserahmen gesucht. Diese werden Strang-spezifisch mutiert und anschließend die Mutanten auf ihren Phänotyp hin untersucht.



Ausschnitt aus dem Genom des Bakteriums *Escherichia coli* O157:H7 mit eingezeichneten Genen (weiße Pfeile). Hier befindet sich eines der wenigen bekannten, vollständig überlappenden Genepaare aus diesem Bakterium (*htgA* / Z0011).

Identifikation und Charakterisierung überlappender Gene und Orphan-Gene in pathogenen Bakterien.
Identification and characterization of overlapping and orphan-genes in pathogenic bacteria
Richard Landstorfer

Wir untersuchen Transkriptome von EHEC EDL933 mittels moderner Hochdurchsatz-Methoden. Für die Transkriptom-Sequenzierung unter diversen Umweltbedingungen wurde das „next generation sequencing“ mittels der SOLiD Methode angewandt. Die Analysen zeigen eine Umwelt-spezifische Transkriptregulation, deren Auswertung helfen wird das pathogene Potential und die Umweltpersistenz von EHEC besser verstehen zu können. Außerdem wurden viele interessante Bereiche entdeckt, an denen überlappend kodierende Gene möglich sind. Weitere Untersuchungen müssen dies nun bestätigen. Dazu zählt auch die Erstellung von Proteomdatensätzen mittels Massenspektrometrie. Ein erstes partielles Proteom wurde unter Laborstandard-Bedingungen erstellt, das bereits einige als „hypothetisch“ annotierte Gene als exprimiert aufzeigt.

Antagonistische Aktivitäten von Gram-positiven Bakterien gegen *Listeria monocytogenes* (in 2010 abgeschlossen)

Antagonistic activities of Gram-positive bacteria against Listeria monocytogenes (concluded in 2010)

Anne Bleicher

Rotschmierekäse, stellen ein ökonomisch wichtiges Segment hochqualitativer Lebensmittel dar. Aufgrund ihrer Herstellung sind sie für Kontaminationen mit dem Lebensmittelpathogen *Listeria monocytogenes* besonders anfällig. Im Rahmen eines EU-Projektes zur Verbesserung der mikrobiologischen Sicherheit traditionell hergestellter Lebensmittel (TRUEFOOD) wurden zunächst natürlich vorkommende inhibitorische Rotschmierkonsortien gesucht und ihre Hemmwirkung mit verschiedenen Methoden quantifiziert.

Die Zusammensetzung einzelner bakterieller Gemeinschaften, sowohl antilisteriell als auch nicht inhibitorisch wirksam, wurde mit einem spektroskopischen Verfahren (FTIR-Spektroskopie) aufgeklärt. Die Daten belegen die einzigartige Zusammensetzung jedes Konsortiums; eine Kombination bakterieller Stämme zur Ausprägung des antagonistischen Effektes abzuleiten war nicht möglich. Bakterien verschiedener physiologischer Gruppen wurden auf Fest- und in Flüssigmedium auf die Produktion von Hemmstoffen untersucht. Der antilisterielle Effekt von Reinkulturen trat nicht in derselben Intensität auf wie im gesamten Konsortium und war in den meisten Fällen nur transient. Die Wirkung eines solchen Konsortiums auf molekularer Ebene aufzuklären, trägt weiter dazu bei, die mikrobielle Sicherheit von geschmierten Käsen zu verbessern. Im Rahmen der Untersuchungen konnte eine neue Bakterienart, *Vibrio casei* sp. nov, beschrieben werden, die bislang nur auf Weichkäse vorkommt.

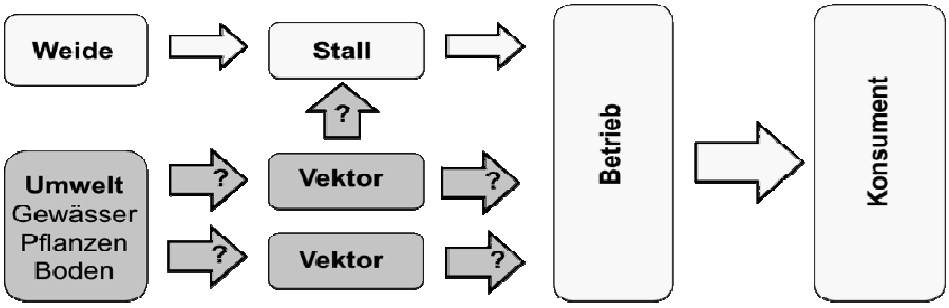
Listeria monocytogenes und *Listeria* Spezies in natürlichen Habitaten

Listeria monocytogenes and Listeria species in natural habitats

Evi Lang-Halter

Listeria monocytogenes ist ein Krankheitserreger, dessen Übertragung in der Regel über den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln erfolgt. Speziell bei schwangeren Frauen, Kleinkindern, immunsupprimierten und älteren Personen geht eine Listeriose mit hohen Lethalitätsraten einher. Bei der Übertragung von *L. monocytogenes* in die Nahrungskette sind Produkte aus der Milchwirtschaft besonders häufig betroffen. Es gibt daher eine ganze Reihe von Studien zum Vorkommen von *L. monocytogenes* in landwirtschaftlichen Betrieben, in Molkereien und anderen lebensmittelverarbeitenden Unternehmen. Auch die medizinischen Aspekte der Pathogenese sind weitgehend bekannt.

Demgegenüber ist nur wenig über das Vorkommen der Gattung *Listeria* und von *Listeria monocytogenes* in der Umwelt außerhalb von Betrieben und Produktionsstätten bekannt, beispielsweise in Oberflächengewässern, auf Pflanzen und im Boden. Die meisten Studien zu dieser Thematik sind über 30 Jahre alt. Es ist unklar, wo Listerien, die einen Betrieb besiedeln oder anderweitig in die Lebensmittel gelangen, eigentlich herkommen.



Insbesondere weiß man nur wenig über das Vorkommen von jenen Pathotypen in der Umwelt, die häufig in Zusammenhang mit Listerioseausbrüchen stehen und deshalb besonders gefährlich für den Menschen sind. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Sediment- und Wasserpflanzenproben (*Ranunculus fluitans*) aus einem Fließgewässer (Moosach) auf das Vorkommen von Listerien sowie die Spezifizierung und Subtypisierung gewonnener Isolate. Dazu wurden über den Zeitraum von einem Jahr monatlich Sediment und *R. fluitans* auf das Vorkommen von Listerien untersucht. Elf der 12 untersuchten Sedimentproben und 10 der 12 untersuchten *R. fluitans*-Proben konnten positiv auf das Vorhandensein von Listerien getestet werden. Insgesamt wurden von den Sedimentproben 244 und von den *Ranunculus* Proben 221 Isolate identifiziert. Dabei konnten die Spezies *L. innocua, L. monocytogenes* sowie *L. seeligeri* differenziert werden.

An 9 Probenahmezeitpunkten wurden in jeweils beiden Habitaten Listerien gefunden. Dabei war auffällig, dass bei 6 der 9 Probenpaarungen die jeweils detektierte Speziesverteilung sehr ähnlich war. Das warf die Frage auf, ob es eine Verbindung zwischen den Populationen im Sediment und auf *R. fluitans* gibt. Möglicherweise stammen die Keime, die auf der Oberfläche von *Ranunculus* nachgewiesen wurden, ursprünglich aus dem Sediment, aus dem die Pflanzen wachsen. Zudem ist die Fähigkeit zur Adhäsion von pelagischen Zellen, die über Auswaschung durch Regenwasser eingetragen werden, bei den vorherrschenden Strömungsverhältnissen in dem Fließgewässer, vermutlich limitiert. Um diese Hypothese zu testen, wurde eine Auswahl von Isolaten, die zu den selben Zeitpunkten aus den Matrizes Sediment und *R. fluitans* isoliert worden waren, anhand von RAPD Analysen subtypisiert (Tab. 1).

Tabelle 1: Auswahl von Probenpaarungen *R. fluitans* / Sediment, von denen *Listeria* Isolate anhand von RAPD Analysen subtyisiert wurden. Aufgelistet sind jeweils die Anzahl untersuchter Isolate aus *R. fluitans* (*R*) und Sediment (S), die Anzahl der jeweils detektierten RAPD Typen und die Anzahl von identischen Typen bei den Spezies *L. monocytogenes*, *L. innocua* und *L. seeligeri*, die zum selben Probenahmezeitpunkt aus beiden Matrizes isoliert worden waren.

Probenahme	Anzahl Isolate		Anzahl RAPD Typen		RAPD Typen aus *R* und S	Spezies
	R	**S**	***R***	**S**		
Jan 08	14	14	3	4	1	*L. monocytogenes*
Apr 08	10	10	2	3	0	
Dez 07	16	18	7	6	4	*L. innocua*
Mär 08	14	18	4	6	0	
Jul 08	9	11	3	8	0	*L. seeligeri*

Bei 2 der 5 untersuchten Probenpaarungen konnten *Listeria* RAPD Typen von *R. fluitans* auch im Sediment nachgewiesen werden (1 Typus bei *L. monocytogenes* im Januar 2008 sowie 4 Typen bei *L. innocua* im März 2008), während bei den übrigen 3 Paarungen alle *R. fluitans* RAPD Typen im Vergleich zu den Sedimentisolaten unterschiedliche Bandenmuster zeigten. In Abb. 1 sind exemplarisch die RAPD Bandenprofile von *L. monocytogenes* Isolaten dargestellt. Allerdings sind diese Daten aufgrund der zu geringen Stichprobengröße nicht beweiskräftig genug um die Hypothese, ob zwischen den *Listeria* Populationen von Sediment und *R. fluitans* ein Zusammenhang besteht, zu untermauern.

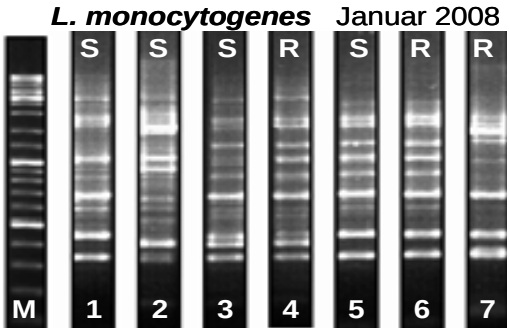


Abb. 1: RAPD Typen von L. monocytogenes Isolaten, die zum selben Probenahmezeitpunkt aus Sediment und R. fluitans isoliert wurden. Bandenprofile 1 – 3 stammen von Isolaten aus Sediment S, Profil 4 stammt von R. fluitans, Profile 5 + 6 sind identische RAPD Typen aus Sediment bzw. R. fluitans und Profil 7 zeigt das Bandenprofil eines weiteren R. fluitans Isolates.

Insgesamt wurde eine erstaunliche Biodiversität von Listerien gefunden. Die im Rahmen dieses Projektes erstellte Stammsammlung von rund 5000 Isolaten soll als Basis dafür dienen, die Typen der in einem Umwelthabitat vorkommenden Listerien mit denen zu vergleichen, die beispielsweise aus Milchprodukten und milchverarbeitenden Betrieben isoliert wurden.

Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Pathogenität von *Yersinia* spp. gegenüber Invertebraten

Pathogenicity of* Yersinia enterocolitica *towards invertebrates

Mandy Starke

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 (Abb. 1). 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.

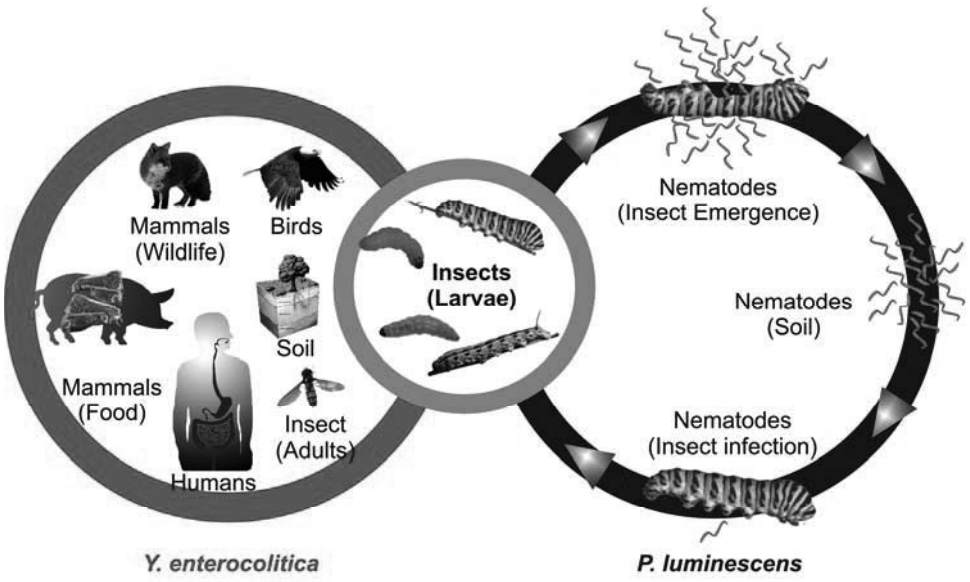


Abb. 1: Lebenszyklen von Y. enterocolitica und Photorhabdus luminescens (Heermann and Fuchs, BMC Genomics 2008, 9:40).

Der Stamm *Y. enterocolitica* Stamm W22703 trägt eine 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. Wir führten daher einen qualitativen Vergleich der Genome von *P. luminescens* und *Y. enterocolitica*, die sich in ihren Lebenszyklen erheblich voneinander unterscheiden, durch und konnten zeigen, dass beiden Pathogenen eine Vielzahl von potentiellen Faktoren gemeinsam ist, die möglicherweise an ihrer Interaktion mit Invertebraten beteiligt sind. Andererseits weisen mögliche Pathogenitätsfaktoren, die nur in Yersinien vorkommen, auf eine noch unbekannte Rolle im humanen Wirt hin. Der Genomvergleich erbrachte darüber hinaus interessante Einblicke in die Evolution bakterieller Pathogenität (Heermann and Fuchs, 2008).

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, die mit Verdünnungen von *Yersinia* spp.-kulturen infiziert wurden. Überraschenderweise weisen die *Yersinia*-Arten und –Stämme eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential auf. Es konnten zwei Arten identifiziert werden, deren insektizides Potential demjenigen von *P. luminescens* gleichkommt.

Außerdem untersuchen wir derzeit die molekularen Mechanismen, die der kälteinduzierten Expression der *tc*-Gene sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zugrunde liegen. Um einen tieferen Einblick in die Interaktion von *Yersinia* spp. mit Invertebraten zu gewinnen, wurde zusätzlich der Nematode *C. elegans* als Modellorganismus etabliert. In Zusammenarbeit mit Britta Spanier vom ZIEL, Abteilung Biochemie, konnten die Kolonisierung und die Proliferation von *Y. enterocolitica* in *C. elegans* sowie die Expression des insektiziden Toxins im Nematoden nachgewiesen werden Abb. 2).

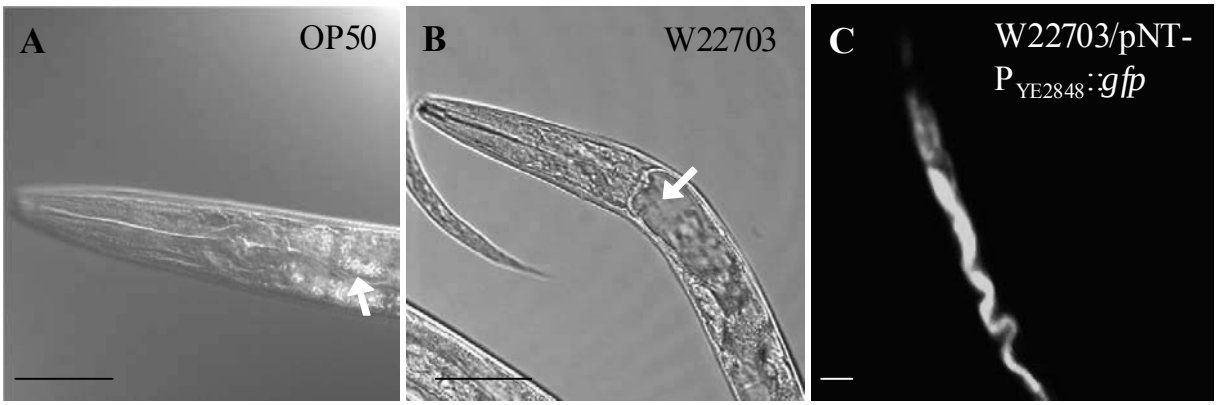


Abb. 2: C. elegans als Modell für eine Yersinia-Infektion. A) Der Kopf des nicht-infizierten Nematoden, der Pfeil weist auf den schmalen Darmschlauch. B) Darmweitung aufgrund einer Infektion mit Y. enterocolitica. C) GFP-markierte Yersinien proliferieren im Darm des Nematoden (Spanier et al., 2010).

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

Metabolismus und Virulenz: ein neues Pathogenitätskonzept am Beispiel von *Listeria monocytogenes* (Schwerpunktprogramm 1316 der DFG)
***Metabolism meets virulence: a novel concept of pathogenicity as exemplified by* Listeria monocytogenes**
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. *L. 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 physiologischer Anpassungen des Pathogens, über die 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 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 interessante Aufschlüsse über die Genfunktion und ihre Bedeutung für das intrazelluläre Überleben. So konnten wir zeigen, dass die inaktivierten Gene zum größten Teil für Transport- und Bindeproteine und für am allgemeinen Metabolismus oder an 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 (Abb. 3).

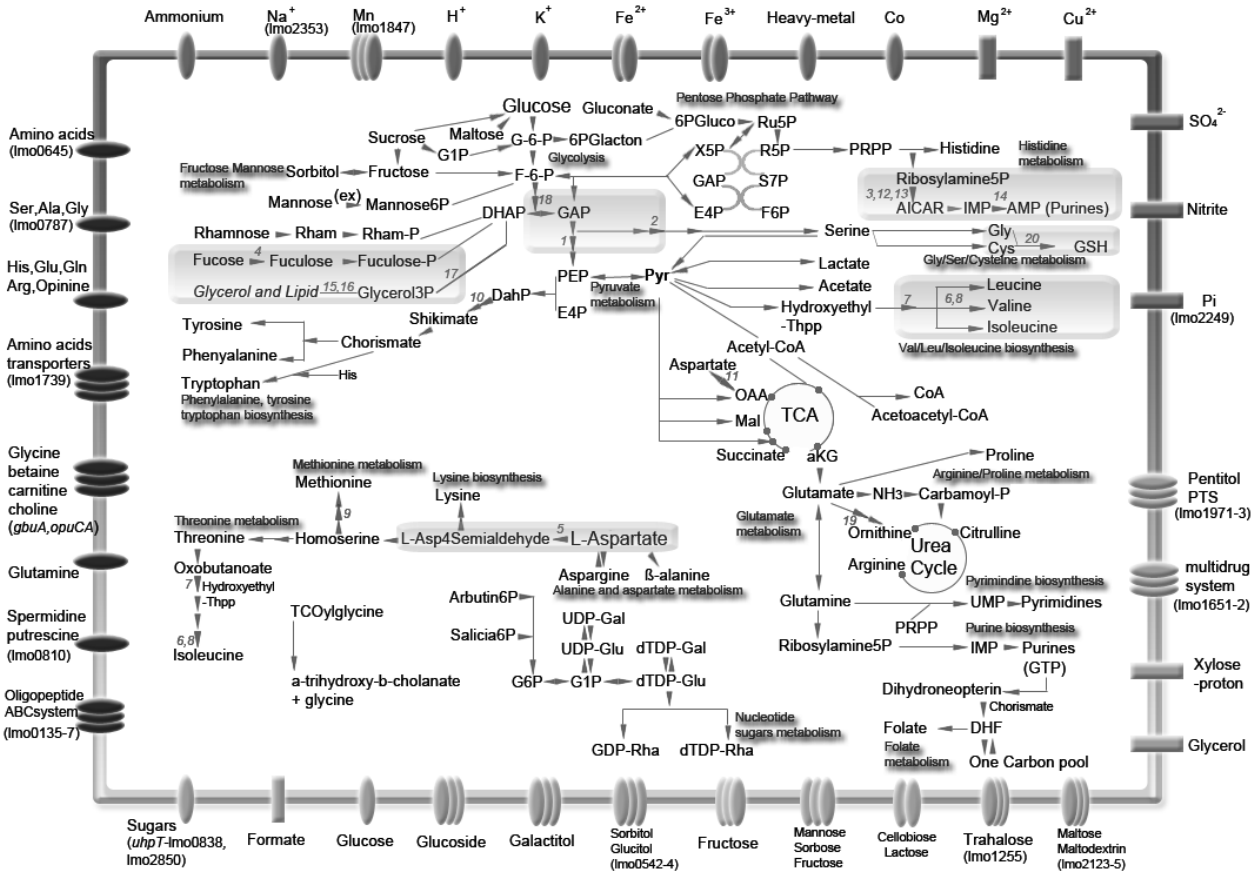


Abb. 3: Modellierung des listeriellen Metabolismus während der Replikation in humanen Epithelzellen. Die wichtigsten anabolischen und katabolischen Stoffwechselwege von L. monocytogenes sind gezeigt. Transporter für Kationen (grün), für Anionen (pink), für Kohlenhydrate und organische Säuren (orange), und für Aminosäuren und Peptide (blau) befinden sich in der Membran. Rote Ziffern markieren Schlüsselenzyme, in hellrot sind die für die intrazelluläre Replikation wichtigsten metabolischen Wege dargestellt (Schauer et al., 2010).

In Zusammenarbeit mit Prof. Goebel vom Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig Maximilians-Universität München wurde die Rolle der Pyruvat-Decarboxylase (PycA) während des *in vitro* und *in vivo*-Wachstums von *L. monocytogenes* untersucht (Schär *et al*., J. Bacteriol. 2010). DieseBakterien produzieren Oxalacetate primär durch Carboxylierung von Pyruvat, wie wir mittels Knockout-Mutanten und ^{13}C-Isotopologen-Analyse zeigen konnten. Eine *pycA*-Insertionsmutante ist außerdem nicht in der Lage, innerhalb von Darmepithelzellen zu proliferieren und zeigt eine hohe Virulenzattenuation im Sepsismodell der Maus.

Die bisherigen Ergebnisse aus dem Screening der intrazellulären Replikation sowie den biochemischen Analysen bestätigen die Hypothese, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Cytosol auf die Fähigkeit des Pathogens zurückgeht, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen. Dabei spielen insbesondere alternative Stoffwechselwege und Aufnahmesysteme für verschiedene Substrate eine entscheidende Rolle. In Zusammenarbeit mit Wolfgang Eisenreich (TUM, Biochemie Garching) werden derzeit umfangreiche Untersuchungen zum Kohlenhydrat-Metabolismus intrazellulärer Listerien durchgeführt. Hierbei werden die metabolischen Flüsse innerhalb der Wirtszellen und des Pathogens mittels der ^{13}C-Isotopologen-Analyse gemessen und analysiert.

Neue metabolischer Eigenschaften von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Novel metabolic properties of* Salmonella enterica *serovar Typhimurium

Carsten Kröger / Shabarinath Srikumar

Ein beträchtlicher Teil der Gene eines bakteriellen Genoms ist von unbekannter Funktion. Bei der Aufklärung dieser funktionalen Lücken rücken zunehmend metabolische Eigenschaften in den Vordergrund des Interesses. Metabolische Fähigkeiten werden häufig durch sog. genomische Inseln vermittelt und erhöhen das Potential von Bakterien, bislang unbesiedelte Nischen auch innerhalb eines Wirtes zu erobern. Das Verständnis des Metabolismus von Mikroorganismen dient auch der Prophylaxe und 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.

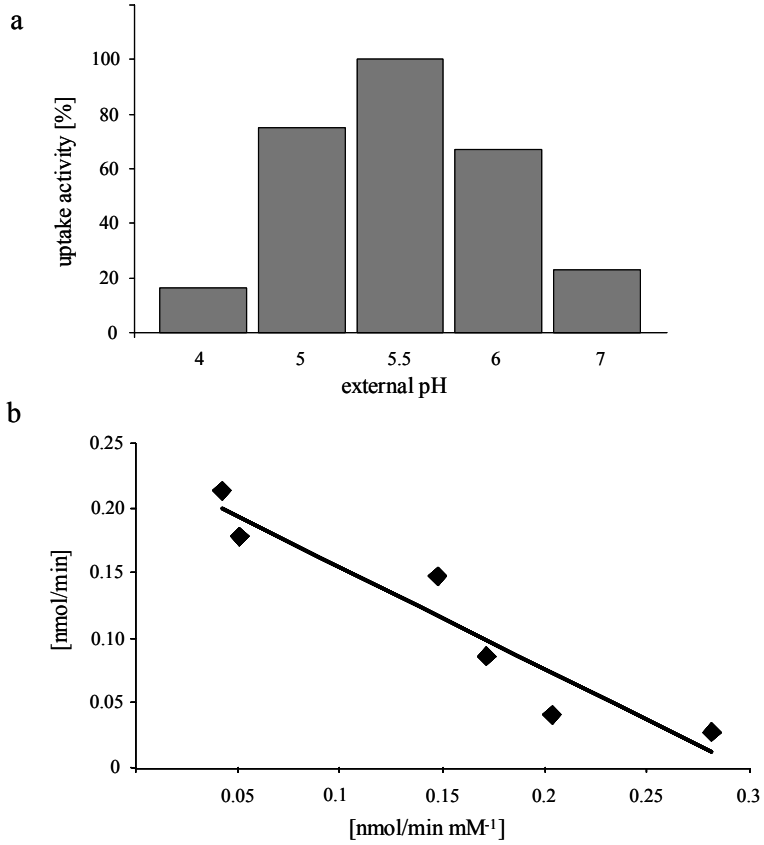


Abb. 4: Charakterisierung des hauptsächlichen myo-Inositoltransporters IolT1 aus S. enterica sv. Typhimurium. a) Bestimmung des optimalen pH-Wertes. b) Sättigungskinetik des Transporters, dargestellt als Eadie-Hofstee-Plot (Kröger et al., 2010).

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. Ein Beispiel ist die „metabolische Insel" GEI4417/4436, die die für den Abbau von *myo*-Inositol benötigten *iol* Gene trägt. Die komplexe Regulation der *iol*-Gene wurde entschlüsselt, indem die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisiert wurde. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnte der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, charakterisiert werden. Außerdem gelang die Identifizierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol, dessen Regulation, Expression und Aktivität detailliert bestimmt wurden (Kröger *et al*., Microbiology 2010, 156: 128). Zusätzlich wurde ein sog. „bistabiler Phänotyp von Salmonellen bei Wachstum mit *myo*-Inositol beobachtet, der nach Deletion des Repressors jedoch wieder aufgehoben wird (Abb. 5). Zur Zeit wird der molekulare Hintergrund dieser Bistabilität beleuchtet.

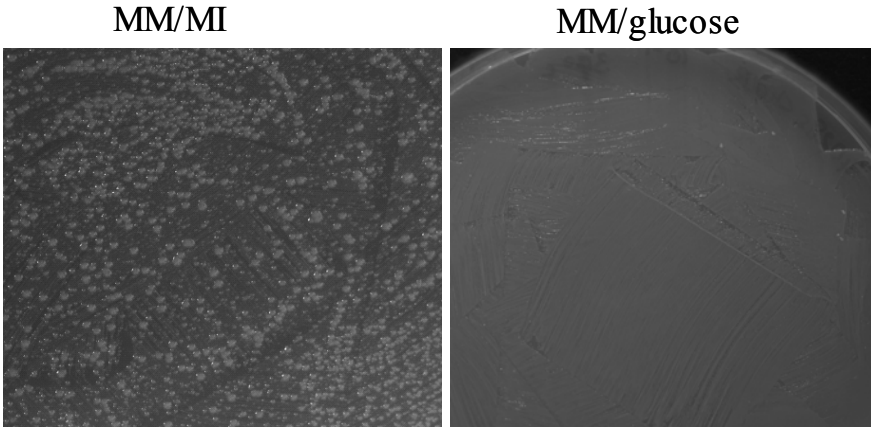


Abb. 5: Bistabilität von Salmonellen beim Wachstum mit myo-Inositol (MI) als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle (links). Als Grundmedium fungierte ein definiertes Minimalmedium (MM). Als Kontrolle diente Wachstum auf MM mit Glukose, hierbei ist keine Bistabilität zu beobachten (rechts).

In einem neuen Projekt beschäftigen wir uns mit der Fähigkeit von Salmonellen, die ubiquitär in Lebensmitteln und dem Säugetierdarm vorkommenden Verbindungen Ethanolamin und Propandiol abzubauen. Die für diesen Metabolismus benötigten Gene kommen interessanterweise nur in sehr wenigen pathogenen Bakterien vor. Interessanterweise handelt es sich hierbei um Lebensmittelpathogene wie *L. monocytogenes* und *Clostridium perfringens*. Eine molekularbiologische Charakterisierung dieser Stoffwechselwege im Hinblick auf ihre Bedeutung während der Proliferation von Salmonellen in Lebensmitteln wird zur Zeit durchgeführt.

Bacillus cereus und aerobe Sporenbildner

Monika Ehling-Schulz[1], **Siegfried Scherer**

[1] Die Arbeiten zu Bacillus werden in enger Kooperation mit der Abteilung Lebensmittelmikrobiologie, Veterinär-medizinische Universität Wien durchgeführt, die unter der Leitung von Prof. Dr. Monika Ehling-Schulz stehen.

Endosporenbildende Bazillen sind in der Milchindustrie und weiteren Zweigen der Lebensmittelindustrie ernstzunehmende Kontaminationsquellen. Da einige Bazillen Toxine produzieren, die gastrointestinale Erkrankungen hervorrufen, stellen diese bakteriellen Kontaminanten für den Konsumenten eine potentielle Gefahr dar. Darüber hinaus spielen Bazillen und deren Sporen eine wichtige Rolle bei bakteriell bedingtem Lebensmittelverderb, insbesondere bei dem vorzeitigen Verderb von Milch und Milchprodukten. Die meisten Sporen überstehen die Kurzzeitpasteurisation, aber auch in hoch erhitzten Produkten werden immer wieder Sporenbildner nachgewiesen. Das Toxizitätspotential der Bacillus-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. Der wohl bekannteste toxinbildende Vertreter ist B*acillus cereus,* aber neuere Studien deuten darauf hin, dass auch andere *Bacillus* sp. in der Lage sind toxinogene Substanzen zu bilden, die jedoch im Einzelnen noch nicht erforscht sind. Im Fokus der AG Bacillus stehen daher, neben dem als Lebensmittelvergifter bekannten *B. cereus*, hochhitzeresistente Bazillen.

B. cereus kann prinzipiell 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, wohingegen entsprechende Systeme zum routinemäßigen quantitativen Nachweis des emetischen Toxins Cereulid noch nicht verfügbar sind. 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 ermöglichen es uns die genauen regulatorischen Parameter der Toxinproduktion zu untersuchen. Die molekularen Tools und Bio-Assays, im Rahmen unserer Studien zu *B. cereus* etablierten wurden, stehen nun auch für weiterführende Arbeiten an hitzeresistenten Bazillen zur Verfügung.

Evaluierung der Hemmwirkung von langkettigen Polyphosphaten auf die Cereulid-Toxinproduktion im Lebensmittel

Inhibition of cereulide toxin synthesis by emetic Bacillus cereus via long-chain polyphosphates

Elrike Frenzel

Cereulid, ein Lebensmittel-Intoxikationen verursachendes Peptidtoxin, wird während des Wachstums von emetischen *Bacillus cereus*-Stämmen im Lebensmittel selbst gebildet. Sowohl das Toxin, als auch die *B. cereus*-Endosporen, die häufige Kontaminanten von Lebensmitteln und deren Ingredienzien darstellen, sind außerordentlich resistent gegenüber thermischen und enzymatischen Verfahren und können daher bspw. nicht durch einfaches Erhitzen während des Produktionsprozesses oder im Endprodukt inaktiviert werden. Da das Toxin nur 1,2 kDa groß ist, kann es auch nicht durch Filtrationsprozesse entfernt werden.

Bislang existierten keine gezielten Strategien, um die Cereulid-Bildung im Lebensmittel zu hemmen. Daher wurde die Hemmwirkung von drei verschiedenen Mixturen langkettiger Polyphosphate, im Folgenden als „polyP“ bezeichnet, auf das Wachstum als auch auf die Toxinproduktion von emetischen *B. cereus* hin untersucht. PolyPs werden in der Milch und Fleisch verarbeitenden Industrie als Zusatzstoffe primär aufgrund ihrer physikochemikalischen Wirkung eingesetzt und dienen primär als Emulsifikatoren und Stabilisatoren. Sekundär wird zudem häufig eine antimikrobielle Wirkung gegenüber gram-positiven Bakterien beobachtet.

Initiale Untersuchungen zeigten, dass bereits geringe Konzentrationen (0,03%) einen zellteilungshemmenden, aber keine lytischen Effekt auf das Wachstum von *B. cereus* in PC-Bouillon hatten (Abb. 1).

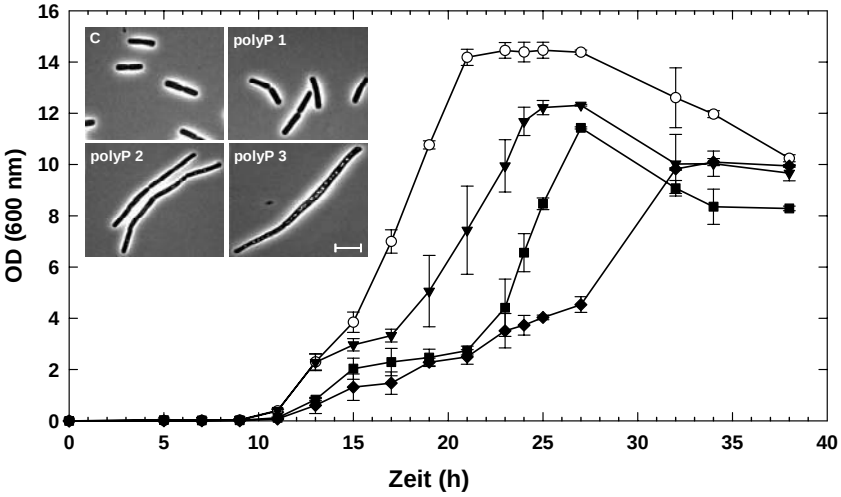


Abb. 1. Wachstumsverhalten von B. cereus F4810/72 in PC-Bouillon unter Einwirkung subletaler Konzentrationen von langkettigen Polyphosphaten (polyP). Dargestellt sind das Wachstum der unbehandelten Kontrollkultur (Kontrolle, ○) und Wachstum unter Einwirkung der Lebensmittelzusatzstoffe (polyP 1, ▼; polyP 2, ■; polyP 3, ♦).

Eine gleichzeitige Untersuchung mittels quantitativer Real-Time-PCR (qRT-PCR) ergab, dass unter diesen sublethalen Bedingungen zudem die Expression des Cereulidsynthetase-Gens *cesA* zeitlich verzögert und 3- bis 4-fach herunterreguliert war. Dementsprechend war auch die Toxinproduktion zeitlich verzögert und ca. 50 % niedriger, als in der unbehandelten Kontrollkultur. Diese Hemmwirkung wurde im Folgenden in zwei Modelllebensmitteln (Milchprotein-basierte, rekonstituierte Babynahrung und Hafermilch) genauer untersucht.

Die Lebensmittel wurden (entweder unbehandelt oder nach polyP-Zugabe) mit einem biolumineszenten *B. cereus*-Indikatorstamm beimpft und für 24 Stunden bei 24°C inkubiert, um einen Verderb des Lebensmittels bei Raumtemperatur zu simulieren. Die Auswertung mit einem IVIS-Kamerasystem ergab, dass die Aktivität des Cereulidsynthetase-Promotors unter Einwirkung der drei polyP-Mixturen signifikant verringert war. In parallel angefertigten Ansätzen wurde darüber hinaus das Wachstum und die Toxinproduktion untersucht. Entsprechend der Hemmung des Biolumineszenzsignals wurde deutlich, dass auch die Toxinsynthese unter der Einwirkung der PolyP-Mixturen in unterschiedlichem Maße gehemmt war. PolyP 2 und 3 zeigten des Weiteren eine bakteriostatische bzw. leicht bakterizide Wirkung. Unter Einwirkung von PolyP 1 konnte keine Verringerung des Zellwachstums beobachtet werden, dennoch war auch hier die Cereulidproduktion signifikant verringert (Frenzel *et al*., in press).

Die erstmaligen Untersuchungen zur Hemmwirkung der langkettigen Polyphosphate auf die Cereulidtoxin-Synthese zeigen, dass diese ein hohes Potential bergen, als Hemmstoffe in Präventionsstrategien bezüglich der Erhöhung der Lebensmittelsicherheit eingebunden zu werden. Allerdings ist für jedes Lebensmittel im Einzelnen zu klären, ob sich der Einsatz der Polyphosphate mit der Lebensmittelkomposition und mit dem Herstellungsverfahren vereinbaren lässt. Da es sich um in der Milch- und Fleischindustrie weit verbreitete Lebensmittelzusatzstoffe handelt, scheint das mögliche Anwendungsspektrum allerdings sehr breit gefächert zu sein.

Das Vorhaben wurde aus Mitteln des FEI (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.), des AiF (Arbeitskreis für industrielle Forschung), des BMWi (Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie, Projekt-Nummer 15186N) und durch das Bayrische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten (Projekt Nummer. M2-7606.2-526) gefördert.

Quantifizierung von Cereulid in Lebensmitteln mit Hilfe einer Stabilisotpenverdünnungsanalyse

Quantification of cereulide in foods using SIDA

Tobias Bauer, Timo Stark*, Thomas Hofmann*

*Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik, WZW, TU München

Das von *Bacillus cereus* produzierte zyklische Dodekadepsipeptid Cereulid, das Erbrechen verursacht, weist eine hohe Stabilität auf. So kann es weder durch extreme Hitze, noch durch lebensmittelverträgliche basische sowie saure Bedingungen oder von proteolytischen Enzymen gespalten werden. Aufgrund dieser Eigenschaften kann es, einmal im Lebensmittel gebildet, weder beim Wiedererhitzen der Nahrung noch bei der Passage durch den Gastro-Intestinaltrakt zerstört werden. Wegen seiner lipophilen Eigenschaften wird es relativ einfach im Magen absorbiert.

In der Literatur finden sich verschiedene Methoden zum Nachweis von Cereulid, wie LC/MS basierte Nachweissysteme oder auch verschiedene Bioassays; z.B. ein Zellkultur basierter Zytotoxizitäts-Assay und ein Eberspermienmotilitäts-Assay. Da alle vorgenannten Nachweisverfahren das Antibiotikum Valinomycin als Referenz verwenden, war bisher keine exakte Quantifizierung der Cereulidkonzentration in unterschiedlichen Matrices möglich.

Für die Etablierung eines quantitativen Detektionssystems wurden daher zunächst Cereulid und ^{13}C- markiertes Cereulid *in vivo* produziert und mittels HPLC gereinigt. Die Struktur beider Substanzen wurden mit Hilfe von LC/MS sowie 1D/2D NMR Spektroskopie überprüft. Ebenso konnte die Reinheit des Cereulids mit über 98 % ermittelt werden. Das $^{13}C_6$- markierte Cereulid wurde zur Entwicklung einer hochsensitiven sowie sehr präzisen Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) für eine quantitative Ermittlung von Cereulid in Lebensmitteln mittels LC/MS-MS genutzt (Bauer *et al*. 2010).

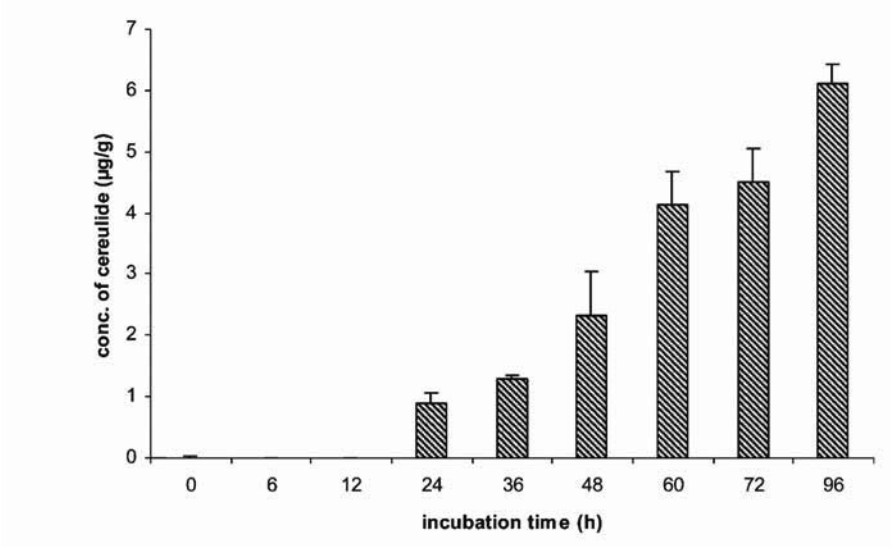


Abb.1: Cereulidsynthese in Reis bei 24°C. Die Reisansätze wurden je mit 150 KbE/g mit einer Übernachtkultur versetzt und anschließend mit Hilfe der entwickelten SIVA analysiert.

Mit dieser entwickelten SIVA wurde die Cereulidproduktion in Reis über einen Zeitraum von 96 Stunden analysiert. Dazu wurde Reis mit etwa 150 KbE/g mit *B. cereus* versetzt und bei 24°C inkubiert. Die erste Cereulidbildung konnte nach 24 Stunden mit einer Konzentration von etwa 0,9 µg/g Reis detektiert werden und stieg dann kontinuierlich bis zu einer Konzentration von 6,1 µg/g Reis an. Dies zeigt, dass es schon bei sehr geringen Kontaminationen mit *B. cereus* in Lebensmitteln, gelagert bei Raumtemperatur über einen Tag, zu starken Lebensmittelerkrankungen kommen kann. Im Vergleich dazu liegt die bisher vermutete Erbrechen-auslösende Dosis bei etwa 10µg/kg Körpergewicht.

Das Vorhaben wird aus Mitteln des DFG-geförderten Graduiertenkollegs 1482 finanziert.

Isolierung und Charakterisierung hitzeresistenter Sporenbildner aus Lebensmittel
Isolation and characterization of heat resistant spore formers in food

Genia Lücking, Zeynep Atamer*, Marina Witthuhn*, Jörg Hinrichs*

*Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Universität Hohenheim

Sporenbildner (häufig *Bacillus* Arten) werden immer wieder in sterilisierten Lebensmitteln nachgewiesen und stellen somit eine reale Gefahr mit beträchtlichen wirtschaftlichen Konsequenzen für die produzierenden Unternehmen dar. Allein in der Abteilung für Mikrobiologie des ZIEL werden jährlich etwa 20 Schadensfälle untersucht, bei denen Sporenbildner in hoch hitzebehandelten Produkten eine Rolle spielen. Vor allem Milchprodukten wie zum Beispiel H-Milch, UHT-Sahne, Kaffeesahne, Kakaomilch, Milchpulver oder auch Schmelzkäse sind dabei betroffen. Der zunehmende weltweite Handel mit haltbaren Lebensmitteln und der Einsatz exotischer und importierter Lebensmittelzutaten in neuen Milchprodukten bringen neue, nicht selten unbekannte Sporenbildner in die Produkte ein.

Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprojektes (AiF 16012N) mit dem Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie (LTH) der Universität Hohenheim wurden aus Lebensmitteln (Rohstoffen, Vorstufen und Endprodukte) sowie aus Schadensfällen, die im Zusammenhang mit Sterilprozessen stehen, Sporenbildner isoliert. Bislang wurden ca. 100 Lebensmittelproben auf hitzeresistente Sporenbildner hin untersucht, indem die Proben zunächst bei 100°C für 20 min erhitzt wurden und anschließend mit BHI Medium angereichert wurden. In ca. 50% der untersuchten Proben konnten Sporenbildner detektiert werden, dabei waren vor allem Milch- und Kakaopulver sowie thermisch unbehandelte Produktvorstufen stark belastet. Insgesamt wurden in den Produkten 107 verschiedene Isolate gefunden bei denen es sich vorwiegend um *Bacillus licheniformis* und thermophile Bazillen (z.B. *Geobacillus spp*.) handelte. Alle Isolate wurden mittels FTIR Spektroskopie und (falls erforderlich) 16S-rDNA-Sequenzierung identifiziert. Für die Herstellung von Sporen wurden drei Festmedien unterschiedlicher Zusammensetzung getestet. Auf allen drei Medien konnte ein gutes Wachstum der untersuchten Sporenbildner beobachtet werden, jedoch war der Sporulationsgrad stark unterschiedlich. Selbst verschiedene Stämme einer Spezies zeigten unterschiedliches Sporulationsverhalten auf den verschiedenen Agarsorten. Von ausgewählten Isolaten wurden daraufhin definierte Sporensuspensionen hergestellt und Hitzeinaktivierungsversuche durchgeführt. Das thermische Screening von 26 Stämmen wurde bei einer Heißhaltezeit von 30 min bei 110 °C, 120 °C und 125°C in einem Batch-System an der Röhrchen-Erhitzungsanlage durchgeführt (Abb. 1).

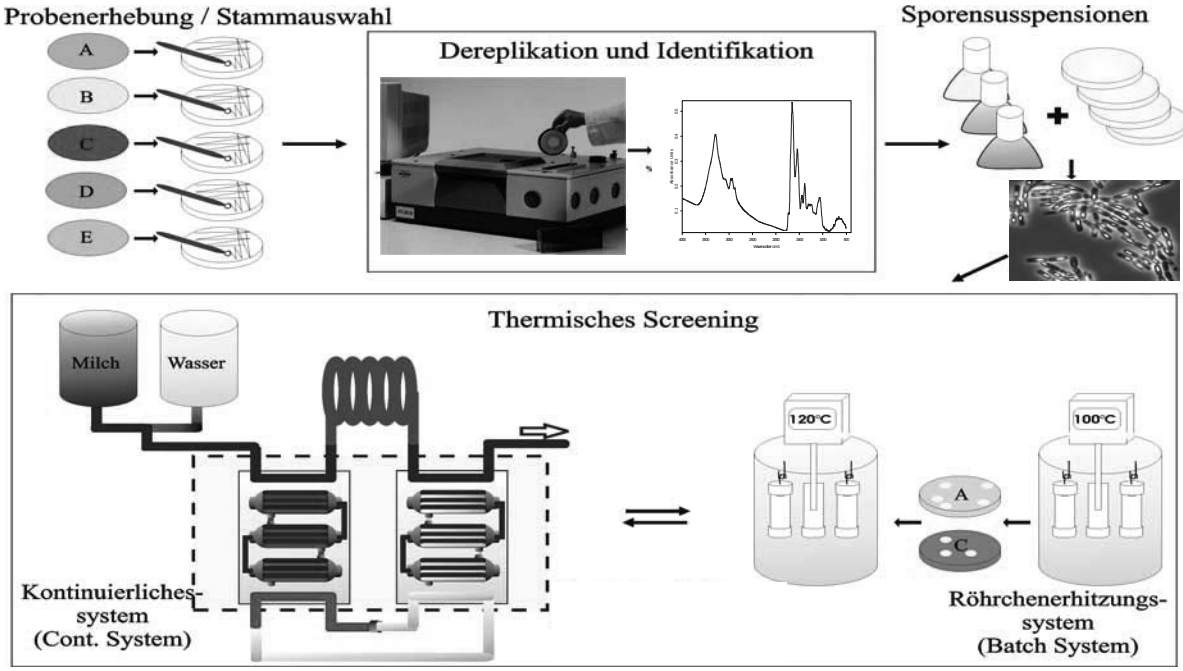


Abb. 1: Übersicht zur Identifizierung und thermischen Charakterisierung der aus Lebensmittel isolierten Sporenbildner.

Dabei wurden selbst nach einer Behandlung bei 125 °C 30 min aktive Stämme detektiert. Zwei mesophile und vier thermophile Stämme zeigten eine besondere Hitzestabilität. Diese dienen als Grundlage für weitere geplante Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses des Erhitzungssystems (Batch System versus kontinuierliches System) sowie des Erhitzungsmediums (Puffer, Milch) auf die Inaktivierung von Sporen.

Das Vorhaben wurde aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie in Rahmen der industriellen Gemeinschaftsforschung der AiF/FEI (Forschungsvorhaben 16012 N) gefördert.

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Kröger, Carsten, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 16.06.2010: „Molekular-Charakterisierung des *myo*-Inositol Metabolismus von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: Genetik, Transport und Regulation“

Schauer, Kristina, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 06.07.2010: „Identifizierung und Charakterisierung metabolischer und struktureller Targets für antimikrobielle Substanzen in *Listeria monocytogenes*“

Bleicher, Anne, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 29.07.2010: „Antagonistic activity of complex cheese surface microbial consortia against food-borne pathogens“

Diplomarbeiten

Moritz, Christian: „Insektizide Aktivität von Yersinia spp.“

Masterarbeiten

Dold, Catherine: „Molekulare Interaktionen von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* mit der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*“

Jäger, Nicolas: „Charakterisierung der an der insektiziden Toxinexpression von *Yersinia enterocolitica* beteiligten Regulatoren“

Kern, Beate: „Functional analysis of a novel type IV secretion system (Tfs4) in *Helicobacter phylori*“

Krementowski, Anna: „Anaerobic characteristics of *Listeria monocytogenes*“

Minenko, Ekaterina: „Untersuchung zum Wachstum des human-pathogenen Schimmelpilzes Aspergilius Fumigatur unter Sauerstoffmangel“

Rütschle, Andrea: „Untersuchung der Hitzeresistenz ausgewählter *Bacillus subtilis* Stämme aus Lebensmitteln“

Schmidt, Holger: „Einfluss von Extremwetterereignissen auf Stickstofftransformationsprozesse in Grünlandböden“

Schmitter, Sybille: „Development of a TetR dependent regulatory gene expression system in *Listeria monocytogenes*“

Spicher, Carolin: „Analysen bakterieller Gemeinschaften in Aquifersedimenten in Bezug auf Mineralogie und Kontamination mit aromatischen Kohlenwasserstoffen“

Wüstner, Stefanie: „Molecular effects of acicified nitrite on *Listeria monocytogenes*“

Bachelorarbeiten

Bergkemper, Florian: „Molekulare Analyse des *ttr* Operons bei *Salmonella typhimuriumi*“

Brandt, Katharina: „Genomvergleich zwischen den *Yersinia enterocolitica*-Stämmen 8081 und W22703“

Duckek, Daniela: „Vorkommen und Biodiversität von Listeria auf Ranunculus fluitans“

Hellinckx, Jessica: „Differenzierung klinisch relevanter Hefearten des Candida albicans-Komplexes mittels Fourier-Transform Infrarot Spektroskopie“

Kühne Caroline: „Untersuchung des Einflusses von ausgewählten *Bacillus cereus* Transkriptionsfaktoren auf die Regulation der Cereulid-Toxinsynthese“

Lehmann, Denis: „Erstellung eines FTIR-Spektroskopie basierenden Identifikationsssystems für Wasserkeime“

Nadler, Florian: „Virulenzdeterminanten von *Yersinia frederiksenii*“

Wichert, Rielana: „Initial evaluation of the role of transciption factors DegU, CcpA and PagR in cereulide toxin synthesis in emetic *Bacillus cereus*“

Veröffentlichungen

Bauer T, Stark T, Hofmann T, Ehling-Schulz M (2010). Development of a stable isotope dilution analysis for the quantification of the Bacillus cereus toxin cereulide in foods. J Agric Food Chem. 58:1420-1428

Bleicher A, Obermajer T, Matijašić BB, Scherer S, Neuhaus K (2010). High biodiversity and potent anti-listerial action of complex red smear cheese microbial ripening consortia. Annals of Microbiol 60:531-539

Bleicher A, Stark T, Hofmann T, Bogovič Matijašić B, Rogelj I, Scherer S, Neuhaus K (2010). Potent antilisterial cell-free supernatants produced by complex red-smear cheese microbial consortia. Journal of Dairy Science 93, No 10:4497-4505

Büchl NR, Hutzler M, Mietke-Hofmann H, Wenning M, Scherer S (2010). Differentiation of probiotic and environmental *Saccharomyces cerevisiae* strains in animal feed. Journal of Applied Microbiology 109:783-791

Clavel T, Wayne D. Charrier C, Wenning M, Elson C, Haller D (2010). *Enterorhabdus caecimuris* sp. nov., a member of the family *Coriobacteriaceae* isolated from a mouse model of spontaneous colitis, and emended description of the genus *Enterorhabdus* Clavel et al. 2009. IJSEM 60:1527-1531

Dolowschiak T, Chassin C, Mkaddem SB, Fuchs TM, Weiss S, Vandewalle A, Hornef MW (2010). Potentiation of epithelial innate host responses by intercellular communication. PLOS Pathogens Vol.6, 11:1-14

Dommel MK, Frenzel E, Strasser B, Blöchinger C, Scherer S, Ehling-Schulz M (2010). Identification of the main promoter directing cereulide biosynthesis in emetic Bacillus cereus and its application for real-time monitoring of ces gene expression in foods. Applied and Environmental Microbiology Vol. 76, No. 4:1232-1240

Dommel MK, Lücking G, Scherer S, Ehling-Schulz M (2010). Transcriptional kinetic analyses of cereulide synthetase genes with respect to growth, sporulation and emetic toxin production in *Bacillus cereus*. Food Microbiol, in press.

Frenzel E., T. Letzel, S. Scherer, and M. Ehling-Schulz. (2010). Impact of long-chain polyphosphates on cereulide toxin synthesis in emetic *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol., in press..

Fuchs TM, Scherer S (2010). Yersinia Effiziente Killer. Labor & more 2.10:66-69

Kaufmann V, Scherer S, Kulozik U (2010). Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit von Konsummilch und ihre stofflichen Veränderungen: ESL-Milch. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 5:59-64

Kröger C, Stolz J, Fuchs TM (2010). *Myo*-Inositol transport by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Microbiology 156:128-138

Monnet C, Bleicher A, Neuhaus K, Sarthou A-S, Leclercq-Perlat M-N, Irlinger F (2010). Assessment of the anti-listerial activity of microfloras from the surface of smear-ripened cheeses. Food Mircrobiol. 27:302-310

Neuhaus K, Oelke D, Fürst D, Scherer S, Keim DA (2010). Towards automatic detecting of overlapping genes – Clusters BLAST analysis of viral genomes. Pizzuti C, Ritchie MD, Giacobini M (Eds.): EvoBio 2010, LNCS 6023, 228-239

Schär J, Stoll R, Schauer K, Loeffler DIM, Eylert E, Joseph B, Eisenreich W, Fuchs TM, Goebel W (2010). Pyruvate carboxylase plays a crucial in carbon metabolism of extra- and intracellularly replicating *Listeria monocytogenes.* J. Bacteriol Vol. 192, No 7:1774-1784

Schauer K, Geginat G, Liang C, Goebel W, Dandekar T, Fuchs TM (2010). Deciphering the intracellular metabolism of *Listeria monocytogenes* by mutant screening and modelling. BMC Genomics 2010, 11:573

Scherer S (2010). Zur Evolution des Bakterienrotationsmotors: Ist ein tragfähiges Modell für die Entstehung des bakteriellen Rotationsmotors bekannt?. Studium Integrale 17:3-15

Spanier B, Starke M, Higel F, Scherer S, Fuchs TM (2010). *Yersinia enterocolitica* infection and *tca*A-dependent killing of *Caenorhabditis elegans*. Appl. Environ Microbiol., Vol.76, No. 18:6277-6285

Trcek J, Fuchs TM, Trülzsch K (2010). Analysis of *Yersinia enterocolitica* invasion expression *in vitro* and *in vivo* using a novel *luxCDABE* reporter system. Microbiology 156:2734-2745

Wenning, M, Büchl NR, Scherer S (2010). Species and strain identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and artificial neural networks. J. Biophoton 3, No. 8-9:493-505

Wenning M, Rieser G, Scherer S, von Brehmer S, Schuffenhauer G (2010) Rapid, simple and cost-efficient environmental monitoring of microorganisms by Fourier-transform infrared spectroscopy. In: Moldenhauer J (ed) Environmental Monitoring - A Comprehensive Handbook Vol 4. DHI Publishing LLC, River Grove, 203-221

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:	Dipl.-Ing. Mathias Aschenbrenner	-5056
	M.Sc. Simon Bauer	-5031
	Dipl.-Ing. Michael Betz	-3855
	M.Sc. Janina Brand (ab 01.12.2010)	-3856
	Annette Brümmer-Rolf	-3939
	Dipl.-Ing. (FH) Evelyn Dachmann	-5317
	Dipl.-Ing. Jannika Dombrowski (ab 01.09.2010)	-3534
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dr.-Ing. Petra Först	-3536
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dr. Ronald Gebhardt	-3536
	Carina Gerhard	-5056
	Cornelia Glashauser	-3856
	Dipl.-Ing. (FH) Sabine Grabbe	-3534
	Dipl.-Ing. Christopher Guyot	-5317
	Brigitte Härter	-3941
	Dipl.-Ing. Thomas Heidebach (bis 15.06.2010)	-5317
	Dipl.-Ing. Martin Heinrich	-3856
	Marianne Holzmann	-3937
	Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller (ab 01.12.2010)	-5032
	Karin Karasch (bis 15.12.2010)	-3940
	Dipl.oec.troph. Veronika Kaufmann (bis 30.09.2010)	-5032
	Anne Keller	-3941
	Karl Kroiss (bis 30.04.2010)	-3942
	Dipl.-Ing. Wolfgang Kühnl (bis 31.07.2010)	-3536
	Dipl.-Ing. (FH) Jeanette Kupfer	-5031
	Dipl.-Ing. Magdalena Merkl (ab 15.09.2010)	-5032
	Dipl.-Ing. Patricia Meyer (ab 01.12.2010)	-2507
	Maria Muranyi (bis 31.08.2010)	-3937

Dipl.-Ing. Katherina Pruß	-3939
Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Dr. rer. nat. Chalat Santivarangkna	-3856
Dipl.-Ing.(FH) Rita Schaupp	-3481
Dipl.-Ing. Iris Schmitz	-3481
Erich Schneider	-3537
Dipl.oec.troph. Nadja Siegert	-3534
Dipl.-Ing. (FH) Sonja Stirtzel	-3939
Dipl.-Ing. Tim Steinhauer (ab 15.03.2010)	-2507
Dipl.-Ing. Thomas Strixner	-2507
M.Sc. José Toro	-3481
Günther Unterbuchberger	-3942
Dipl.-Ing. Linda Voswinkel (ab 01.05.2010)	-5032
Dipl.-Ing. Rebecca Würth (ab 15.11.2010)	-5317

Nachwuchsforschergruppe:

PhD Seronei Cheison	-5056
M.Sc. Elena Leeb	-3855
Ilona Hager	-5031

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

Gäste: Katarina Lisak, PhD Scientist, University of Zagreb, Kroatien
21.03.2010 – 28.02.2011

Prof. Dr. Barbaros Özer, Abant Izzet Baysal University, Golkoy, Bolu, Türkei, 12.07.2010 – 07.09.2010, gefördert durch DAAD

Tanja Gospodova, DBU-Stipendiatin, Bulgarien
01.12.2010 - 31.08.2011

Vorwort

Das Jahr 2010 war wieder nicht langweilig, sondern geprägt durch erfolgreiche Forschungstätigkeit und besondere Ereignisse. Das Wissenschaftszentrum Weihenstephan (WZW) feierte sein 10jähriges Bestehen als Großfakultät. In diesem Rahmen wurde vom Lehrstuhl der 1. Weihenstephaner Berglauf über 6,5 km über den Campus und den Weihenstephaner Berg organisiert und mit 75 Teilnehmern bei heißen Temperaturen im Juni 2010 durchgeführt.- Fortsetzung folgt, denn Atmosphäre und Resonanz lassen dazu keine Alternative. Mit sechs abgeschlosssenen Dissertationen sowie einigen wissenschaftlichen Auszeichnungen war das Jahr 2010 ebenso ein Meilenstein. Wolfgang Kühnl setzte sich im europäischen Doktorandenwettbewerb der „European Federation of Chemical Engineering“ nach nationaler Vorentscheidung am Ende gegen 26 Mitbewerber aus europäischen Ländern und Israel durch und erhielt dafür den Julius Maggi Research Award. Thomas Heidebach, in der nationalen Vorauswahl auch ganz vorne mit dabei, wurde mit dem Preis für seine hervorragende Dissertation vom „Verband der Ehemaligen Weihenstephaner“ ausgezeichnet. Elf laufende Forschungsvorhaben (davon 3 Verbundvorhaben mit anderen Universitäten), ca. 1,5 Mio Euro eingeworbene Forschungsmittel, 79 Vorträge und Poster bei wissenschaftlichen Tagungen, 34 Publikationen komplettieren die Forschungsbilanz. Dies gelang trotz größter Belastung in der

Lehre, wo nicht nur aufwändige Kleingruppenpraktika und Übungen für höchste Betreuungsqualität sorgten, sondern zudem knapp 1200 Einzelprüfungen abgenommen wurden.

Simon Bauer betreut als Studienberater Anfragen aktiver und zukünftiger Studenten der Bioprozesstechnik mit größtem Engagement. In 28 Bachelor und 12 Diplom- und Masterarbeiten wurden Studenten mehrerer Studiengänge an das wissenschaftliche Arbeiten herangeführt. Die Nachwuchsforschergruppe „Bioaktive Peptide und Proteintechnologie wurde erfolgreich evaluiert und daraufhin um 2 weitere Jahre bis Februar 2012 verlängert. Dem ZIEL sei dafür sehr herzlich gedankt.

Auszeichnungen 2010

Wolfgang Kühnl erhielt am 28. Mai 2010 den Julius Maggi Research Award der European Federation of Chemical Engineering für die beste PhD-Präsentation anlässlich des 4th European Workshop on Food Engineering and Technology (EFCE) in Belgrad, Serbien

Dr.-Ing. Thomas Heidebach - Herausragende Doktorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen, ausgezeichnet am 07.10.2010 in Weihenstephan

Dipl.-Ing. Tim Steinhauer - Herausragende Diplomarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen, ausgezeichnet am 07.10.2010 in Weihenstephan

Magdalena Rechenmacher - Herausragende Semesterarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, ausgezeichnet am 07.10.2010 in Weihenstephan

M.Sc. Simon Bauer - Krones Preis für hervorragende Studienleistungen, ausgezeichnet anlässlich des Hochschultages am 24.06.2010 in Weihenstephan

Gebhardt, R., Toro Sierra, J., Kupfer, J., Müller-Buschbaum, P., Kulozik, U.: High pressure light scattering investigation of the association/dissociation behavior of b-Lactoglobulin, 6th International Conference on High Pressure Bioscience & Biotechnology HPBB 2010, Freising, 28.8.-1.9.2010. Preis für das beste Poster der Tagung.

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozesstechnik/Aseptik
Workgroup Bioprocess Engineering / Aseptic and Sterile Technology
Leitung: Dr.-Ing. Petra Först

Inaktivierungskinetik des probiotischen Teststamms *L. paracasei* (F19) unter trocknungsrelevanten Bedingungen

Inactivation kinetics of the probiotic strain L. paracasei (F19) under conditions relevant to the drying process

Petra Först, Marianne Holzmann

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. Diese Inaktivierung soll jedoch weitestgehend vermieden werden.

Die Inaktivierung von Zellen unter stationären Bedingungen ist abhängig von der Temperatur sowie von der Konzentration bzw. Wasseraktivität a_w. Gleichzeitig ändert sich während der Trocknung sowohl die Temperatur als auch die Wasseraktivität. Deshalb ist davon auszugehen, dass die Inaktivierung von Mikroorganismen während der Trocknung ungleichmäßig verläuft und von den momentan im Trockner vorliegenden Bedingungen abhängt. Ziel ist es deshalb, die Inaktivierung des probiotischen Teststamms *L. paracasei* (F19) während der Trocknung durch die Kopplung der Inaktivierungskinetik mit der Trocknungskinetik zu modellieren. Dazu muss zunächst die Inaktivierungskinetik des *L. paracasei* unter konstanten Temperatur- und Wasseraktivitätsbedingungen bestimmt werden, was im vorliegenden Bericht dargestellt wird.

Für die Bestimmung der Inaktivierungskinetik wurden Vakuumtrocknungen bei niedrigen Prozesstemperaturen durchgeführt, die jeweils abgebrochen wurden, wenn die gewünschte Wasseraktivität erreicht war. Danach wurden die Zellen in hermetisch abgedichteten Glasgefäßen über gesättigten Salzlösungen bei jeweils konstanten Temperaturen gelagert und die Überlebensraten nach verschiedenen Zeiten ermittelt. Tab. 1 zeigt die Versuchsparameter und Salzlösungen.

Tabelle 1: Untersuchte Kombinationen von Wasseraktivität und Temperatur für die Bestimmung der Inaktivierungskinetik sowie verwendete Salzlösungen

Salz	$KC_2H_3O_2$	$MgCl_2$	K_2CO_3	$Mg(NO_3)_2$	NaBr	NaCl
aw (20 °C)	0.23	0.33	0.43	0.53	0.58	0.76
Temperatur / °C	10, 20, 37	10, 20, 37	4, 10, 20, 37, 50	4, 10, 20, 37, 50	4, 10, 20, 37, 50	4, 10, 20, 37, 50

Die Analyse der Inaktivierungskinetik ergab, dass die Inaktivierung formalkinetisch gemäß einer Reaktion 1. Ordnung verläuft, wie in Gl. (1) dargelegt:

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-k \cdot t} \tag{1}$$

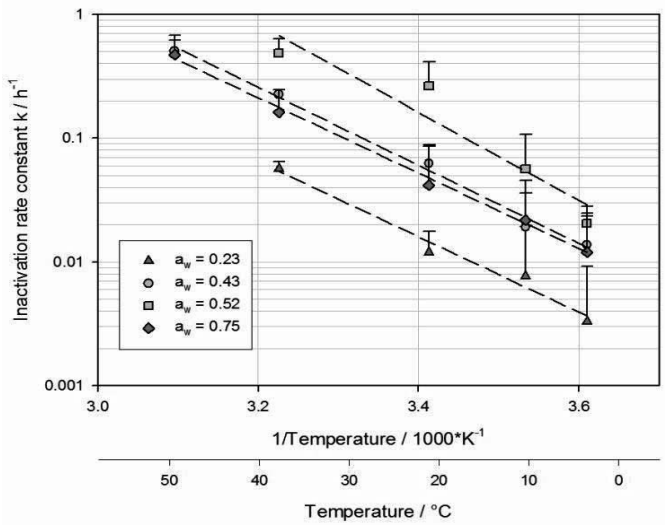


Bild 1: Inaktivierungskonstante *k* in Abhängigkeit von der reziproken Temperatur für verschiedene Wasseraktivitäten

Die Größe N_t bezeichnet die Lebendkeimzahl nach der Zeit *t* im Glasgefäß und N_0 die Lebendkeimzahl nach der Trocknung. Die Größe *k* bezeichnet die Inaktivierungskonstante. Je größer *k*, desto schneller verläuft die Inaktivierung.

Zunächst wurde die Abhängigkeit der Inaktivierungskonstante *k* in Abhängigkeit von der Temperatur für eine jeweils konstante Wasseraktivität betrachtet. Diese Abhängigkeit ist in Bild 1 gezeigt. Bild 1 zeigt, dass die Inaktivierungsrate exponentiell mit der reziproken Temperatur abnimmt und somit mit der Arrhenius-Gleichung beschrieben werden kann. Auffällig ist aber, dass die mittlere Wasseraktivität von a_w = 0.52 zur höchsten Inaktivierung führt und die Inaktivierungsgeschwindigkeit sowohl bei größeren als auch kleineren Wasseraktivitäten abnimmt. Dies zeigt bereits, dass die Inaktivierungsrate nichtlinear von der Wasseraktivität abhängt und ein Maximum im mittleren Wasseraktivitätsbereich durchläuft.

Es hat sich gezeigt, dass die Abhängigkeit der Inaktivierungsrate von der Wasseraktivität mittels einer Gauß-Funktion beschrieben werden kann:

$$k = k_0 + a \cdot e^{\left(-0.5\left(\frac{a_w - a_{w0}}{b}\right)^2\right)} \qquad (2)$$

Dabei beschreibt k_0 die Inaktivierungsrate bei sehr hohen und sehr niedrigen Wasseraktivitäten, *a* und *b* die Höhe und Breite des Peaks und a_{w0} die Position des Maximums.

Damit die Inaktivierung während der Trocknung vorhergesagt werden kann, müssen einerseits die Trocknungskinetik sowie der Verlauf der Produkttemperatur bekannt sein.

Des Weiteren muss eine Gleichung entwickelt werden, die die Inaktivierungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Temperatur und der Wasseraktivität beschreibt. Diese Ab-hängigkeit ergibt sich durch die Kombination von Gl. (2) mit der Arrhenius-Gleichung. Zur Entwicklung dieser Gleichung wurden zu-nächst die Temperaturabhängig-keiten der Koeffizienten k_0, *a*, a_{w0} und *b* betrachtet. Es zeigte sich, dass nur die Koeffizienten k_0 und *a* temperaturabhängig sind. Daraus ergibt sich die Beziehung zwischen der Inaktivierungsgeschwindigkeit, der Temperatur und der Wasseraktivität.

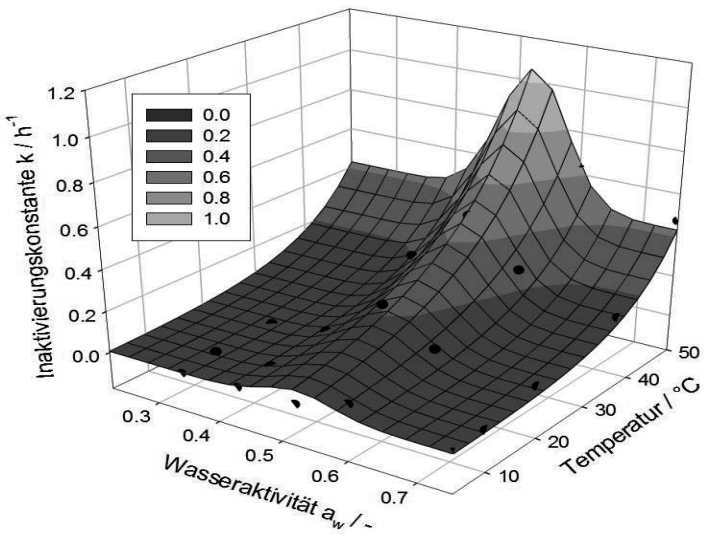


Bild 2: Berechnete und gemessene (Symbole) Abhängigkeit der Inaktivierungskonstante k in Abhängigkeit von Temperatur und Wasseraktivität für L. paracasei F19

$$k(a_W, T) = k_1\, e^{(m \cdot T)} + k_2\, e^{\left(\frac{E_a}{R(T+273)} - 0.5\left(\frac{a_W - a_{W0}}{b}\right)^2\right)} \qquad (3)$$

Die Modellkoeffizienten für die Inaktivierung von *L. paracasei* F19 sind in Tab. 2 aufgelistet.

k_1/h^{-1}	k_2/h^{-1}	E_a/(kJ/mol)	a_{w0}/-	m/-	b/-	r^2
4.1E-3	1.91E5	33.88	0.52	-4.08E3	5.25E-2	0.98

In Bild 2 sind sowohl die experimentell bestimmten Inaktivierungskonstanten als auch die nach Gleichung 3 berechneten Werte im Vergleich dargestellt. Bild 2 zeigt, dass die Inaktivierungskonstante in einem mittleren Wasseraktivitätsbereich maximal ist. Dieses Inaktivierungsverhalten ist von unmittelbarer Bedeutung für das Überleben der Zellen während eines Trocknungsprozesses. Der nächste Schritt muss also sein, den Trocknungsprozess so zu gestalten, dass der Bereich der maximalen Inaktivierung möglichst schnell durchlaufen wird.
Dies führt zur Entwicklung eines dynamischen Trocknungsprozesses, bei dem die Prozessparameter jeweils an die Höhe der Inaktivierung angepasst werden, um diese zu minimieren.

Storage Stability of Vacuum-Dried Probiotic Bacterium *Lactobacillus paracasei*
Lagerstabilität von vakuumgetrockneten Probiotica – Lactobacillus paracasei
Chalat Santivarangkna, Petra Först

The continuous consumption of foods, nutraceuticals, and solid dosage forms of tablet, capsule and powder that contain probiotics has been reported to promote health condition in individuals. It is recommended that probiotic cultures should be consumed regularly and must be present sufficiently high in the products. Therefore, it is important that probiotic products retain highly enough number of viable cells through their shelf life. Nevertheless, depending on the storage conditions and time, the numbers of cells are commonly reduced drastically several orders. Hence, this aspect must be considered in the production of dried probiotic preparation, probiotic supplement for non-fermented functional foods, and probiotic cultures for fermented foods. Generally, dry probiotic products are stable when stored at 4ºC. However, storage at ambient temperature is common for probiotic dairy powder and many types of non-dairy products such as cereal products, drinks, and confectionary. This creates an overwhelming challenge for probiotic stability, not to mention that the transportation and storage costs will be greatly reduced. Despite of this importance, storage stability of probiotics was reported mostly from studies conducted with cells from standard industrial drying process, i.e. freeze drying.

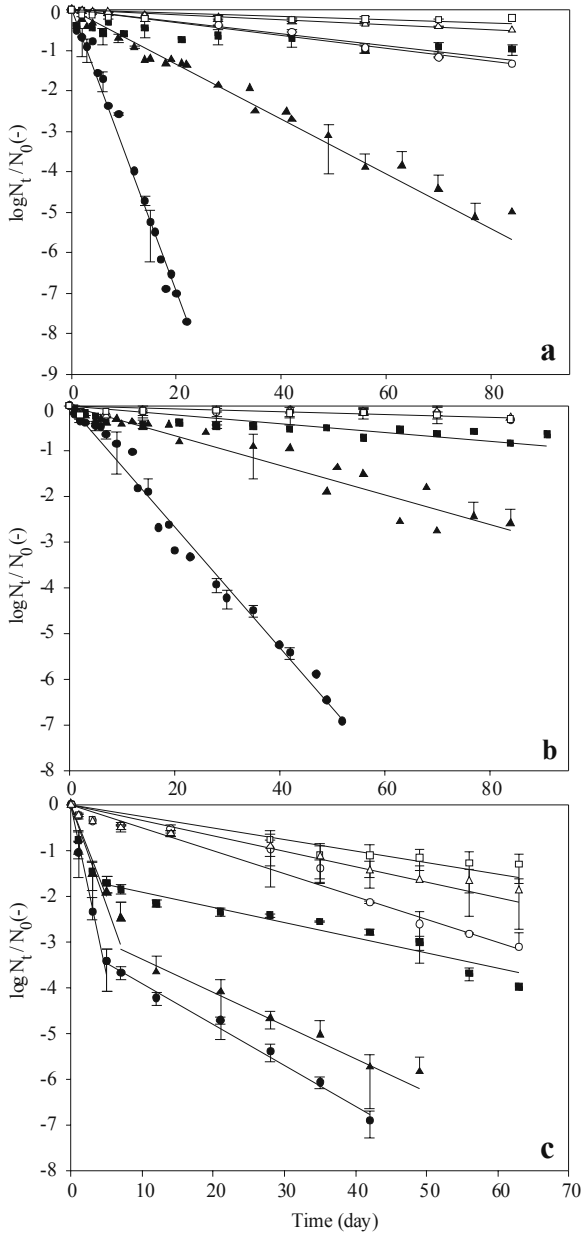


Abb. 1: The storage stability of vacuum dried *Lactobacillus paracasei* expressed as the logarithmic values of relative survival fraction ($\log N_t/N_0$) against storage time (a) cells dried without protectant (b) cells dried in the presence of sorbitol (c) cells dried in the presence of trehalose. The dried samples are stored at 20ºC (open symbols) and 37ºC (closed symbols) at a_w of 0.33 (circles), 0.22 (triangles), and 0.07 (squares).

There is no information available on the storage stability of probiotics dried by vacuum drying which we have previously shown that it is a promising alternative drying process (Higl et al. 2008; Santivarangkna et al. 2006). For this reason, the stability of a vacuum- dried probiotic bacterium under varying storage conditions was determined. *Lactobacillus paracasei* F19 was used as a model probiotic bacterium. Sorbitol and trehalose were selected as protectants.

The survival of *L. paracasei* was determined after vacuum drying in the absence and in the presence of sorbitol and trehalose.

The survival of cells dried without protectants, with sorbitol, and trehalose was 29±4, 54±6, and 70±7 %, respectively. The initial viable cell concentrations before storage (t_0) of the samples were $2.0x10^{10}$, $7.0x10^{10}$, and $1.2x10^{11}$ cfu/g, respectively.

After drying, dried cells were stored under different temperatures and a_w. For the storage temperature of 4ºC (data not shown), no significant reduction in survival was observed in all dried samples.

For the storage temperatures of 20 and 37ºC, the survival decreased continuously depending on a_w and the drying formulation (Fig.1).

In the absence of the protectants, the survival of vacuum-dried cells was decreased dramatically at 37ºC, especially at high a_w.

For example, the survival was decreased seven log cycles after 20 days at 37ºC and a_w of 0.33. At 20ºC, the dried cells were considerably stable.

At a_w =0.33, a decimal reduction of survival was observed after 3 months (Fig. 1a). The survival of dried cells was greatly improved in the presence of sorbitol (Fig.1b).

Comparatively, the survival reduction of seven log cycles occurred after storage for ca. 50 days at the aforementioned non-optimal storage conditions (37ºC and a_w =0.33).

Furthermore, cells vacuum-dried with sorbitol were very stable at 20ºC, even at high a_w. Surprisingly, trehalose which showed the best protective effect against drying inactivation did not effectively stabilize the dried cells during storage. The survival of dried cells was even lower in the presence of trehalose (Fig. 1c).The survival reduction of cells dried with trehalose exhibited two phases where at begin of the storage a very strongly reduction was noticeable. At this phase, a decimal reduction in survival was observed only after ca. one day. The extent of the reduction was diminished later. Still, overall stability of the cells dried with trehalose was not improved, compared to dried cells without the supplementation. For instance, after 2 months the survival of cells dried with trehalose reduced more than 3 log cycles at 37ºC and a_w = 0.07, whereas the survival of control dried cells reduced less than a log cycle under the same storage conditions. Sorbitol and trehalose improved survival of *L. paracasei* during drying. Vacuum-dried *L. paracasei* was highly stable during storage at 4ºC, and no significant inactivation could be observed after three months of storage. In practical, this temperature is commonly recommended also for the storage of commercial dried starter cultures. However, a reduced stability of *L. paracasei* was observed when stored at non-refrigerated temperatures. The reduced survival during storage can be well described as a first-order reaction kinetic, which is typical for freeze-dried bacteria. The stability at non-refrigerated temperature can be improved also by the addition of protectants. Cells dried with sorbitol can be stored at 20ºC without significant loss of the survival.

However, clear reduction in survival was observed at the storage temperature of 37ºC and a_w =0.33), whereas only the reduction of less than a log cycle and 2 log cycles was observed at 37ºC and a_w =0.07 and 0.22 for ca. 3 months.

The viabilities after storage at both conditions were ca.10^8 and10^9 cfu/g which is still higher than the recommended effective dosage of probiotic products. This implies that the storage of probiotics at this high temperature can still be possible when the relative humidity is very low. It has a practical implication for the use of vacuum-dried cells in probiotic products that aimed to market on ambient shelves. This is due to the fact that most powder probiotic products, in practise, are filled in packages which already protect them from air and the high relative humidity. In contrast, trehalose did not improved storage stability of dried *L. paracasei*. Moreover, it clearly destabilized the dried cells when stored at 37ºC, although protective effects of trehalose during storage are well known in many organisms. In conclusion, we showed that vacuum-drying together with the employment of an appropriate protectant can be used to produce dry probitics with high storage stability.

References:
Higl, B., Santivarangkna, C., Foerst, P. 2008. Bewertung und Optimierung von Gefrier-und Vakuumtrocknungsverfahren in der Herstellung von mikrobiellen Starterkulturen. Chemie Ingenieur Technik. 80, 1157-1164.
Santivarangkna,C., Kulozik,U., Foerst,P. 2006. Effect of carbohydrates on the survival of *Lactobacillus helveticus* during vacuum drying. Lett. Appl. Microbiol. 42, 271-276.

Einfluss der Prozessbedingungen und des Fermentations-pH auf das Trocknungsergebnis der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Starter- und probiotischen Bakterienkulturen

Influence of process conditions and fermentation pH on the drying result of starter and probiotic cultures in the low-temperature vacuum drying

Simon A.W. Bauer, Petra Först

Entscheidend für die effektive Produktion und Distribution von Starterkulturen sind schonende Verfahren, die eine hohe Vitalität und Aktivität der Bakterien gewährleisten. Bei Probiotika steht dagegen das Überleben im Produkt bzw. der Nutzen als Nahrungsergänzungsmittel im Vordergrund. Das Gefrieren bzw. die Gefriertrocknung als Standardverfahren zur Konservierung von Starterkulturen gelten bisher zwar als schonende Verfahren für die Präparation von Starterkulturen, jedoch ist der Energiebedarf bei Produktion bzw. Transport hoch. Zudem kann bereits durch das Gefrieren der Zellen eine Schädigung eintreten. Eine deutliche Reduktion der Energiekosten kann durch Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (NTVT) knapp oberhalb des Tripelpunktes erreicht werden. Gleichzeitig ist es möglich, sowohl thermische als auch gefrierbedingte Schäden auszuschließen und höhere Vitalität und Aktivität zu erreichen. Um diese Methode zu bewerten, ist es notwendig, den Einfluss der Fermentationsbedingungen und den Einfluss der Trocknungs-Prozessparameter zu ergründen.

Im Fokus der Arbeit stehen somit der Einfluss von Prozessbedingungen sowie die Auswirkung des während der Fermentation induzierten pH-Stresses auf die Vitalität verschiedener Bakterienstämme nach der Trocknung.

Für die Versuche zur Optimierung der Prozessbedingungen wurden drei verschiedene Bakterienstämme (*Lb. paracasei* ssp. *paracasei, Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* und *Bifidobacterium lactis)* in einem modifizierten MRS Medium ohne Korrektur des pH-Wertes in gerührten Flaschen 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. Das Zellkonzentrat wurde bei verschiedenen Prozessbedingungen für 24 Stunden getrocknet. Die Prozessbedingungen wurden zwischen 15 °C und 35 °C Stellflächentemperatur bzw. zwischen 15 mbar und 30 mbar Kammerdruck gewählt. Die so gewonnenen Zellpräparationen wurden hinsichtlich Überlebensrate, Restwas-

sergehalt, Wasseraktivität und metabolischer Aktivität untersucht. Aus den Überlebensraten und Restwassergehalten wurde die NTVT hinsichtlich Überlebensrate und Restwassergehalt optimiert. Dies ermöglicht es, Trocknungsbedingungen festzulegen, die zu relativ hohen Überlebensraten bei relativ niedrigem Restwassergehalt führen, welche für die weiteren Versuche verwendet wurden.

Die Untersuchungen zum Einfluss des Fermentations-pH wurden in 2 L Laborfermentern durchgeführt. Hierbei wurde für jeden Bakterienstamm das Wachstumsverhalten bei unterschiedlichen pH-Situationen untersucht. Dazu wurden die untersuchten Bakterien im Optimum, unter pH-Stress und bei freier Säuerung bis zur frühstationären Wachstumsphase fermentiert. Die gewählten pH-Werte gehen aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1: Untersuchte pH-Werte im Hinblick auf optimale/korrigierte bzw.stressende (pH-ungeregelt) Fermentations-Bedingungen

	pH Optimum	**pH Stress**	**pH Start ungeregelt**	**pH Ende ungeregelt**
Lb. paracasei ssp. *paracasei* F19	6,3	4,5	5	3,8
B. lactis Bb12	6,8	5	5	4,4
Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus*	6,3	4,5	5	4,0

Für die getrockneten Zellpräparate wurden Restwassergehalt, Wasseraktivität und Überlebensrate ermittelt (Abb. 1). Wie zu erkennen, ist die Überlebensrate von *Lb. paracasei* F19 bei ungünstigen Prozessbedingungen von den Fermentationsbedingungen abhängt. Es zeigt sich, dass ein optimaler Fermentations-pH zu weniger trocknungsstabilen Kulturen führt. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass eine Vielzahl von Mikroorganismen in der Lage ist, Anti-Stressproteine zu bilden, was den Einfluss des pH also Faktor erklärt.

Weiter wurden ähnliche Untersuchungen für andere Stämme durchgeführt und festgestellt, dass verschiedene Mikroorganismen unterschiedliche Stressreaktionen und damit verbundene Überlebensraten zeigen. Insgesamt ist festzustellen, dass bei gestressten Zellen, die bei optimalen Trocknungsbedingungen präpariert wurden, sehr hohe Überlebensraten gefunden werden. Die Fermentationsbedingungen stellen im Vergleich zu den Trocknungsbedingungen den entscheidenderen Faktor dar.

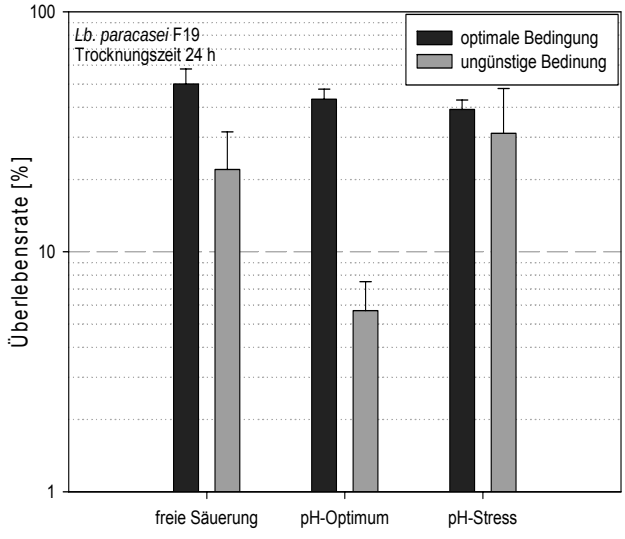


Abb. 1: Überlebensraten für *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* F19 nach der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (24 Stunden) in Abhängigkeit der Fermentationsbedingungen und Prozessbedingungen (Optimale Trocknung: 6 °C maximale Produkttemperatur (schwarz); unvor-teilhafte Trocknung: 26 °C maximale Produkttemperatur (gestreift))

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

Die Rolle des Glaszustandes als Grenzkriterium für die Stabilität von Starterkulturen bei der Gefriertrocknung

The role of the glassy state as determining threshold for stability of starter cultures during freeze-drying

Mathias Aschenbrenner, Petra Först

Ein gängiges Verfahren zur Konservierung der Mikroorganismen ist die Trocknung. Unabhängig vom Verfahren (Sprüh-, Vakuum-, oder Gefriertrocknung) kommt es bei der Trocknung und Lagerung zu einem Vitalitätsverlust. Um den destabilisierenden Einflüssen entgegen zu wirken, werden der Zellsuspension vor dem Trocknungsschritt Schutzstoffe wie z.B. Disaccharide zugegeben. Diese werden während des Gefriertrocknungsprozesses durch schnelles Einfrieren und anschließende Trocknung in den sog. Glaszustand überführt. Im resultierenden Endprodukt sind die Mikroorganismen folglich in eine Matrix aus Zuckerglas eingeschlossen.

Der schützende Effekt des Zuckerglases beruht auf seiner hohen Viskosität (>12Pa.s), aufgrund welcher physikalische und chemische Reaktionen stark verlangsamt ablaufen. Eine charakteristische Größe des auch als „amorph“ bezeichneten Materials ist seine Glasübergangstemperatur T_g. Nur bei Temperaturen unterhalb von T_g befindet sich die Glasmatrix in einem stabilen Zustand. Oberhalb von T_g verliert die Matrix ihren feststoffartigen Charakter, beginnt zu fließen und kollabiert. Bis dato wurde von verschiedensten Autoren gezeigt, dass durch Einbetten von Biomolekülen (Proteine, Liposome, Mikroorganismen,…) in eine Zuckermatrix im Glaszustand eine erhöhte Lagerstabilität erzielt werden kann. Neben der Lagerung spielt die Glasübergangstemperatur aber auch bei der Trocknung eine Rolle. Im Bereich der Pharmaindustrie wird eine Gefriertrocknung mit Produkttemperaturen unterhalb von T_g postuliert. Aufgrund der niedrigen Produkttemperaturen ergeben sich jedoch langsame Trocknungsraten, hohe Verweilzeiten und somit auch hohe Prozesskosten. Das Hauptargument für diese sanfte aber langsame Trocknung ist das ästhetischere (weil homogenere) Erscheinungsbild der gefriergetrockneten Probe. Für den Bereich der Gefriertrocknung von Mikroorganismen wurde diese Prozessgestaltung mehr oder weniger kritiklos übernommen. Bis heute ist jedoch nicht klar ob der Glaszustand bereits während der Trocknung einen positiven Einfluss auf die finalen Produkteigenschaften hat, ob in diesem Zusammenhang eine Glasmatrix Trocknungsschäden vermindern kann und ob die Zeit bis zum Eintritt in den Glaszustand eine Rolle spielt. Dieser Aspekt wurde in der Vergangenheit, vermutlich aufgrund fehlender in-situ Messtechniken, nahezu gänzlich vernachlässigt.

Mit einem in-situ Wägesystem, welches sich auf der Stellfläche des Gefriertrockners platzieren lässt, wurde eine Methode entwickelt, mit welcher die Trocknungsrate sowie der tatsächliche Wassergehalt der Probe während der Gefriertrocknung bestimmt werden kann. Bei gleichzeitiger Temperaturerfassung lässt sich der jeweilige physikalische Zustand der Probe im Phasenzustandsdiagram ermitteln. Das in Abb. 1 dargestellte Diagramm setzt sich aus einer Gefrierkurve und einer Glasübergangskurve zusammen und zeigt einen kompletten Trocknungsverlauf. Die Gefrierkurve gibt den Zustand der Probe in Abhängigkeit von der Gefriertemperatur wider. Die Glasübergangskurve liefert die Glasübergangstemperatur als Funktion des Restwassergehaltes.

Proben, deren Zustand rechts von dieser Kurve liegt befinden sich im Glaszustand. Während des Gefrierprozesses bewegt sich die Probe zuerst entlang der Gefrierkurve, während der Trocknung dann weiter zu höheren Feststoffgehalten bis schließlich die Glasübergangskurve überschritten wird.

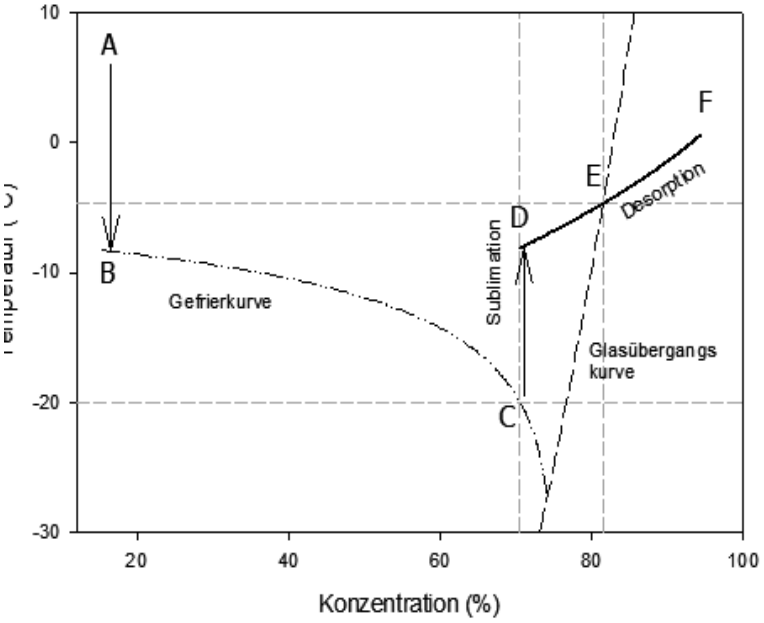


Abb. 1: Phasenzustandsdiagramm für die Zell-Zucker-Suspension.
Die einzelnen Abschnitte des Gefriertrocknungsprozesses wurden integriert: Kühlen (A-B), Gefrierkonzentrierung (B-C), Sublimation (C-D), vollständige Desorption bis zur Endkonzentration (D-F) und Teildesorption bis zum Erreichen des Glaszustandes (D-E).

Das Überschreiten der Glasübergangskurve kann mit dem Übergang der Probe in den Glaszustand gleichgesetzt werden. Somit kann der Eintrittszeitpunkt sowie der dabei vorherrschende Restwassergehalt in den Glaszustand ermittelt werden.

Um die Relevanz des Glaszustandes zu erörtern, wurden unterschiedliche Trocknungsprotokolle gewählt, wobei die Prozessparameter so eingestellt wurden, dass unterschiedliche Verweilzeiten außerhalb des Glaszustandes t_g realisiert wurden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Trocknungsprotokolle mit Gefriertemperatur $T_{Gefrier}$, Stellflächentemperatur $T_{Stellfläche}$, Trocknungsdruck $p_{Trocknung}$ und theoretische Sublimationstemperatur laut Wasserdampftafel $T_{Sublimation}$

Protokoll	$T_{Gefrier}$ (°C)	$T_{Stellfläche}$ (°C)	$p_{Trocknung}$ (mbar)	$T_{Sublimation}$ (°C)	t_g (h)
I	-40	-20	0,12	-40	0
II	-20	0	1,03	-20	2,9
III	-20	+20	0,12	-40	2,0

Abb. 2 zeigt die ermittelten Überlebensraten (ÜR) der getrockneten Kultur (*Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* mit Laktose (0,5 $g/g_{Zelltrockenmasse}$)) direkt nach der Trocknung und nach Lagerung bei definierten Bedingungen (a_w=0,33; T=25°C). Unabhängig vom gewählten Trocknungsprotokoll trat während der Trocknung in keiner der Proben eine Kristallisation des Schutzstoffes Laktose auf. Der Nachweis erfolgte über Röntgenbeugungsspektrometrie. Die Restwassergehalte aller Proben lagen bei etwa 6%. Die ÜR direkt nach der Trocknung wiesen trotz unterschiedlicher Verweilzeiten außerhalb des Glaszustandes keinen signifikanten Unterschied auf. Ein schützender Effekt der Glasmatrix während der Trocknung ist nicht zu erkennen.

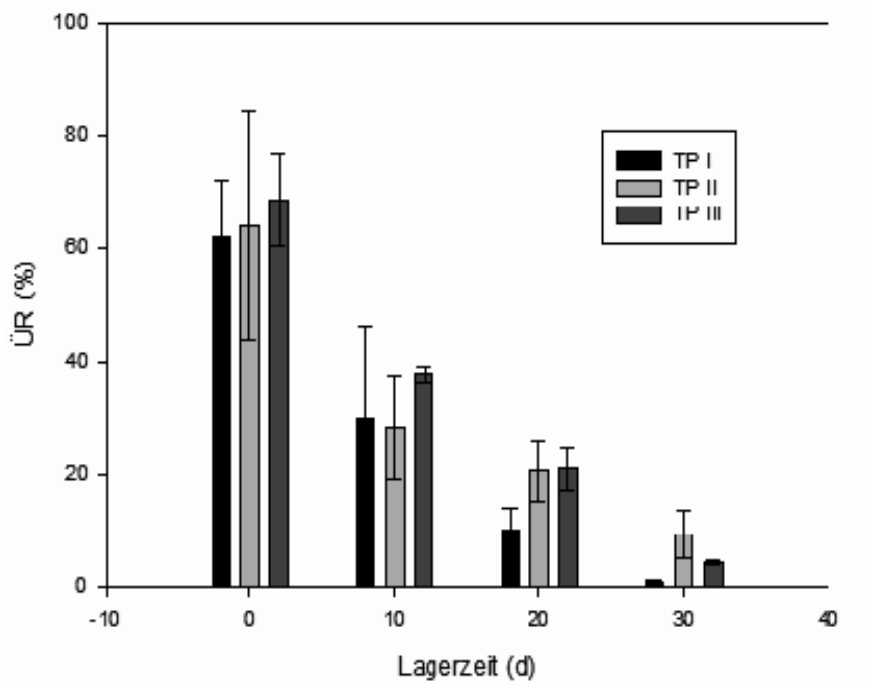


Abb. 2:
Ermittelte Überlebensraten (ÜR) für den Testkeim in Abhängigkeit von den Prozessbedingungen, direkt nach Trocknung (d=0) und nach einer Lagerung bei aw 0,33 und 25 °C. Für TP I befindet sich die Probe während der gesamten Trocknung im Glaszustand. Für TP II und III tritt die Probe während Trocknung nach 2,9 bzw. 2 h in den Glaszustand ein.

Im Fall der Lagerstabilität zeigen sich jedoch Unterschiede. Entgegen der Erwartungen weisen die Proben mit einer gewissen Verweilzeit außerhalb des Glaszustandes eine höhere Lagerstabilität auf als die Proben, die sich bereits von Beginn an im Glaszustand befinden. Eine mögliche Erklärung wäre eine Verdichtung der schützenden Zuckermatrix während der Trocknung aufgrund der niedrigeren Viskosität im Nicht-Glaszustand.

Auf Basis dieser Erkenntnisse kann der Gefriertrocknungsprozess speziell für Mikroorganismen weiterentwickelt werden. Da die Rolle des Glaszustandes während der Trocknung scheinbar zu vernachlässigen ist, können Prozesse mit deutlich erhöhter Produkttemperatur und somit höherer Trocknungsgeschwindigkeit gewählt werden als dies bisher in der Praxis der Fall war.

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

Schutzmechanismus vegetativer Bakterien gegen Wasserstoffperoxid

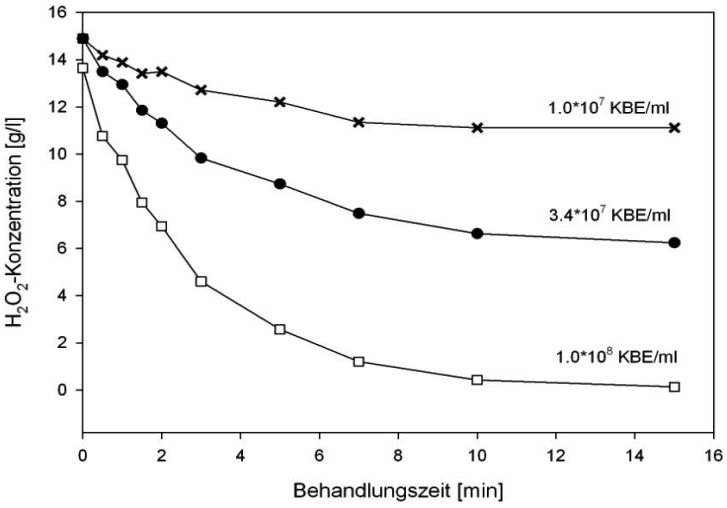
Protective mechanism of vegetative bacteria against hydrogen peroxide

Katherina Pruß, Sonja Stirtzel

Vegetative Bakterien können sich gegen das mikrobizide Agens Wasserstoffperoxid (H_2O_2) schützen, indem sie es mithilfe des Enzyms Katalase zu Wasser und Sauerstoff abbauen. Für niedrige H_2O_2-Konzentrationen mit Startkonzentrationen von 1-100 mM H_2O_2 wurde dieser Schutzeffekt bereits nachgewiesen (Ma & Eaton, 1992, Stewart *et al*., 2000, Ichise *et al*., 2008). Auch bei der Behandlung von vegetativen Bakterien mit verdampftem H_2O_2, wie es z.B. für die Entkeimung von Packstoffen Verwendung findet, wurde die Vermutung aufgestellt, dass sich die Mikroorganismen durch die Wirkung der Katalase gegen die Inaktivierung schützen können (Otter & French, 2009). Ziel dieses Teilabschnitts eines Projekts über die Packstoffentkeimung mit Wasserstoffperoxid war es zu bestimmen, ob sich vegetative Mikroorganismen auch gegen höhere H_2O_2-Konzentrationen schützen und somit für ein unzureichendes Inaktivierungsergebnis sorgen können. Als Testorganismus wurde *Exiguobacterium oxidotolerans* ausgewählt, ein gram-positives Bakterium, das erstmals aus den H_2O_2-haltigen Abwässern einer Fischfabrik isoliert wurde. Es besitzt eine besonders hohe Katalaseaktivität,

über 550-mal höher als *Escherichia coli* (Yumoto *et al*., 2004). Durch dieses Extrembeispiel sollten die Grenzen des bakteriellen H_2O_2-Abbaus aufgezeigt werden.

Suspensionen von *E. oxidotolerans* unterschiedlicher Ausgangskeimzahl wurden im Verhältnis 1/10 mit 15, 30 und 60 g/l Wasserstoffperoxid bei 25 °C vermischt. Nach einer bestimmten Einwirkzeit wurde jeweils eine Probe zur Keimzahlbestimmung mit Hilfe des Kochschen Plattenverfahrens und zur Konzentrationsbestimmung entnommen. Die H_2O_2-Konzentration wurde nach der Filtration der Probe photometrisch bei 240 nm bestimmt.

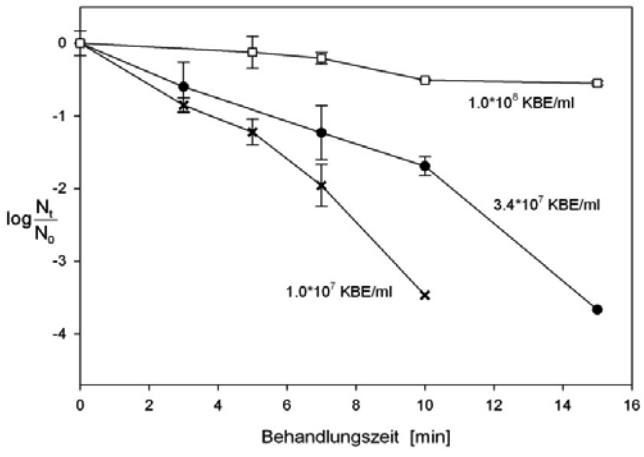


Beispielhaft werden an dieser Stelle nur die Ergebnisse für eine H_2O_2-Aus-gangskonzentration von 15 g/l dargestellt. Für höhere Konzentrationen wurden qualitativ übereinstimmende Ergebnisse gefunden. Abb. 1 zeigt den H_2O_2-Konzentrationsverlauf in Abhängigkeit von der Ausgangskeimzahl von *E. oxidotolerans*.

Abb. 1: H_2O_2-Konzentrationsverlauf (Ausgangskonzentration: 15 g/l) in Abhängigkeit der *E. oxidotolerans* Ausgangskeimzahl bei 25 °C

Es wird deutlich, dass mit zunehmender Ausgangskeimzahl die anfängliche Abbaugeschwindigkeit zunimmt und die verbleibende H_2O_2-Menge nach 15 min Behandlungszeit abnimmt.

Vergleicht man die zugehörigen Abtötungskurven in Abb. 2 wird ersichtlich, dass mit zunehmender Ausgangskeimzahl die Abtötungsgeschwindigkeit der Bakterien sinkt.



Im Fall einer Ausgangspopulation von $1.0*10^8$ KBE/ml bleibt die Keimzahl über einen Zeitraum von 15 min relativ konstant, was auf den vollständigen Abbau des Wasserstoffperoxids zurückzuführen ist. Wird die H_2O_2-Konzentration hingegen zunächst reduziert und verbleibt dann auf einem konstanten Ni-veau (Ausgangskeimzahl: $1.0*10^7$ KBE/ml und $3.4*10^7$ KBE/ml) kommt es in Abhängigkeit von der Ausgangskeimzahl zu einer mehr oder weniger schnellen Abtötung von *E. oxidotolerans*.

Abb. 2: Inaktivierungskurven von *E. oxidotolerans* mit H_2O_2 (Ausgangskonzentration: 15 g/l) in Ab-hängigkeit der Ausgangskeimzahl bei 25 °C mit N_t: Keimzahl zum Zeitpunkt t und N_0: Ausgangskeimzahl

Interessanterweise zeigen die Abtötungskurven in der log-linearen Auftragung im letztgenannten Fall einen konkaven Verlauf, d.h. eine Zunahme der relativen Inaktivierungsgeschwindigkeit mit zunehmender Behandlungsdauer. Aufgrund der Abnahme der H_2O_2-Konzentration über die Behandlungszeit wäre der umgekehrte Fall, d.h. die Abnahme der relativen Abtötungsgeschwindigkeit zu erwarten. Erklären lässt sich diese Beobachtung durch die Inaktivierung der Katalase durch H_2O_2 (Lardinois et al., 1996). Das H_2O_2, welches zu Beginn der Behandlungszeit in die Bakterienzelle eindringt, wird zu einem Teil abgebaut, bevor es eine abtötende Wirkung zeigen kann. Daher die zunächst niedrigere relative Abtötungsrate. Im Laufe der Behandlung wird die Katalase durch H_2O_2 inaktiviert, sodass die Abbaugeschwindigkeit abnimmt und die extrazelluläre H_2O_2-Konzentration nahezu konstant bleibt. Das H_2O_2, welches nun in die Zelle eindringt wird nicht mehr von der Katalase abgebaut und kann seinen Wirkort erreichen, die relative Abtötungsrate nimmt im Vergleich zum initialen Zeitbereich der Behandlung zu, obwohl die momentane extrazelluläre H_2O_2-Konzentration niedriger ist als zu Beginn. Der Zeitpunkt an dem die Abtötungsgeschwindigkeit zunimmt wird durch höhere Keimzahlen hinausgezögert.

Es wurde gezeigt, dass sich *E. oxidotolerans* durch den vollständigen Abbau von H_2O_2 in einem für Desinfektionsprozesse relevanten Konzentrationsbereich vor der Inaktivierung schützen kann. Darüber hinaus ist es wahrscheinlich, dass durch die Reduzierung der H_2O_2-Konzentration andere Mikroorganismen langsamer abgetötet werden. Demzufolge kann ein unerwartet schlechtes Inaktivierungsergebnis in einem Prozess auftreten, falls eine Kontamination mit katalase-aktiven Mikroorganismen vorliegt.

Literatur:
Ichise, N., Hirota, K., Ichihashi, D., Nodasaka, Y. Morita, N., Okuyama, H., Yumoto, I. (2008): H_2O_2 tolerance of *Vibrio rumoiensis* S-1^T is attributable to the cellular catalase activity. *J Biosci Bioeng* 106, 39-45
Lardinois, O. M.; Mestdagh, M. M.; Rouxhet, P. G. (1996): Reversible inhibition and irreversible inactivation of catalase in presence of hydrogen peroxide. *BBA Protein Struct M* 1295, 222-238
Ma, M., Eaton, J. D. (1992): Multicellular defense in unicellular organisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 89, 7924-7928
Otter, J. A.; French, G. L. (2009): Survival of nosocomial bacteria and spores on surfaces and inactivation by hydrogen peroxide vapour. *J Clin Microbiol* 47, 205-207
Stewart, P., Roe, F., Rayner, J., Elkins, J. G., Lewandowski, Z., Ochsner, U. A., Hassett, D. J. (2000): Effect of catalase on hydrogen peroxide penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol* 66, 836-838
Yumoto, I., Hishinuma-Narisawa, M., Hirota, K., Shingyo, T, Takebe, F., Nodasaka, Y., Matsuyama, H. Hara, I. (2004): *Exiguobacterium oxidotolerans* sp. nov., a novel alkaliphile exhibiting high catalase activity. *Int J Syst Evo Micr* 54, 2013-2017

Einfluss der Erhitzungsbedingungen auf den Lysinverlust in Babymilchpulver

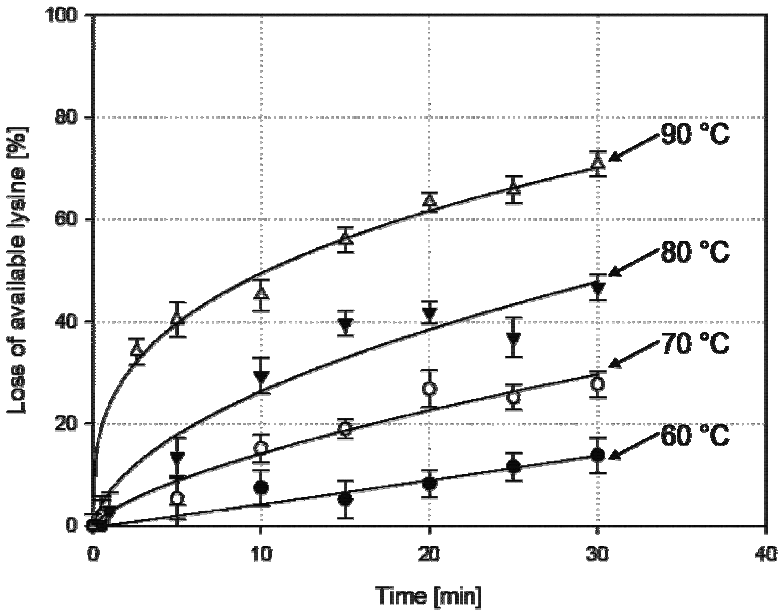
Lysine loss in infant formulas as influenced by thermal treatment

Iris Schmitz, Petra Först

Lysine is an essential amino acid that can only be metabolized by the human body if its ε-amino group is free and is then referred to as “available lysine”. A loss of available lysine leads to a loss of protein quality and therefore to a decrease of the nutritional value. Milk proteins contain relatively high amounts of lysine. The lysine contained in milk proteins is blocked during the early stages of the Maillard reaction of lysine residues with the lactose contained in milk products. It is of interest to study the loss of available lysine in infant formulas because these formulas are often the only nutrient source for infants. Therefore it is important that the infant receives all necessary nutrients by these formulas. However, powdered infant formulas are highly sensitive to the Maillard reaction due to their high lactose

content, their lysine-rich proteins, the high temperatures and dehydration applied during manufacture and the long storage times. It has been shown that the critical process step concerning lysine losses is the spray drying. As the product is dehydrated and heated simultaneously during spray drying, the temperature and concentration of the product change continuously during the drying process. Both, heating and dehydration may influence the loss of available lysine. It is therefore interesting to separate the dehydration from the thermally induced lysine losses.

During this part of the project, the impact of a thermal treatment on the loss of available lysine in concentrated infant formula model system was studied. The composition of the model system was derived from the typical composition of powdered infant formulas. The model system is composed of skim milk powder (22.2 %), whey protein isolate (8.4 %), lactose (68.3 %), potassium citrate (1.0 %) and sodium hydrogenphosphate (0.1 %).



The model system was adjusted to various water activities in the range of a_w = 0.06 to 0.75 and heated to temperatures that a particle may experience during spray drying (60 – 90 °C) for 0.5 – 30 min. Lysine loss was observed at all water activities. Kinetics of lysine loss at a water activity of 0.33 is exemplarily shown in figure 1.

Figure 1: Loss of available lysine as a function of temperature and heating time at a water activity of 0.33

Loss of available lysine increased with increasing temperature and at prolonged heating times. A sharp rise in lysine loss can be noticed at the beginning of heating (2 – 3 min). After this initial phase, the rate of lysine loss slows down. Lysine losses reached 14 % at 60 °C, 27 % at 70 °C, 47 % at 80 °C and 71 % at 90 °C. Lysine losses follow similar curves at the other water activities, but the extent of lysine loss depends on the water activity (Figure 2).

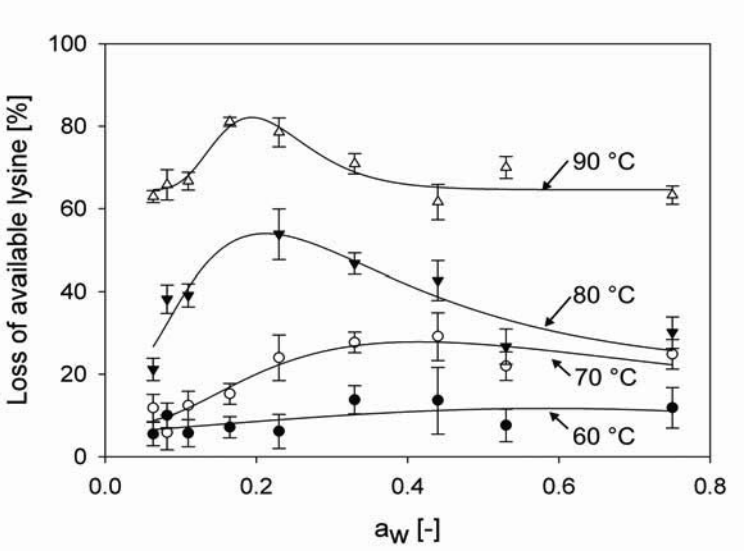
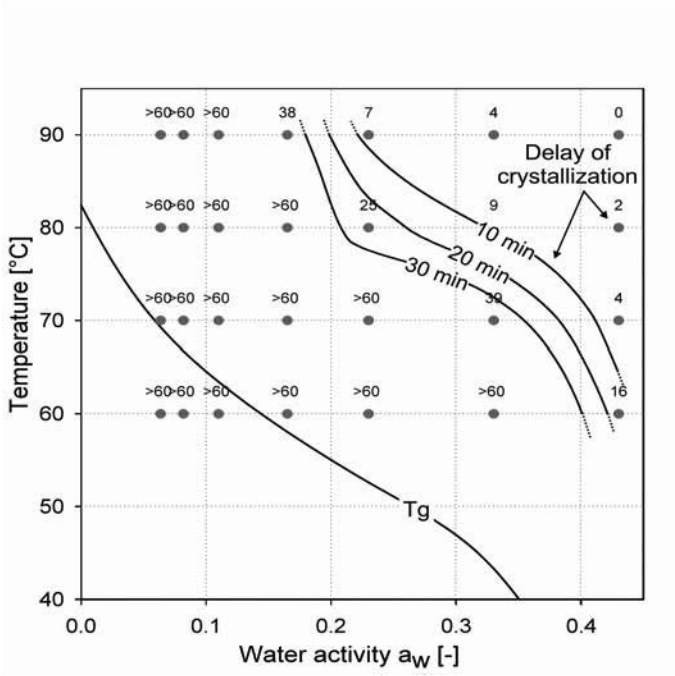


Figure 2:
Loss of available lysine as a function of water activity a_w and temperature at a heating time of 30 min

At all temperatures, a maximum in lysine loss can be observed at a certain water activity, but this water activity depends on the temperature. At 60 °C the maximum was found at a water activity of about 0.33 – 0.43. However, at this low temperature, in general only rather small lysine losses were determined. At 70 °C, the maximum of lysine loss was found to be in the same water activity range, but losses were higher (up to 29 %). At 80 °C and 90 °C the maximum is shifted to lower water activities. At 80 °C lysine losses reached 54 % for a_w = 0.23 and at 90 °C 71 % for a_w = 0.17.

For a deeper understanding of the observed lysine losses, the physical state of the lactose has to be taken into consideration because it has an impact on the mobility of the system and on the availability of the lactose for chemical reactions. Depending on the experimental conditions, the lactose is either in the glassy or in the rubbery or in the crystalline state (Figure 3). The delay of crystallization is a function of the water activity and of the temperature difference T-Tg. From figure 2 and 3 it can be concluded that there are only small lysine losses in the amorphous state and that lysine loss increases after glass transition. The highest losses can be observed in the rubbery state. In the crystalline state lysine losses are higher than in the amorphous state but lower than in the rubbery state.



With the aim of applying these kinetics to spray drying, the kinetics of dehydration induced lysine loss will also be studied and added to this data base. This will allow to build a model that describes lysine losses due to spray drying.

Figure 3: Glass transition curve Tg [°C] and crystallization delay [min] of the model system Acknowledgements: We would like to thank Nestec Ltd. for financial and scientific support, especially Alessandro Gianfrancesco for his continuous help.

Forschungsgebiet Mikrostrukturaufklärung und -gestaltung
Workgroup: Structural studies on biopolymers

Leitung: Dr. rer. nat. Ronald Gebhard

Einsatz von Röntgenstreuung unter kleinen Einfallswinkeln (GISAXS) zur direkten Untersuchung von Deckschichten auf porösen Oberflächen

Ronald Gebhardt, Tim Steinhauer

Ziel dieses Forschungsvorhabens ist die strukturelle Analyse von Deckschichten, die sich während der Mikrofiltration von Milch auf der Membran bilden. Die Struktur der Deckschicht soll zeitaufgelöst in Abhängigkeit verschiedener Milieubedingungen und strömungsmechanisch-relevanter Parameter aufgelöst werden. Dabei soll die Röntgenstreuung unter streifenden Einfall (GISAXS) als Methode der Wahl zum Einsatz kommen. Diese Methode erlaubt es, die molekulare Struktur der Kasein-Deckschicht in-situ während der Mikrofiltration zu analysieren. Um das Projekt zu realisieren, soll eine cross-flow Mikrofiltrationszelle aufgebaut werden, die den Anforderungen eines Röntgenexperiments genügt. Erste Forschungsergebnisse wurden im Rahmen eines genehmigten long-term proposals am Synchrotron-Röntgenstrahlungslabor HasyLab am DESY, Hamburg erzielt. Die Messungen haben gezeigt, dass für die in-situ GISAXS Untersuchungen neuartige Silikon-Nitrid Membranen (Mikro-Siebe) eingesetzt werden können, da sie aufgrund ihrer geringen Rauigkeit einen nur geringen Beitrag zur Röntgenstreuung liefern. Bild 1 zeigt typische GISAXS-Streubilder von Kasein-Oberflächen. Dabei wird die Intensität der Streustrahlung (hier in verschiedenen Graustufen: dunkel-geringe Intensität, hell-hohe Intensität) als Funktion des Neigungswinkels α_f der ausfallenden Streustrahlung relativ zur Oberfläche und des azimutalen Streuwinkels ψ dargestellt.

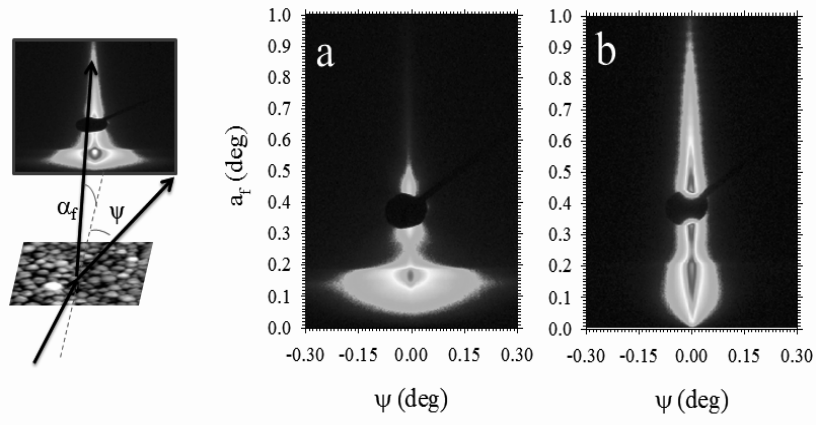


Bild a zeigt das erhaltene Streubild eines Kaseinfilms, der auf einer glatten Silizium-Einkristall-Oberfläche aufgetragen wurde.

Abb. 1: GISAXS- Streubilder von Kaseinoberflächen als Funktion des Neigungswinkels α_f und des azimutalen Streuwinkels ψ. a) Kasein-Mizellen auf glatten Siliziumoberflächen, b)Kasein-Mizellen auf porösen Mikro-Sieben

Diesem gegenübergestellt ist das Streubild einer Kaseinschicht, die auf ein poröses Mikro-Sieb auffiltriert wurde. Es ist deutlich zu sehen, dass sich das Streubild in horizontaler Richtung verschmälert, während es sich in vertikaler Richtung verlängert. Da den Streubildern ein inverses Abbild der streuenden Objekte (hier kugeligen Kasein-Mizellen) entspricht, kann davon ausgegangen werden, dass sich diese während der Filtration verformen, indem sie auf das Sieb gedrückt werden.

Dabei verkleinert sich ihre vertikale Ausdehnung bei gleichzeitiger Vergrößerung der lateralen Ausmaße. In zukünftigen GISAXS-Experimenten soll die Verformung der Kasein-Mizellen auf den Mikro-Sieben in-situ während der Filtration untersucht werden.

Einsatz von statischer und dynamischer Lichtstreuung in Lösung als indirekte Sonde zur Untersuchung von Deckschichten auf Mikro-Sieben
Ronald Gebhardt, Wolfgang Holzmüller

Begleitend zu den oben beschriebenen in-situ GISAXS Untersuchungen, welche die direkte molekulare Strukturanalyse der Deckschicht zum Ziel haben, wurden Lichtstreuuntersuchungen in Lösung vor (retentat-seitig) und nach den Mikro-Sieben (permeat-seitig) durchgeführt. Durch vergleichende Betrachtung der experimentell bestimmten Teilchengrößen in Retentat und Permeat konnte indirekt die Deckschichtzusammensetzung auf der Membran bestimmt werden. Als deckschichtbildendes Material wurden größenfraktionierte Kasein-Mizellen verwendet, die durch Zentrifugieren gewonnen wurden. Die so erzeugten Kasein-Mizellen waren log-normal verteilt (zwischen 80 und 400 nm) um eine mittlere Größe von ca. 140 nm. Mithilfe der Lichtstreuuntersuchungen konnte gezeigt werden, dass der Deckschichtaufbau während der Filtration zweistufig erfolgte. In einem ersten, schnellen Prozess werden zunächst die größten Kasein-Mizellen abgelagert, während kleinere Mizellen die Poren passieren und im Permeat nachgewiesen werden. Interessanterweise wird aber auch eine Fraktion kleiner Mizellen zurückgehalten. Mittels Atomkraftmikroskopie (AFM) konnte gezeigt werden, dass fraktionierte Kasein-Mizellen die Tendenz haben, sich in hexagonalen Gittern anzuordnen. Dieses wird zunächst durch die großen Mizellen gebildet. Es stellte sich heraus, dass die Größe der zurückgehaltenen kleineren Mizellen den Größen der Hohlräume im hexagonalen Gitter entsprach. Somit kann die Struktur der Deckschicht über das Modell eines hexagonalen Mischkristalls erklärt werden. Als Konsequenz der Besetzung von Hohlräumen kommt es zu einer geringeren Porosität und damit zu einem größeren Ablagerungswiderstand der Deckschicht. Während des zweiten, langsameren Prozesses wurde das gesamte Größenspektrum der Kasein-Mizellen im Filterkuchen abgelagert.

Hochdruckforschung an Biopolymeren/Hochdruckdissoziation von β-Lactoglobulin-Oktameren
Ronald Gebhardt, José Toro, Jeanette Kupfer

Mittels dynamischer und statischer Lichtstreuung in einer optischen Sichtdruckzelle konnte zum ersten Mal die Dissoziation von β-Lactoglobulin Oktameren untersucht werden. Bild 3a zeigt die experimentellen Resultate der dynamischen Lichtstreuung und Bild 3b die der statischen Lichtstreuung.

Die hydrodynamischen Radien der Oktamere, welche unter Normaldruck (0.1 MPa) bei T = 10 und 20°C gemessen wurden, entsprechen in guter Übereinstimmung Referenz-werten, die mittels Röntgenkleinwinkel-streuung bestimmt wurden.

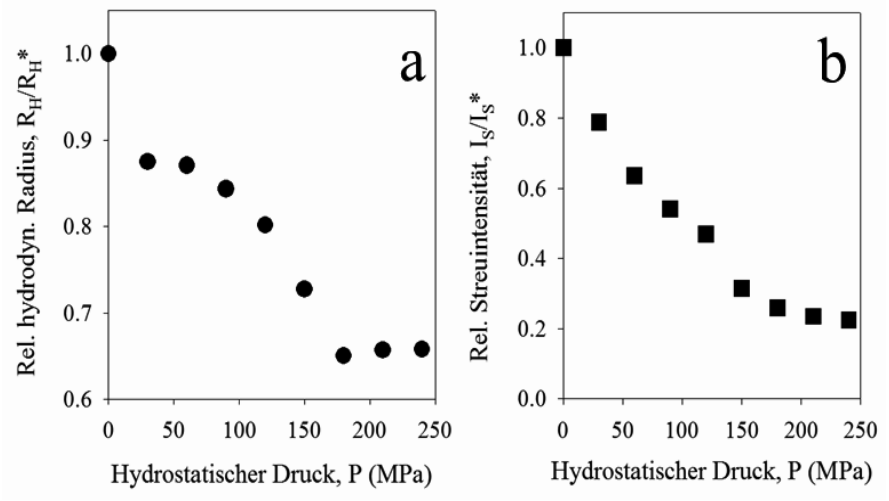


Bild 3:
Experimentelle Resultate der druckabhängigen Lichtstreu-experimente:
a) relativer hydro-dynamischer Radius als Funktion des Drucks
b) relative Streuintensität als Funktion des Drucks

Während die Radien bei T = 10°C unter Druck unverändert bleiben (nicht gezeigt), kommt es bei 20°C zu einem zweistufigen Zerfall (Bild 3a). Der mittlere Radius der β-Lactoglobulin-Moleküle nimmt während einer Druckbehandlung mit P = 200 MPa um fast 40% ab. Die zweistufige Dissoziation ist auch deutlich in den druckabhängigen statischen Lichtstreudaten zu erkennen (Bild 3b). Die relative Streuintensität fällt während einer Druckbehandlung mit P = 200 MPa auf ungefähr ein Fünftel des ursprünglichen Wertes ab. Da bei Dissoziations- und Assoziationsvorgängen in erster Näherung eine Proportionalität zwischen Streuintensität und Molekulargewicht besteht, müsste die Streuintensität bei einem vollständigen Zerfall der Oktamere in Monomere auf ein Achtel des ursprünglichen Wertes abfallen.

Da aufgrund der gemessenen hydrodynamischen Radien unter Druck davon ausgegangen werden kann, das alle β-Lactoglobulin-Moleküle bei 200 MPa als Monomere vorliegen, kann die Diskrepanz nur dadurch erklärt werden, dass bei Normaldruck neben den Oktameren ein Teil der β-Lactoglobulin-Moleküle als Dimere vorliegen. Eine rechnerische Anpassung an die statischen Lichtstreudaten erlaubte die Berechnung von Fraktionen-Verteilungen, die die Anteile der im Ansatz enthaltenen Spezies (Oktamere, Dimere und Monomere) wiederspiegeln. Anhand der temperaturabhängigen Experimente konnte gezeigt werden, das die Untereinheitenassoziation des β-Lactoglobulins auf nicht-entropischen Wechselwirkungen beruht, und damit vom Verhalten anderer oligomerer Systeme, die normalerweise leichter bei niedrigen Temperaturen dissoziieren, abweicht.

Die experimentellen Ergebnisse sind bisher nur als Poster veröffentlicht. Das Poster gewann auf der 6. Internationalen Hochdruckkonferenz HPBB2010 (6th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, Freising, Germany) einen Preis für den besten Posterbeitrag.

Studien zur Aggretation von Caseinmicellen mittels quasielastischer Neutronenstreuung, (QENS)

Ronald Gebhardt, Martin Heinrich, Rita Schaupp

Im Rahmen eines genehmigten Forschungsantrags zur Untersuchung der Wasser- und Proteindynamik während der Koagulation von Milch wurden am Flugzeitspektrometer TOFTOF an der Forschungs-Neutronenquelle Heinz Maier-Leibnitz (FRM II) quasielastische Neutronenstreuexperimente durchgeführt. Mithilfe dieser Methode können diffusive Prozesse untersucht

werden, die auf einer Zeitskala von Picosekunden und einer Längenskala von 0.1 – 1 nm stattfinden. Die atomare Struktur von Proteinen zeigt eine Dynamik auf diesen Zeit- und Größenskalen. Diese Dynamik wird stark durch den Hydratisierungsgrad der Proteine beeinflusst. Ziel der Experimente ist es, den Einfluss der temperatur-induzierten Aggregation, die auch mit einer Änderung des Hydratisierungsgrads einhergeht, auf die Dynamik von Kaseinmizellen zu erforschen. Dazu wurden kalt-eingelabte Kaseinmizellen unterhalb und oberhalb der Temperatur untersucht, bei der die Aggregation einsetzt. Vergleichend dazu wurden identische Experimente an intakten Kasein-Mizellen durchgeführt, die nicht temperaturabhängig aggregieren.

Die gewonnenen experimentellen Daten deuten an, dass sich die Dynamik der Kaseine nach der temperatur-induzierten Aggregation verlangsamt. Die neu etablierte Methode könnte dazu beitragen, den Labgel-Bildungsprozess auf molekularer Ebene besser zu verstehen.

Forschungsgebiet Proteintechnologie
Work Group Proteintechnology

Methodenentwicklung zur quantitativen Caseinanalytik mittels Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

Development of a method for a quantitative determination of bovine caseins by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

Martin Heinrich, Brigitte Härter

Casein stellt mit 80 % Anteil am Gesamtprotein die majore Proteinkomponente in Kuhmilch dar. Es ist eine Sammelbezeichnung für eine Gruppe von Phosphoproteinen, bestehend aus α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Casein, die in Milch im Massenverhältnis von etwa 4:1:4:1 vorliegen. Untersuchungen jedoch belegen, dass dieses Verhältnis beispielsweise durch äußere Einflüsse, wie Fütterung oder Prozessierung, aber auch durch genetische Varianz beeinflusst wird. Diese Veränderungen detektieren zu können, ist für eine weiter gehende Untersuchung des Milchsystems von großem Interesse. Bisher fehlte eine Methode, um alle Caseine reproduzierbar aufzutrennen. Vor allem die mangelnde Differenzierung von κ- und α_{S2}-Casein erwies sich zunehmend als problematisch. Darüber hinaus sollte die Caseinbestimmung mittels RP-HPLC quantitativ erfolgen, was in Ermangelung reiner Caseinstandards zunächst nur bedingt möglich erschien. Somit wurde eine Methode zur quantitativen Erfassung der einzelnen Caseinfraktionen in Kuhmilch in weiterentwickelter Form und für die projektspezifischen Belange erarbeitet. Zunächst wurden Probenpuffer, Laufmittelkombination und Säulenmaterial ermittelt, mit denen an den bestehenden Anlagen eine ähnliche Trennleistung wie in den. Arbeiten von Bonizzi et al. (2009) und Bonfatti et al. (2008) zu erzielen war. Der Probenpuffer konnte direkt aus Bonizzi et al. (2009) übernommen werden. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1: Probenvorbereitungspuffer für die HPLC-Analytik von Caseinen nach Bonizzi et al. (2009)

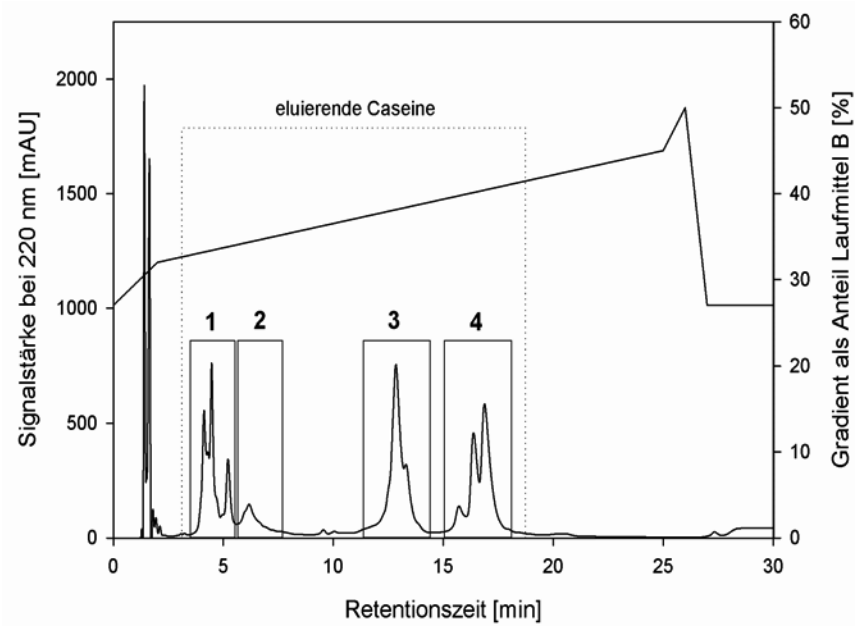
Komponente	Konzentration [M]	Funktion
TRIS (Trishydroxymethyl-aminomethan)	0,165	Pufferung der Lösung
Harnstoff	8,000	Aufbrechen hydrophober Wechselwirkungen, Proteinauffaltung
Natrium-Citrat	0,044	Calciumkomplexierung; Aufbrechen von Calciumphosphatbrücken
β-Mercaptoethanol	0,3 % (v/w)	Reduktive Spaltung von Disulphid-brücken

Für die Analyse werden 400 µL der Lösung mit 1600 µL Probenpuffer gemischt und anschließend durch einen Einmalfilter (Porenweite 0,45 µm) direkt in die HPLC-Vials gefüllt.

Die Trennung der Caseine erfolgte auf einer Säule der Firma Agilent (Zorbax 300SB– C18). Laufmittel A besteht aus 10 % Acetonitril in destilliertem Wasser mit 1mL/L Trifluoressigsäure (TFA). Laufmittel B besteht aus 90 % Acetonitril in destilliertem Wasser mit 0,555 mL/L TFA. In Abb. 1 ist exemplarisch ein Elutionsprofil von Magermilch mit dem zugehörigen Laufmittelgradienten dargestellt.

Die Peaks konnten identifiziert werden als κ-Casein (1), α_{S2}-Casein (2), α_{S1}-Casein (3) und β-Casein (4). In einem zweiten Schritt konnte dann eine Kalibrierung zur Quantifizierung erarbeitet werde. Dazu wurden Standards von Sigma verwendet.

Mit Reinheitsangaben des Herstellers von „≥70 %“ konnten diese Standards allerdings nicht direkt für die Kalibrierung herangezogen werden und muss ten zunächst genauer charakterisiert werden: Es wurden einerseits reine Standardlösungen für eine HPLC-Analytik angesetzt, um anhand der detektierten Peakflächen deren genaue Caseinzusammensetzung zu analysieren.



Andererseits wurde deren Reinheit anhand des molaren Extinktionskoeffizienten bestimmt: bei gegebener Extinktion kann anhand des Lambert-Beer‘schen Gesetztes (siehe Gl.1) die Proteinkonzentration in der Untersuchungslösung ermittelt werden.

Abb. 1:
Elutionsprofil von Magermilch bei der HPLC-Caseinanalytik mit zugehörigem Laufmittelgradienten

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d \qquad (1)$$

Mit E = Extinktion der Versuchslösung [-]
ε = molarer Extinktionskoeffizient [L/(mol·cm)]
c = Proteinkonzentration in der Lösung [mol/L]
d = Schichtdicke der Lösung [cm]

Das Verhältnis aus absorptiv ermittelter Konzentration und eingewogener Konzentration gibt die Reinheit der verwendeten Standards wieder. Die Chromatogramme der reinen Einzelstandards sind in Abb. 2 dargestellt. Wie zu erkennen ist, weist jeder Reinstandard auch Spuren der anderen Caseinfraktionen auf, was für die Erstellung einer entsprechenden Kalibration aber auch bei der Berechnung des molaren Extinktionskoeffizienten zu berücksichtigen war. Die Zusammensetzungen und die Reinheit der einzelnen Reinstandards sind in Tabelle 2 dargestellt. Für die Kalibrierung wurde anschließend ein Mischstandard hergestellt und in unterschiedlichen Konzentrationen für die Erstellung einer Kalibriergeraden injiziert. Dabei wurden die entsprechenden Spuren der anderen Caseinfraktionen mit eingerechnet.

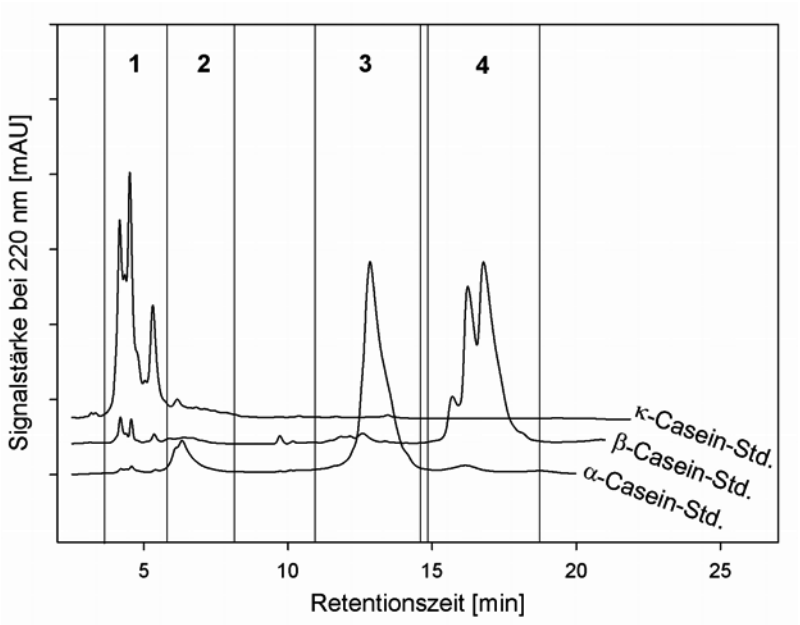


Abb. 2: Chromatogramme der reinen Caseinstandards von Sigma mit Peaks für κ-Casein (1), α_{S2}-Casein (2), α_{S1}-Casein (3) und β-Casein (4)

Tabelle 2: Zusammensetzung und Reinheit (bezogen auf das Gesamtcasein) der einzelnen Caseinstandards von Sigma

Standard	**κ-Casein [%] ± σ***	**α_{S2}-Casein [%] ± σ***	**α_{S1}-Casein [%] ± σ***	**β-Casein [%] ± σ***	**Detektierte Reinheit [%]**
κ-Casein	86,3 ± 0,8	11,3 ± 0,5	2,3 ± 0,2	0	94,4
α-Casein	2,6 ± 0,4	11,4 ± 2,4	79,5 ± 3,1	6,5 ± 0,4	89,0
β-Casein	5,5 ± 0,1	3,5 ± 0,2	5,4 ± 0,1	85,6 ± 0,1	79,5

*σ = Standardabweichung bei 10 Einzelmessungen

Für eine abschließende Bewertung wurde Magermilch mit der erarbeiteten Methode auf ihre Caseinzusammensetzung hin untersucht. Tabelle 3 stellt die so ermittelten Werte Literaturwerten nach Farrell et al. (2004) gegenüber.

Tabelle 3: Vergleich der mit HPLC gemessenen Konzentrationen einzelner Caseinfraktionen in Magermilch mit Literatur werten nach Farrell et al. (2004)

Caseinfraktion	**Mittlere Konzentration ±σ* [mg/ml]**	**Literaturwerte [mg/mL]**
κ-Casein	4,0 ± 0,1	2 - 4
α_{S2}-Casein	4,3 ± 0,3	3 - 4
α_{S1}-Casein	11,1 ± 1,3	12 - 15
β-Casein	10,8 ± 0,5	9 - 11

*σ = Standardabweichung bei 4 Einzelmessungen

Mit der entwickelten Methode können die Einzelcaseinfraktionen quantitativ erfasst werden. Es werden die aus der Literatur bekannten Werte erhalten. Mit Ausnahme der Konzentration von α_{S1}-Casein weichen die gemessenen Konzentrationen der einzelnen Caseinfraktionen nicht signifikant von den Erwartungswerten ab. Auf Grundlage der von Bonizzi et .al. (2009) publizierten Methode konnte durch exakte Kontrolle der Proteinstandards eine signifikante Verbesserung der Quantifizierung von Caseinmonomeren erreicht werden.

Literatur:

Bonfatti, V.; Grigoletto, L.; Cecchinato, A.; Gallo, L.; Carnier, P. (2008). Validation of a new reversed-phase high-performance liquid chromatography method for separation and quantification of bovine milk protein genetic variants. Journal of Chromatography A, 1195, 101-106

Bonizzi,I.; Buffoni,J.N.; Feligini, M. (2009). Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. Approaching the application to a real production context. Journal of Chromatography A, 1216, 165-168

Farrell, H.M.; Jiminez-Flores, R.; Bleck, G.T.; Brown, E.M.; Butler, J.G.; Creamer, L.K.; Hicks, C.L.; Hollar, C.M.; Ng-Kwai-Hang, K.F.; Swaisgood, H.E. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk - Sixth Revision. Journal of Dairy Science, 87, 1641 – 1674

Einfluss unterschiedlich Transglutaminase-behandelter Milchproteinpulver auf die Eigenschaften von Magermilchjoghurt

Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt

Christopher Guyot

Das Enzym Transglutaminase (TGase) katalysiert die Quervernetzung von Proteinen und beeinflusst somit die Eigenschaften proteinbasierender Lebensmittel auf molekularer Ebene. So weisen insbesondere fettfreie oder fettarme Joghurte eine deutliche Strukturverbesserung durch den Enzymeinsatz auf. Hierbei führt die Modifizierung der Milchproteine zu einer verbesserten Textur, einem höheren Wasserbindevermögen, einem cremigeren Mundgefühl und der Möglichkeit, bei gleich bleibenden rheologischen Eigenschaften Trockenmasse einzusparen. Allerdings bewirkt die direkte Anwendung des Enzyms zeitgleich mit der Starterkultur nicht nur positive Effekte. Mithilfe von Lagerungsversuchen konnte gezeigt werden, dass TGase bei den Lagerungsbedingungen nicht vollständig inaktiviert vorliegt. Trotz der tiefen Temperaturen und pH-Werten bis zu 4,2 kommt es noch zu einer geringen Enzymreaktion. Diese führen zu unerwünschten Änderungen der Joghurteigenschaften während der Lagerungszeit, wie z. B. dem Anstieg der Viskosität und der Bildung von Klumpen.

Um diese TGase-bedingten Änderungen zu vermeiden, erscheint daher der Einsatz eines bereits vorher TGase-behandelten Milchproteinpulvers zur Trockenmasseerhöhung bei der Joghurtproduktion sinnvoll. Hierfür werden Milchkonzentrate vorab mit dem Enzym inkubiert und anschließend sprühgetrocknet, so dass enzymatisch modifizierte Milchproteinpulver entstehen, die keine aktive TGase mehr enthalten.

Die Herstellung der enzymatisch modifizierten Milchpulver ist in Abb. 1 schematisch gezeigt.

Diese Pulver werden dann anstatt des sonst bei der Joghurtherstellung üblichen enzymatisch unbehandelten Milchpulvers zur Erhöhung des Proteingehalts eingesetzt.

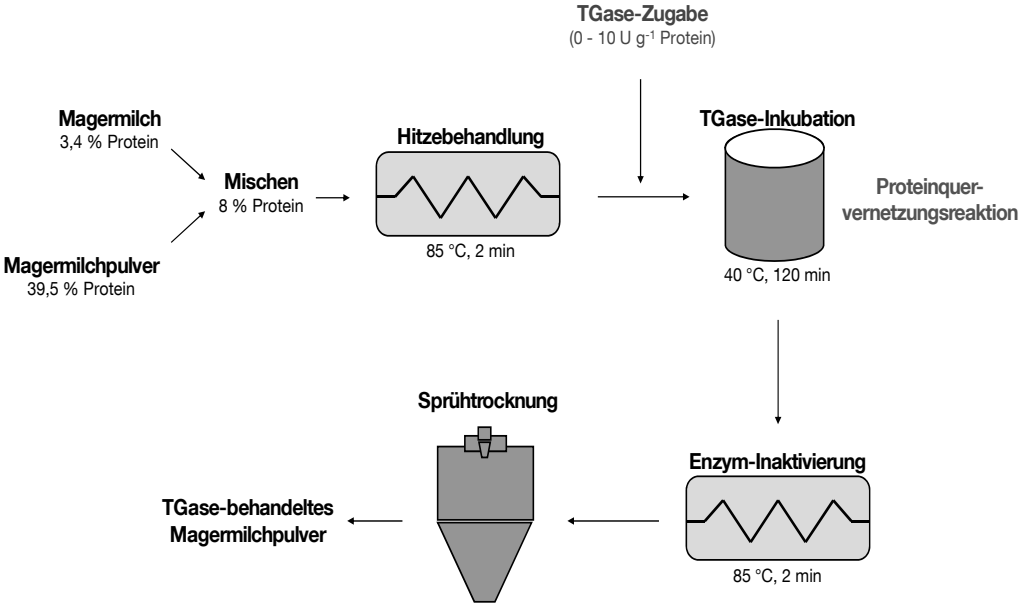


Abb. 1: Herstellung von Transglutaminase-behandelten Milchproteinpulvern mit unterschiedlichen Enzymkonzentrationen

Obwohl dabei nur ein geringer Anteil der Proteine in der Joghurtmilch in vernetzter Form vorliegt, lassen sich die Eigenschaften des damit hergestellten Joghurts deutlich verbessern.

Es konnte gezeigt werden, dass bei dem Joghurt mit TGase-behandeltem Magermilchpulver einerseits die gleichen positiven Effekte - erhöhte Viskosität, verringerte Serumlässigkeit, verbesserte Cremigkeit - wie bei einer direkten Zugabe des Enzyms festgestellt wurden, dass aber andererseits der negative Effekt der Lagerungsveränderung verhindert werden

konnte.

Während der gesamten Lagerungszeit kommt es im Gegensatz zum durch die direkte Zugabe des Enzyms zur Joghurtmilch hergestellten Joghurt aufgrund der erfolgten thermischen T-Gase-Inaktivierung während der Pulverherstellung zu keinem weiteren Anstieg des Protein-vernetzungsgrads (siehe Abb. 2).

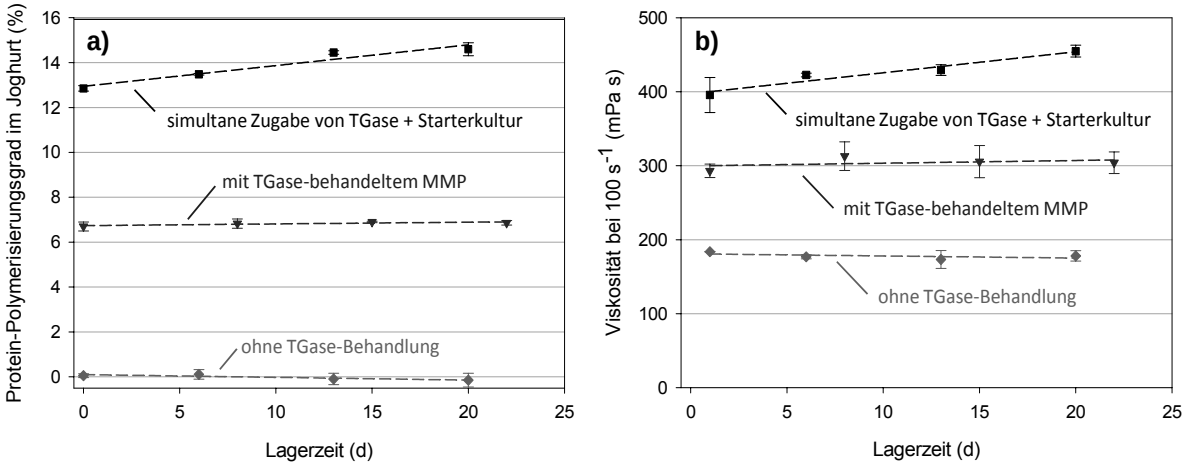


Abb. 2: Polymerisierungsgrad (a) und Viskosität (b) von mit unterschiedlichen TGase-Behandlungsarten hergestellten Magermilchrührjoghurten während der Lagerung bei 4 °C

Durch die Enzyminaktivierung finden folglich auch kein unerwünschter Anstieg der Viskosität oder ein e TGase-bedingte Verschlechterung der sensorischen Eigenschaften der Joghurtproben durch Klumpenbildung statt. Zusätzlich zur gezeigten Verbesserung der Joghurteigenschaften ermöglicht der Einsatz dieser TGase-behandelten Magermilchpulver eine deutliche Reduzierung der Magermilchpulver-Zugabe bei vergleichbaren rheologischen Eigenschaften des Endprodukts. Wie in Abb. 3 zu sehen ist, lässt sich durch die Verwendung des mit 3 U TGase/g Protein behandelten Magermilchpulvers anstelle des herkömmlichen Milchpulvers die für das Erreichen einer bestimmte Viskosität notwendige Proteinzugabe halbieren. Trotz der anfallenden Enzym- und Herstellungskosten kann somit abhängig von der üblicherweise verwendeten Proteinerhöhung ein positiver finanzieller Effekt erzielt werden.

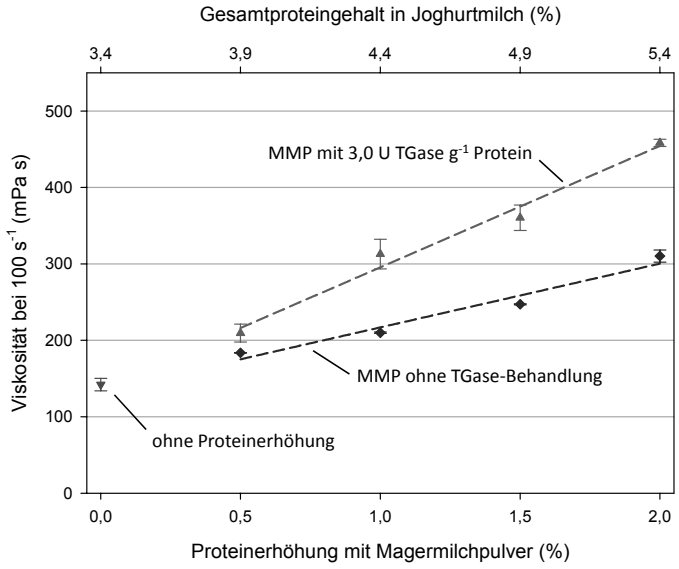


Abb. 3:
Einfluss der Proteinerhöhung mit TGase-behandeltem bzw. unbehandeltem Magermilchpulver auf die Viskosität von gerührtem Magermilchjoghurt

Charakterisierung des Quellungsverhaltens und der Porosität von Molkenproteingelen
Characterisation of the swelling behaviour and porosity of whey protein-based hydrogels
Michael Betz, Josef Hörmansperger

Die Mikroverkapselung dient dem Schutz des verkapselten Kernmaterials. Durch Auswahl einer geeigneten Verkapselungsmatrix lässt sich außerdem eine Transportfunktion im menschlichen Verdauungstrakt verwirklichen. Ziel dabei ist die Freisetzung des Kernmaterials in bestimmten Abschnitten des Gastrointestinaltraktes.

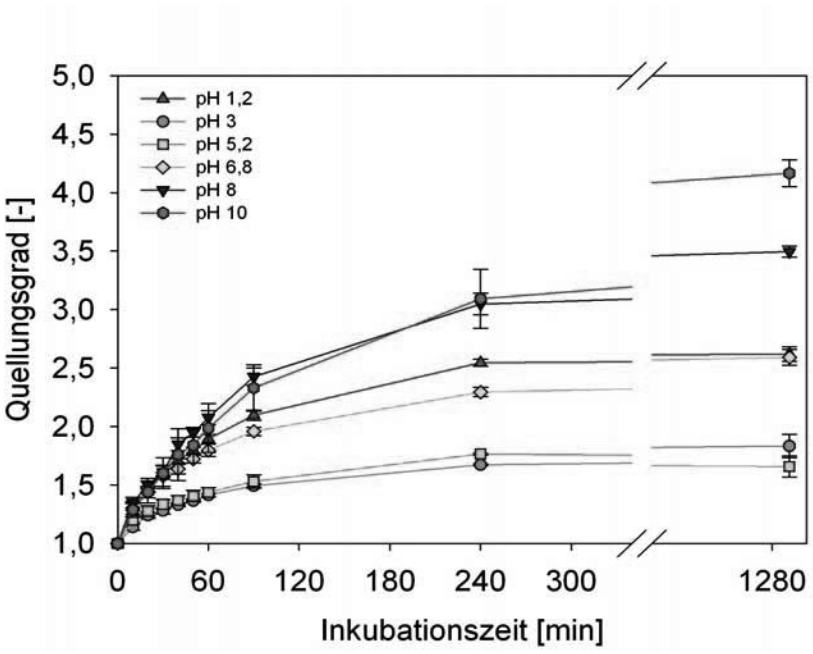
Als Auslöser für die Freisetzung eignen sich die unterschiedlichen pH-Werte in Magen, Dünndarm und Dickdarm. Als Wirkstoffträgermatrices werden daher häufig „smarte“ Hydrogele eingesetzt, deren Quellungsverhalten und Porosität vom umgebenden Milieu abhängen. Während im pharmazeutischen Bereich oft synthetische Hydrogele Verwendung finden, ist man für lebensmitteltechnologische Anwendungen auf natürliche Hydrogele aus lebensmitteltauglichen Polymeren beschränkt. In diesem Zusammenhang erscheint der Einsatz von Molkenproteinen als Matrixmaterial vielversprechend. Daraus erzeugte Hydrogele sind wasserunlöslich und zeigen ein milieuabhängiges Quellungsverhalten.

Über die Quellung eines Hydrogels kann ersehen werden, wie stark die Polymere untereinander quervernetzt sind. Stärker vernetzte Hydrogele quellen bzw. schrumpfen in einem geringeren Maß als schwach vernetzte Hydrogele.

Für thermisch induzierte Molkenproteinhydrogele existiert bislang noch keine Arbeit, die die Parameter Quellung und Porosität auf diese Weise miteinander verknüpft. Ziel war es daher, diese Lücke zu schließen. Zu diesem Zweck wurden Molkenproteingele thermisch erzeugt und in wässrigen Puffern mit verschiedenen pH-Werten inkubiert. In definierten Zeitabständen wurde die Masse der Gelzylinder ermittelt und über die Massenzunahme oder -abnahme

deren Quellung (Quellungsgrad >1) bzw. Schrumpfung (Quellungsgrad <1) ermittelt. Ein Teil der erzeugten Gele wurde vor den Quellungsversuchen getrocknet.

Abb. 1 verdeutlicht die pH- Abhängigkeit des Quellungsverhaltens am Beispiel von thermisch induzierten, getrockneten Molkenproteingelen mit pH 7. Im Puffer mit pH 5,2 (isoelektrischer Punkt der Molkenproteine) quollen die Hydrogele am schwächsten. Nach der Einstellung des Quellungsgleichgewichts (keine weitere Änderung der Gelmasse) nach 1280 min hatten die Gele bei diesem pH-Wert ca. das 1.5-fache ihrer Ausgangsmasse im getrockneten Zustand erreicht.



Mit zunehmender Abweichung des pH-Werts der Puffer vom isoelektrischen Punkt stieg der Quellungsgrad der Molkenproteingele an. Das Maximum der Quellung wurde im stark basischen Milieu bei pH 10, mit einer 4,2-fachen Massenzunahme erreicht.

Abb. 1: Einfluss des pH-Wertes des Quellungsmediums (Phosphatpuffer, I=0,2 M) auf den Quellungsverlauf getrockneter, thermisch induzierter Molkenproteinisolat-gelzylinder mit pH 7.

Ein vergleichbarer Zusammenhang zwischen Quellungsgrad und pH-Wert des Quellungsmediums konnte auch für Gele festgestellt werden, die unmittelbar nach ihrer Herstellung, im nicht getrockneten Zustand, untersucht wurden (Abb. 2). Aufgrund des hydratisierten Ausgangszustandes der nicht ge-trockneten Gele vor der Quellung (Quellungsgrad =1), wurde in den Quellungspuffern, in welchen die getrockneten Gele den geringsten Quellungsgrad erreicht hatten, hier jedoch eine Gelschrumpfung beobachtet. Die Ursache für die unterschiedliche Quellung bei verschiedenen pH-Werten sind die funktionellen Gruppen, vorwiegend Amino- und Carboxylgruppen, der Molkenproteingele.

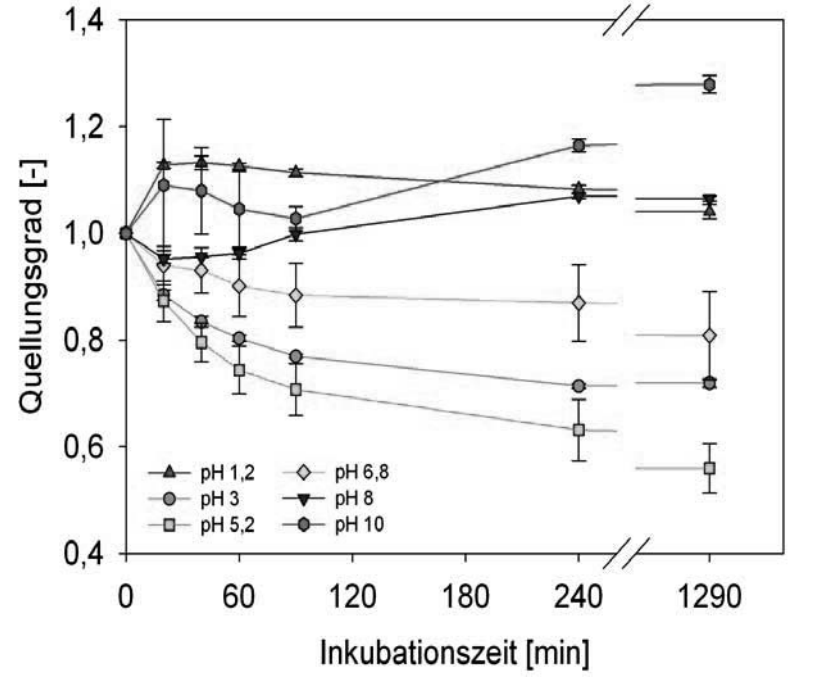


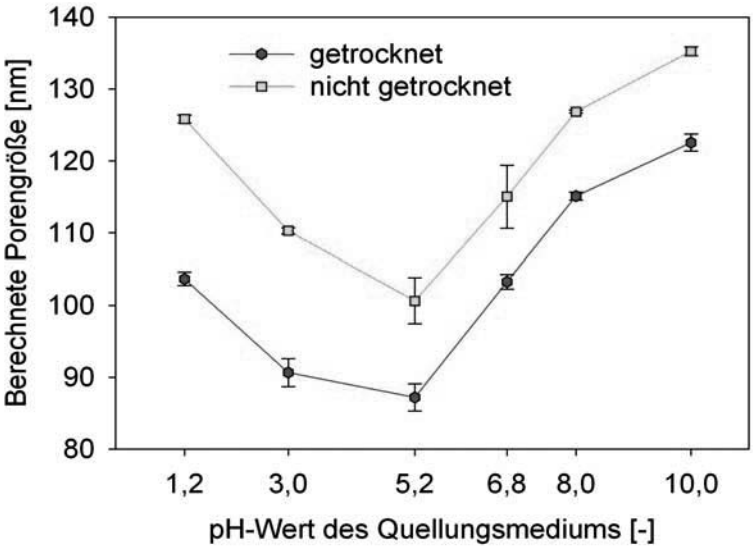
Abb. 2:
Einfluss des pH-Wertes des Quellungsmediums (Phosphatpuffer, I=0,2 M) auf den Quellungsverlauf nicht getrockneter, thermisch induzierter Molkenproteingele mit pH 7.

Während im sauren Bereich Aminogruppen protoniert und geladen vorliegen, sind Carboxylgruppen im Basischen deprotoniert und geladen. Abseits des IEP ist die Nettoladung des Polymernetzwerks somit ungleich 0. Elektrostatische Abstoßungskräfte zwischen benachbarten gleichgeladenen fixierten funktionellen Gruppen wirken. Gegenionen diffundieren in das Gel um diese Ladungen zu kompensieren.

Dadurch entsteht eine lokal höhere Ionenkonzentration im Gel im Vergleich zum äußeren Fluid (Donnan-Gleichgewicht). Ein osmotischer Druck resultiert, welcher eine zusätzliche Wasseraufnahme des Gels bewirkt. Molkenproteingele enthalten mehr Carboxylgruppen als Aminogruppen, weshalb dieser Effekt im basischen Milieu stärker ausgeprägt ist als im sauren Milieu.

Diese für getrocknete und nicht getrocknete Gele beobachtete pH-Abhängigkeit des Quellungsgrades spiegelt sich in den daraus berechneten Porenweiten der Molkenproteingele wider, wie Abb. 3 zeigt. Analog zur pH-Abhängigkeit des Quellungsgrades wiesen die Gele unabhängig von ihrem Ausgangszustand die größte Porenweite im alkalischen Milieu bei pH 10 und die geringste Porenweite bei pH 5,2 (IEP) auf.

Die Porenweiten der vor der Quellung getrockneten Molkenproteingele waren über den betrachteten pH-Bereich kleiner als die der nicht getrockneten Gele.



Diese Beobachtung kann auf die Zunahme des Vernetzungsgrads und die damit verbundene Porositätsabnahme der Gele während der Trocknung zurückgeführt werden. Die ermittelten Porengrößen liegen in einem für Molkenproteingele realistischen Größenbereich, was ein Vergleich mit verfügbaren Literaturwerten zeigt. Zusätzlich konnten die über den Quellungsgrad berechneten Porenweiten experimentell bestätigt werden.

Abb. 3: Einfluss des pH-Wertes des Quellungsmediums (Phosphatpuffer, I=0,2 M) auf die Porenweite nicht getrockneter und getrockneter, thermisch induzierter Molkenproteingele mit pH 7

Unabhängig davon, ob die Gele vor der Quellung einer Trocknung unterzogen wurden oder nicht, zeigte sich eine pH-abhängige Variation der Porenweite von ca. 40 nm. Diese pH-Abhängigkeit der Porenweite und damit des Rückhaltevermögens erscheint vielversprechend für eine pH-abhängige gezielte Freisetzung verkapselter Stoffe.

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 15611 N).

Innovative Emulgatorsysteme aus natürlichen Rohstoffen:
Einfluss von Milieubedingungen und enzymatischer Modifikation auf die emulgativen Eigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma.
Innovative concepts for food emulsifiers from natural resources:
Influence of environmental conditions and enzymatic treatment on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction.
Thomas Strixner

Eigelb ist ein 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.

Natürliches Eigelb besteht zu 80 % aus einer Plasmafraktion und zu 20 % aus Eigelbpartikeln, den so genannten Granula. Plasma ist die wasserlösliche Fraktion des Eigelbs, sie besteht zu 85 % Low-Density-Lipoproteinen (LDL). LDL wird der Hauptbeitrag zu den emulgierenden Eigenschaften des Eigelbs zugeschrieben. Die sedimentierbaren Granulabestandteile bestehen aus High-Density-Lipoproteinen (HDL) und Phosvitin, die durch Calcium-Phosphat-Brücken miteinander verbunden sind. In diese Proteinmatrix sind milieuabhängig bis zu 15 % LDL integriert. Einen schematischen Überblick der strukturellen Eigenschaften der Granulafraktion gibt Abb. 1.1.

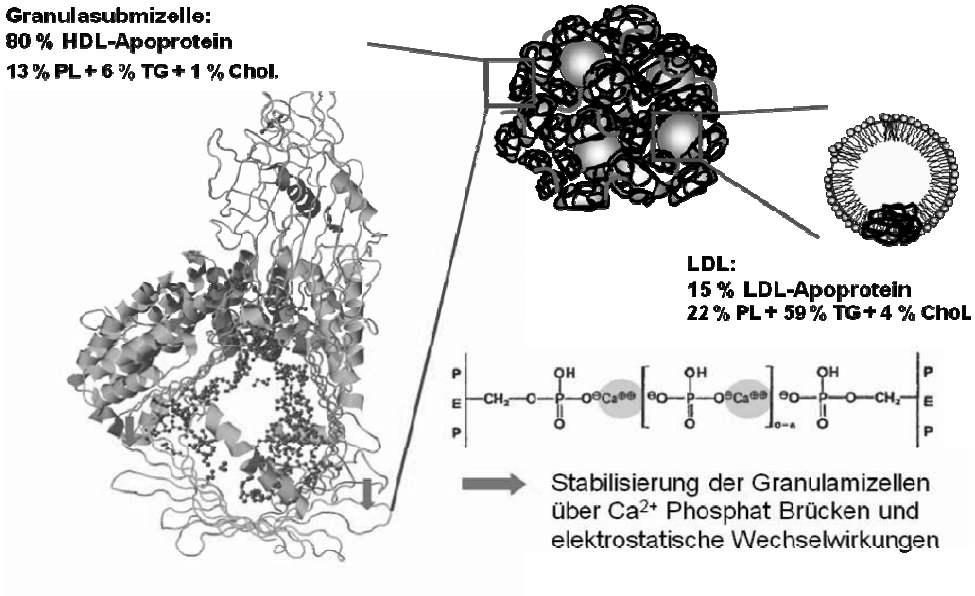


Abb. 1.1: Schematische Darstellung der strukturgebenden Bestandteile einer Granula-Mizelle.

Durch eine Erhöhung der Ionenstärke über 0,3 M NaCl können die Calcium-Phosphat-Brücken gelöst werden, so dass die Granula dissoziieren. Eine besondere Bedeutung kommt hierbei der „Scharnierfunktion“ der Calcium-Phosphat-Brücken in den Granula-Untereinheiten, den HDL Apoproteinen zu.

Durch eine Dissoziation werden so hydrophobe Proteinstrukturen exponiert, welche zuvor nicht frei zugängig waren. Im Gegensatz zur nativen Konformation sind die Emulgiereigenschaften der Granula in einer dissoziierten Form daher deutlich verbessert.

Oft 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.

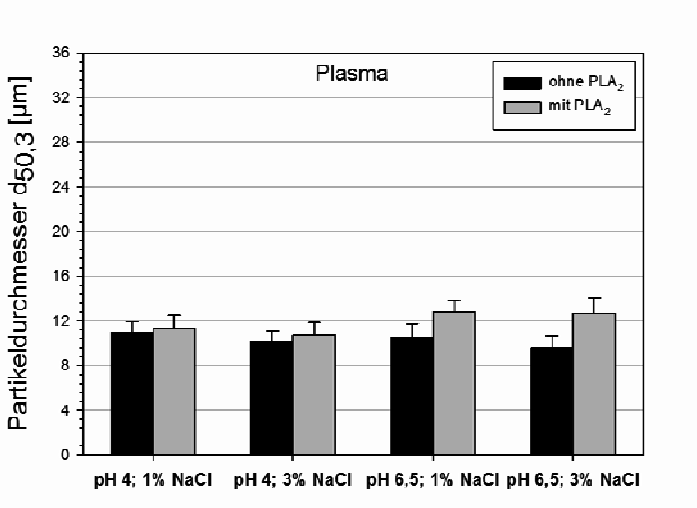
Die Hitzestabilität des Eigelbs konnte auf strukturelle Veränderungen an der Oberfläche der LDL Komplexe zurückgeführt werden. PLA_2 spaltet die Fettsäure von Phospholipiden in Position zwei ab. Dadurch kommt es zu einer dichteren Packung der Lipide an der Partikeloberfläche sowie zu einer Verkleinerung der LDL-Komplexe. Diese strukturellen Veränderungen verbessern die Hitzestabilität der LDL Apoproteine.

Die strukturelle Beschaffenheit der Granula-Mizellen zeigt ein deutlich abweichendes Verhalten durch eine enzymatische Modifikation. Nach einer Behandlung mit PLA_2 kommt es zur Auflösung der granulären Struktur. Während die nativen 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. Als Fazit können zwei indirekte Effekte der enzymatischen Modifizierung mittels PLA_2 auf Eigelb festgestellt werden: 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.

Vor dem Hintergrund der physikalisch-chemischen Veränderungen von modifizierten Granula und Plasma wurden die emulsionsbildenden Eigenschaften beider Fraktionen systematisch erfasst. Hierzu wurde die Partikelgrößenverteilung, die Viskosität, die Serumlässigkeit sowie die Grenzflächenproteinzusammensetzung von Emulsionen mit hoher Fettkugelpackungsdichte (Mayonnaisen) bestimmt. Die Partikelgrößenverteilung der stabilisierten Öltröpfchen in Emulsionen wurde mittels dynamischer Laserbeugung gemessen. Dabei gibt der mittlere volumenbezogene Öltröpfchendurchmesser $d_{50,3}$ Aufschluss über die Emulgatoraktivität und die Stabilität des adsorbierten Grenzflächenfilmes.

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, zeigen mit nativem Plasma stablisierte Emulsionen keine signifikanten Veränderungen in der erzeugten Tröpfchengröße mit variierenden Milieuparametern. Die Emulgieraktivität der Plasmafraktion ist somit unabhängig von pH-Wert und Salzgehalt im Produkt, ein variabler Einsatz bei schwankenden Produkteigenschaften daher denkbar.

Es wird ebenfalls deutlich, dass eine enzymatische Modifikation der reinen Plasmafraktion vor dem Emulgierschritt zu keiner Verbesserung in den grenzflächenaktiven Eigenschaften und damit zu kleineren Öltröpfchen führt (Abb. 1.2).



Vielmehr kommt es durch die PLA_2-Behandlung zu einer leichten Vergrößerung der stabilisierten Öltröpfchen. Diese unterliegen mit variierenden Milieubedingungen größeren Schwankungen im Vergleich zu Öltröpfchen stabilisiert mit nicht modifiziertem Plasma. Weiterführende Studien zeigten, dass durch eine enzymatische Modifikation die LDL Komplexe intrapartikulär stabilisiert werden.

Abb. 1.2: Primärer mittlerer volumenbezogener Partikeldurchmesser d50,3 von Emulsionen in Abhängigkeit der Milieubedingungen für enzymatisches und nicht enzymatisch modifiziertes Plasma.

Dadurch findet kein Aufbruch der LDL Komplexe an der Phasengrenzfläche statt, ein Verschmelzen der Hüllsubstanz der LDL Komplexe mit der neu geschaffenen Grenzfläche findet nicht mehr statt. Wie Studien von Dickinson, (2010) zeigten, bilden sich beim Einsatz von PLA_2-modifiziertem Plasma-Partikel stabilisierte Emulsionssysteme aus.

Diese als „pickering emulsions“ bezeichneten Systeme werden an der Grenzfläche von sehr kleinen, rigiden Partikel stabilisiert. Bei PLA_2 modifiziertem Plasma ist die Grenzflächenbesetzung und Stabilisierung daher von Partikel-Partikel Wechselwirkungen dominiert und folglich stärkeren Schwankungen unterworfen. Im Ergebnis ist eine enzymatische Modifikation im Hinblick auf die Verbesserung der technologisch funktionellen Eigenschaften einer reinen Plasma Fraktion kritisch zu beurteilen. Der Vorteil einer erhöhten Hitzestabilität ist ebenfalls fragwürdig. Wie bereits Arbeiten von Guilmineau und Kulozik, (2006) und Daimer und Kulozik, (2010) zeigten, kann eine mikrobiologische Sicherheit ebenfalls durch die Kombination eines Verdünnungschrittes mit erhöhter Hitzebehandlung ohne dabei auftretende Gelbildung erzielt werden.

Ein komplett Abweichendes Verhalten wurde bei Granula stabilisierten Emulsionen festgestellt (Abb. 1.3). Es zeigte sich, dass die emulgativen Eigenschaften der Granulafraktion sehr stark von den Milieubedingungen abhängig sind. Insbesondere im sauren Milieu werden bei nativem Granula deutlich größere Öltröpfchen stabilisiert. Hingegen ist eine Verbesserung der grenzflächenstabilisierenden Eigenschaften durch eine Erhöhung der Salzkonzentration festzustellen. Durch die Dissoziation der Granula-Mizellen und die damit verbundene Zugänglichkeit hydrophober Strukturelemente wird die Emulgatoraktivität maßgebend gesteigert.

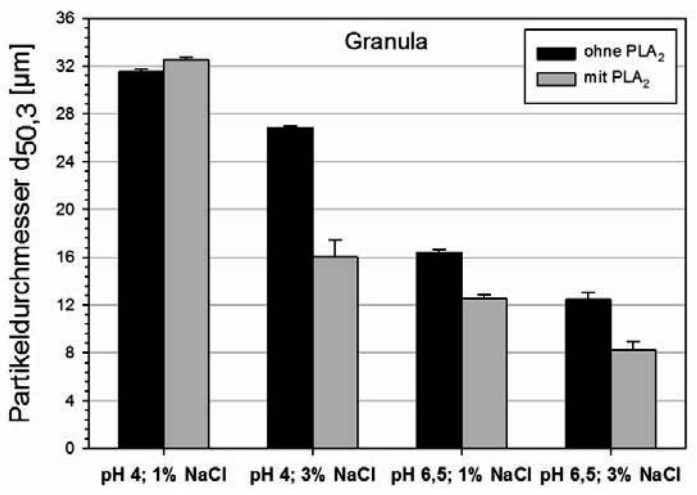


Abb. 1.3: Primärer mittlerer volumenbezogener Partikeldurchmesser d50,3 von Emulsionen in Abhängigkeit der Milieubedingungen für enzymatisches und nicht enzymatisch modifiziertes Granula.

Eine enzymatische Modifikation mittels PLA_2 zeigte für die Granulafraktion bei allen pH-Werten und Salzkonzentrationen eine deutliche Verbesserung der Emulgatoraktivität (teilweise Dissoziation der granulären Struktur). Es konnten im Vergleich zu nicht modifizierten Granula deutlich kleinere Öltröpfchen stabilisiert werden.

Die Viskosität von Emulsionen konnte durch den Einsatz von enzymatisch modifiziertem Granula ebenfalls deutlich gesteigert werden (Ergebnisse nicht dargestellt). Eine enzymatische Behandlung der Granulafraktion ist im Hinblick auf die Verbesserung der Grenzflächenaktiven und emulsionsstabilisierenden Eigenschaften als deutlich positiv zu beurteilen.

Zusammenfassend konnte ein grundlegendes Verständnis über die emulsionsbildenden Eigenschaften einer reinen Granula und Plasmafraktion geschaffen werden. Die Verwendung beider Fraktionen in Reinform kombiniert mit sehr spezifischen Modifikationen eröffnet damit neue und innovative Möglichkeiten für den Einsatz des Rohstoffs Eigelb in Emulsionssystemen.

Literatur:
Dickinson, E. (2010). Food emulsions and foams: Stabilisation by particles. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 15, 40–49
Daimer, K., Kulozik, U. (2010). Impact of a thermal treatment at different pH on the adsorption behaviour of untreated and enzyme-modified egg yolk at the oil–water interface. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 75, 19-24.
Guilmineau, F., Kulozik, U. (2006). Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 2: Effect of the environmental conditions. Food Hydrocoll, 20, 1114-1123.

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 16009 N).

Forschungsgebiet Membrantechnologie
Workgroup Membrane Technology

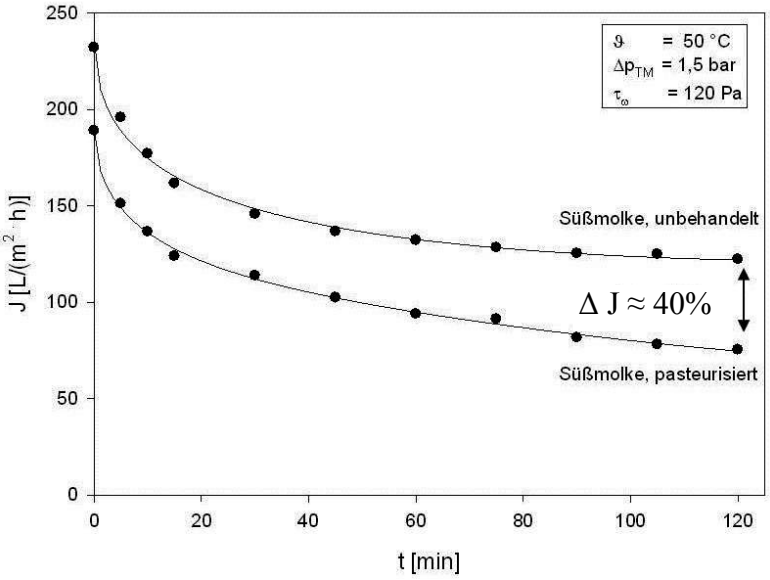
Membranfouling während Mikro- und Ultrafiltrationen von Molkenproteinen: Erfassung eines Reaktionsmechanismus für β-Lactoglobulin.

Membrane fouling during micro- and ultrafiltrations of whey proteins: Assessment of a reaction mechanism for β-Lactoglobulin.

Tim Steinhauer

Zur Herstellung von Konzentraten/Isolaten aus Süß- und Sauermolken werden in der Regel Membrankonzentrierungsverfahren wie Ultrafiltrationen (UF) eingesetzt. Als problematisch stellt sich dabei das starke Membranfouling dar. Dieses wird primär durch Proteinablagerung auf der Membran verursacht und führt bereits in der initialen Phase des Konzentrierungsprozesses zu einer drastischen Reduktion der Filtrationsleistung (Abb. 1). Zur mikrobiellen Stabilisierung müssen die zu konzentrierenden Molken in der Regel pasteurisiert werden.

Abb. 1 zeigt, dass der Pasteurisierungsschritt den stationären UF-Flux von Süßmolke um 40% reduzieren kann. Die Pasteurisation führt zu einer thermischen Veränderung von Molkenkomponenten, insbesondere Molkenproteinen, welche folglich das Molkenproteinfouling verstärken.



Bisher wurde der Mechanismus, welcher zum Molkenproteinfouling auf UF-Membranen führt nur phänomenologisch beschrieben. Es besteht daher ein großes Interesse an der Aufklärung des molekularen Foulingmechanismus. Im Fo-kus steht hierbei der Beitrag einzelner Molkenproteine, um das Fouling gezielt reduzieren und damit die Filtrationsleistung verbessern zu können.

Abb. 1: Ultrafiltrationsflux (20 kDa; Pall Membralox) von pasteurisierter und unbehandelter Süßmolke

Hinsichtlich ihres Foulingpotentials und ihrer Thermosensitivität ist eine Unterscheidung der Molkenproteine vorzunehmen. Zunächst werden Molkenproteine in die majoren Molkenproteine β-Lactoglobulin (60-80%) und α-Lactalbumin (25-30%), sowie eine Vielzahl minorer Molkenproteine, welche in der Summe weniger als 10% des Gesamtmolkenproteins ausmachen, unterteilt. Es ist daher anzunehmen, dass β-Lactoglobulin als Hauptkomponente maßgeblich zum Membranfouling während der Molken-UF beiträgt. Da es gegenüber α-Lactalbumin zudem thermolabil ist und damit bei thermischen Prozessen zur Aggregation neigt, kann angenommen werden, dass vorrangig β-Lactoglobulinaggregate, die während der Pasteurisation entstehen, zur Fluxreduktion in der nachgeschalteten UF beitragen.

Zur Überprüfung dieser These wurden Lösungen von reinem β-Lactoglobulin in molkenproteinfreiem Milchserum hergestellt und filtriert. Zur Reduktion der Komplexizität der Proteinablagerung auf der Filtrationsmembran wurden statt Crossflowfiltrationen Dead-End-Fitrationen durchgeführt, bei welchen ein Großteil der hydrodynamischen Kräfte außer der Schleppkraft der Filtratströmung eliminiert werden. Um zwischen thermisch induzierten Proteinaggregaten und nativem Protein unterscheiden zu können, wurden die verwendeten Lösungen vorfiltriert (0,2 µm) und vorhandene Aggregate entfernt. Im Anschluss daran wurden Aliquoten entweder direkt filtriert oder zur partiellen Proteinaggregation auf eine Temperatur von 65°C erhitzt, definiert heißgehalten und erst dann filtriert. Bei Ultrafiltrationsexperimenten konnte sowohl bei der Filtration aggregathaltiger als auch bei aggregatfreien β-Lactoglobulinlösungen ein starker Fluxabfall beobachtet werden. Zwar tritt bei der UF von erhitzter β-Lactoglobulinlösung stärkeres Fouling auf, jedoch kann zwischen der Foulingrelevanz von nativem Protein und Proteinaggregaten nicht unterschieden werden. Deshalb wurden spezifische Mikrofiltrationen durchgeführt, bei welchen ausschließlich Aggregate zurückgehalten werden. Die vorfiltrierte Lösung zeigte hierbei keinen signifikanten relativen Fluxabfall (Abb. 2), wohingegen die aggregathaltige Lösung einen steil ausgeprägten Fluxabfall verursachte.

Natives β-Lactoglobulin tritt somit nicht in Wechselwirkung mit der Filtrationsmembran und passiert diese ungehindert, wohingegen β-Lactoglobulinaggregate des Foulingprozess initiieren. Um eine Aussage über mögliche Interaktionen zwischen den bereits abgelagerten Aggregaten und nativem β-Lactoglobulin zu erhalten, wurden ebenso Versuche durchgeführt, bei welchen Proteinaggregate auf MF-Membranen anfiltriert und anschließend mit Lösungen durchströmt wurden, welche verschiedene Foulingcharakteristika aufweisen. Wurde mit proteinfreiem Milchserum durchströmt, fiel der Flux nicht weiter ab.

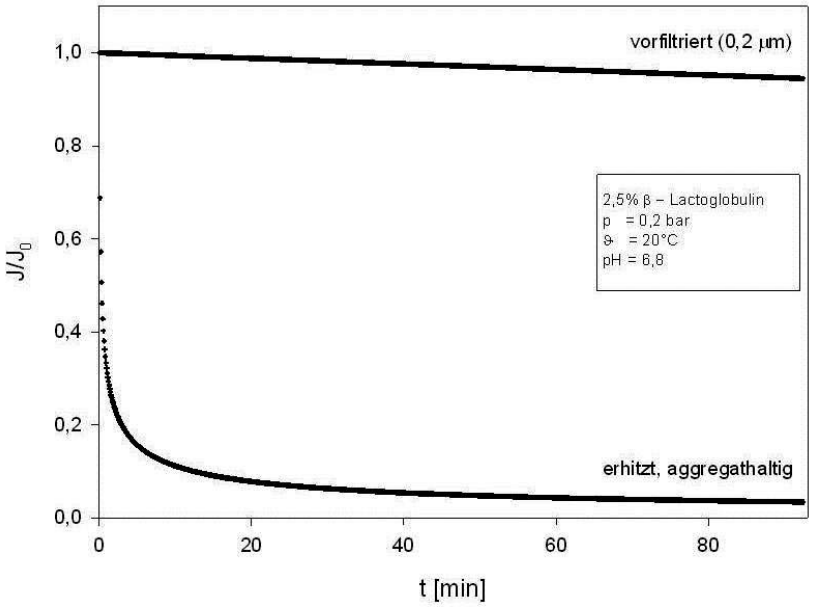


Abb. 2: Dead-End-Mikrofiltration (0,1 µm, Pall Omega) von aggregathaltigen und vorfiltrierten β-Lactoglobulinlösungen mit einem Proteingehalt von 2,5 %

Bei der Verwendung von vorfiltrierter β-Lactoglobulinlösung hingegen setzte sich der Foulingprozess signifikant fort. Es kommt demnach zu einer Reaktion zwischen abgelagerten Proteinaggregaten und nativem β-Lactoglobulin.

Aus Studien mit dem minoren Molkenprotein BSA (bovines Serumalbumin) ist bekannt, dass der Reaktionsmechanismus des Membranfoulings eine Oberflächendenaturierung von BSA-Aggregaten bei Ablagerung auf der Filtrationsmembran unter Exposition und Quervernetzung reaktiver SH-Gruppen ist. Auch β-Lactoglobulin besitzt eine reaktive SH-Gruppe, sowie eine intramolekulare Disulfidbrücke, welche ähnlich dem Foulingmechanismus von BSA reagieren könnte. Zur Überprüfung wurden Filtrationen mit aggregathaltigen β-Lacto-globulinlösungen durchgeführt. Hierbei wurde versuchsweise die reaktive SH-Gruppe durch N-ethylmaleimid stöchiometrisch blockiert und dann filtriert. Wie in Abb. 3 dargestellt, kann das Fouling bei Blockierung der SH-Gruppe signifikant reduziert werden.

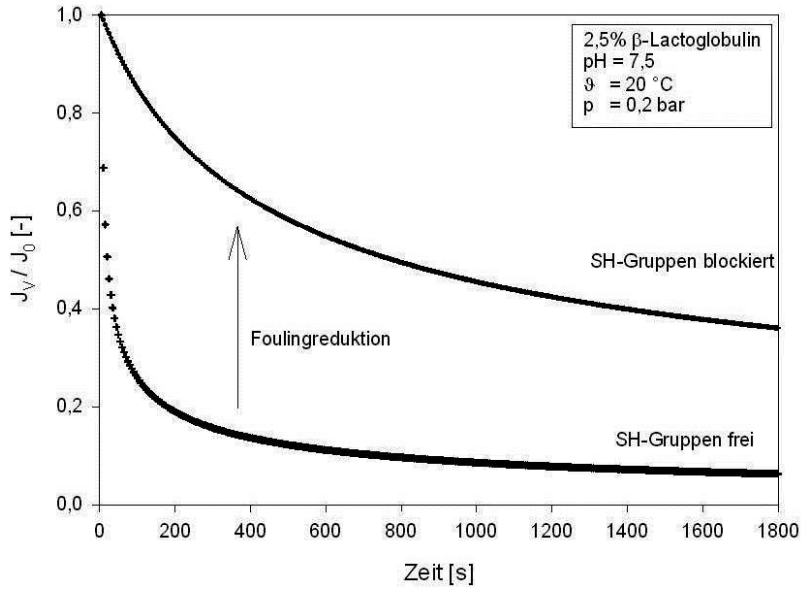


Abb. 3:
Dead-End-Mikrofiltration (0,1 µm, Pall Omega) von aggregathaltigen β-Lactoglobulinlösungen mit einem Proteingehalt von 2,5 % mit blockierter SH-Gruppe durch N-ethylmaleimid

Für die Filtration von Molken bedeutet dies, dass eine thermische Behandlung, wie eine Pasteurisation, bei welcher β-Lactoglobulinaggre-gate entstehen, zu einem verstärkten Fouling während Ultra- und Mikrofiltrationen führt. Hierbei dienen diese Aggregate als Nukleationsstellen für eine Quervernetzung mit nativem β-Lactoglobulin über ihre freie, reaktive SH-Gruppe. Verfahrenstechnisch bedeutet dies, dass eine Separation der Proteinaggregate zur Fluxsteigerung sowohl in UF, als auch in MF-Prozessen beitragen würde. Gerade für Ultrafiltrationsprozesse bietet sich daher eine vorgeschaltete Mikrofiltration zur Aggregatabtrennung und UF-Fluxsteigerung an.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 16300 N).

Herstellung von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen
Production of microparticules from isolated whey protein fractions
José Toro-Sierra, Evelyn Dachmann, Jeanette Kupfer

Molkenproteine stellen etwa 20% des Gesamtmilchproteins dar. Die Molkenproteine gehen bei der Käseherstellung in die Molke über, so dass etwa 60.000 t Gesamtmolkenprotein jährlich in Deutschland zur Verfügung stehen. Aufgrund ihrer hervorragenden technologischen und ernährungsphysiologischen Funktionalität werden diese teilweise ohne weitere Behandlung, d.h. in nativer Form, zur Verbesserung der Produktqualität eingesetzt. Ein noch breiterer Einsatz von Molkenproteinen in unterschiedlichen Branchen der Lebensmittel- und pharmazeutischen Industrie kann durch eine zusätzliche Funktionalisierung der Molkenproteine erreicht werden, wie z.B. durch Mikropartikulierung. Bei diesem Verfahren werden Molkenproteinkonzentrate, unter Einwirkung starker Scherkräfte, in einem Schabewärmetauscher erhitzt und dadurch Aggregate aus denaturiertem Molkenprotein erzeugt. Die Größe der Aggregate und eine annähernd kugelförmige Gestalt ermöglichen, dass diese leicht und reibungslos ineinander über zu gleiten. Dies bringt eine Cremigkeit mit sich, die gewöhnlich mit Fett assoziiert wird und somit den Mikropartikulaten die Eigenschaft verleiht, die sensorische Qualität von fettarmen Produkten zu verbessern. Die Produktausbeute wird auch durch den Einsatz von mikropartikuliertem Molkenprotein aufgrund des hohen Serumbindevermögens der Partikel erhöht.

Etwa 70% des Gesamtmolkenproteins besteht aus zwei Hauptmolkenproteinfraktionen, α-Lactalbumin (α-La) und β-Lactoglobulin (β-Lg). Die Eigenschaften des mikropartikulierten Molkenproteins (Partikelgröße, Denaturierungsgrad) sowie deren Verhalten im Endprodukt werden überwiegend durch thermisch induzierte Auffaltungs- und Aggregationsreaktionen dieser Proteine während der thermischen Behandlung und Schereinwirkung bestimmt. Nachdem sich mikropartikulierte Molkenproteine, hergestellt aus Molkengesamtprotein, d.h. aus α-La/β-Lg-Gemischen, für praktische Einsätze innerhalb kurzer Zeit sehr bewährt haben, ist zu vermuten, dass sich Aggregate aus den einzelnen Molkenproteinen in einer unterschiedlichen Weise ebenfalls hochfunktionell sind. Bedingt durch seinen Aufbau, die Abwesenheit von freien Thiolgruppen und die Fähigkeit, Calcium zu binden, zeigt das isolierte α-La eine deutlich höhere thermische Stabilität bei neutralen pH-Werten, sogar im UHT-Bereich, als β-Lg. Daher kann das Protein für die Anwendungen eingesetzt werden, bei welchen weitere Gelbildungsreaktionen während der thermischen Behandlung von Produkten unerwünscht sind. Im Gegensatz dazu besitzt das isolierte β-Lg eine freie Thiolgruppe und eine höhere

Hydrophobizität die das Protein, für Anwendungen wo Gel- und Strukturbildungsreaktionen durch freie Thiolgruppen während einer thermischen Nachbehandlung von Vorteil sind, interessant machen. Da allerdings über die Herstellung von Mikropartikulaten aus isolierten Molkenproteinfraktionen und über deren technologischen Eigenschaften sowie deren Beeinflussung durch den Herstellungsprozess kaum etwas bekannt ist, werden im Rahmen dieses Forschungsprojektes diese Themen behandelt. Der vorliegende Bericht stellt beispielhaft die Ergebnisse zu detaillierten Untersuchung der Mikropartikulierung von isolierten Molkenproteinfraktionen in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur, der Lactosekonzentration sowie des pH-Wertes, dar. Werden Konzentrate aus Molkengesamtprotein mikropartikuliert, hängt die Aggregatbildung im Wesentlichen von der β-Lg-Fraktion ab: das Protein faltet bei steigenden Temperaturen auf und exponiert die im Inneren des Moleküls verborgene freie Thiolgruppe, was mit der Bildung kovalenter Bindungen mit anderen aufgefalteten Proteinen durch Thioldisulfid-Austausch einhergeht und somit Aggregate bilden. Das α-La, das keine freie Thiolgruppe besitzt, unterliegt einer induzierten Aggregation mit einer freien Thiolgruppe eines β-Lg und aggregiert. Die Größe und Festigkeit der entstandenen Aggregate hängt u.a. von der Erhitzungstemperatur, der Lactosekonzentration und der Scherintensität ab. Wenn isolierte Molkenproteinfraktionen erhitzt werden, sieht der Mechanismus des Aggregatbildung anders aus: Konzentrate aus isoliertem α-La zeigen trotz Erhitzung bei hohen Temperaturen keine Neigung zur Aggregation.

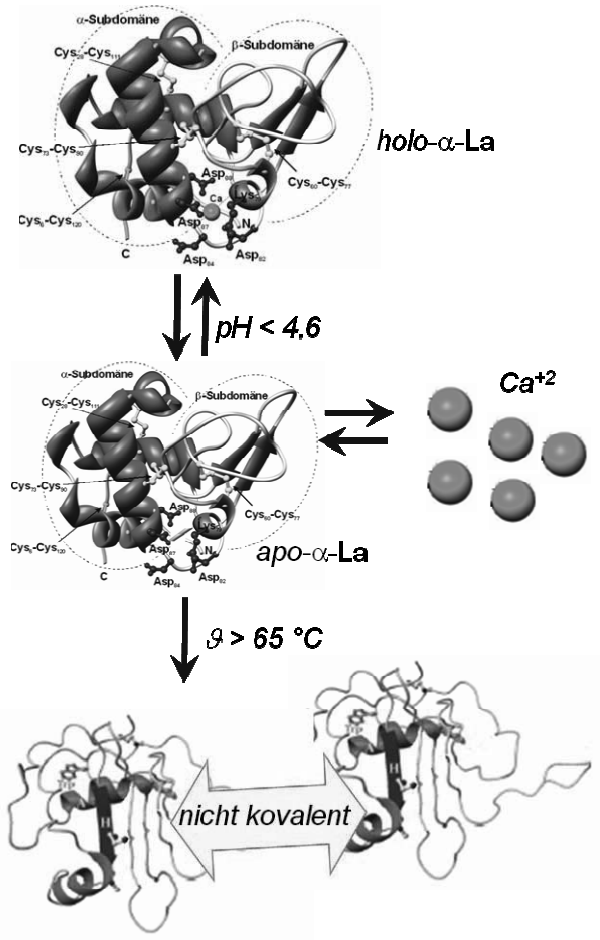


Abb. 1: Auffaltungs- und Aggregationsmechanismus von isoliertem α-La.

Dies liegt daran, dass α-La in der Lage ist, Calcium zu binden und dadurch sehr hitzestabil ist. Wenn Aggregate aus α-La hergestellt werden sollen, muss das Protein von der calciumgebundenen Form (*holo*-α-La) in die calciumfreie Form (apo-α-La) übergehen. Dies erfolgt, wenn die Proteinlösung auf einen pH-Wert unter 4,6 gebracht wird. Unter diesen Bedingungen entstehen während der Hitzebehandlung unter Scherung Aggregate durch nicht kovalente Bindungen aus isoliertem α-La (Abb.1).

Aufgrund der Anwesenheit einer freien Thiolgruppe tendiert β-Lg dazu mit steigenden pH-Werten in isolierter Form kovalent gebundene Aggregate zu bilden. Abb. 2 stellt den Mechanismus der Aggregatbildung dar. Die Größe und Struktur der gebildeten Aggregate wird über die Lactosekonzentration kontrolliert, da Lactose die Auffaltung des Proteins partiell hemmt.

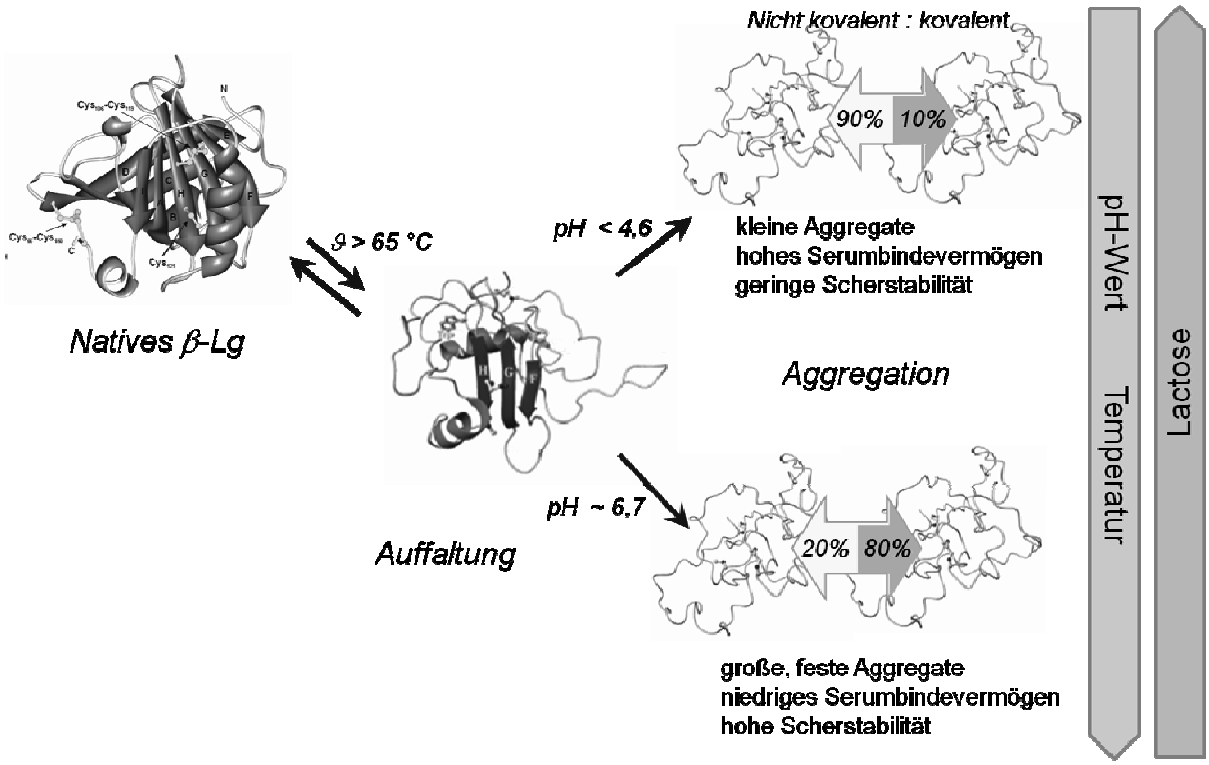


Abb. 2: Auffaltungs- und Aggregationsmechanismus von isoliertem β-Lg

Ebenfalls bewirkt eine pH-Senkung die Bildung von lockeren nicht scherstabilen Aggregaten durch die Reduktion der Aktivität der freien Thiolgruppe und die Aggregation über von hydrophoben Wechselwirkungen.

Einfluss der Temperatur auf die Aggregatgröße von mikropartikuliertem Molkenprotein

Bei Vorgabe eines Denaturierungsgrades von mindestens 95% wird die Aggregatgröße in hohem Maße von der angewandten Erhitzungstemperatur beeinflusst, besonders bei β-Lg-haltigen Lösungen. Der Zusammenhang zwischen Temperatur und Partikeldurchmesser weist für diese Lösungen ein ausgeprägtes Minimum im Bereich zwischen 85 und 95 °C (Abb. 3) vor.

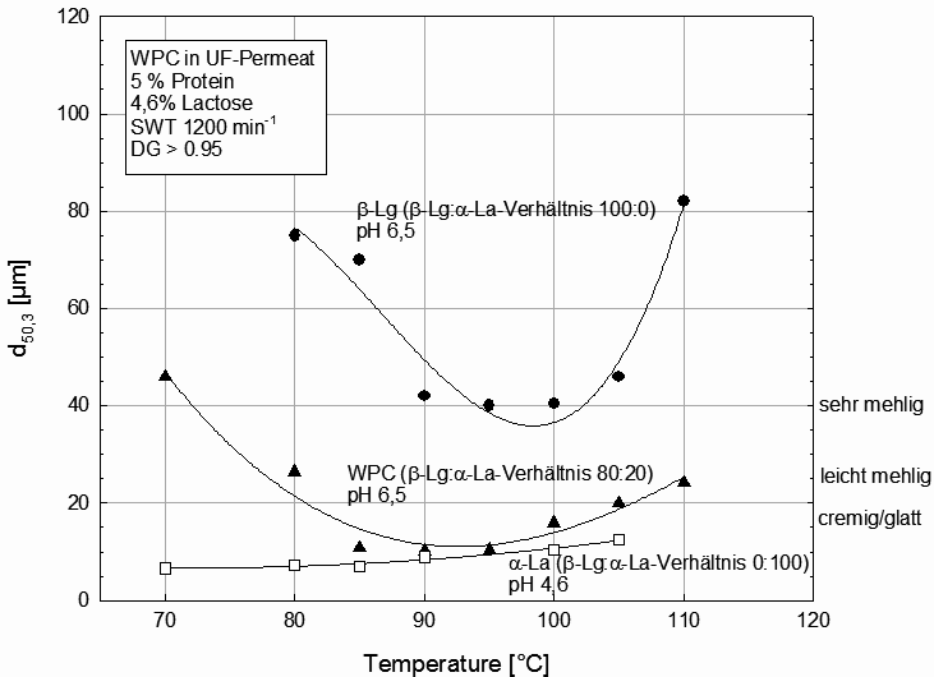


Abb. 3: Aggregatgröße in hitze- und scherbehandelten Molkenproteinkonzentraten (Gemisch und Isolat) in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur

Minimale Aggregatgrößen von etwa 35 µm werden bei isoliertem β-Lg erzielt. In diesem Temperaturbereich stehen die Auffaltungs- und Aggregationsreaktion im Gleichgewicht, was zu einer Reduktion der Partikelgröße führt. Bei niedrigeren Temperaturen dominiert die Auffaltung die Reaktionsgeschwindigkeit bei höheren Temperaturen dagegen die Aggregation.

Besonders zu beachten ist, dass die Größe der gebildeten Aggregate mit der Anwesenheit von α-La weiter reduziert wird. Wie in der mittleren Kurve der Abb. 3 zu sehen ist, bewirkt bereits ein Anteil von 20% α-La eine Reduktion der Partikelgröße im Übergangsbereich auf etwa 13 µm. Durch die besondere Hitzestabilität und die Abwesenheit freier Thiolgruppen bewirkt das α-La eine Hemmung der Aggregation von β-Lg. Aufgefaltete β-Lg-Monomere induzieren durch Thiol-Disulfid-Austausch die Aggregation α-La und stehen somit für die Reaktion mit β-Lg nicht mehr zur Verfügung, was eine Reduktion der Partikelgröße bedeutet. In Lösungen mit isoliertem α-La (Abb. 3, untere Kurve) wird dies ersichtlich. Das α-La bildet sehr kleine Aggregate unabhängig von der Erhitzungstemperatur bei pH kleiner als 4,6. Dies deutet auf eine verminderte Neigung zur Aggregation und die Bildung von nicht scherstabilen Aggregaten sowie auf die sekundäre Rolle von Auffaltungs- und Aggregationsreaktionen hin.

Dank: Dieses Projekt wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 15834 N).

Untersuchung der Druckstabilität glykosylierter Proteine der Milchfettkugelmembran

Pressure stability of glycosylated proteins derived from the milk fat globule membrane

Nadja Siegert

Die 10-20 nm dünne Milchfettkugelmembran (MFKM) verhindert die Koaleszenz der Fettkugeln der Milch und fungiert dabei als Emulgator. Die MFKM ist ein hoch strukturiertes System aus polaren Lipiden, Membran-spezifischen Proteinen, die überwiegend glykosyliert vorliegen und weiteren minoren Bestandteilen. Den Komponenten der MFKM werden sowohl technologische als auch bioaktive Eigenschaften nachgesagt. Dadurch besitzen sowohl die Gesamtmembran als auch ihre Einzelkomponenten ein hohes Potential für neue Produktanwendungen mit einzigartigen ernährungsphysiologischen und technologischen Eigenschaften. Bisher werden die Bestandteile der MFKM überwiegend als technologischer Hilfsstoff zur Emulsions- und Schaumstabilisierung genutzt.

Insbesondere die Glykoproteine werden durch die kovalent gebundenen Kohlenhydrate in ihren funktionellen Eigenschaften beeinflusst. Die Glykosylierung kann jedoch während der Prozessführung verändert werden. Durch niedrige pH-Werte sowie Restaktivitäten von Milchsäurebakterien und Enzymen können Zuckerketten vom Protein abgespalten werden, wodurch sich auch Verluste der originären Eigenschaften ergeben. Der Erhalt der nativen Struktur während der Prozessführung ist daher für eine erfolgreiche Ausnutzung der bioaktiven und technologischen Funktionen essentiell sowie für die Gewährleistung einer gleichbleibenden Produktqualität.

Eine Standardprozedur für fetthaltige Milch und zur Herstellung von Emulsionen ist die Homogenisierung. Dabei treten zum einen Scherbelastungen auf und zum anderen thermische Beanspruchungen durch gängige Homogenisiertemperaturen von 60 bis 70 °C. Um gewährleisten zu können, dass dabei keine strukturellen Veränderungen der Glykoproteine der MFKM auftreten, die zu einem Verlust der biologischen Funktion oder auch zu einer Veränderung der technologischen Eigenschaften führen können, war es Ziel der dargestellten Arbeit

die Stabilität der MFKM-Glykoproteine während der Druckbehandlung bei unterschiedlichen Temperaturen zu untersuchen.

Zur Bestimmung von strukturellen Veränderungen wurde die Veränderung des Gehalts an proteinungebundener Sialinsäure (N-Acetylneuraminsäure, Neu5Ac) ermittelt, da Sialinsäure als terminaler Zuckerrest entscheidend für viele funktionelle Eigenschaften der Glykoproteine ist. Die Abspaltung der Sialinsäure und der damit verbundene Verlust der natürlichen Funktionalität der Proteine konnte dabei mittels RP-HPLC Analytik quantifiziert werden. Für die Versuche wurde Buttermilch verwendet, die aus gewaschenem Rahm gewonnen wurde. Die im Rahm noch vorhandenen Magermilchbestandteile wurden während des Waschens stark abgereichert. In der verwendeten Buttermilch liegt die MFKM daher in sehr reiner Form vor.
In Abb. 1 sind die Sialinsäuregehalte von Buttermilchproben dargestellt, die bei verschiedenen pH-Werten (2, 4 und 7) bei einer Temperatur von 20 °C einstufig zwischen 100-300 bar homogenisiert wurden.

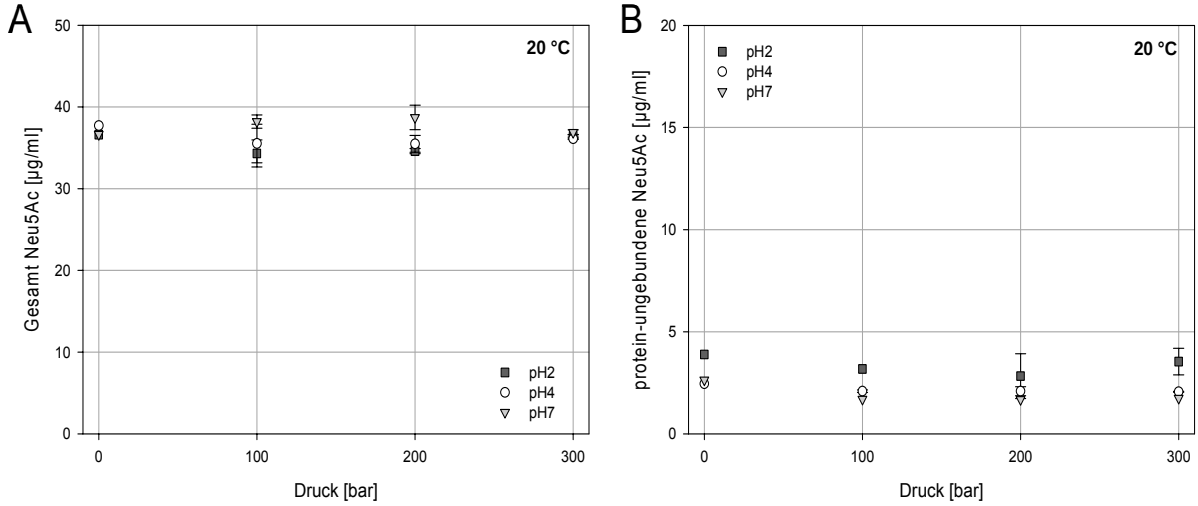


Abb. 1: Sialinsäuregehalt druckbehandelter Buttermilchproben bei 20 °C und pH 2, 4, 7; A: Gesamtsialinsäuregehalt, B: Gehalt an protein-ungebundener Sialinsäure; Neu5Ac= N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure)

Der Gesamtsialinsäuregehalt (Abb. 1A) zeigt für keinen untersuchten pH-Wert und Homogenisierdruck eine signifikante Veränderung. Das Molekül Sialinsäure ist bei den untersuchten Bedingungen stabil. Eine druckinduzierte Hydrolyse könnte jedoch die Abspaltung des Zuckers vom Protein bewirken. Daher wurde auch der Gehalt an nicht-proteingebundener Sialinsäure betrachtet (Abb. 1B). Für die Ermittlung dieser Werte wurden die Proben filtriert (cut off: 5 kDa) und der Gehalt an Sialinsäure im Permeat bestimmt. Für pH 4 und 7 konnte dabei ein konstanter Sialinsäuregehalt gefunden werden. Bei stark saurem pH-Wert (pH 2) ist der Gehalt an nicht-proteingebundener Sialinsäure druckunabhängig gegenüber pH 4 und 7 leicht erhöht. Es zeigt sich insgesamt, dass die Glykoproteine in Hinblick auf einen Erhalt ihrer Glykanreste bei den gewählten Bedingungen stabil sind. Eine Druckeinwirkung bei niedrigen Temperaturen führt demnach nicht zu einer strukturellen Veränderung.

Das Zusammenwirken von Druck und Temperatur auf die Stabilität der MFKM-Glykoproteine ist in Abb. 2 dargestellt. Die Homogenisiertemperatur wurde dabei auf 60 °C gesteigert.

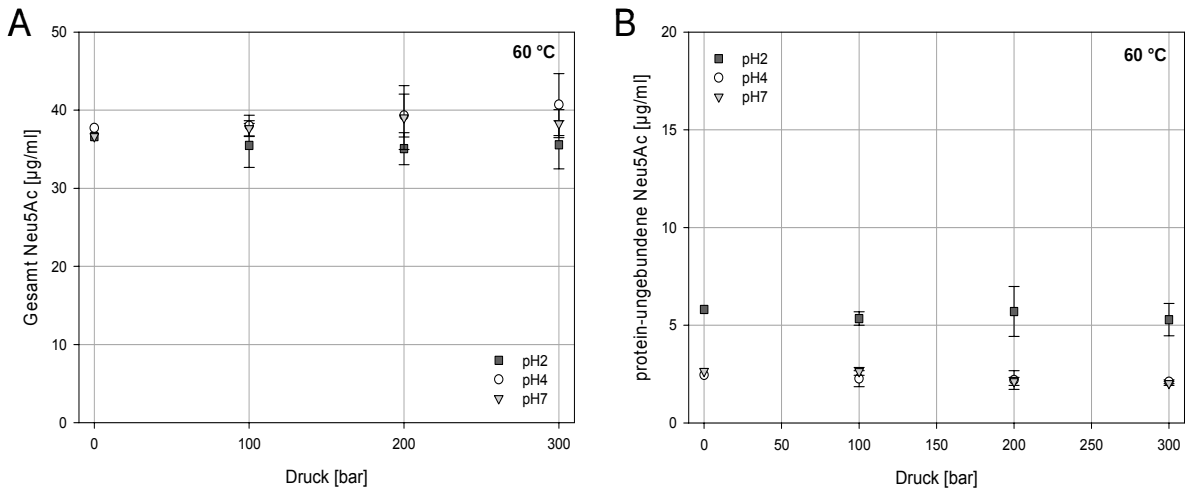


Abb. 2: Sialinsäuregehalt druckbehandelter Buttermilchproben bei 60 °C und pH 2, 4, 7; A: Gesamtsialinsäuregehalt, B: Gehalt an protein-ungebundener Sialinsäure; Neu5Ac= N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure)

Der Gesamtsialinsäuregehalt der druckbehandelten Proben ist bei allen untersuchten pH-Werten nahezu konstant. Im Bereich der nicht-proteingebundenen Sialinsäure zeigt sich eine Veränderung im Bereich des stark sauren pH-Wertes. Diese ist jedoch nicht vom gewählten Homogenisierdruck abhängig. Vielmehr zeigt sich der Anstieg bereits bei der Erhöhung der Prozesstemperatur auf 60 °C auch ohne tatsächliche Druckbehandlung. Der zu beobachtende Anstieg der nicht-proteingebundenen SA bei pH 2 ist demzufolge in erster Linie thermisch bedingt.

Durch die gefundene hohe Stabilität der MFKM Glykoproteine insbesondere im neutralen pH-Bereich können demnach auch nach Druckbehandlungen sowohl die technologischen als auch die bioaktiven Eigenschaften in vollem Umfang genutzt werden.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung über das Forschungszentrum Jülich gefördert. Projekt: BioChancePlus-2 „Innovative Verfahren zur Bestimmung und Anreicherung bioaktiver Glykoverbindungen aus Milch für die Entwicklung von prebiotischen Lebensmitteln“, in Kooperation mit der Universität Bremen (Prof.Kelm), Fa. Galab (Dr. Cuballa), Milupa/Danone Research (Dr. Schmitt)

Molkenproteinfraktionierung mittels Membranadsorptionschromatographie im Labormaßstab

Lab scale fractionation of whey proteins by means of membrane adsorber chromatography

Linda Voswinkel

Molke ist ein Nebenprodukt der Käseherstellung und enthält verschiedene wertgebende Inhaltsstoffe. Der größte Anteil der Trockenmasse ist Laktose. Daneben sind Molkenproteine, Mineralstoffe und Vitamine ernährungsphysiologisch wertvolle Bestandteile der Molke. Gegenstand dieser Arbeit sind die Molkenproteine, die zu spezifischen technologischen oder gesundheitsfördernden Zwecken in Lebensmitteln angewendet werden können. Für einen gezielten Einsatz von Proteinen entsprechend ihrer Eigenschaften ist eine Trennung der Proteinmischung in Einzelfraktionen notwendig. Die Hauptkomponenten des Proteinanteils sind β-Lactoglobulin (β-LG) und α-Lactalbumin (α-La), welche zusammen ca. 70 % der Proteinkonzentration ausmachen. Weitere wesentlich geringer konzentrierte Proteinfraktionen sind Bovines Serumalbumin (BSA), Immunglobuline (IgG), Lactoferrin (LF) und Lactoperoxidase (LPO). Bisher untersuchte Trennmethoden sind beispielsweise die Ionenaustauschchroma-

tographie (IEC) mit gepackten Säulen und die klassische Filtration (MF, UF). Erstere hat den Nachteil, zeitaufwendig und kostenintensiv zu sein. Letztere führt z.T. zur Proteindenaturierung, was den Verlust von Aktivität und Funktionalität der Proteine bedeutet. Außerdem ist bis dato die Trennung aller oben genannten Molkenproteine in einem Prozess nicht beschrieben worden. Meist werden nur ein bis zwei, selten auch vier Proteine isoliert. Daher besteht der Bedarf, eine Methode zu entwickeln, bei der die Molkenproteine im nativen Zustand bleiben und das Verfahren wirtschaftlich im industriellen Maßstab einsetzbar ist.

Ein schonendes Verfahren zur Trennung von Molkenproteinen, bei dem weder extreme Temperaturen noch pH-Werte eingesetzt werden, ist die Ionenaustauschchromatographie (IEC). Diese wird üblicherweise mit gepackten Säulen durchgeführt, welche durch einen geringen Durchsatz, aufwendige Up-und Downstreamprozesse und eine komplizierte Maßstabsübertragung gekennzeichnet sind. Eine innovative Bauweise von Ionenaustauschern überwindet diese Nachteile, indem die Austauscherliganden auf eine poröse Membran aufgebracht werden, welche das gepackte Säulenmaterial ersetzt. Die Membran ist spiralförmig um einen Kunststoffkern gewickelt. Dadurch wird ein tangentialer Fluss der Probe entlang der Membranoberfläche ermöglicht und es können hohe Flussraten erzielt werden. Diese kombinierte Methode von Membranfiltration und IEC wird Membranadsorptionschromatographie genannt. Die Membranaustauscher sind entweder Anionenaustauscher oder Kationenaustauscher.

Ziel war es, einen Prozess mit gekoppelten Anionen- und Kationenaustauschern zu entwickeln, in dem alle relevanten Molkenproteine aus Sauermolke getrennt werden. Die Versuche wurden im Labormaßstab durchgeführt, wobei das Säulenvolumen jeweils 3 ml betrugen. Es wurden verschiedene Prozessparameter untersucht, wie beispielsweise das Puffersystem für die Equilibrierung der Säulen und zur Elution der gebundenen Proteine, pH-Wert und Ionenstärke der verwendeten Puffer, Elutionsgradient und aufgetragenes Probenvolumen. Das optimale Trennergebnis wurde erreicht, indem Kationen- und Anionenaustauscher mit verschiedenen Parametereinstellungen beladen und eluiert wurden. Der Anionenaustauscher wurde mit Molke beladen, deren pH-Wert auf den des Puffersystems (pH 7) eingestellt wurde. Zwei Proteine, BSA und β-Lactoglobulin wurden adsorbiert und über einen NaCl-Gradienten bei unverändertem pH-Wert eluiert. Die Abb. 1 zeigt, dass α-La, Lf, IgG und LPO nicht von den Anionenaustauschergruppen gebunden wurden und somit weiterhin als Proteinmischung im Effluenten vorlagen. Die beiden adsorbierten Fraktionen BSA und β-Lg konnten durch unterschiedliche Ionenstärke getrennt werden. BSA eluiert bei 0,1 M NaCl und β-Lg bei 1 M NaCl.

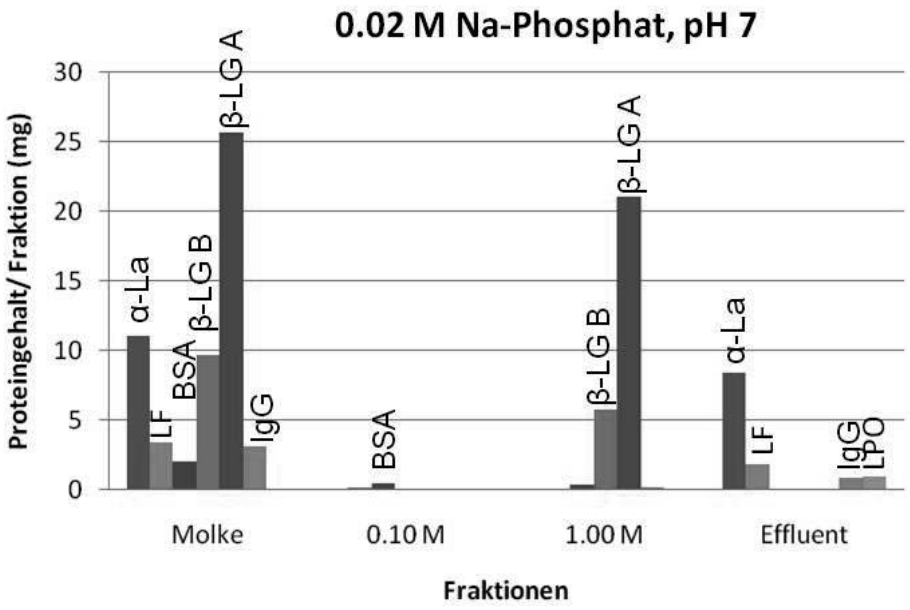


Abb. 1: Trennung von β-Lactoglobulin und BSA aus Sauermolke, pH 7 mittels Anio-nenaustauscher. Prozessbedingungen: 0.02 M Na-Phosphat als Equilibrierungspuffer, 100 ml mikrofiltrierte Sauermolke als Substrat, NaCl-Gradient mit den Stufen 0.05, 0.1 und 1 M NaCl in Phosphatpuffer.

Der Effluent aus dem Anionenaustauscher mit den verbleibenden nicht adsorbierten Proteinen wurde auf pH 4.8 eingestellt. Dabei wurden die Proteine Immunglobulin G, Lactoferrin und Lactoperoxidase adsorbiert, wohingegen sich das α-Laktalbumin erneut im Effluent befand. Die getrennten Proteinfraktionen und die entsprechenden Ionenstärken, die zur Desorption notwendig waren, sind in Abb. 2 dargestellt. Die Fraktion „Substrat“ zeigt die Proteinzusammensetzung des injizierten Effluenten. Die Fraktion „Effluent“ enthält diejenigen Proteine, die nicht durch den Kationenaustauscher gebunden wurden. Darin befindet sich nahezu vollständig der α-Lactalbumingehalt des Substrats, ein kleiner Teil ist jedoch adsorbiert.

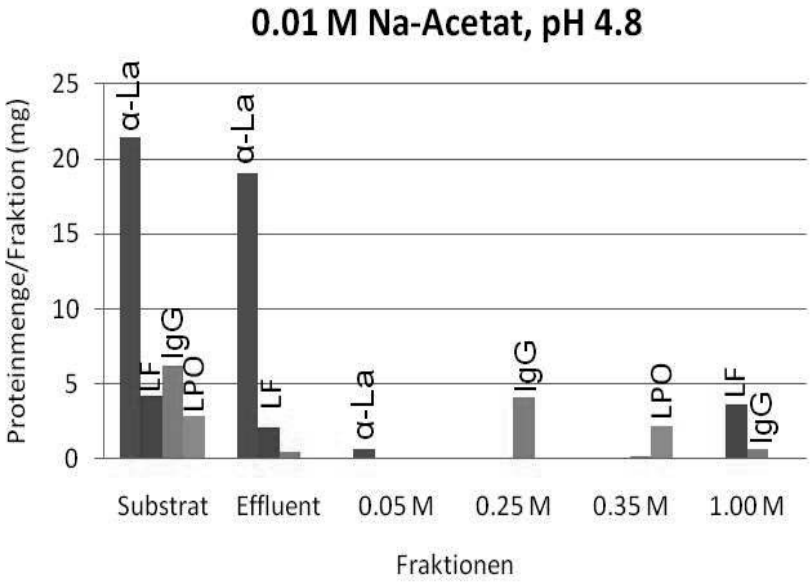


Abb. 2: Trennung von α-Lactalbumin, Lactoferrin, Immunglobulin G (IgG) und Lactoperoxidase (LPO) mittels Kationenaustauscher. Substrat ist der Effluent des Anionenaustaschers, pH 4.8. Prozessbedingungen: 0.01 M Na-Acetat als Equilibrierungspuffer, NaCl-Gradient mit den Stufen 0.05, 0.25, 0.35 und 1 M NaCl in Acetatpuffer.

Diese Fraktion (0,05 M NaCl) kann ohne weiteres zum Effluenten zurückgeführt werden, so dass das gesamte Protein separiert vorliegt. Des Weiteren sind im Effluent ein Teil des Lf und ein minimaler An-teil IgG enthalten.

Der größte Teil des IgG befindet sich in der Fraktion „0,25 M NaCl“. Diese stellt eine sehr reine Fraktion ohne weitere Proteine dar.

Auch die Fraktion, die bei 0,35 M NaCl eluiert ist, enthält neben LPO nahezu keine weiteren Proteine. Die letzte Fraktion bei 1 M NaCl enthält hauptsächlich Lf, aber auch einen geringen Anteil des IgG. Durch geeignete Wahl des Probenauftragsvolumens und Einstellung des NaCl-Gradienten mit Schritten verschiedener Salzkonzentration (0.1-1 M NaCl) und Länge (3-7 Säulenvolumina) konnten also die adsorbierten Fraktionen getrennt eluiert werden. Im weiteren Verlauf der Arbeit soll Süßmolke als Substrat verwendet werden, welche als zusätzliche Proteinfraktion das Caseinomakropeptid enthält.

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 16540 N).

ZIEL-Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnologie

Leitung: Seronei Chelulei Cheison, PhD

Influence of NaCl concentration on the selective trypsin hydrolysis of whey proteins.

Seronei Chelulei Cheison

Previous work in our group has shown that the hydrolysis environment variables such as temperature, pH and the ionic environment impact the enzyme-substrate interaction in a manner that steers the enzyme attack pattern. The influence offers a means to tailor the products including the production of specific peptides and selective hydrolysis of some proteins in a mixture. Whey proteins come in various compositions, mainly as a mixture of α-lactalbumin (α-La) and β-lactoglobulin (β-Lg) with other trace proteins. α-La is resistant to trypsin while β-Lg is not. However, the resistance is subject to the hydrolysis pH and temperature. It is also known that α-La is less soluble in the presence of salt, mainly NaCl whereas β-Lg is. It was intended to use NaCl of various concentrations to manipulate the hydrolysis environment in order to improve α-La resistance to trypsin hydrolysis.

Whey proteins are obtained in various forms from commercial manufacturers. They include various amounts of α-lactalbumin (α-La) and β-lactoglobulin (β-Lg). Fractionation may be performed using the salting-out procedure, selective thermal stability of α-La in acidic conditions and separation by ion-exchange and gel filtration chromatography and selective trypsin hydrolysis or by pepsin hydrolysis. Ultrafiltration (UF) of whey was also used [1].

The influence of the pH and temperature on β-Lg is well characterised. It exists in dimeric forms in the physiological conditions of milk and aggregates into octamers at pH 4.65. The dimeric form breaks to monomers upon warming to temperatures above 40°C or above pH 7.5, the Tanford transition [2, 3]. The change influences the enzyme-substrate interaction kinetics in a manner that steers the susceptibility of β-Lg to trypsin. It is thought that NaCl protects α-La while enabling the hydrolysis of β-Lg [4].

Our previous work on selective fractionation of whey proteins offered promising results [5]. Those results showed that the rate of hydrolysis was in the order β-Lg A > β-Lg B > α-La under almost all hydrolysis conditions. Furthermore, at low temperature (25°C) and high pH (8.5), selective trypsin hydrolysis of β-Lg over α-La was optimal (about 70% recovery). Thus this condition could be used for the production of pure, native α-La.

This work was designed to investigate the influence of the presence of various concentrations of NaCl on the recovery of high quantity native α-La.

Most enzyme hydrolyses tend to be done around an enzyme declared or determined optimum temperature and pH conditions. Our group has investigated potentials that exist away from the optimum pH, temperature, enzyme concentrations as well as the initial enzyme (E_0) to initial substrate S_0), E_0/S_0, ratios. Enzyme hydrolyses are mild, providing conditions under which products may be obtained with little or no release of harmful by-products and/or denaturation.

During hydrolysis at the trypsin optimum conditions (37°C, pH 7.8) under 0.1M NaCl, led to the depletion of all the lactoglobulins in 2hr with about 47% residual α-La. Compared to the hydrolysis without salt, a marginal (45.95%) improvement of α-La resistance was observed. At pH 7.0 and 8.5, all the proteins showed lower resistance in the presence of 0.1M NaCl than without, a departure from the behaviour at optimum pH (7.8).

Generally, all proteins were resistant to trypsin at pH 7.0. When hydrolysis was performed at 37°C and pH 7.8 under varying salt concentration, α-La showed varying behaviour with 45.95%, 27.84%, 47.74% and 32.80% residual protein at 0, 0.05, 0.1 and 0.25M NaCl, respecttively.

This showed a general loss of resistance of the α-La at higher NaCl concentration.

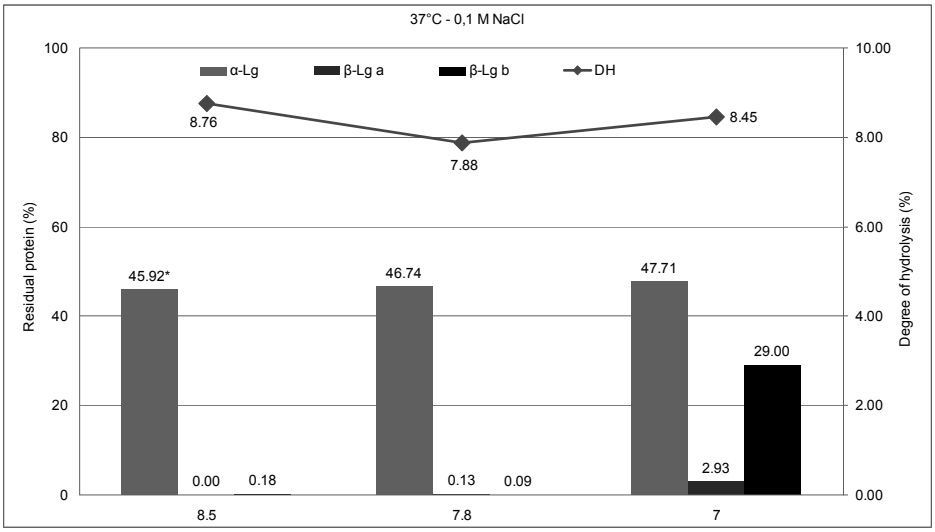


Fig. 1: Influence of hydrolysis pH at 0.1M NaCl on whey protein susceptibility

In contrast, during hydrolysis at 25°C and pH 8.5, a condition which was determined in our previous work [5] to be optimal for high α-La recovery, showed relatively high resistance for the protein to trypsin. Thus, 67.79%, 70.54%, 71.03% and 74.88% α-La were detected at 0, 0.05, 0.1 and 0.25M NaCl, respectively. Indeed, during hydrolysis at 0.25M NaCl, the other proteins (notably β-Lg B, 20%) were detected.

This indicates that at high salt concentration, the proteins were all protected against trypsin, possibly due to aggregation and/or salting-out effect induced by the ionic environment.

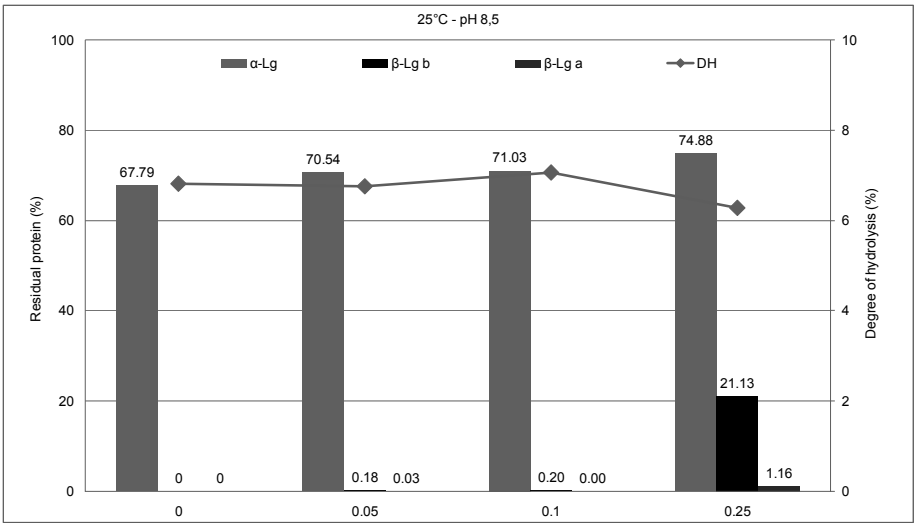


Fig .2: Influence of NaCl concentration on whey protein susceptibility at 25°C and pH 8.5

Hydrolysis of WPI by trypsin showed relative resistance of α-La over β-Lg. Furthermore, hydrolysis of β-Lg depended on the genetic variants, with β-La A being generally more susceptible to trypsinolysis than β-Lg B. The best conditions of trypsin hydrolysis for recovery of native α-La are 25°C; pH 8.5 and 0.1M NaCl (71,03%). Salt either protected α-La or improved β-Lg hydrolysis while too high a salt concentration slowed β-Lg hydrolysis, probably due to salt-induced aggregation or salting-out.

References

[1]S.M. Kamau, S.C. Cheison, W. Chen, X.-M. Liu, R.-R. Lu, Alpha-lactalbumin: Its production technologies and bioactive peptides, *Compr Rev Food Sci Food Saf* **9** (2010) 197.

[2]N. Taulier, T.V. Chalikian, Characterization of pH-induced transitions of b-lactoglobulin: Ultrasonic, densimetric, and spectroscopic studies, *J. Mol. Biol.* **314** (2001) 873.

[3]C. Tanford, L.G. Bunville, Y. Nozaki, The reversible transformation of b-lactoglobulin at pH 7.51, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 4032.

[4]Y.L. Xiong, Influence of pH and ionic environment on thermal aggregation of whey proteins, *J. Agric. Food Chem.* **40** (1992) 380.

[5]S.C. Cheison, E. Leeb, J. Toro-Sierra, U. Kulozik, Influence of hydrolysis temperature and pH on the selective trypsinolysis of whey proteins and potential recovery of native alpha-lactalbumin, *Int. Dairy J.* **21** (2011) 166.

[6]S.C. Cheison, M. Schmitt, E. Leeb, T. Letzel, U. Kulozik, Influence of the temperature and the degree of hydrolysis on the peptide composition of trypsin hydrolysates of b-lactoglobulin: Analysis by LC-ESI-TOF/MS, *Food Chem.* **121** (2010) 457.

[7]S.C. Cheison, S.-B. Zhang, Z. Wang, S.-Y. Xu, Comparison of a modified spectrophotometric and the pH-stat methods for determination of the degree of hydrolysis of whey proteins hydrolysed in a tangential-flow filter membrane reactor, *Food Res Int* **42** (2009) 91.

[8]J. Adler-Nissen, Enzymic hydrolysis of food proteins, Elsevier Applied Science Publishers Ltd, Lon don, 1986, p. 427.

Einfluss einer thermischen Substratvorbehandlung auf die tryptische Hydrolyse von β-Lactoglobulin

Influence of heat-pretreatment on the tryptic hydrolysis of β-lactoglobulin

Elena Leeb, Seronei Cheison

Enzymatische Hydrolysen stellen eine geeignete Möglichkeit dar, eine Vielzahl an bio- sowie techno-funktionellen Peptiden aus Milchproteinen zu gewinnen. Durch die Eigenschaft hydrolytisch wirksamer Enzyme, nur spezifische Peptidbindungen in Abhängigkeit der angrenzenden Aminosäuren zu spalten, ist die Peptidzusammensetzung des Hydrolysats nach vollständiger Hydrolyse voraussagbar. So schneidet beispielsweise das Enzym Trypsin nur die C-terminalen Peptidbindungen der Aminosäuren Lysin (Lys) und Arginin (Arg). Bei der tryptischen Hydrolyse des Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-Lg) können insgesamt 18 Peptidbindungen durch das Enzym gespalten werden, so dass nach einer vollständigen Hydrolyse 19 unterschiedliche Peptide im Hydrolysat erwartet werden. Einem dieser Peptide, dem Fragment f(142-148), wurden bereits ACE-inhibitorische Eigenschaften nachgewiesen. Um dieses Peptid gezielt als biofunktionellen Zusatzstoff Lebensmittel zuzusetzen und die Produkteigenschaften durch die Vielzahl an anderen im Hydrolysat enthaltenen Peptide nicht negativ zu beeinflussen, ist meist eine aufwändige Fraktionierung des funktionellen Peptids aus dem Hydrolysat notwendig.

Ein neuer Lösungsansatz, den kostenaufwendigen Schritt der Aufreinigung zu umgehen, ist durch thermisch induzierte Änderungen in der Protein-Konformation die möglichen Schnittstellen für das Enzym und dadurch die Heterogenität des Hydrolysats einzuschränken. Durch geeignete Wahl der Denaturierungsbedingungen soll eine gezielte Konformationsänderung erfolgen, so dass die Zugänglichkeit des Enzyms zu gewünschten Schnittstellen bereits zu Beginn der Hydrolyse ermöglicht wird und somit erwünschte Peptide bereits nach kurzer Hydrolysedauer freigesetzt werden.

Daher wurde der Einfluss einer thermischen Substratvorbehandlung bei 80 °C in leicht basischem Milieu (pH 8) auf die Konformation des globulären Molkenproteins β-Lg und auf dessen anschließende tryptische Hydrolyse untersucht. Zur Charakterisierung des Hydrolysenverlaufs wurde der Hydrolysegrad (DH) verwendet, welcher den prozentualen Anteil der gespaltenen Peptidbindungen innerhalb des Substrats widerspiegelt.

Wird der Hydrolysenverlauf des nativen mit dem des denaturierten β-Lg verglichen, so sind sowohl Unterschiede im maximal erreichbaren Hydrolysegrad (DH_{max}) als auch im zeitlichen Abbau des Substrats erkennbar (Abb. 1).

Durch eine Denaturierung wurde der maximal mögliche DH von 12,3 % auf 10,4 % gesenkt und somit die Anzahl der gespaltenen Peptidbindungen innerhalb des Proteins reduziert.

Der Abbau des nativen sowie des denaturierten β-Lg erfolgte innerhalb der ersten 15 min der Hydrolyse.

Im weiteren Verlauf standen bereits gebildete Spaltprodukte dem Enzym als Substrat zur Verfügung.

Vergleicht man den Abbau des nicht-hydrolysierten β-Lg im nativen und denaturiertem Zustand innerhalb der ersten Minuten der Hydrolyse, so wird deutlich, dass Trypsin eine höhere Affinität zu dem denaturierten als zu dem nativen β-Lg aufweist. Aus Abb. 1 ergibt sich, dass durch eine Denaturierung die Anzahl an möglichen Schnittstellen für das Enzym reduziert, jedoch die Affinität des Enzyms zu dem noch intakten Protein verstärkt wird.

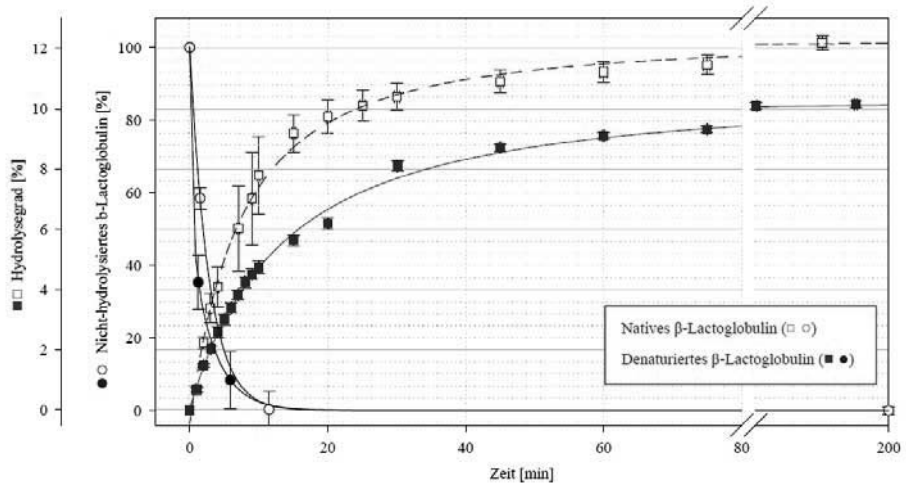


Abb. 1 Hydrolysegrad und Abbau von β-Lactoglobulin bei der tryptischen Hydrolyse des nativen als auch denaturierten β-Lactoglobulins in Abhängigkeit von der Hydrolysedauer

Die durch die thermische Denaturierung hervorgerufene Abweichung in den für das Enzym zugänglichen Schnittstellen spiegelt sich auch in den massenspektrometrischen Analysen der Hydrolysate wider. In der folgenden Tabelle sind die mittels MALDI-TOF-MS/MS identifizierten Schnittstellen des nativen sowie denaturierten β-Lg bei unterschiedlichen Hydrolysegraden dargestellt.

Tabelle 2: Identifizierte Schnittstellen der tryptischen Hydrolyse des nativen sowie denaturierten β-Lg bei DH 1 %, 5 % und DH_{max}

	Identifizierte Schnittstellen innerhalb des nativen β-Lg			Identifizierte Schnittstellen innerhalb des denaturierten β-Lg		
Trypsin spezifische Schnittstellen	DH 1 %	DH 5 %	DH_{max}	DH 1 %	DH 5 %	DH_{max}
Lys^{8}	●	●	●			
Lys^{14}	●	●	●		○	○
Arg^{40}	●	●	●	○	○	○
Lys^{47}		●	●			○
Lys^{60}	●	●	●		○	○
Lys^{69}	●	●	●	○	○	○
Lys^{70}	●	●	●	○	○	○
Lys^{75}		●	●			
Lys^{77}	●	●	●			○
Lys^{83}	●	●	●			○
Lys^{91}	●	●	●		○	○
Lys^{100}		●	●			○
Lys^{101}	●	●	●			
Arg^{124}		●	●		○	○
Lys^{135}	●	●	●			○
Lys^{138}			●			
Lys^{141}	●	●	●	○	○	○
Arg^{148}	●	●	●	○	○	○

Bereits zu Beginn der tryptischen Hydrolyse des nativen β-Lg wurden bei einem DH von 1 % 13 der möglichen Schnittstellen gespalten. Demnach weist Trypsin keine besondere Affinität zu einer der möglichen Schnittstellen innerhalb von β-Lg auf. Im weiteren Verlauf der Hydrolyse (DH 5 %) steigt die Anzahl der gespaltenen Peptidbindungen auf 17 bis bei DH_{max} alle möglichen Schnittstellen innerhalb des nativen Proteins gespalten wurden. Werden dagegen die identifizierten Schnittstellen des denaturierten β-Lg betrachtet, so konnte durch die thermische Denaturierung des Substrats eine Einschränkung der gespaltenen Schnittstellen erreicht werden. Bei DH 1 % wurden zunächst nur fünf Peptidbindungen durch das Enzym gespalten. Im weiteren Verlauf der Hydrolyse des denaturierten β-Lg wurden bei einem DH von 5 % neun und bei einem DH_{max} nur 14 der 18 möglichen Schnittstellen gespalten.

Folglich konnte durch die Denaturierung des β-Lg eine Umstrukturierung des Moleküls erreicht werden, so dass vier der möglichen Schnittstellen (Lys^{8}, Lys^{75}, Lys^{101}, Lys^{138}) nicht vom Enzym gespalten wurden. Dagegen waren durch die Konformationsänderungen bei einem DH von 1% nur vier Schnittstellen für das Enzym zugänglich. Dies ist von Bedeutung, wenn durch eine Einschränkung der möglichen Schnittstellen die Spaltung erwünschter Peptidbindungen gefördert wird. So konnte durch die Denaturierung des β-Lg die Spaltung der Peptidbindungen Lys^{141} und Arg^{148} bereits zu Beginn der Hydrolyse ermöglicht und dadurch das biofunktionelle Peptid f(142-148) erzeugt werden. Im Gegensatz zur Hydrolyse des unbehandelten β-Lg wurden zu diesem frühen Zeitpunkt der Hydrolyse nur wenig andere Peptide freigesetzt. Bei einem Abbruch der Hydrolyse zu diesem Zeitpunkt kann so die Heterogenität des Hydrolysats verringert und eine Separierung des funktionellen Peptids aus dem Hydrolysat erleichtert werden.

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 16541 N).

Dissertationen

Daimer, Katharina: Behandlung von Eigelb und dessen Fraktionen mit Phospholipase A2 - Veränderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Funktionalität in Emulsionen, 20. Juli 2010

Heidebach, Thomas: Microencapsulation of probiotic microorganisms by means of enzymatic gelation of milk proteins, 26. Juli 2010

Kreuß, Markus: Ion-exchange fractionation and structure-function relationship of caseinomacropeptide as a function of glycosylation, 19. April 2010

Kühnl, Wolfgang: Kolloidale Wechselwirkungen zwischen Proteinen im Zusammenspiel mit fluiddynamischen Kräften an der Grenzfläche von Filtrationsmembranen – gezeigt am Beispiel der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration, 21. Oktober 2010

Röck, Sonja: Untersuchung von Strukturbildungsreaktionen in komplexen Milchproteinsystemen - dargestellt am Beispiel von Schmelzkäse, 22. Juli 2010

Tilgner, Michaela: Thermische Reaktion von Eiklarproteinen: Denaturierungskinetik und Verschäumungsverhalten, 29. Juli 2010

Bachelorarbeiten

Bauer, Franziska: Einfluss der thermischen Behandlung auf den Lysinverlust in Säuglingsmilchnahrung

Bollwein, Bernadette: Einfluss der Prozessbedingungen auf die lipolytischen Eigenschaften von ESL-Milch

Eder, Daniel: Einfluss der enzymatischen Proteinquervernetzung mittels Transglutaminase auf die Eigenschaften von Speiseeis

Fröstl, Antonia: Lipid-Coating von Mikrokapseln mittels Emulsionstechnik

Höchstötter, Agnes: Quantifizierung des durch Transglutaminase gebildeten Isopeptids N^{ε} ($_{\gamma}$-Glutamyl) –L-Lysin mittels RP HPLC in Milch- und Fleischprodukten

Mittermaier, Simone: Bestimmung des Zustandsdiagramms eines Milchpulvers

Mäschle, Jana: Einfluss einer Transglutaminasebehandlung auf die Eigenschaften von Natriumcaseinat basierenden Schäumen

Moser, Wolfgang: Charakterisierung der Produktcharakteristika von hocherhitzter E(xetended) S(helf) L(ife) Milch

Pankhofer, Katrin: Quantifizierung des diffusiven Stoffdurchgangs von Casein durch keramische Membranen

Rechenmacher, Magdalena: Fraktionierung der Eigelbhauptbestandteile Granula und Plasma: Einfluss von Physikalisch-Chemischen und Strukturgebenden Faktoren auf den kontinuierlichen Trennprozess

Schacht, Judith: Einfluss und Zusammenspiel von Herstellverfahren sowie vor- und nachgelagerten Faktoren auf die Qualität und Stabilität von ESL-Milch

Schiebel, Veronika: Das Zustandsdiagramm als Stabilitätskriterium für die Gefriertrocknung von Zell-Zucker-Suspensionen

Schneider, Sybille: Einfluss des Fermentations-pH auf die Stabilität von Starter- und probiotischen Bakterienkulturen bei der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Schwing, Julia: Auswirkung von Hitzebehandlung, Homogenisierung und Lagerung auf die Stabilität von Glyokoproteinen in Buttermilch

Sonntag, Miriam: Optimierung der Reinigung von Sporensuspensionen zur Herstellung von biologischen Indikatoren für die Packstoffentkeimung

Stark, Christina: Einfluss von Milieubedingungen und enzymatischer Modifikation auf die Emulgiereigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma

Steiner, Barbara: Einfluss der Mikroverkapselung auf die antioxidative Kapazität von Heidelbeerextrakt

Stier, Simone: Auswirkung von Hitzebehandlung, Homogenisierung und Lagerung auf die Stabilität von Glyokoproteinen in Buttermilch

Still, Mona: Einfluss der Milieubedingungen auf das Freisetzungsverhalten und die Quellung von Transglutaminase induzierten Natriumcaseinat-Gelen

Strobl, Veronika: Einfluss von Transglutaminase-behandelten Milchproteinpulvern mit unterschiedlichen Casein-Molkenprotein-Verhältnissen auf die Eigenschaften von Magermilchjoghurten

Stucky, Anna: Einfluß der Vorerhitzungstemperatur von Packstoffproben auf die Inaktivierungswirkung von H_2O_2-Gas auf Sporen von *Bacillus subtilis*

Treml, Barbara: Einfluss der Erhitzungsbedingungen auf den Lysinverlust in Milchpulver am Beispiel von Babynahrung

Voit, Judith: Einfluss der Wasseraktivität und der Temperatur auf die molekulare Mobilität in Milchpulver

Volkheimer Lucia: Vergleich der Filtrationseigenschaften und –mechanismen von (1,4 µm) Standard- und Gradientenmembranen zur Entkeimungsfiltration von Milch

Warmuth, Nadine: Auswikrungen mikropartikulierter Molkenproteinfraktionen auf die Struktureigenschaften von Frischkäse und Magerquark

Werner, Simone: Einfluss der Kohlenstoffquelle im Fermentationsmedium auf die Trocknungsstabilität von Starter- und probiotischen Kulturen in der Niedertemeperatur-Vakuumtrocknung

Wicht, Theresa: Einfluss der Rohmilchqualität auf die Produkteigenschaften von mikrofiltrierter und/oder pasteurisierter Milch

Diplom- und Masterarbeiten

Brand Janina: Hydrolysis kinetics and MALDI-TOF MS/MS of bovine ß-lactoglobulin hydrolysates produced under alkaline pH.

Cornefert, Coline: Entwicklung und Optimierung von Laborverfahren zur Expression rekombinanter Proteine in der Hefe Pichia pastorislacotglobulin

Dinica, Elena-Juliana: Impact ogf heat-induced denaturation on trypic hydrolysis of ß-lactoglobulin

Dombrowski, Jannika: Mikroverkapselung biokativer Pflanzenstoffe mittels Emulsionsverfahren: Physikalische Charakterisierung und Coating der Kapseln

Hörmannsperger, Josef: Untersuchung des Quellungsverhaltens und der Permeabilität von Molkenproteinhydrogelen

Holzmüller, Wolfgang: Strukturelle Untersuchung von Caseinen während der Filtration

Jungwirth, Tanja: Einfluss der enzymatischen Proteinquervernetzung mit Transglutaminase auf die Lab-induzierte Gelbildung

Kaiser, Sophie: Wechselwirkung zwischen Schutzeffekten und Prozessbedingungen bei der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung verschiedener Lebensmittelrelevanter Bakterienkulturen

Mingyu, Lai: Hydrolysis of ß-Lactoglobulin by Trypsin under acid conditions and anaylsis of hydrolysates with MALDI-TOF

Rauh, Valentin: Methodischer Ansatz zur Charakterisierung der Dissoziationsprodukte von Caseinmicellen bei der Ultrahochdruckbehandlung

Sieck, Katharina: Einfluss von Milieubedingungen und enzymatischer Modifkation auf die emulsionsbildenden Eigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma

Steinhauer, Tim: Einfluss kolloidaler Wechselwirkungen auf Struktur und Eigenschaften von Kaseindeckschichten während Mikrofiltrationen

Würth, Rebecca: Charakterisierung der grenzflächenaktiven Eigenschaften sprühgetrockneter Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma: Einfluss von Milieubedingungen und enzymatischerModifikation auf den Trocknungsprozess

Vorträge

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Först, P.: In-situ determination of the physical state of starter cultures during freeze-drying, IDF Symposium on Microstructure of Dairy Products, Tromsö, Norwegen, 9.-11. Juni 2010

Bauer, S.A.W.: Low-temperature vacuum drying an alternative drying method for starter and probiotic cultures Storage stability of culture preparations in comparison, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AIF-FV Vakuumtrocknung, Freising-Weihenstephan, 12.10.2010

Bauer, S.A.W., Schneider, S., Kulozik, U., Först, P.: Influence of process conditions and fermentation pH on the drying result of starter and probiotic cultures in the low-temperature vacuum drying, 14th International Biotechnology Symposium, Rimini, Italien, 14.-18.09.2010

Bauer, S.A.W., Schneider, S., Kulozik, U., Först, P.: Einfluss der Prozessbedingungen und des Fermentations-pH auf das Trocknungsergebnis der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Starter- und probiotischen Bakterienkulturen, 28. DECHEMA-Jahrestagung der Biotechnologen, Aachen, 21.-23.09.2010

Betz, M., Kulozik, U.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP AP III & AP IV: Charakterisierung des entwickeltenVerkapselungssystems und Coating der Mikrokapseln, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/DFG Cluster: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Göttingen, 20./21. April 2010

Betz, M., Kulozik, U.: Whey protein based food-grade microparticles for targeted release application, 6th World Congress on Particle Technology, Nürnberg, 26.-29. April 2010

Betz, M., Kulozik, U.: Encapsulation and targeted delivery of bioactive compounds by means of whey protein-based microparticles. IDF Symposium on Microstructure of Dairy Products, Tromsö, Norwegen, 9.-11. Juni 2010

Betz, M.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP III & AP IV: Charakterisierung des entwickeltenVerkapselungssystems und Coating der Mikrokapseln, Doktorandentreffen im Rahmen des AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Wien, Österreich, 8./9. Juli 2010

Betz, M.: Mikrokapseln aus Molkenproteinen zum Schutz von bioaktiven Substanzen, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Betz, M.: Eigenschaften von Mikrokapseln aus Molkenproteinen und Auswirkungen der Verkapselung auf das Kernmaterial Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Betz, M., Dombrowksi, J.: AP III & AP IV: Charakterisierung des entwickelten Verkapselungssystems und Coating der Mikrokapseln, AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611, Bonn, 21./22.04.2010

Betz, M.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen, AP IV: Charakterisierung des entwickeltenVerkapselungssystems: Quellungsverhalten und Löslichkeit der Molkenproteingele, Doktorandentreffen im Rahmen des AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Halle, 18./19. November 2010

Cheison, S.: Sub-optimal is optimal: Influence of the sub-optimal temperature and pH on selective Trypsin susceptibility of betalactoglobulin in whey, 1st Kiel Food Science Symposium, Kiel, 18./19. Mai 2010

Cheison, S.: Enzyme Specificity Vs the Hydrolysis Environment: Possibilities for 'Peptide Design' in the Functional Food Industry, BIT`s Inaugural Symposium on Enzymes and Biocatalysis, Shanghai, China, 22.-24. April 2010

Cheison, S.: Value-addition to milk: new approaches in fractionation of milk proteins through membrane filtration and selective enzyme hydrolysis, Gastvortrag Egerton Universität, Kenia, 13.12. 2010

Först, P.: Development of a Low Temperature Vacuum Drying Method for the preparation of Starter Cultures with High Vitality, 3. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses – AIF-FV Vakuumtrocknung, Freising-Weihenstephan, 12.10.2010

Först, P.: *In-vivo* Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselten probiotischen Keimen, 1. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses AIF-FV 15616, Freising-Weihenstephan, 9.12.2010

Först, P.: Schutzeffekte und Freisetzungseigenschaften von Mikrokapseln auf Basis von Casein als Matrixmantel, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Gebhardt, R., Kulozik, U., Doster, W.: Discrete States of Casein Micelles (CM) Probed by High Pressure Light Scattering, 6th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2010), Freising

Gebhardt, R., Kühnl, W., Heidebach, T., Kulozik, U.: Grazing incidence small angle X-ray scattering: new applications in soft condensed matter, Science with X-ray nano-beams, ESRF, Grenoble, Frankreich,

Guyot, C., Kulozik, U.: Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt, IDF Symposium on Science and Technology of Fermented Milk, Tromsö, Norwegen, 7.-9.06.2010

Guyot, C., Kulozik, U.: Microstructural properties and controlled release behaviour of transglutaminase-induced milk protein gels, IDF Symposium on Microstructure of Milk Products, Tromsö, Norwegen, 9.-11.06.2010

Guyot, C.: Struktur und Controlled-Release-Eigenschaften von Transglutaminase-vernetzten Milchproteinen, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising-Weihenstephan, 28./29.10.2010

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Mikroverkapselung von Probiotika in Milchproteinen zum Schutz vor sauren pH-Werten im Magen, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17.03.2010

Heinrich, M., Kulozik, U.: Enzymatische Hydrolyse von κ-Casein unter hohem hydrostatischem Druck, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17.03.2010

Heinrich, M., Kulozik, U.: Effect of κ-casein hydrolysis on the reassociation behaviour of pressure-decomposed casein micelles, IDF Symposium on Microstructure of Milk Products, Tromsö, Norwegen, 9.-11.06.2010

Heinrich, M.: Casein-Mizellen als natürliches Trägersystem – Möglichkeiten zur Modifikation und gezielten Nutzung als Träger für funktionelle Lebensmittelinhaltsstoffe. Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Heinrich, M.: Hoher hydrostatischer Druck als Ansatzpunkt für neue Erkenntnisse zur Struktur von Casein-Micellen, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2010, Freising-Weihenstephan, 07./08. 10.2010

Heinrich, M., Kulozik, U.: Effect of k-casein hydrolysis on the reassociation behaviour of pressure decomposed casein micelles. 6t^{h} International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology (HPBB2010), Freising-Weihenstephan, 28.08.–01.09.2010

Kühnl, W.: Einfluss des Membranwiderstands auf die Fraktionierung von Proteinen – Folgerung zur Herstellung und Auswahl von keramischen MF-Membranen, Dechema Jahrestagung, Frankfurt/Main, 21.01.2010

Kühnl, W., Kulozik, U.: Neue Erkenntnisse zur Membrantrenntechnik in der Molkereitechnologie, Arbeitstagung der technischen Sachverständigen/Amtsingenieure, Beratungsingenieure und Architekten für das Molkereiwesen in Trier, 21.04.2010

Kühnl, W.: Colloid interactions between proteins and their interplay with fluid-dynamic forces at the interface of filtration membranes – shown in the example of the fractionaction of milk proteins by microfiltration, EFCE, 4th European Workshop on Food Engineering and Technology, Belgrad, 27.-28.05.2010

Kulozik, U.: Exploiting Protein Functionality in Dairy Systems – Basic Science and Applied Technologies, 42nd Nordic Dairy Congress, Hämeenlinna, Finnland, 17.06.-19.06.2010

Kulozik, U.: Funktionelle partikuläre Strukturen auf Basis von natürlichen Biopolymeren, 28. DECHEMA-Jahrestagung der Biotechnologen, ProcessNet Jahrestagung 2010, Aachen, 21.-23. September 2010

Kulozik, U.: The effects of processing of proteins on microencapsulation and texture of products: challenges and opportunities, 15th Danone Global Technology Symposium, Doordrecht, Niederlande, 11. März 2010

Kulozik, U.: Abtrennung von Mikroorganismen und Viren aus Lebensmitteln – Neue Ansätze und Parallelitäten zur Biotechnologie, FEI Kooperationsforum, Bonn, 27.04.2010

Kulozik, U.: Mechanismen der Strukturbildung zur Nutzung bei der Mikroverkapselung, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Kulozik, U.: Mikroverkapselung für Lebensmittel: Stoffliche Voraussetzungen, Anforderungen und Limitationen, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Kulozik, U., Heidebach, T.: Mikroverkapselung von lebenden Zellen für die "Immobilized Cell Technology" (ICT) in der Biotechnologie, Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Leeb, E., Kreuß, M.: Fraktionierung hochwertiger Proteinkomponenten mittels direct-capture Membran-Adsorptions-Chromatographie am Beispiel Caseinomacropeptid. 6. Doktorandenseminar „Präparative Chromatographie", Muggendorf, 21.–23. März 2010

Leeb, E., Heidebach, T., Kulozik U.: Novel methods for the microencapsulation of sensitive compounds by means of gelation of milk proteins, Intermediate Meeting Technology Platform Microencapsulation, Stuttgart, 16. Juni 2010

Leeb, E., Cheison, S., Kulozik U.: Gewinnung und Denaturierungsverhalten des Modellsubstrats β-Lactoglobulin; Tryptische Hydrolyse des nativen sowie denaturierten β-Lactoglobulin, AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF/FEI-FV 16541 N, Stuttgart-Hohenheim, 6.Oktober 2010

Leeb, E., Cheison, S., Kulozik U.: Neue Verfahren zur gezielten enzymatischen Hydrolyse von Proteinen, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2010, Freising-Weihenstephan, 7./8.10.2010

Santivarangka, C.: Vacuum Drying – Production of High Stability Probiotics, International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics-IPC2010, Kosice, Slovakia, 15.-17.06.2010

Schaupp, R., Hörmannsperger, G.: In-Vivo Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselten probiotischen Keimen, 1. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses AIF-FV 15616, Freising-Weihenstephan, 09.12.2010

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Foerst, P.: Kinetics of lysine blockage in an infant formula model system at conditions applicable to spray drying, 17th International Drying Symposium (IDS 2010), Magdeburg, 03.–06.10.2010

Schmitz, I., Kulozik, U., Foerst, P.: "Drying of sensitive products to drive nutrition, health and wellness" - Research topic: Minimizing losses of nutritionally valuable ingredients during drying of infant formula, Nestlé Research Center, Lausanne, Schweiz, 17.02.2010

Siegert, N., Kulozik, U.: Prozesseinflüsse auf die Stabilität sialinsäurehaltiger Milchglykoproteine, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17.03.2010

Siegert, N.: Einflüsse auf die Stabilität von physiologisch aktiven Glykoproteinen der Milch während der Verarbeitung, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2010, Freising-Weihenstephan, 7./8. Oktober 2010

Steinhauer, T., Kühnl, W., Kulozik, U.: Optimierung der Ultrafiltrationsleistung sowie Verbesserung der mikrobiologischen Qualität bei der Herstellung von WPC durch vorgeschaltete Mikrofiltration, 1. AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF 16300 N, Freising-Weihenstephan, 20. Juli 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung der Eigelbhauptbestandteile Granula und Plasma: Einfluss von physikalisch-chemischen und strukturgebenden Faktoren auf den kontinuierlichen Zentrifugationsprozess, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17. März 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Emulsifying properties of egg yolk plasma and granules influenced by environmental conditions, 13th Food Colloids 2010 "On the Road from Interfaces to Consumers", Granada, Spanien, 21.-24. März 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Influence of chemical and structural characteristics of egg yolk granula and plasma fraction on the continuous centrifugal separation process of liquid egg yolk, 6th World Congress on particle technology WCPT 6, Nürnberg, 26.-29. April 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Die Rolle von Protein-Protein und Protein-Material Wechselwirkungen in lebensmittelverfahrenstechnischen Prozessen und deren Bestimmung über oberflächenenergetische Methoden, KRÜSS Fachtagung zur Kontaktwinkelmessung und Schaumanalytik, Hamburg , 05./06. Oktober 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Carriersysteme aus natürlichen Rohstoffen am Beispiel der Granula- und Plasmafraktion aus Hühnereigelb, Technologieseminar Weihenstephan „Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising-Weihenstephan, 28./29. Oktober 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative concepts for food emulsifiers from natural resources: Influence of environmental conditions on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction, EFFoST, European Federation of Food Science and Technology Annual Meeting, Dublin, Irland, 10.-12. November 2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula, 2. AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF 16009 N, Freising-Weihenstephan, 25. November 2010

Toro Sierra, J., Kulozik, U.: Gezielte thermische Beeinflussung der Reaktivität von Proteinen in Milch: Ansätze zur Übertragung der Methoden auf die Brautechnologie, 43. Technologisches Seminar der Brautechnologie, Freising-Weihenstephan, 28.1.2010.

Toro Sierra, J., Cheison, S., Leeb, E., Kulozik, U.: Influence of the hydrolysis temperature and pH on the selective trypsin susceptibility of the proteins in whey, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17.03.2010

Toro Sierra, J., Kulozik, U.: Mikropartikulierung von Molkenproteinen und deren technologischer Einsatz, Arbeitstagung der technischen Sachverständigen/Amtsingenieure, Beratungsingenieure und Architekten für das Molkereiwesen, Trier, 20.-22.4.2010.

Toro Sierra, J.: Herstellung und funktionelle Eigenschaften von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen, AIF FV- 15834 N - Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses, Freising-Weihenstephan, 08.12.2010

Voswinkel, L.: Cyclodextrine und Lipocaline als Träger für hydrophobe Substanzen. Technologieseminar 2010 "Mikroverkapselung und Mikropartikulierung: Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden", Freising–Weihenstephan, 28./29.10.2010

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Fraktionierung von Proteinen aus Molke mit adsorptiven Membranen. 1. AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF 16540 N, Freising-Weihenstephan, 02. Dezember 2010

Posterpräsentationen

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Först, P.: In-situ determination of the physical state of biological samples during freeze-drying. 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8.-11. March 2010, Valletta, Malta.

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Först, P.: In-situ determination of the physical state of biological samples during freeze-drying by means of a microbalance. Conference on Freeze-Drying of Pharmaceuticals and Biologicals, September 28th – October 1st 2010, Garmisch-Partenkirchen, Germany.

Aschenbrenner, M.; Kulozik, U.; Foerst, P.: Non-destructive in-situ observation of glass transition during freeze-drying by means of a microbalance. 17th International Drying Symposium (IDS 2010), 3-6 October 2010, Magdeburg, Germany.

Bauer, S.A.W., Kulozik, U., Först, P.: Influence of process conditions and protectants on the survival and residual water content of starter and probiotic cultures in low-temperature vacuum drying, 17th International Drying Symposium, Magdeburg, 03.-06.10.2010

Betz, M., Heidebach, T., Kulozik, U.: Milk Protein Based Microparticles as Oral Delivery Systems for Bioactive Compounds. 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8.-11. März 2010, Valetta, Malta.

Betz, M., Kulozik, U.: Whey Protein Based Microparticles as Delivery Systems for Bioactive Compounds. 13th Food Colloids, 21.-24. März 2010, Granada, Spanien

Cheison, S., Leeb, E., Toro Sierra, J., Kulozik, U.: Influence of the hydrolysis temperature and pH on the selective trypsin susceptibility of the proteins in whey, DECHEMA-Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 15.-17.03.2010

Gebhardt, R., Toro Sierra, J., Kupfer, J., Müller-Buschbaum, P., Kulozik, U.: High pressure light scattering investigation of the association/dissociation behavior of b-Lactoglobulin, 6th International Conference on High Pressure Bioscience & Biotechnology HPBB 2010, Freising, 28.8.-1.9.2010

Guyot, C., Kulozik U.: Structural properties and controlled release behaviour of transglutaminase-induced milk protein gels. 15th World Congress of Food Science and Technology - IUFoST 2010, Kapstadt, Südafrika, 22.-26.08.2010

Heidebach, T., Kulozik, U.: Food protein based particles as delivery systems for bioactive substances, 6th World Congress on particle technology WCPT 6, Nürnberg, 26.-29. April 2010

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Enzymatic gelation for the microencapsulation of probiotics in milk protein matrices, 4th IDF Symposium on Science and Technology of Fermented Milk 2010 Tromsö, Norwegen

Heinrich, M., Osterroth, I., Lauber S., Kulozik U.: Caseinmicelles as natural nano-sized particles – Possible ways to achieve new insights in micellar structure and mechanisms of formation by high hydrostatic pressure, 6th World Congress on Particle Technology (WPCT6)

Kühnl, W., Steinhauer, T., Kulozik U.: Influence of protein interactions and transmembrane pressure on physical cake properties in microfiltration of skim milk, 6th World Congress on Particle Technology (WPCT6), Nürnberg, 26.-29.04.2010

Leeb, E., Cheison, S., Kulozik U.: Impact of heat pre-treatment on tryptic hydrolysis of β-lactoglobulin. 15th World Congress of Food Science and Technology - IUFoST 2010, Kapstadt, Südafrika, 22.-26.08.2010

Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative concepts for food emulsifiers from natural resources: Influence of environmental conditions on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction. EFFoST, European Federation of Food Science and Technology Annual Meeting, 10.-12. November 2010, Dublin, Irland

Toro Sierra, J., Kulozik, U., Tolkach, A.: Modelling of aggregates formation by thermally induced denaturation of ß-Lactoglobulin: effect of shear rate, 6th World Congress on Particle Technology (WPCT6), Nürnberg, 26.-29.04.2010.

Veröffentlichungen

Aschenbrenner, M.; Kulozik, U.; Foerst, P.: Non-destructive in-situ observation of glass transition during freeze-drying by means of a microbalance. In: Proceedings of the 17th International Drying Symposium (IDS 2010) Magdeburg, Germany, 3-6 October 2010, pp. 2194-2201

Aschenbrenner, M.; Kulozik, U.; Foerst, P.: In-situ determination of the physical state of biological samples during freeze-drying. Drying Technology, Vol. 29, Issue 4, pp. 1-11, 2010

Bauer, S.A.W., Schneider, S., Kulozik, U., Först , P.: Einfluss der Prozessbedingungen und des Fermentations-pH auf das Trocknungsergebnis der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Starter- und probiotischen Bakterienkulturen, Chemie Ingenieur Technik, Vol. 82, Issue 9, pp. 1496-1497, 2010

Bauer, S.A.W., Kulozik, U., Först , P.: Influence of process conditions and protectants on the survival and residual water content of starter and probiotic cultures in low-temperature vacuum drying, In: Proceedings of the 17th International Drying Symposium (IDS 2010) Magdeburg, Germany, 3-6 October 2010, pp. 2214-2220

Bauer, S.A.W., Schneider, S., Kulozik, U., Först , P.: Influence of process conditions and fermentation pH on the drying result of starter and probiotic cultures in the low-temperature vacuum drying, Journal of Biotechnology, Vol. 150, pp. 61-62, 2010

Betz, M., Heidebach, T., Kulozik, U.: Milk Protein Based Microparticles as Oral Delivery Systems for Bioactive Compounds, Proceedings of the 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8.-11. March 2010, Valletta, Malta

Betz, M., Kulozik, U.: Whey Protein Based Microparticles as Delivery Systems for Bioactive Compounds. In: Proceedings of 13th Food Colloids, 21.-24. March 2010, Granada, Spanien

Betz, M., Kulozik, U.: Whey protein based food-grade microparticles for targeted release application, Proceedings of the Sixth World Congress on Particle Technology, 26.-29. April 2010, Nürnberg, Germany

Betz, M., Heidebach, T., Kulozik, U.: Endstation Dickdarm- Neuartige Milchprotein-Mikrokapseln als Wirkstoffvehikel. Labor&More, 2, pp 4-77, 2010

Betz, M., Heidebach, T., Kulozik, U.: Targeting the gut- Novel milk protein-based microparticles as vehicles for bioactive ingredients, Labor&More, 1, pp. 34-37, 2010

Cheison S., Schmitt, M., Leeb, E., Letzel, T., Kulozik, U.: Influence of the temperature and the degree of hydrolysis on the peptide composition of trypsin hydrolysates of β-lactoglobulin: Analysis by ESI-TOF/MS. Food Chemistry 121(2): pp. 457-467, 2010

Cheison, S., Leeb, E., Toro Sierra, J., Kulozik, U.: Influence of hydrolysis temperature and pH on the selective hydrolysis of whey proteins by trypsin and potential recovery of native alpha-lactalbumin. International Dairy Journal, 21 (3), pp. 166-171, 2010

Cheison S., Lai, M., Leeb, E., Kulozik, U.: Hydrolysis of β-lactoglobulin by trypsin under acidic pH and analysis of the hydrolysates with MALDI–TOF–MS/MS, Food Chemistry 125(4), pp. 1241-1248, 2010

Daimer, K., Kulozik,U.: Impact of a thermal treatment at different pH on the adsorption behaviour of untreated and enzyme-modified egg yolk at the oil–water interface. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Vol. 75 (1), pp. 19-24, 2010.

Först, P., Reitmaier, J., Kulozik, U.: ^{1}H NMR investigation on the role of sorbitol for the survival of vacuum dried preparations of *L. paracasei* ssp. *paracasei.* J. Appl. Microbiology 108(3), pp. 841-850, 2010

Gebhardt, R., Pechkova E., Riekel, C., Nicolini, C.: In situ GISAXS: II. Thaumatin crystal growth kinetic, Biophysical Journal, 99, pp. 1262-1267, 2010

Gebhardt, R., Roth, S., Burghammer, M., Riekel, C., Tolkach, A., Kulozik, U., Müller-Buschbaum, P.: Structural changes of casein micelles in a rennin gradient film with simultaneous consideration of the film morphology, International Dairy Journal, 20, 3, pp. 203-211, 2010

Gebhardt, R., Burghammer, M., Riekel, C., Kulozik, U., Müller-Buschbaum, P.: Surface modification of casein films by rennet-enzyme action as probed with micro-beam Grazing Incidence Small Angle X-ray Scattering, Dairy Sci. Technol., 90, pp. 5-86, 2010

Gebhardt, R., Burghammer, M., Riekel, C., Kulozik, U., Müller-Buschbaum, P.: Investigation of surface modification of casein films by rennin enzyme action using micro-beam grazing incidence small angle X-ray scattering. J Dairy Sci Technol, 90, pp. 75-86, 2010

Guyot, C., Kulozik, U.: Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt, International Dairy Journal, online 5.November, 2010

Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U.: Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells, Journal of Food Engineering 98, pp. 309-316, 2010

Heinrich, M., Lauber S., Kulozik, U.: Caseinmicelles as natural nano-sized particles – Possible ways to achieve new insights in micellar structure and mechanisms of formation by high hydrostatic pressure, In: Proceedings of the Sixth World Congress on Particle Technology, 26.-29. April Nürnberg, 2010

Kühnl, W., Steinhauer, T., Kulozik, U.: Influence of protein interactions and transmembrane pressure on physical cake properties at the filtrations of skim milk. In: Proceedings of the Sixth World Congress on Particle Technology, 26.-29. April 2010, Nürnberg, Germany

Kühnl, W., Piry, A., Kaufmann, V., Grein, T., Ripperger, S., Kulozik, U.: Impact of colloidal interactions on the flux in crossflow microfiltration of milk at different pH: A surface energy approach. J Membrane Sci, 352(2), pp. 107-115, 2010

Pechkova, E., Gebhardt, R., Riekel, C., Nicolini, C.: In situ GISAXS: I. Experimental set up for submicron study of protein nucleation and growth, Biophysical Journal, 99, pp. 1256-1261, 2010

Ruderer, M. A., Körstgens, V., Metwalli, E., Al-Hussein, M., Vainio, U., Roth, S. V., Döhrmann, R., Gehrke, R., Gebhardt, R., Burghammer, M., Müller-Buschbaum, P.: Determination of the local gold contact morphology on a photoactive polymer film using nanobeam GISAXS, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 268, 3-4, pp. 403-410, 2010

Santivarangkna, C., Naumann, D., Kulozik, U., Först, P.: Protective Effects of Sorbitol during the Vacuum Drying of *Lactobacillus helveticus*: an FT-IR Study, Anal. Microbiol., 60, pp. 235-242, 2010

Santivarangkna, C., Kulozik, U., Foerst, P.: Storing Lactic Acid Bacteria: Current Methodologies and Physiological Implications, In *K. Papadimitriou and E. Tsakalidou (Eds.): Stress Response in Lactic Acid Bacteria*, Springer Publisher, 2010

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Foerst, P.: Kinetics of lysine blockage in an infant formula model system at conditions applicable to spray drying, Proceedings of the 17th International Drying Symposium (IDS 2010), 3.-6. Oktober 2010, Magdeburg, Germany, pp. 1458-1463

Strixner, T., Kulozik, U.: Influence of chemical and structural characteristics of egg yolk granula and plasma fraction on the continuous centrifugal separation process of liquid egg yolk. In: Proceedings of the Sixth World Congress on Particle Technology, 26.-29. April 2010, Nuremberg, Germany

Strixner, T., Kulozik, U.: Emulsifying properties of egg yolk plasma and granules influenced by environmental conditions. 13th Food Colloids 2010 "On the Road from Interfaces to Consumers", Book of Abstracts, 2010

Toro Sierra, J., Kulozik, U., Tolkach, A.: Modelling the effect of shear stress on the formation of ß-Lactoglobulin (ß-Lg) microparticles during heat treatment of whey protein solutions, In: Proceedings of the Sixth World Congress on Particle Technology, 26.-29. April 2010, Nuremberg, Germany

Zúñiga, R.N., Tolkach, A., Kulozik, U., Aguilera, J.M.: Kinetics of formation and physicochemical characterization of thermally-induced ß-lactoglobulin aggregates. J Food Sci, 75 (5), pp. 261-268, 2010

Zúñiga, R.N., Kulozik, U., Aguilera, J.M.: Ultrasonic generation of aerated gelatin gels stabilized by whey protein ß-lactoglobulin, Food Hydrocolloids, online available 27.09.2010

Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. 07./08. Oktober 2010 in Freising-Weihenstephan

Technologie-Seminar „Mikroverkapselung und Mikropartikulierung - - Native und neue Strukturen aus Proteinen und Polysacchariden -, Freising, 28./29. Oktober 2010

AIF-FV 15611 N „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen", Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 20./21. April 2010 in Bonn

AIF-FV 15611 N „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen", Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses (Doktorandentreffen) am 07./08. Juli 2010, in Wien

AiF-FV 15616 N „Entwicklung eines Niedertemperatur-Vakuumtrocknungsverfahrens zur Herstellung von Starterkulturen", Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 12. Oktober 2010 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 15834 N „Herstellung und funktionelle Eigenschaften von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen", Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 8. Dezember 2010 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16009 N „Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula", Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 25. November 2010 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16540 N „Fraktionierung von Proteinen aus Molke mit adsorptiven Membranen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 7. Dezember 2010 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16300 N „Optimierung der Ultrafiltrationsleistung sowie Verbesserung der hygienischen Qualität bei der Herstellung von Molkekonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration (MF)“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 20. Juli 2010 in Freising-Weihenstephan.

AIF-FV 16537 N „In-Vivo Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselter probiotischer Keime, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 9. Dezember 2010 in Freising-Weihenstephan

AIF FV 16541 N „Technologische Potenziale zur Fraktionierung von Milchproteinhydrolysaten, Sitzung des Projektbegleitenden Auschusses am 6. Oktober 2010 in Stuttgart-Hohenheim

Typprüfungen

Coldelite/Carpigiani, Bologna/Italien, Technische Begutachtung der Speiseeismaschine Pastomaster RTX/L als Milch-Dauererhitzer für die Herstellung von Speiseeis auf Rohmilchbasis im März 2010.

Exkursionen

2-Tages-Exkursion im Rahmen der Vorlesung Technologie der Milch- und Milchprodukte, Sachsenmilch AG, Dresden und Leppersdorf vom 15.-16. April 2010,

1-Tages-Exkursion im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik zur Fa. Roche, Penzberg am 19. Februar 2010

5-Tages Pfingstexkursion im Rahmen der Vorlesung Lebensmittelverfahrenstechnik zu Lebensmittelproduzierenden Betrieben, Aachen/Rheinland/Belgien vom 24.-28. Mai 2010

Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien

Folgende Gymnasien werden im Rahmen des TUM – Programms „Partnerschaft Schule“ betreut:

Dom-Gymnasium, Freising	OStD Manfred Röder
Staatliches Gymnasium, München-Moosach	StD René Horak
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.

- 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 Beirat des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V.
- Mitglied im Technologieausschuss des Verbandes Deutscher Marktmolkereien (VDM)
- Geschäftsführer des Departments für Ingenieurwissenschaften für Lebensmittel und biogene Rohstoffe (bis Oktober 2010)
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet (DECHEMA, VDI) Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der AiF e.V., Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen "Otto von Guericke" e.V.
- Prodekan der Fakultät des Wissenschaftszentrums Weihenstephan der TU München

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

Verbesserter Qualitätserhalt von Käseschnittflächen in optimierten transparenten Verpackungen

Erweiterte Produktsicherheit durch antimikrobielle Verpackung

Carolin Hauser, Lisa Frenzel

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik TUM und Fraunhofer IVV

1 Problemstellung

Käse wird vor allem portioniert in Form von Stücken, Abschnitten oder Scheiben vom Konsumenten sehr geschätzt. Dazu sollten Käsestücke attraktiv verpackt und im Handel gut sichtbar präsentiert werden, was sich nur mit transparenten Verpackungsfolien realisieren lässt. Mikrobiell bedingte Qualitätsverluste und Sicherheitseinbußen bei Käseschnittflächen können durch folgende Wege verursacht werden:

1) Kreuzkontaminationen von Oberflächen durch Schneidewerkzeuge
2) Kontaminationen über menschlichen Hautkontakt durch Schneiden oder Einlegen in Trays
3) Eintrag von Keimen oder Sporen über den Luftweg

Ziel unseres Projekts war, Kontaminationsrisiken durch Verpacken der Käsestücke in antimikrobiell aktiven Folien zu vermeiden. Diese Folien sollen zum Erhalt der Qualität und Sicherheit des Käses beitragen und dennoch eine transparente Präsentation der Schnittfläche erlauben.

Verschiedenste Arten von antimikrobiellen Verpackungen wurden bereits entwickelt und erforscht. Eine Übersicht darüber findet sich bei Appendini & Hotchkiss [1] und Joerger [2]. Einige dieser Verpackungsausrüstungen sind aber für den deutschen bzw. europäischen Markt lebensmittelrechtlich bedenklich bzw. nicht zugelassen. Eine aktive Folie mit dem zugelassenen Konservierungsstoff Sorbinsäure wurde jedoch am Fraunhofer IVV entwickelt, welche für diese Anwendung optimal erscheint [3, 4].

Sorbinsäure ist als konventioneller Konservierungsstoff in der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung (ZZulV) [5] geregelt. Nach § 5 Abs. 1 i.V.m. Anl. 5 Teil A Liste 2 ZZulV ist dieser Konservierungsstoff für abgepackten und geschnittenen Käse und nicht reifenden Käse bis zu einer Höchstmenge von 1000 mg/kg, für Schmelzkäse sogar bis 2000 mg/kg zugelassen. Somit darf dieser antimikrobiell wirkende Stoff für aktive Verpackungsmaterialien nach der EG-Verordnung VO (EG) 450/2009 über aktive und intelligente Verpackungen [6] verwendet werden.

2 Projektziel

Antimikrobiell aktive Folien für den Qualitätserhalt von Käseoberflächen sollten im Labormaßstab hergestellt und an verschiedenen Beispielen von Käsescheiben getestet werden. So sollte auf einer transparenten Basisfolie eine aktive Schicht so aufgebracht werden, dass sie geringfügig den für Käse zugelassenen Konservierungsstoff Sorbinsäure an die Schnittfläche abgibt und damit das Mikroorganismenwachstum dort unterbindet, wo sie direkt anliegt. Die maximal migrierende Menge an Sorbinsäure liegt dabei unter 20 mg/dm² und soll so insgesamt den Käse mit mindestens einem Zehntel weniger Sorbinsäure versorgen, als es für die Käseproduktion ohnehin zugelassen oder vorgesehen ist.

3 Lösungsweg

Für die Anwendung antimikrobieller Folien sollten Schnittkäsescheiben (z.B. Gouda) eingesetzt werden.

Zunächst sollte auf eine geeignete Basisfolie produktseitig eine antimikrobiell aktive Lackschicht aufgebracht werden. Dafür eignet sich Polyvinylacetat als Lackgrundstoff, ein für die Verwendung im Lebensmittelbereich zugelassener Stoff, der nach Vorversuchen auch siegelbar ist. Als Konservierungsstoff wird Sorbinsäure in geeigneter Konzentration in den flüssigen Lack eingebracht. Der Lack wird im Labormaßstab hergestellt, mittels Handrakelversuchen in dünnen Schichten auf die Basisfolie aufgetragen und anschließend getrocknet. In der Anwendung diffundiert die Sorbinsäure nach einem Releasemechanismus auf anliegende Lebensmittelschichten. Die auf die Käseschnittfläche maximal übergehende Konzentration sollte unter der für Käse zulässigen Konzentration liegen.

Auswahl der Mikroorganismen

Als beispielhafte Vertreter für die zuvor beschriebenen Kontaminationswege wurden folgende Mikroorganismen ausgewählt:

1) Aufgrund der aktuellen Problematik mit *Listeria monocytogenes* wurde dieser Keim als möglicher Kreuzkontaminant aus beispielsweise Rotschmierekäse durch Schneidewerkzeuge etc. gewählt

2) Als klassischer Vertreter für eine Kontamination durch Hautkontakt kann der Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen *Escherichia coli* oder verschiedene Hefen wie beispielsweise *Saccharomyces cerevisiae* herangezogen werden

3) Sporen von Edelschimmel wie *Penicillium roqueforti* können durch Kreuzkontamination oder auch über den Luftweg auf schimmelfreie Käsesorten gelangen

Um die prinzipielle Wirksamkeit der Folie gegen die vorgesehenen Testkeime nachzuweisen, wurde als standardisierter Testmethode der Japanische Industriestandard Test JIS Z 2801:2000 [7] angewendet.

Durchführung der Untersuchungen am Käse

Die Käseoberflächen wurden durch wässrige Suspensionen der jeweiligen Testkeime inokuliert.

Für Lagertests wurden die Käseschnittflächen anschließend mit anliegenden Folien überzogen und in klimatisierten Lagerräumen gelagert. Aktive und nicht aktive Folien wurden stets in Parallelversuchen geprüft. Die Beurteilung der Qualität des Käses erfolgte durch die quantitative Keimzahlbestimmung des jeweiligen Testkeims auf den Keimarten angepassten selektiven Nährböden.

4 Ergebnisse

Wirksamkeit der aktiven Folien gegen die ausgewählten Testkeime

Um die prinzipielle Wirksamkeit der antimikrobiellen Folien, welche für den Lagerversuch der inokulierten Käsescheiben verwendet werden sollten, zu überprüfen, wurden diese gemäß den Vorschriften des JIS Z 2801:2000 [7] behandelt. Folienausschnitte wurden mit mindestens $1 * 10^5$ koloniebildenden Einheiten (KbE) pro Folienstück des jeweiligen Testkeims beimpft und 24 h bei der keimspezifischen Wachstumstemperatur bebrütet. Parallel dazu wurde eine unwirksame Referenz auf die gleiche Weise behandelt. Eine Keimzahlbestimmung nach der Inkubationszeit gibt die Anzahl der überlebenden Keime an.

Die aktive Verpackungsfolie erzielte bei allen Testkeimen die maximale Wirkung. Die logarithmische Keimreduktion betrug bei *Saccharomyces cerevisiae* 5,4, bei *Penicillium roqueforti* 5,3, bei *E. coli* 6,5 und bei *Listeria monocytogenes* 5,6 im Vergleich zur Referenz (siehe Abb. 1).

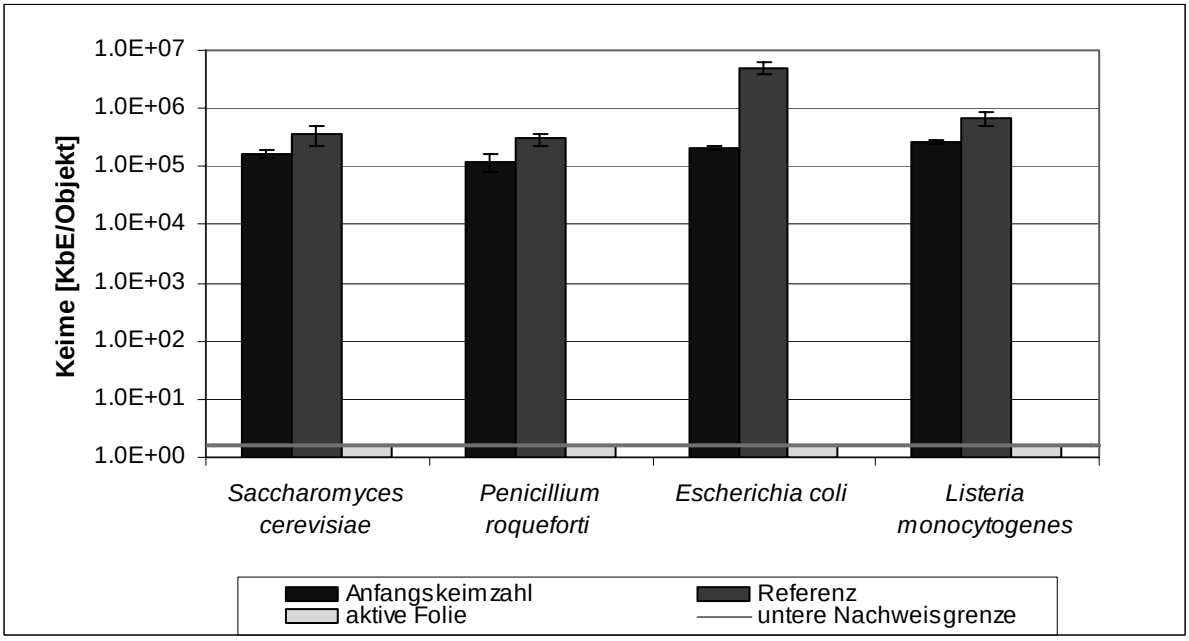


Abb. 1: Antimikrobielle Wirksamkeit der aktiven Verpackungsfolie und einer Referenzfolie gegen verschiede Testkeime nach JIS Z 2801:2000 [8]

Durchführung der Untersuchungen am Käse

Um die Wirksamkeit der aktiven Folie direkt an Käsescheiben zu testen, wurden diese mit einer Keimsuspension des jeweiligen Testkeimes durch Ausspateln von ca. 10^3 KbE/cm² beimpft, anschließend mit der aktiven Folie bedeckt und bei 8 °C im Kühlraum gelagert. Parallel dazu wurden verkeimte Käsestücke mit einer inaktiven Referenzfolie bedeckt bzw. ohne Folie gelagert. Pro Untersuchungstag und Folienart wurden jeweils drei Einzelproben angesetzt.

Die Lagerdauer der Proben betrug 4 Wochen. Anschließend wurde eine Keimzahlbestimmung des jeweiligen Testkeims in Anlehnung an die amtliche Sammlung der Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB durchgeführt. Wie aus Abb. 2 erkennbar wird, kommt es bei jedem Testkeim nach 4 Wochen Lagerung zu einer deutlichen Reduktion der Keimzahl gegenüber der unwirksamen Referenz um mindestens eine Zehnerpotenz. Auch eine Reduktion gegenüber der Anfangskeimzahl um wiederum mindestens eine Zehnerpotenz ist bei allen Keimen außer bei dem Edelschimmel *Penicillium roqueforti* erkennbar. Hier entspricht die Keimzahl auf dem Käse, der 4 Wochen mit der aktiven Folie bedeckt war, in etwa dem Wert der Anfangskeimzahl. Im Gegensatz zu den anderen, vegetativen Testkeimen wurde bei *Penicillium roqueforti* der Käse mit Sporen dieses Schimmelpilzes beimpft. Nur bei dem Käse, der mit der Referenzfolie bedeckt war, konnten diese auskeimen und sich anschließend vermehren.

Die aktive Folie mit Sorbinsäure hinderte folglich entweder die Sporen am Auskeimen, oder die Sporen konnten anfangs auskeimen, sich vermehren, wurden aber anschließend von der migrierenden Sorbinsäure abgetötet. Die schwache Wirksamkeit der Sorbinsäure gegenüber Penicillium-Arten wurde in der Literatur schon häufiger beschrieben. Verantwortlich hierfür ist die Fähigkeit von einigen Penicillium-Arten, Sorbinsäure zu verstoffwechseln [9] und durch Decarboxylierung der Säure unwirksam zu machen [10, 11].

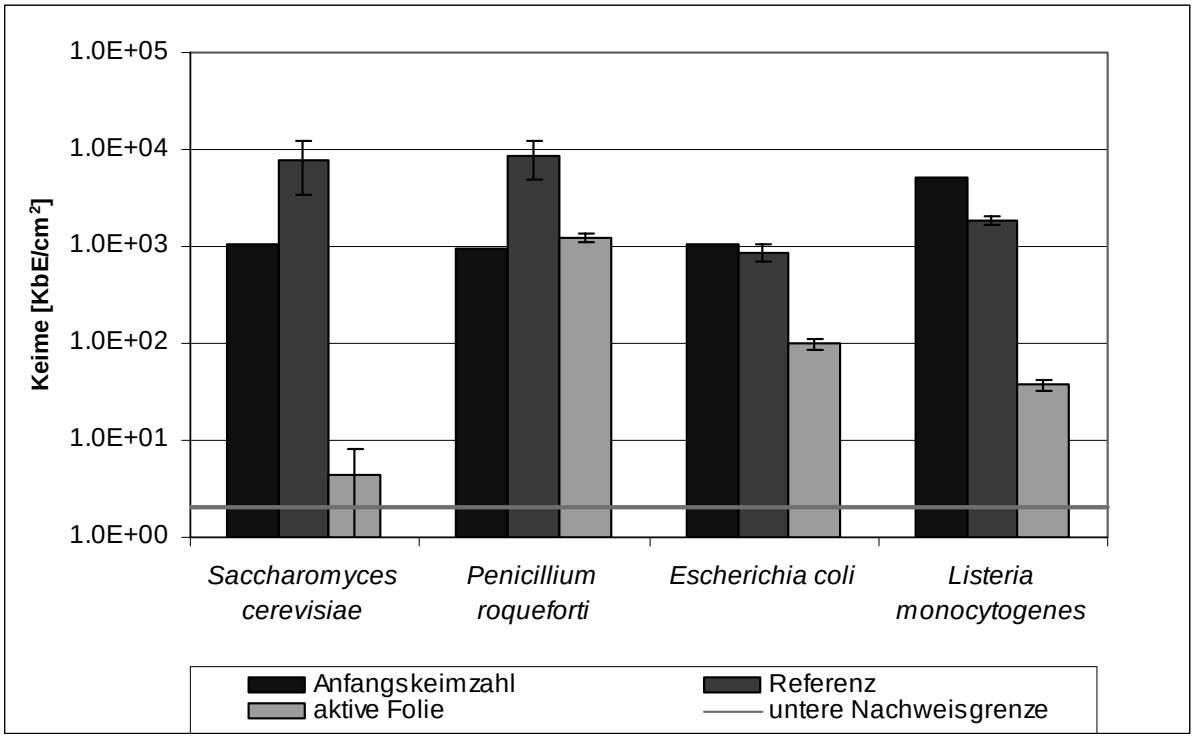


Abb. 2: Antimikrobielle Wirksamkeit der aktiven Folien und der inaktiven Referenz auf inokulierten Käsescheiben nach 28 Tagen Lagerung bei 8 °C gegen verschieden Testkeime [8].

Für den Testkeim *E. coli* wurde zusätzlich die Keimzahl an sieben Untersuchungstagen während des Lagerungszeitraumes bestimmt, so dass die Wachstumsentwicklung zeitlich nachvollziehbar aufgenommen werden konnte (siehe Abb. 3). Hier ist eine deutliche Reduktion ab der zweiten Woche mit fortschreitender Lagerungsdauer im Vergleich zur Referenz und zur Anfangskeimzahl erkennbar. Diese liegt nach vier Wochen bei ca. einer Zehnerpotenz.

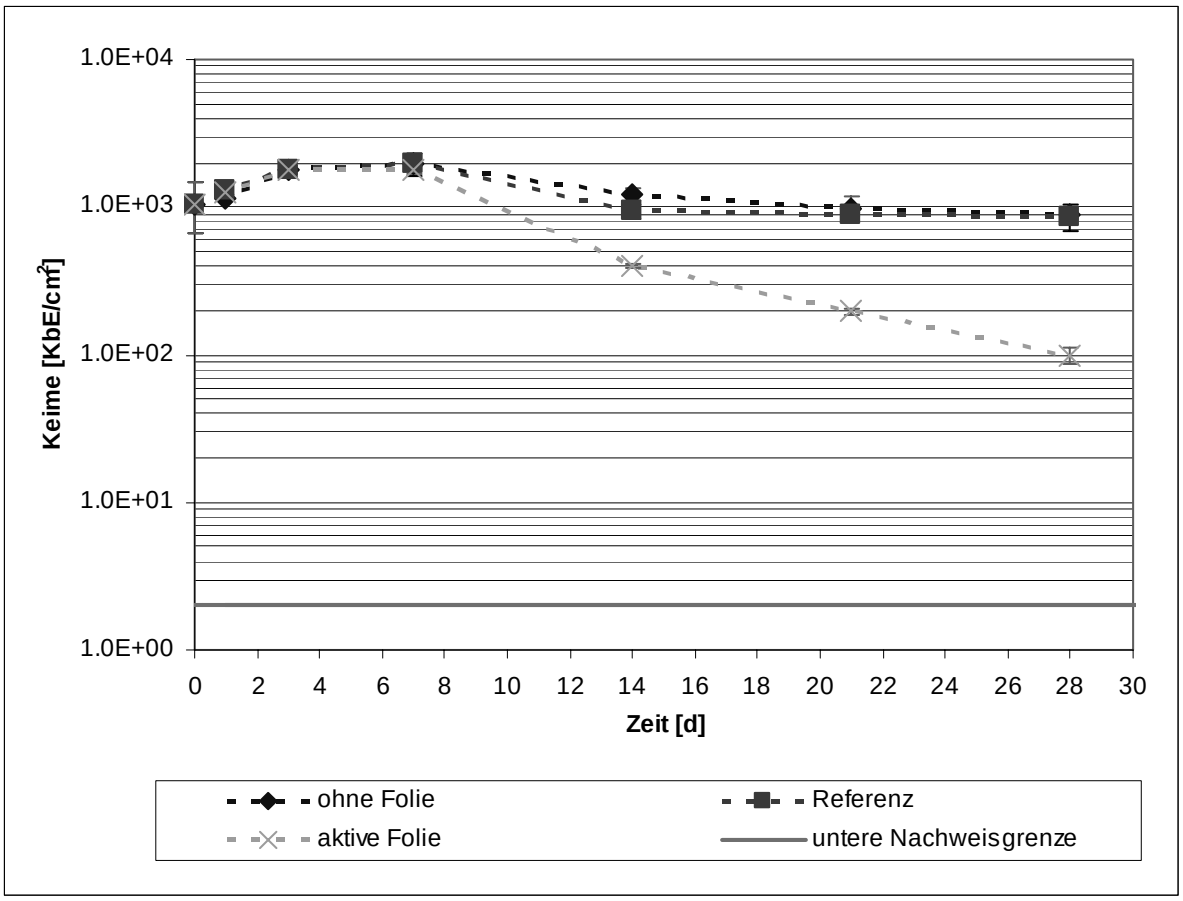


Abb. 3: Wachstumsverlauf von *E. coli* auf beimpften Käsescheiben ohne Folie, mit aktiver Folie und inaktiver Referenzfolie bedeckt in einem Lagerungszeitraum von vier Wochen bei einer Temperatur von 8 °C [8].

5 Schlussfolgerungen

Die vorgestellten antimikrobiell aktiven Folien wirken effektiv gegen verschiedene Bakterienarten, Hefen und Schimmelpilze. Sie können das Anwachsen von vegetativen Keimen wie *E. coli*, *Listeria monocytogenes* und Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae* auf Käsescheiben verhindern bzw. reduzieren. Außerdem lässt sich das Auskeimen von Schimmelsporen des Testkeims *Penicillium roqueforti* auf der Schnittfläche in einem Zeitraum von 4 Wochen unterbinden.

6 Literatur

1. Appendini, P. and J.H. Hotchkiss, *Review of antimicrobial food packaging.* Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2002. **3**(2): p. 113-126.
2. Joerger, R.D., *Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness.* Packaging Technology and Science, 2007. **20**(4): p. 231-273.
3. Kensbock, E., D. Sandmeier, *Entwicklung antimikrobiell aktiver Folien zur Lebensmittelverpackung*, in *Biologisch-Pharmazeutische Fakultät*. 2005, Friedrich-Schiller-Universität Jena: Jena.
4. Sandmeier, D., *Entwicklung antimikrobiell aktiver Verpackungsfolien für den Lebensmittelbereich*, in *Jahresbericht der Milchwissenschaftl. Forschung Weihenstephan*. 2006, TU München.
5. *Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken*. 1998. Zuletzt geändert durch Art. 1 der Verordnung vom 21. Mai 2010.
6. *Verordnung über aktive und intelligente Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen*. 2009.
7. Japanese Standards Association, *Antimicrobial Products - Test for antimicrobial activity and efficacy JIS Z 2801:2000*. 2000.
8. Fraunhofer IVV, *eigene Ergebnisse*. 2010.
9. Finol, M.L., E.H. Marth, and R.C. Lindsay, *Depletion of Sorbate from Different Media during Growth of Penicillium Species.* Journal of Food Protection, 1982. **45**(5): p. 398-404.
10. Kinderlerer, J.L. and P.V. Hatton, *Fungal metabolites of sorbic acid.* Food Addit Contam, 1990. **7**(5): p. 657-69.
11. Belitz, H., W. Grosch, and P. Schieberle, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 2001: Springer.

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, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

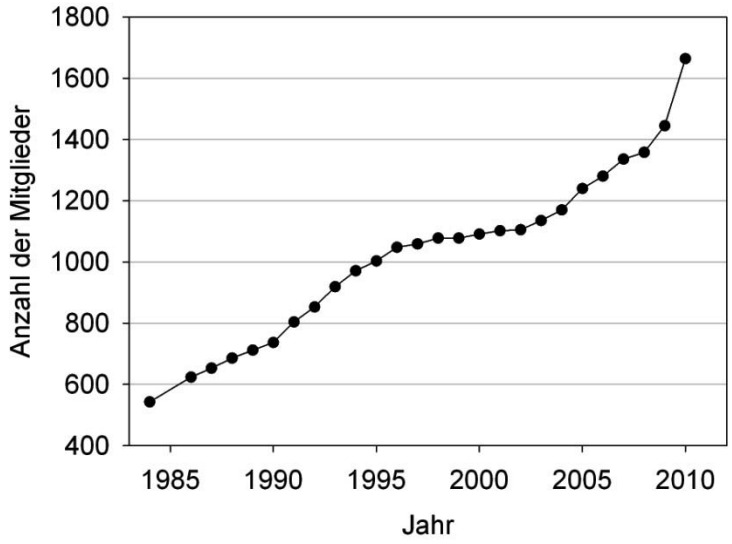
Geschäftsführung:
Michael Betz, Thomas Strixner
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3855 -2507
Telefax: 08161-71-4384
Email: wmbl@wzw.tum.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Struktur des Verbandes

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist ein seit über 100 Jahren stetig wachsender unabhängiger Berufsverband für die Lebensmittel- und Bioprozesstechnikbranche mit derzeit 1664 Mitgliedern (Stand 31.12.2010). Im Geschäftsjahr 2010 traten 219 Neumitglieder dem Verband bei.



Entwicklung der Mitgliederzahl des Verbandes in den letzten 25 Jahren

Der Verband setzt sich im Wesentlichen zur Hälfte aus studentischen Mitgliedern verschiedener Fachrichtungen (Lebensmitteltechnologie, Bioprozesstechnik, Brauwesen, Biotechnologie Ernährungswissenschaft etc.) und Mitgliedern unterschiedlicher Industriezweige der Nahrungsmittel- und Pharmaindustrie zusammen. Der Mitgliedsbeitrag umfasst 20 Euro pro Jahr.

Zielsetzungen des Verbandes

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. dient der Förderung und Unterstützung seiner studentischen Mitglieder und versteht sich als Netzwerk- und Kontaktplattform zum Informationsaustausch zwischen Universität und Industrie.

Der Verband bietet seinen Mitgliedern:

1. Finanzielle Unterstützung bei Fachexkursionen
- a. Bezuschussung privat organisierter Exkursionen zu Messen, Tagungen o.ä.
- b. Bezuschussung universitärer Exkursionen

2. Hilfe bei der Suche nach Praktika und Arbeitsstellen
- a. z.B. studienbegleitende Industriepraktika
- b. Vermittlung von Stellenangeboten und -gesuchen

3. Preise für herausragende wissenschaftlichen Arbeiten
- a. Semester, Bachelor: 500 Euro
- b. Master, Diplom: 1000 Euro
- c. Doktorarbeiten: 2000 Euro

4. Eine Netzwerk-Plattform
- a. Über 1600 Mitglieder (studiengangübergreifend)
- b. Ein jährlich erscheinendes Mitgliederverzeichnis
- c. Jährliches Ehemaligentreffen

5. Informationsaustausch zwischen Industrie und Universität
- a. Wissenschaftlicher Jahresbericht über aktuelle Forschungsthemen
- b. Regelmäßig erscheinende Email-Nachrichten zum Campus Weihenstephan
- c. Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung mit Fachvorträgen, Mitgliederversammlung und Käsebuffet (Ehemaligentreffen)
- d. Einladung zu Weihenstephaner Tagungen, Veranstaltungen und Messen

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:
Vorstandssitzung am 18.03.2010
Vorstandssitzung am 06.10.2010
Mitgliederversammlung am 07.10.2010

Exkursionen:
15.04.-16.04. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 21 Studenten nach Leppersdorf.

17.05.-20.05. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 25 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Niederbayern.

24.05.-28.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 37 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Aachen.

24.05.-28.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Verfahrenstechnik disperser Systeme (komm. Ltg. Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 35 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Bad Reichenhall, Berchtesgaden und Salzburg.

25.05.-28.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 28 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Innsbruck und Südtirol.

26.10.-29.10. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 14 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Österreich.

Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2010 auch 2 eigeninitiativ organisierte Exkursionen studentischer Mitglieder bezuschusst. Informationen zur Förderung sowie der Förderantrag finden sich auf der Homepage des Verbandes.

Ehrungen anlässlich des Hochschultages und der Milchwirtschaftlichen Herbsttagung

Preise für herausragende wissenschaftliche Arbeiten
Zum dritten Mal in Folge wurden in diesem Jahr zusätzlich zum Preis für „herausragende Diplom-/Masterarbeiten“ Preise für die beste Bachelorarbeit und die beste Doktorarbeit verliehen.

Der mit 500 € dotierte Preis für die beste Semester-/Bachelorarbeit wurde in diesem Jahr an *Frau Magdalena Rechenmacher* aus Traunstein für Ihre mit der Note 1,0 bewertete Semesterarbeit zum Thema „Fraktionierung der Eigelbhauptbestandteile Granula und Plasma: Einfluss von physikalisch-chemischen und strukturgebenden Faktoren auf den kontinuierlichen Trennprozess“.

Der zum 15. Mal in Folge ausgeschriebene Preis des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. für die beste Diplom-/Masterarbeit, der mit 1000 € dotiert ist, wurde anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung am 07. Oktober 2010 an *Herrn Dipl.-Ing. Tim Steinhauer* aus Bad Kreuznach verliehen. In seiner Arbeit (Note 1,0) beschäftigte er sich mit dem „Einfluss kolloidaler Wechselwirkungen auf Caseindeckschichteigenschaften“.

Den Preis für herausragende Doktorarbeiten (2000 €) erhielt *Herr Dr.-Ing. Thomas Heidebach* aus München. Er schloss seine Dissertation mit dem Titel „Microencapsulation of probiotic microorganisms by means of enzymatic gelation of milk proteins“ 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 milchwirtschaftlichen, bio- und lebensmitteltechnologischen Forschung in Weihenstephan engagieren.

Ehrung langjähriger Verbandsmitglieder
Neben den studentischen Preisträgern werden bereits seit vielen Jahren langjährige Mitglieder des Verbandes im Rahmen der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung geehrt.

In diesem Jahr konnte Herrn Urs Strebel zu seiner 40-jährigen Mitgliedschaft und Herrn Friedrich Kink, Herrn Hans Evers, Herrn Alfred Steimer, Herrn Johann Moosleitner, Herrn Alfons Peter, Herrn Josef Anton Meggle, Herrn Karl-Heinrich Haisch, Herrn Ludwig Stölzle, Herrn Fritz Ziegler, Herrn Ewald Schuler, Herrn Ernst Wagner, Herrn Hermann Jäger, Herrn Heinz-Karl Wölls und Herrn Dieter Junk. zu ihrer 50jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden. Herrn Heinz-Jürgen Hofmann, Herrn Georg Niedernhuber, Herrn Reinhold Eberhard, Frau Luise Jauch und Herrn Paul Wildgruber konnte zu ihrer 60jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Professor Langowski überreichte den anwesenden Jubilaren einen Milchkrug mit der Aufschrift: „Zur Erinnerung an Weihenstephan“.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-, Bachelor- , Diplom-, Master sowie Doktorarbeiten von Verbandsmitgliedern

Präambel

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1600 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 Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. sein.
- Es muss sich um eine herausragende Arbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtnote handeln.
- Die Arbeit muss thematisch aus einem milchwirtschaftlichen, bio- oder lebensmitteltechnologischen Forschungsbereich kommen.

Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular (erhältlich unter www.verband-weihenstephan.de) bei der Geschäftsstelle des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- 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 die Semester-/Bachelorarbeit wird am Weihenstephaner Hochschultag verliehen. Die Preise für Diplom-/Master- und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Verbandsvorstand 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 finden sich auf der Homepage des Verbandes oder 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
Mail: foerderverein.weihenstephan@t-online.de

Vorstand

1. Vorsitzender	Prof. Dr. Jakob Stöckl (bis 7. Oktober 2010)
Stellvertr. Vorsitzender	**Dr. Hans Schraml (ab 7. Oktober 2010 1. Vorsitzender)**
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:

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
„Verbesserter Qualitätserhalt von Käseschnittflächen in optimierten transparenten Verpackungen (Fortsetzung)“

Abteilung Mikrobiologie
„Bedeutung psychrotoleranter Bakterien in Rohmilch“

Abteilung Physiologie
„Untersuchung des Einflusses einer Energie Restriktion auf die Sekretion von antimikrobiell wirksamen Proteinen in der Milch“

Abteilung Technologie
„Verbesserung der analytischen Infrastruktur durch Erwerb eines Mehrphasen-Partikelgrößenmessgerätes“

Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnology
„Pre-work for a DFG proposal for trypsin hydrolysis kinetics of bovine α-lactalbumin”

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 jährlich 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	158
2.	Berglandmilch eGen, Österreich	164
3.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	157
4.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	161
5.	GKC Dr. Öttl & Partner GmbH, Eching/Kronwinkl, Ndb.	165
6.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	162
7.	GQM mbH, Landshut	156
8.	Hofmeister Champignon Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	159
9.	Hochland AG, Heimenkirch	162
10.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	156
11.	Milchwerke Schwaben eG, Ulm	160
12.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	160
13.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	163
14.	Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	159

GQM

GQM Software Organisation Managementsysteme

GQSYSTEMS

SAP® Member
Extended Business Program

GQM - MES

Lösungen für:
Produktionsplanung
Bestandsführung
Technisches Controlling
Rezepturmanagement
Produktentwicklung
LIMS
Wartung u. Instandhaltung
Chargenverfolgung
Reklamationsmanagement
Dokumentenmanagement
Lagerverwaltungssystem
Kommissionierung

QUALIFAX®

GQM mbH • GQSYSTEMS GmbH
Innere Münchener Str. 10
84036 Landshut

Tel.: 0871/924 00-0 Fax: 0871/ 924 00-11
info@gqm.de • info@gqsystems.de
www.GQM.de • www.GQSYSTEMS.de

Der Milchindustrie-Verband e.V. (MIV) ist der Spitzenverband der deutschen Milchindustrie

MIV MILCH INDUSTRIE VERBAND

- Er vertritt über 100 Unternehmen.
- 95 % der deutschen Milchanlieferung oder 26 Mio. t Milch und 100 % des Exportvolumens werden von MIV-Mitgliedern erbracht.
- Mit rund 20 Milliarden Euro Jahresumsatz ist die Milchindustrie der größte Bereich der deutschen Ernährungsbranche.
- Er ist Interessenvertreter und Dienstleister auf regionaler, nationaler, europäischer und internationaler Ebene.

Tätigkeitsfelder sind u.a. neben Agrarpolitik, Marktordnung und Wirtschaft, rechtliche Fragestellungen, Wissenschaft, Forschung und Qualität, auch Sozial- und Tarifpolitik sowie Außenhandel, Umwelt oder Logistik.

Der MIV fördert Forschung und Wissenschaft:

- MIV-Kompetenznetzwerk-Milch: Milchindustrie und Wissenschaft als Partner
- Wissenschaftlicher Beirat des MIV mit Experten der Natur-, Rechts- und Wirtschaftswissenschaft
- MIV-Ideenbörse Forschung: Generierung praxisnaher Forschungsideen
- MIV-Arbeitsgruppe Forschung: Initiierung, Prüfung und Koordinierung von milchspezifischen Projekten der Gemeinschaftsforschung, die Milchindustrie ist die forschungsintensivste Lebensmittelbranche
- Jährliche Vergabe des Milch-Wissenschaftlichen Innovationspreises

Milchwissenschaft und –forschung: eine Chance für Milchindustrie und Wissenschaft

Milchindustrie-Verband e.V. | Jägerstraße 51 | 10117 Berlin
Ansprechpartnerin Wissenschaft: Dr. Gisela Runge
Tel.: +49 30 4030445-19 | Fax: +49 30 4030445-57 | E-Mail: runge@milchindustrie.de
www.milchindustrie.de & www.meine-milch.de

Bücker-Fachverlag
GmbH & Co. KG

Unsere Fach- und Kundenzeitschriften begleiten den gesamten Weg der Milch: von der Verarbeitung über die Vermarktung, an den POS und direkt bis zum Verbraucher.

Rheintalstr. 6 • 53498 Bad Breisig • Postfach 1363 • 53492 Bad Breisig
Tel.: 0 26 33/45 40-0 • Fax: 0 26 33/9 74 15
E-Mail: info@molkerei-industrie.de
www.molkerei-industrie.de • www.milch-marketing.de

BMi
Bayerische Milchindustrie
Wir machen mehr aus Milch
Gutes aus Milch
Bayerische Milchindustrie eG · Klötzlmüllerstraße 140 · 84034 Landshut · Tel.: +49 (0) 871 685-0 · Fax: +49 (0) 871 685-159 · www.bmi-eg.com
paladin
Bayolan
Peti
Frankenland
Elsterland
Thüringer Land
Bad Kissinger
Lacrum
Inntaler

Zott
Die Genuss-Molkerei
Zott GmbH & Co. KG · Dr.-Steichele-Str. 4 · 86690 Mertingen · Telefon: 0 90 78 / 801-0
Unser Werksverkauf hat täglich von 07.00 - 18.00 Uhr und samstags von 07.30 - 12.30 Uhr geöffnet.

CAMBOZOLA
Lassen Sie sich verführen von der cremig-zarten
Raffinesse mit blauen Edelkulturen

Der pure Genuss!
Weideglück
Da weiß ich, was drin ist!
Bei den neuen Weideglück Joghurt- und Dessertprodukten kommt nichts anderes als pure Frucht in die extra Fruchtkammer. 100 % Früchte ohne künstliche Zusätze wie Aromen oder Farbstoffe. Denn nur pur schmeckt man die unverfälschte Natur!
www.weideglueck.de
Allgäuer Landjoghurt mild 3,5% Fett
mit extra Fruchtkammer
Waldfrüchte
Ohne Farbstoffe
Ohne Aromen
150 g
mit extra Fruchtkammer
Noccio
Schoko-Haselnuss Dessert
Das Original
Milchreis
mit extra Fruchtkammer
Ohne Farbstoffe
Ohne Aromen
Erdbeere
Allgäuer Landjoghurt mild 3,5% Fett
Cremig gerührt

GROPPER
QUALITÄT SEIT 1929
GROPPER
QUALITÄT SEIT 1929
SCHOKO
MILCH DRINK
GROPPER
QUALITÄT SEIT 1929
ORANGE-BUTTERMILCH
PREMIUM YOGURT
GROPPER
QUALITÄT SEIT 1929
PREMIUM YOGURT
Qualität aus Bayern seit 1929

Kreieren Sie süß schmeckenden Joghurt mit unserer einzigartigen Enzym-Kulturen Kombination: Maxilact®, reines Laktase-Enzym und DELVO®-YOG Flow Velvet CY-346 Kultur. Jetzt als ready-to-use-Konzept erhältlich, diese innovative Synergie versüßt Joghurt natürlich ohne Zugabe von Zucker. Und - es verbessert Cremigkeit, Viskosität, Glätte und Glanz.

info.food@dsm.com | www.dsm.com
Tel. +49 (0)211 4557 700

HEALTH · NUTRITION · MATERIALS

DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

Hochland

Kompetenz für Käse

Hochland SE · Kemptener Straße 17
88178 Heimenkirch/Allgäu · www.hochland-group.com

Köstliche Innovationen an fermentierter Milch

Setzen Sie Ihren Joghurt-, Milch- und Eiskreationen die Krone auf – mit den vielfältigen Fruchtzubereitungen von Zentis. Ob bewährte Standards oder individuelle Rezepturen: Jedes Produkt wird auf die speziellen Bedürfnisse unserer Kunden und auf die Vorlieben der Verbraucher abgestimmt. Und täglich kommen neue Innovationen hinzu. Schonende Herstellverfahren sorgen dabei für dauerhafte Qualität und Frische.

Erfolgsrezepte von Zentis – dem innovativen Partner der Milchindustrie.

ZENTIS

VIEL FRUCHT. FEEL GOOD.

Zentis GmbH & Co. KG ■ Postfach 10 16 37 ■ 52016 Aachen ■ Deutschland
Tel. +49 (0) 2 41/47 60-0 ■ Fax +49 (0) 2 41/47 60-3 69 ■ www.zentis.de ■ info@zentis.de

Schärdinger
111 Jahre Schärdinger.
Das muss
gefeiert werden.
Was im Jahre 1900 als Zentrale Theebutter Verkaufsgenossenschaft mit einigen wenigen Landwirten begann, ist heute ein Traditionsunternehmen mit mehr als 1.000 Mitarbeitern und rund 15.000 Milchbauern. Nicht verändert hat sich allerdings die Liebe und Sorgfalt, mit der wir unsere beste Milch verarbeiten. Und das schmeckt man auch.
VOLL MILCH
SCHÄRDINGER
111
JAHRE
Mit Schärdinger lässt sich's leben.
www.schaerdinger.at

GKC
DR. ÖTTL & PARTNER GMBH
GESELLSCHAFT
FÜR KOSTENRECHNUNG
UND CONTROLLING

***FELIX*® – Molkereispezifische Planungs- und Controllingssysteme**

- Produktions- und Rohstoffplanung
- Rohstoff- und Chargencontrolling Betriebsübersicht
- Leistungs- und Personalcontrolling
- Produktions-Prozesskostenrechnung
- Unternehmens-Planung und -Simulation
- Vertriebs-Deckungsbeitragsrechnung
- Molkerei-Reportingsystem
- Rohstoff-Bewertung und Verwertungsoptimierung

Unternehmensberatung für die Milchwirtschaft

- Potentialanalysen
- Effizienzsteigerung
- Cost Cutting
- Prozesskostenanalyse
- Werksstrukturoptimierung
- Restrukturierung
- Investitionsbeurteilung
- Inbetriebnahmecontrolling
- Fördergutachten

Betriebswirtschaftliche Molkereikompetenz seit über 20 Jahren
www.gkc.de