TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München

Jahresbericht 2014

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2014
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 2014 bis 31. Dezember 2014

57. Band 2014
Weihenstephan, März 2015

IMPRESSUM

Herausgeber:

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

Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan 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.-Ing. U. Kulozik, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer, Univ.-Prof. Dr. Jutta Roosen, Univ.-Prof. Dr. Klaus Salhofer, 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, 2015

ISBN 978-3-939182-75-7

© 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
Forschung 3
I. Laktationsphysiologie 3
II. Wachstumsphysiologie und Anabolika 7
III. Bioanalytik 10
Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 12
Vorträge 14
Veröffentlichungen 17

Versuchsstation Veitshof 18
Personal 18
Lehre 19
Forschung 19

Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung 20
Personal 20
Forschung 21
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 24
Veröffentlichungen 26
Vorträge 27

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie 28
Personal 28
Einführung 29
Forschung 30
Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten 30
Arbeitsgruppe: Anpassung pathogener Bakterien an Stress 37
Arbeitsgruppe: Neue Gene und ihre Regulation auf Einzelzellebene in pathogenen *Escherichia coli* 42
Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien 44
Entwicklung einer routinetauglichen Quantifizierungsmethode von Cereulid aus *B. Cereus* 50
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 53
Veröffentlichungen 55

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung – IVV 56
Personal 56
Forschung 56

ZIEL - Abteilung Technologie Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie 66
Personal 66
Vorwort 67
Auszeichnungen 68
Forschung 68
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Bioprozess-, Aseptik- und Steril-Verfahrenstechnik 68
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Proteintechnologie und Mikrostruktur-Verfahrenstechnik 76
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Membran- und Chromatographie-Trenntechnik 88
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Molekulare Strukturen und Biogrenzflächen 108
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 120
Vorträge 124
Posterpräsentationen 128
Veröffentlichungen 129
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 131
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 133

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 134
Struktur des Verbandes 134
Zielsetzungen des Verbandes 135
Versammlungen und geförderte Exkursionen 135
Ehrungen 136
Verleihungsrichtlinien 138

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 139
Vorstand 139
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 139
Beitragsordnung 141
Informationstransfer – Mitgliederinformation 141
Beitrittserklärung 142

Technischer Teil 143

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.

Prof. Dr. Horst-Christian Langowski
1. Vorsitzender
Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Dr. Johannes Schraml
1. Vorsitzender
Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

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

komm. Leitung:	Univ.-Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl	71-3511
Wissenschaftler:	Dr. vet. med. Ines Ballweg	08161 986 8470
	Dr. vet. med. Heike Kliem	08161 986 8442
	Dr. rer. nat. Irmgard Riedmaier-Sprenzel	71-5520
	Prof. Dr. vet. med. Dieter Schams, a.D.	71-3509
	Dr. med. Enrique Viturro del Rio	71-3510
Sekretariat:	Gertraud Mayer	71-3508
	Daniela Königsdorf (bis 31.10.14)	71-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	71-5549
	Farzad Arbabi, TA (bis 30.04.14)	71-5543
	Inge Celler, TA	08161 986 8398
	Brigitte Dötterböck, TA	71-5544
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	08161 986 8398
	Angela Sachsenhauser, TA	71-5559
	Waltraud Schmid, TA	71-5544

Gäste:

Sithyphone **Khounsaknalath,** KYUSHU University, Faculty of Agriculture, Graduate School Kuju Agricultural Research Center, Oita, JAPAN: 10.02.14 - 05.03.14 und 30.09.14 - 27.12.14

Dr. Georgi **Beev,** Department of Biochemistry Microbiology and Physics, Agricultural Faculty, Zagora, Bulgarien: 28.04.14 - 28.05.14

Flutura **AJAZI,** Universität Prishtina, Agriculture and Veterinary Faculty/Biotechnology, Prishtina: 25.05.14 - 24.06.14

Rreze **GECAJ,** Universität Prishtina, Agriculture and Veterinary Faculty/Biotechnology, Prishtina: 25.05. - 24.06.14 und 15.12. - 19.12. 14

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Tierärzte: Christian Altenhofer (seit 01.12.2010)

Diplom-Biologen: Christine Kaufmann (seit 02.05.2011); Katharina Stöcker (seit 23.07.12)

M.Sc. Biologie: Benedikt Kirchner (seit 01.06.2011); Melanie Spornraft (seit 14.11.2011)

M.Sc. Agrarwissenschaft: Christiane Schmautz (seit 01.10.12)

M.Sc. Genetik: Anna Henke (seit 01.03.13)

M.Sc. Ernährungswissenschaft: Veronika Flöter, geb. Pistek (seit 01.03.2010)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie: Swanhild Urda Meyer (seit 01.02.2008); Corina Schanzenbach, geb. Zörgiebel (seit 01.12.12); Dominik Buschmann (seit 11.03.14)

M.Sc. Biochemie: Maria Hillreiner (seit 15.04.13)

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Genexpressionsanalyse von Proteinsynthesepathways in bovinen Euterepithelzellen gewonnen aus Milch während der Laktation und während einer kurzzeitigen Futterrestriktion

Gene expression analysis of protein synthesis pathways in bovine mammary epithelial cells purified from milk during lactation and short-term restricted feeding

Sigl, T.; Meyer, H.H.D.; Wiedemann, S.[1]: J Anim Physiol Anim Nutr 98 (2014) 84-95

Das Ziel der Studie war die Untersuchung ausgewählter Schlüsselfaktoren der Milchproteinbiosynthese in primären bovinen Euterepithelzellen von Milchkühen in den ersten 155 Laktationstagen. Ergänzend wurden die Kühe in verschiedenen Laktationsstadien (Woche 4 und 21 pp) einer kurzzeitigen Futterrestriktion ausgesetzt, um die Anpassungsprozesse der molekularen Proteinbiosynthese an die metabolische Herausforderung zu untersuchen. Morgengemelksproben von 24 Holstein-Friesian Kühen wurden während der Versuchsperiode genommen (10 pro Tier). Die Euterepithelzellen aus Rohmilch wurden mittels einer immunomagnetischen Separationstechnik gewonnen und für real-time quantitative PCR Studien verwendet. Wie es in den Transkripten aller majoren Milchproteine gezeigt werden konnte, nahmen die mRNA Levels von E74-like factor 5, ein Verstärker der Signaltransduktion und Aktivator der Transkription (STAT), kontinuierlich bis zur Mittlaktation ab. Die Expression von ELF5 sowie der Milchproteingene zeigten einen ähnlichen Anstieg während der Futterrestriktion in der Frühlaktation. Gelegentliche Veränderung in der

[1] Institute of Animal Breeding and Husbandry, Christian-Albrechts-University Kiel, Kiel, Germany

Expression konnten in anderen Faktoren der Janus Kinase (JAK)/STAT und in Elementen des Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Pathways gefunden werden. Aminosäure-, Glukosetransporter und die Kasein Expression waren ebenfalls teilweise verändert. Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse eine Schlüsselrolle des Trans-kriptionsfaktors ELF5 bei der Milchprotein mRNA Expression mit gegenseitig ergänzenden Signalen des JAK/STAT und mTOR Pathways auf die Regulation der Proteinbiosynthese in der bovinen Milchdrüse.

Effekte des Durchmelkens in einem Feldversuch auf die Produktivität, Milchproteinertrag und Gesundheit von Milchkühen

Effects of continuous milking during a field trial on productivity, milk protein yield and health in dairy cows

Köpf, M.; Gellrich, K.; Küchenhoff, H.[2]; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Animal 8:7 (2014) 1130-1138

Das Ziel dieser Feldstudie mit einem automatischen Melksystem war, zu untersuchen, ob das Weglassen der Trockenstehphase Auswirkungen auf die Gesundheit und Produktivität von Milchkühen in der darauffolgenden Laktation hat. Insgesamt wurden 98 Fleckviehkühe von 6 süddeutschen landwirtschaftlichen Betrieben zufällig in 2 Versuchsgruppen eingeteilt: Die erste Gruppe wurde 56 Tage vor der Abkalbung trocken gestellt (Gruppe D, n = 49), die zweite Gruppe wurde während dieser Zeit bis zur Abkalbung durchgemolken (Gruppe CM, n = 49). Aus dieser Gruppe bildete sich eine dritte Gruppe von Kühen, die sich selbst spontan trockenstellten (Gruppe DS, n = 14). Glukose, β-Hydroxybutyrat (BHBA), nicht veresterte Fettsäuren (NEFA) und IGF-1 im Blut zeigten sehr ausgeprägte Schwankungen in der Gruppe D. Während der gesamten Versuchsdauer waren die Konzentrationen von BHBA und NEFA merklich geringer in den Gruppen CM und DS. Außerdem hatte die Gruppe D die niedrigste IGF-1 Konzentration und zeigte auch einen stärkeren Abbau der Rückenfettdicke als die anderen Gruppen. Die Milchproteinkonzentration war merklich höher in den Gruppen CM und DS (3,70 % und 3,71 %) im Vergleich mit der Gruppe D (3,38 %). Wegen der geringeren 305-Tagesleistung (-15,6 %) und der geringeren totalen Milchleistung (-3,1 %) war die totale Milchproteinmenge in der darauffolgenden Laktation um 2,5% (6,8 kg) geringer, obwohl die zusätzliche Milchproteinmenge der Gruppe CM von Woche -8 bis zur Abkalbung 35,7 kg betrug. Der größte Gewinn resultierte aus den positiven Effekten auf die Fruchtbarkeit und die geringere Krankheitsanfälligkeit: Die Kühe der Gruppe CM hatten ihren ersten Östrus 1 Woche früher im Vergleich zu den Kühen der Gruppe D. Sie nahmen auch früher auf und hatten ein signifikant geringeres Risiko, an Hypokalcämie, Ketose und Nachgeburtsverhalten zu erkranken. Die Studie zeigte außerdem, dass die tierärztlichen Behandlungskosten und der Milchverlust in der Gruppe D zweimal so hoch waren als in den Gruppen CM und DS. Somit überwogen die geringeren Kosten aufgrund besserer Gesundheit der CM und DS Kühe den finanziellen Verlust durch die geringere Milchleistung um + 18,49 € pro Kuh und Laktation.

[2] Statistisches Beratungslabor, Ludwig-Maximilians-Universität München, Germany

Zusammensetzung der Hauptproteine in Milch von Kühen mit unterschiedlicher mittlerer Proteinkonzentration während der ersten 155 Tage der Laktation und unter Einfluss der Jahreszeit sowie kurzfristiger restriktiver Fütterungen in Früh- und Mittlaktation

Composition of major proteins in cow milk differing in mean protein concentration during the first 155 days of lactation and the influence of season as well as short-term restricted feeding in early and mid-lactation

Gellrich K.; Meyer H.H.D.; Wiedemann S.[3]: Czech J. Anim. Sci., 59 (2014): 97-106

Eine Vielzahl von Proteinen trägt stark zur einzigartigen Stellung von Kuhmilch in der Ernährung und der Weiterverarbeitung bei. Besonders Gehalt und Zusammensetzung von Kasein haben beträchtlichen Einfluss auf die Möglichkeiten der Verarbeitung. In der vorliegenden Studie wurde die Milch von 23 mehrkalbigen Holstein-Friesian Kühen, gruppiert in hoch- (3.49 ± 0.05%; n = 11) und niedrig-Protein-Kühe (3.03 ± 0.05%; n = 12), ungefähr einmal die Woche während der ersten 155 Tage der Laktation beprobt, um den Verlauf der relativen Milchproteinkonzentration (α-Lactalbumin; β-Lactoglobulin; α-, β-, und κ-Kasein) zu bestimmen. Des Weiteren wurden Futterrestriktionen (-30% der Trockenmasseaufnahme) in der Früh- und Mittlaktation sowie Gewebebiopsien durchgeführt, um deren Effekt auf die Milchproteinzusammensetzung zu beobachten. Die Zusammensetzung der Milchproteine war relativ konstant und zeigte während des Versuchszeitraums ähnliche Konzentrationsverläufe in beiden Gruppen. Die durchschnittlichen relativen Konzentrationen von α-, β-, κ-Kasein, α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin waren 34,2, 31,4, 16,0, 2,1 und 9,7% des totalen Proteingehalts. Durch die Futterrestriktionen änderte sich die Milchproteinzusammensetzung nicht, während die Jahreszeit α- und β-Kasein sowie α-Lactalbumin beeinflusste. Außerdem wurde in beiden Gruppen ein Effekt zu Zeiten ungewohnt stressiger Situationen durch die Entnahme von Leber- oder Muskelgewebeproben beobachtet. Als Ergebnis erhöhte sich die relative Konzentration von β-Kasein. Demzufolge scheinen akute Stressfaktoren zu einer Veränderung der Milchproteinzusammensetzung zu führen und sollten vermieden werden.

Microfluidic high-throughput reverse-transcription quantitative PCR Analyse der Genexpression in der Leber von laktierenden Tieren

Microfluidic high-throughput reverse-transcription quantitative PCR analysis of liver gene expression in lactating animals

Viturro, E.; Altenhofer C.; Zölch, B.; Burgmaier, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: Microchimica Acta October 181 (2014) 1725-1732

Wir haben eine microfluidic lab-on-chip quantitative reverse transcription (RT) quantitative PCR (qPCR) Methode evaluiert, indem wir die Genexpression von Schlüsselgenen des Lebermetabolismus von laktierenden Kühen gemessen haben. Es wurden Tiere in der frühen und in der späten Phase der Laktation ausgewählt, da hier extreme Anpassungen der Genexpression erwartet wurden. Während des Laktationszyklus waren 28 von 48 Genen signifikant reguliert, wobei erwähnenswert ist, dass sie identisch reguliert waren, wie bereits zuvor mit anderen Analysemethoden gezeigt wurde. Das zeigt, dass die high-throughput Plattform wegen ihrer Einfachheit, Schnelligkeit und geringeren Kosten eine attraktive

[3] Institut für Tierzucht und -haltung, Christian-Albrechts-University Kiel, Kiel

Alternative zu Microarrays darstellt. Mit Hilfe des dynamischen PCA Algorithmus konnte ein Set aus 13 Genen eingegrenzt werden, welches es möglich machte, die beiden physiologisch verschiedenen Gruppen voneinander zu unterscheiden. Somit wurde der Weg bereitet, Tiere in verschiedenen metabolischen Situationen mit einem zuverlässigen microfluidic RT-qPCR Assay zu detektieren.

Effekte einer Raps- und Sojaöl ergänzten Ration auf den bovinen Fett Metabolismus sowie Fettsäuremuster und Cholesteringehalt in der Milch.

Effects of rapeseed and soybean oil dietary supplementation on bovine fat metabolism, fatty acid composition and cholesterol levels in milk

Altenhofer, C.; Spornraft, M.; Kienberger, H.[4]; Rychlik, M.[4]; Herrmann, J. ; Meyer, H.H.D.; Viturro, E.: Journal of Dairy Research 81 (2014) 120-128

Das Hauptziel dieses Experiments war es, die Effekte einer Milchfettdepression, induziert durch eine mit pflanzlichen Ölen ergänzten Ration, auf den bovinen Fettmetabolismus, mit besonderem Interesse an dem Cholesteringehalt, zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden 39 Kühe in drei Gruppen eingeteilt, in denen verschiedene Rationen gefüttert wurden: eine Kontrollgruppe (C) ohne Ölergänzung und zwei Gruppen mit zugesetztem Soja (SO) oder Rapsöl (RO). In beiden Gruppen mit Ölzusätzen konnte eine bedeutendere Reduzierung des Milchfetts (1,14% in der SO Gruppe und 0,98% in der RO Gruppe) im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,15%) erreicht werden. Es konnte kein signifikanter Unterschied des Protein und Laktosegehalts festgestellt werden. Der Milchcholesteringehalt war geringer in den Rationen mit Ölergänzung verglichen mit der Kontrollration, wogegen der Blutcholesteringehalt in diesen Rationen deutlich erhöht war. Das Fettsäuremuster zeigte bei den Versuchsgruppen mit zugesetzten Ölen eine deutliche Reduktion von über 10% bei den gesättigten Fettsäuren und einen hochsignifikanten Anstieg bei den einfach- und mehrfach ungesättigten Fettsäuren inklusive konjugierten Linolsäuren. Die Ergebnisse dieses Experiments deuten darauf hin, dass zur Ration zugesetzte Öle einen hohen Einfluss auf die Milchfettzusammensetzung und damit eine große Bedeutung für die menschliche Gesundheit haben, indem Fette mit potentiellen negativen Effekten, wie gesättigte Fettsäuren und Cholesterin, gesenkt werden und gleichzeitig solche mit positiven Eigenschaften wie einfach- und mehrfach ungesättigte Fettsäuren und konjugierte Linolsäuren erhöht werden.

Effekte einer einjährigen Gefrierlagerung mit verschiedenen Konservierungsmitteln auf die Milchcholesterin-, Progesteron- und Laktoferrinbestimmung

Effects of one year long-term freezing with different preservatives on milk cholesterol, progesterone and lactoferrin determination

Altenhofer, C.; Pfaffl, M.W.; Viturro, E.: International Journal of Dairy Technology 67 (2014) 490–494

Diese Studie wurde durchgeführt, um Effekte einer Langzeitgefrierlagerung auf die Milchzusammensetzung zu erheben und mögliche Einflüsse von vier verschieden Konservierungsmitteln (Azidiol, Kathon CG, NaOH und Thiomersal) auf die Bestimmung von Milchcholesterin, Progesteron und Laktoferrinkonzentration zu untersuchen. Milchproben wurden

[4] Bioanalytik Weihenstephan, ZIEL – Research Center for Nutrition and Food Sciences, Technische Universität München, 85354 Freising, Germany

gesammelt, in Aliquote aufgeteilt und bei -20°C in 10ml Plastikröhrchen gelagert und nach 1, 6 und 12 Monaten aufgetaut und analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass Konservierungsmittel nicht für jede Analysemethode geeignet ist. Konservierungsmittel und Lagerungsbedingungen von Milchproben müssen für jedes Studiendesign sorgfältig bestimmt werden - abhängig von den Parametern, die gemessen werden sollen.

II. Wachstumsphysiologie und Anabolika

Grünes Licht für Small RNA Sequencing: Optimisierung der Extraktion von zirkulierenden RNAs aus Plasma

Optimization of Extraction of Circulating RNAs from Plasma – Enabling Small RNA Sequencing

Spornraft, M.; Kirchner, B.; Haase, B.[5]; Benes, V.[5]; Pfaffl, M.W.; Riedmaier-Sprenzel, I.: PLOS ONE 9(9) (2014):e107259

Es existieren mehrere Protokolle und Kits für die Extraktion von zirkulierenden RNAs aus Plasma mit dem Ziel einer anschließenden Quantifizierung von spezifischen Genen mittels RT-qPCR. Wegen sehr geringen Konzentrationen an zellfreien RNAs in Plasmaproben, ist die RNA Ausbeute nicht ausreichend, um Next-Generation Sequencing (NGS) Experimente durchzuführen. Diese Technologie ermöglicht eine ganzheitliche Hochdurchsatz-Charakterisierung des ganzen Transkriptoms und gilt als (künftige) Goldstandardmethode. Das Screening des kompletten Transkriptoms nach spezifischen Signaturen beschleunigt die Identifizierung von Biomarkern in den Bereichen molekulare Diagnostik, Krankheitsfrüherkennung und auch Lebensmittelkontrolle. Daher galt es als Ziel, eine Methode zur RNA-Isolierung zu optimieren, um ausreichend hohe Mengen an RNAs aus bovinem Plasma zu extrahieren, sodass small RNA Sequencing (small RNA-Seq) ermöglicht wird. Ein erhöhtes Plasmavolumen (9ml) wurde mit einem adaptiven Protokoll für das Qiagen miRNeasy Serum/Plasma Kit in Kombination mit dem Vakuumsystem QIAvac24 Plus isoliert. 35ng Total-RNA wurden in der Library Preparation für die Sequenzierung mit der Illumina HiSeq2000 Plattform verwendet. Die Rohdaten wurden mittels einer Datenanalyse-Pipeline aus nicht-kommerziellen Software Lösungen ausgewertet. Die Sequenzierungs-Daten wurden auf ihre Qualität kontrolliert, gemäß richtigen Sequenzlängen ausgewählt und anschließend mit small RNA Referenzdatenbanken zur Annotation verglichen. Somit konnte der Gehalt an microRNAs und piRNAs im bovinem Plasma ermittelt werden. Die Extraktionsmethode und Datenauswertung ermöglichen zukünftige Studien, die es erlauben, die Zusammensetzung an microRNAs und piRNAs in verschiedenen Körperflüssigkeiten zu erforschen.

[5] Genomics Core Facility, EMBL European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Germany

Identifizierung eines potenziellen Genexpressions-Biomarker Musters in boviner Leber zum Nachweis des Missbrauchs von Wachstumsförderern

Identification of a potential gene expression biomarker signature in bovine liver to detect the abuse of growth promoters.

Riedmaier, I.; Spornraft, I.; Pfaffl M.W.: Food Addit Contam Part A - Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2014 (4): 641-649

Der Missbrauch anaboler Substanzen in der Tiermast ist ein allgegenwärtiges Problem. Das Verbot der Anwendung von Wachstumsförderern wird innerhalb der EU streng kontrolliert. Aber es gibt immer noch Verabreichungsmethoden, wie z.B. neu entwickelte Substanzen oder Hormon Cocktails, welche schwer zu detektieren sind. Deshalb ist die Idee zur Identifizierung von molekularen Biomarkern, welche auf die physiologischen Effekte der Behandlung basieren, in den Fokus der Wissenschaft getreten.

In einer vorherigen Studie konnten wir mRNA Biomarker Kandidaten in Leberproben identifizieren, welche es ermöglichten, unbehandelte Tiere von Tieren, welche mit einer Kombination aus Androgenen plus Östrogenen behandelt wurden, zu unterscheiden. In der aktuellen Studie sollten diese Kandidaten in Kälbern, welche entweder mit einer wachstumsfördernden Kombination aus Progesteron plus Östradiol oder mit Clenbuterol behandelt wurden, bestätigt werden.

Hierfür wurde die Expression der Kandidatengene in der Leber dieser behandelten Kälber mittels RT-qPCR quantifiziert. Mit Hilfe der dynamischen Hauptkomponentenanalyse konnte eine Signatur von 11 Genen herausgefiltert werden, welche eine Unterscheidung behandelter Tiere von unbehandelten Tieren, unabhängig von der applizierten Substanz, ermöglichte. Die Anwendung dieser Gensignatur in einem zusätzlichen Set unbehandelter Tiere resultierte in einer Hauptkomponentenanalyse, welche ebenfalls zu einer Separierung behandelter von unbehandelter Tiere führte.

Diese Studie zeigt, dass Genexpressions-Biomarker ein großes Potenzial haben physiologische Veränderungen, welche durch die applizierte Substanz verursacht werden, unabhängig von der verabreichten Substanz zu detektieren. Es sind aber noch zusätzliche Studien nötig, um das Spektrum anaboler Substanzen zu erhöhen, für welche diese Biomarker angewendet werden können.

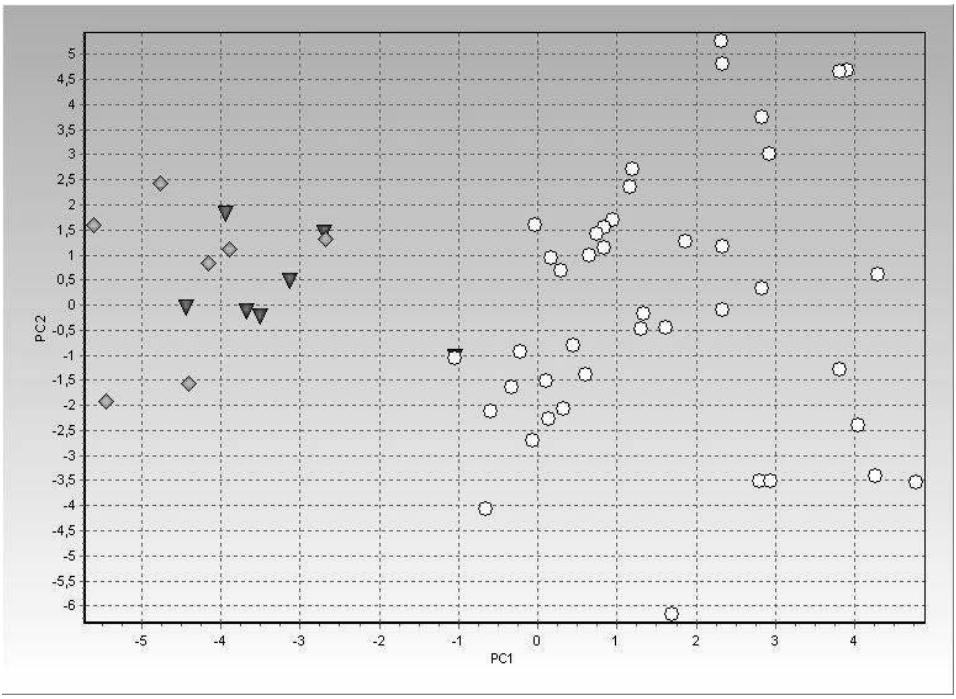


Abb. 1: **Hauptkomponentenanalyse** zur Unterscheidung behandelter und unbehandelter Tiere welche einen zusätzlichen Pool an Kontrolltieren beinhaltet. Kontrolltiere sind durch einen weißen Kreis, Tiere welche mit einer Kombination aus Progesteron plus Östradiol behandelt wurden sind durch eine grüne Raute, und Tiere welche mit Clenbuterol behandelt wurden sind mit einem roten Dreieck dargestellt.

Transkriptionelle Biomarkersignaturen in der Lebensmittelüberwachung

Transcriptional Biomarker Signatures in Food Safety

Spornraft, M.; Riedmaier-Sprenzel, I.; Pfaffl, M.W.: Proceedings, LGL 5. Fachtagung Gentechnik, p41 – 52, published August 2014, ISBN 978-3-945332-07-8

Die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Ernährung und dem Gesundheitsstatus, sowie des Einflusses der Nahrung auf die Entwicklung von Krankheiten, ist für die Wissenschaft und für die Lebensmittelindustrie von zentraler Bedeutung. Notwendig ist es, dabei nicht nur die gesunden Inhaltsstoffe und deren Wirkungen zu untersuchen, sondern auch die Auswirkungen von gesundheitsschädlichen Substanzen und Lebensmittelkontaminationen. In der Fleischproduktion werden in vielen Ländern hormonelle Wachstums- und Leistungsförderer verwendet. Die Kontrollanalysen sind bisher substanzspezifisch. Um neue Wege in der Überwachung zu beschreiten, wird ein Nachweissystem benötigt, das unabhängig der verwendeten anabolen Substanzen funktioniert. Eine Alternative zu den substanzspezifischen Nachweisen ist die Untersuchung der physiologischen Veränderungen eines Organismus nach der Gabe von anabolen Agentien auf molekularer Ebene. Das Ziel ist nicht länger der direkte Nachweis, sondern das Erfassen der zellulären Reaktionen auf die Substanzen. Diese exogenen Einflüsse verursachen eine Modifikation auf der Genexpressions-Ebene und zeigen

dadurch physiologische Effekte. Eine neue Herangehensweise bei der Suche nach alternativen Nachweisverfahren ist das Screening eines Individuums auf die physiologische Antwort auf Transkriptomebene.

In diesem Artikel wird aufgezeigt, dass Omik-Technologien die Erforschung von Genexpressionsveränderungen ermöglichen und dass sich die Anwendbarkeit von transkriptionellen Biomarkern in der Lebensmittelsicherheit bereits bestätigt hat. Auf der Suche nach Biomarkern helfen stets die neuesten Analysemethoden und biostatistischen Auswertungen. Abschließend wird beleuchtet, dass die Kontamination von Fleisch durch Anabolika trotz Verbot auch in Deutschland eine ernst zu nehmende Gefährdung darstellt, dass aber der vorgestellte Forschungsansatz der transkriptionellen Biomarkersignaturen genutzt werden kann, um gesundheitsgefährdende Praktiken in der Tiermast aufzudecken und so Lebensmittel sicherer zu machen.

III. Bioanalytik

Posttranskriptionale regulatorische Netzwerke: Vom Expressionsprofilerstellen zur integrativen Analyse der mRNA und microRNA Daten.

Posttranscriptional Regulatory Networks: From Expression Profiling to Integrative Analysis of mRNA and MicroRNA Data.

Meyer, S.U.; Stoecker,K.; Sass, S.[6]; Theis, F.J.[6]; Pfaffl, M.W.: Methods Mol Biol. 1160 (2014) 165-188

Protein-kodierende RNAs werden post-transkriptional durch microRNAs, eine Klasse der kleinen nicht-kodierenden RNAs, reguliert. Erkenntnisse zu messenger RNA (mRNA) und microRNA (miRNA) regulatorischen Interaktionen unterstützen das Verständnis der Feinregulierung der Genexpression und vermögen möglicherweise eine bessere Abschätzung der Proteinsynthese. Jedoch berücksichtigen in silico Vorhersagen der mRNA-microRNA Interaktionen nicht den spezifischen Status des Transkriptoms des biologischen Systems und werden durch falsch positive verzerrt. Eine mögliche Lösung, um verlässlichere Vorhersagen für die mRNA-miRNA Beziehungen im spezifischen biologischen Zusammenhang zu treffen, ist es, sowohl echte mRNA und miRNA Transkriptomdaten als auch in silico Zielmolekül-Vorhersagen zu integrieren. Dieses Kapitel adressiert den Arbeitsablauf und Methoden, die man anwenden kann für sowohl die Erstellung des Expressionsprofils und die integrative Analyse der mRNA und miRNA Daten als auch die Interpretation der Ergebnisse und Modellerstellung der post-transkriptionalen regulatorischen Netzwerke.

[6] Helmholtz Zentrum München, Institute of Computational Biology, Germany

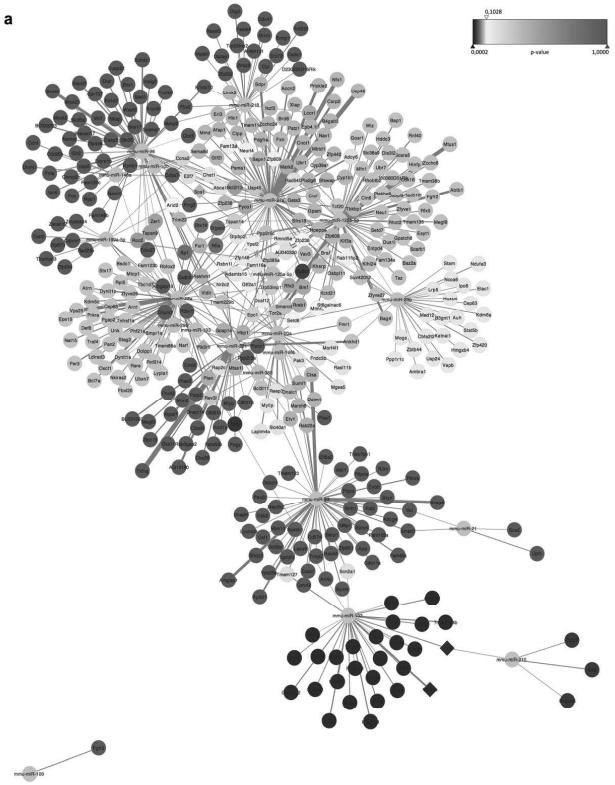


Abb. 2: Pfad-abhängige Veranschaulichung der miRNA–mRNA Beziehungen mit Cytoscape 2.8.3. Die Anreicherungen schließen sowohl die TargetScan-basierten miRNA–Zielmolekülvorhersagen als auch mRNA and microRNA Expressionsdaten mit ein. Die blauen Knoten repräsentieren microRNAs, wohingegen die grünen, gelben und roten Knoten die Gene darstellen. Die Farbintensität (rot = signifikant, grün = nicht-signifikant) zeigt die Signifikanz eines Netzgebietes an, dass dies überrepräsentiert ist in einem bestimmten Pfad oder biologischen Zusammenhang. (a) Die Ergebnisse des Neurotrophin-Signalpfads sind beispielhaft dargestellt.

mRNA und microRNA Reinheit und Integrität: Der Schlüssel zum Erfolg beim Erstellen von Expressionsprofilen

mRNA & microRNA Purity and Integrity: The Key to Success in Expression Profiling

Kirchner, B.; Paul, V.[7]; Riedmaier-Sprenzel, I.; Pfaffl, M.W.: (2014) Chapter 5 - Quantitative Real-Time PCR, edited by Roberto Biassoni and Alessandro Raso, lab protocol series Methods in Molecular Biology, published by Humana Press, USA, ISBN-10: 1493907328 Methods Mol Biol. 1160 (2014) 43-53

[7] National Research Centre on Yak (ICAR), Dirang, Indien

RNA Qualitätskontrolle ist ein maßgeblicher Schritt um intakte, nicht degradierte RNA zu garantieren und aussagekräftige Ergebnisse aus Microarray, RT-qPCR (Reverse Transkription quantitative PCR) oder Next-Generation-Sequencing (RNA-Seq oder small RNA-Seq) Gen-Expressions-Experimenten zu erhalten. Entsprechend ist das Bestimmen der RNA Integrität und Reinheit vor Gen-Expressionsanalysen der Proben RNA essentiell, um die Genauigkeit jeglicher nachfolgender Anwendungen zu garantieren. RNA Proben sollten weder degradiert noch fragmentiert und sowohl frei von Proteinen als auch von genomischer DNA, Nukleasen und enzymatischer Inhibitoren sein. Der Artikel beschreibt den aktuellen Stand der Technik zur Bestimmung der RNA Qualität unter Verwendung von UV/Vis Spektrophotometrie und Kapillar-Gelelektrophorese.

Diplom-, Masterarbeiten und Bachelorarbeiten

Diplomarbeiten und Masterarbeiten

Johannes Knubben, Agrarwissenschaften: „Amino acids in the porcine uterine lumen during preimplantation development"

Paulina Bedkowski, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung synthetischer Estrogen-Derivate in endometrialer Zellkultur *in vitro* und im isolierten perfundierten Uterus"

Julia Wiesner, Molekulare Biotechnologie: „MicroRNA expression analysis in muscle cell differentiation"

Dominik Buschmann, Molekulare Biotechnologie: „Functional analysis of bovine exosomes"

Jara Obermann, Molekulare Biotechnologie: „Umhüllung magnetischer viraler Komplexe – Optimierung der viralen Transduktion von Endothel- und Muskelzellen unter statischen und Fließbedingungen"

Veronika Sachsenhauser, Molekulare Biotechnologie: „Expression of the Vaccinia Virus mRNA Capping Enzyme in Escherichia coli, capping of messenger RNA and determination of capping efficiency"

Stephan Nothjunge, Molekulare Biotechnologie: „Analyse der Funktion ausgewählter zirkulärer RNAs (circRNAs) in neonatalen Rattenkardiomyozyten"

Marcel Sebastian Bouché, Molekulare Biotechnologie: „Entwicklung von PCR-basierten Methoden zur Überprüfung von Reinheit, Identität und Kontaminationen von Zellkulturen"

Isabel Schiemann, Molekulare Biotechnologie: „Effect of anabolic agents on RNA expression in bovine heart"

Xiaomeng Yang, Molekulare Biotechnologie: „Global occurrence of 5-hydroxymethylcytosine in DNA – Establishing and applying different methods to improve the understanding of DNA hydroxymethylation in different porcine tissues"

Alexander Piechatzek, Pharmazeutische Bioprozesstechnik: „Maßnahmen zur Optimierung von Einfrierbedingungen bei der Herstellung hochdichter Zellbanken tierischer Zellen"

Milica Maier, Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel: „Induzierung der Milchproteinsekretion an einem 3D-Zellkulturmodell aus bovinen Euterepithelzellen"

Bachelorarbeiten

Eva Grabisch, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchung der Immunantwort von bovinen Leukozyten des peripheren Blutes nach einer wiederholten Immunisierung mit Clostridium difficile"

Lena Ball, Molekulare Biotechnologie: „Vergleich der RNA-Qualitäten aus Erythrozyten und Vollblut nach Extraktion mittels PAXgene"

Svenja Lorenz, Molekulare Biotechnologie: „Expression of genes involved in milk fat globule structure in bovine mammary epithelial cells"

Maria Schlattl, Agrarwissenschaften und Gartenbauwissenschaften: „Vergleich der Milchfettzusammensetzung alter und moderner Schafrassen"

Lehre/internationale Kooperationen

Das EU Tempus Project *„PhD in Food Science & Technology & Creating Capacities for PhD Reform at the University of Prishtina / Kosovo" (PhD@UP) http://www.phdatup.org/*

wurde ins Leben gerufen um an der Universität Pristina, Kosovo (UP) ein neues, mit den Bologna Richtlinien konformes PhD Programm im Bereich Lebensmittelwissenschaften und Lebensmitteltechnologie zu etablieren. Hierbei waren drei Fakultäten der Universität Pristina involviert: die Fakultät für Medizin, die Fakultät für Landwirtschaft und Veterinärwesen sowie die Fakultät für Naturwissenschaften.

Zusammen mit internationalen EU Partnern wurde dieses Tempus Projekt (ein Finanzierungsprogramm der EU) entwickelt. Vertragspartner des Projektes war die Universität Graz (Österreich) und die Projektkoordination wurde von WUS Austria (Graz, Österreich) übernommen. Hauptinitiatoren war neben der Universität Pristina und der Universität Graz die TU München, genauer der Lehrstuhl für Physiologie, Weihenstephan. Weitere EU Partner waren die Universität von Granada (Spanien), die Universität von Vaasa (Finnland), der Austrian Exchange Service (Österreich), die Unabhängige Union von Studenten an der Universität Pristina (Kosovo), das Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Technologie des Kosovo und die Studentenliste Reforma (Kosovo). Zusammen mit diesen Partnern wurden verschiedene Arbeitspakete entwickelt um ein neues PhD Programm an der Universität Pristina, Kosovo zu etablieren und es den ersten 15 Studenten zu ermöglichen innerhalb dieses Programmes zu promovieren.

Die Technische Universität München war mit Herrn Prof. Heinrich Meyer und später mit Herrn Prof. Michael Pfaffl für die Entwicklung und Akkreditierung eines interdisziplinären PhD Pilot Projektes an der UP und die Bildung von Kapazitäten für die Durchführung des Pilotprojektes an den drei beteiligten Fakultäten der UP verantwortlich.

Innerhalb dieses dreieinhalb Jahre dauernden Projektes (Januar 2011 – Oktober 2014) wurden verschiedene Workshops von Seiten der TU München organisiert. Hierbei stand zum einen die Entwicklung einer Liste von Vorlesungen und Seminaren, welche die Studenten absolvieren sollten auf dem Programm. Ausserdem wurde innerhalb dieser Workshops eine Analyse der lokalen Bedürfnisse an der UP durchgeführt, wobei unter anderem eine Liste von Laborgeräten zu erstellen war, welche innerhalb dieses Projektes an der UP angeschafft werden sollten, um den beteiligten Studenten die Durchführung von Analysen für ihre Doktorarbeit zu ermöglichen. Nach der Einrichtung zweier neuer Labore wurden von TU Wissenschaftlern noch 2 Praktika organisiert um einigen Wissenschaftlern und Studenten an der UP die Möglichkeiten der Anwendung der angeschafften Geräte näher zu bringen.

Im letzten Teil des Projektes kamen die PhD Studenten aus Pristina für einen Monat an verschiedene Lehrstühle der TU München (Lehrstuhl für Tierhygiene, Lehrstuhl für Tierernährung, Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie und Lehrstuhl für Physiologie), um dort neue biotechnologische Technologien, welche für ihre Doktorarbeit relevant sind zu erlernen und eventuell einen Co-Mentor für ihre Arbeit zu finden.

Das Projekt wurde im Oktober 2014 beendet. Innerhalb des Projektes konnten alle Studenten die ersten beiden Semester mit Vorlesungen und Seminaren aus den verschiedensten Bereichen der Lebensmittelwissenschaften und Lebensmitteltechnolgie absolvieren. Zu diesen Lehrveranstaltungen wurden auch Gastdozenten der TU München nach Pristina eingeladen. Die Planung und Durchführung der einzelnen Doktorarbeiten dauert noch an und sollte innerhalb der nächsten 2 Jahre abgeschlossen sein.

Vorträge

Altenhofer, C.:
„Einfluss von Futterergänzungen auf den bovine Cholesterinstoffwechsel und die Cholesterinmenge in Milch"
Landesfachausschuss für Milch, München, 28.04.2014

„Einfluss von Futterergänzungen auf den bovine Cholesterinstoffwechsel und die Cholesterinmenge in Milch"
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung", Freising, 10.10.2014

Dominik Buschmann
„Exosome research at TUM Physiology"
EMBL Advanced Course: Exosome Purification, Identification and Translation, EMBL Heidelberg, Germany, 26.11.2014

Kirchner, B.:
„Transfer of colostral exosomes during early calf development"
International Symposium on Agricultural, Food, Environmental and Life Sciences in Asia (AFELiSA), Chuncheon Süd-Korea 29.10.2014

„Small RNA in Milk"
Kyushu University, Fukuoka Japan, 4.11.2014

Pfaffl, M.W.:
„MIQE challenges and solutions in expression profiling"
AGBIO – 1st European Animal and Plant Symposium, Amsterdam, Netherlands, 25. - 26. February 2014

„mRNA and microRNA Expression Profiling using RNA Seq."
Project meeting: Prof. Steve Harakeh & Prof. Afif Abdel Nour *„Microbiota Biomarkers in Obese patients in Saudi Arabia";* Kooperation TUM mit King AbdulAziz University, Jeddah, Saudi Arabia, Hotel Majestic Tower, Dubai, Vereinigte Arabische Emirate, 20. - 21. March 2014

„New surveillance concepts in food safety – The use of –omic technologies"
IAEA Workshop, Natal, Brazil, 14. - 18. April 2014

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery"
INRA, Génétique Animale et Biologie Intégrative, Paris, France, 14. Mai 2014

„Exosome isolation and holistic expression profiling using RNA-Seq and RT-qPCR"
Microgenomics Conference 2014, Cordeliers Campus of the Pierre and Marie University, Paris, France, 15. - 16. Mai 2014

„Antibodies for Proximity Ligation Assay (PLA) and more …"
EMBO Workshop "Simultaneous profiling of RNA and protein using proximity ligation assay", Postgraduate Medical Institute, Cambridge – Chelmsford - Peterborough, United Kingdom, 7. Juli 2014

„The use of -omic technologies for transcriptional biomarker discovery"
Seminar MLL Münchner Leukämielabor GmbH, München, Germany, 22. Juli 2014

„MIQE Guidelines and their impact on single-cell"
EMBO Practical Course "Single-Cell Gene Expression Analysis", EMBL Heidelberg, Germany, 19. - 24. September 2014

„Data normalization – absolute and relative qutification in qPCR"
EMBO Practical Course "Single-Cell Gene Expression Analysis", EMBL Heidelberg, Germany, 19. - 24. September 2014

„Exosome isolation and holistic expression profiling of small RNAs using RNA-Seq and RT-qPCR"
EMBO Symposium "Unravelling Biological Secrets by Single-Cell Expression Profiling", EMBL Heidelberg, Germany, 25. - 26. September 2014

„MIQE Richtlinien - Standardisierung und Qualitätssicherung bei der quantitativen RT-PCR"
GMS Meeting 2014, Freising Weihenstephan, Germany, 8. Oktober 2014

„Exosome isolation and holistic expression profiling of small RNAs using RNA-Seq and RT-qPCR"
EMBL Advanced Course "Exosome Purification, Identification and Translation", EMBL Heidelberg, Germany, 26. – 28. November 2014

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery"
BRFAA, Athens, Greek, 11th December 2014

Riedmaier-Sprenzel, I.
„Transcriptomic Biomarkers to detect the use of Growth Promoters – Recent Results unsing High Throughput Sequencing Methods"
7th International Symposium on Hormone and Veterinary Drug Residue Analysis, Ghent, Belgien, 02.06. - 05.06.2014

Schams, D.
„Angiogenesis in the ovary - most important regulatory event for follicle and corpus luteum development and function in cow"
ISSR – International Reproduction Meeting in Indien, 06. - 08.02.2014

„FGF´s and angiogenesis – important regulatory event in reproduction"
Gordon Research Conference 2014 "Fibroblast growth factors in development & deseases", Ventura, Kalifornien, 02. - 07.03.2014

Spornraft, M.:
„RNA Qualitätskontrolle und Primerdesign als Basis für erfolgreiche qPCR Experimente"
Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilians-Universität München, Oberschleißheim, 25.08.2014

Schanzenbach, C.:
„Production of poly- and monoclonal antibodies for IFNt detection using ELISA"
Lehrstuhl für Tierphysiologie der ETH Zürich, 06.06.2014

Exkursionen

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit am 30.04.2014 unter der Leitung von Frau Dr. Irmgard Riedmaier

Exkursion zur Besamungsstation Grub (Landshut) am 27.06.2014 unter der Leitung von Dr. Ines Ballweg

Exkursion zum Milchprüfring Bayern, Wolnzach, am 04.06.2014 unter der Leitung von Dr. Enrique Viturro

Veröffentlichungen

12 Experimentelle Originalarbeiten

Altenhofer, C.; Spornraft, M.; Kienberger, H.; Rychlik, M.; Herrmann, J.; Meyer, H. H.D.; Viturro, E.: Effects of rapeseed and soybean oil dietary supplementation on bovine fat metabolism, fatty acid composition and cholesterol levels in milk. - In: Journal of Dairy Research 81 1 (2014) 120-128

Altenhofer, C.; Pfaffl, M.W.; Viturro, E.: Effects of one year long-term freezing with different preservatives on milk cholesterol, progesterone and lactoferrin determination. - In: International Journal of Dairy Technology 67 (2014) 490-494

Gellrich, K.; Meyer, H.H.D.; Wiedemann, S.: Composition of major proteins in cow milk differing in mean protein concentration during the first 155 days of lactation and the influence of season as well as short-term restricted feeding in early and mid-lactation. - In: Czech J. Anim. Sci., 59, 2014 (3): 97-106

Kirchner, B.; Paul, V.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: mRNA and microRNA Purity and Integrity: The Key to Success in Expression Profiling. - In: Quantitative Real-Time PCR Methods in Molecular Biology, published by Humana Press, USA, ISBN-10: 1493907328 Methods Mol Biol. 1160 (2014) 43-53

Köpf, M.; Gellrich, K.; Küchenhoff, H.; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Effects of continuous milking during a field trial on productivity, milk protein yield and health in dairy cows. - In: Animal 8:7 (2014) 1130-1138

Meyer, S.U.; Stoecker, K.; Sass, S.; Theis, F.J.; Pfaffl, M.W.: Posttranscriptional Regulatory Networks: From Expression Profiling to Integrative Analysis of mRNA and MicroRNA Data. - In: Methods Mol Biol. 1160 (2014) 165-188

Nour, A.M.A.; Azhar, E.; Pfaffl, M.W.; Damanhouri, G.: “Stay in touch while on the bench” – how the MIQE applet can increase the quality of your qPCR and dPCR experiments. - In: BMC Genomics (2014), 15 (Suppl 2): P15

Riedmaier, I.; Spornraft, M.; Pfaffl, M.W.: Identification of a potential gene expression biomarker signature in bovine liver to detect the abuse of growth promoters. - In: Food Additives & Contaminants Part A (2014) 4: 641-649

Sigl, T.; Meyer, H.H.D.; Wiedemann, S.: Gene expression analysis of protein synthesis pathways in bovine mammary epithelial cells purified from milk during lactation and short-term restricted feeding. - In: J Anim Physiol Anim Nutr 98 (2014) 84-95

Spornraft, M.; Kirchner, B.; Haase, B.; Benes, V.; Pfaffl, M.W.; Riedmaier, I.: Optimization of Extraction of Circulating RNAs from Plasma - Enabling Small RNA Sequencing. PLOS ONE 9(9) (2014):e107259

Spornraft, M.; Riedmaier-Sprenzel, I.; Pfaffl, M.W.: Transcriptional Biomarker Signatures in Food Safety. – In: Proceedings, LGL 5. Fachtagung Gentechnik, p41 - 52, published August 2014, ISBN 978-3-945332-07-8

Viturro, E.; Altenhofer, C.; Zölch, B.; Brugmaier, A.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: Microfluidic high-throughput reverse-transcription quantitative PCR analysis of liver gene expression in lactating animals. - In: Microchimica Acta October 181 (2014) 1725-1732

Versuchsstation Veitshof

Adresse

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

Personal

Komm. Leitung:	Univ.-Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl
Verwaltung:	Dipl.-Ing.agr. (FH) Martin Schmölz
Sekretariat:	Dagmar Neumeier
Arbeiter:	2

Allgemeines

a) Bodennutzung

Landw. Nutzfläche:	96,0 ha	davon Ackerland:	50,3 ha
davon Pachtfläche	50,8 ha	Grünland:	45,7 ha

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2014

60 Kühe
6 Kalbinnen
37 Jungrinder
22 Kälber
---
125 Rinder
und 6 Ziegen
und 15 Kaninchen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:
9461 kg Milch, 356,2 kg Eiweiß, 3,77 % Eiweiß, 400,3 kg Fett, 4,23 % 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, Ziege, Schwein und Kaninchen wurden Anatomie und Physiologie des männlichen und weiblichen Genitaltrakts ausführlich erläutert. Im Rahmen von praktischen Übungen wurde Studierenden das Rektalisieren an Kühen der Milchviehherde gezeigt und sie erlernten die Prinzipien von Zykluskontrolle und Brunstbeobachtung. Die verschiedenen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien wurden mittels Ultraschall am lebenden Tier demonstriert.

Im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie“ wurde anhand einer praktischen Übung die Anatomie des Rindereuters sowie die qualitative Beurteilung von Kolostrum demonstriert.

Für den Studiengang Agrarmanagement wurde das Verfahren des Embryotransfers demonstriert. Dabei konnten die Studenten einer Embryonenspülung bei einer Kuh sowie der anschließenden mikroskopischen Beurteilung und Kryokonservierung der gewonnenen Embryonen beiwohnen.

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.

Forschung

Etablierung einer Extraktionsmethode für small RNAs (miRNAs und piRNAs) sowie Exosomen aus Blut und Milch.

Untersuchung zur Abwehr von Mastitiden verschiedener Rinderrassen mittels primärer Euterepithelzellkulturen aus Milch.

Extraktion von Leukozyten aus der Milch während der Frühträchtigkeit.

Produktion von Antikörpern in der Milch durch Immunisierung von Kühen und molekulare Untersuchung der Aktivierung des Immunsystems im Euter.

Untersuchung der Stressbelastung von Kühen durch den Einsatz durch sich bewegende Objekte in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Agrarsystemtechnik.

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

Gewinnung von Antikörpern gegen Medroxyprogesteronacetat, Methyltestosteron, Interferon tau und Östradiol-6-Carboxymethyloxime in Kaninchen sowie gegen Immunglobulin-G in Ziegen zur Entwicklung von Enzymimmunoassays.

Milchentnahme zur Etablierung der Messung und Nachweis von β-Laktoglobulin in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Verfahrenstechnik.

Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung

Adresse

Alte Akademie 16
D- 85350 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161/71-3316
Telefax: 08161/71-4501
Internet: http://www.mcr.wi.tum.de
E-Mail: HBrandstetter@tum.de oder RFlax@tum.de

Personal

Leitung:	Prof. Dr. Jutta Roosen	-3318
Sekretariat:	Brandstetter Helga	-3316
	Flax Renate	-3316
Wissenschaftler:	Dr. oec. troph. Bieberstein Andrea	-3985
	Dr. oec. troph. Drescher Larissa	-3316
	Dr. rer.pol. Köttl Barbara	-3316
	Dr. Yonezawa Koichi	-3974
Doktoranden:	Hasselbach Johanna M.Sc.	-3297
	Kalkbrenner Bernhard M.A.	-3972
	Lingl Christoph M.Sc.	-5086
	Marschoun Marie M.Sc.	-3573
	Mohr Bernhard M.Sc.	-3577
	Reitmeier Martina M.Sc.	-5087
	Seitz Carolin M.Sc.	-4215
Sonst. Personen:	Prof. Dr. Georg Karg (i.R.)	
Ext Dozenten:	Prof. Dr. Richard Balling (apl.)	
Ext. Doktoranden:	Dipl. Kfm. Lampe Lukas	
	Michaely Tonia M.Sc.	
	Olearius Götz M.A.	
	Langer Katharina M.Sc.	

Forschung

Eine Analyse der Zahlungsbereitschaft für Tierwohl, Regionalität und ökologische Erzeugung

Johanna Lena Hasselbach, Jutta Roosen

EINLEITUNG/ THEORETISCHER HINTERGRUND

Beim Betreten eines Supermarktes stehen Konsumenten heute einer scheinbar unendlichen Auswahl von Produkten gegenüber, die mit einer Vielzahl von Kennzeichnungen beworben werden. Viele dieser Kennzeichnungen beziehen sich auf Vertrauensattribute. Dabei handelt es sich um Attribute, die vom Konsumenten weder vor noch bei oder nach Kauf oder Verzehr wahrgenommen werden können. Im Lebensmittelbereich ist die ökologische Erzeugung ein viel verwendetes Vertrauensattribut, aber auch Tierwohlkennzeichnung gewinnt zunehmend an Bedeutung.

Auch eine steigende Anzahl wissenschaftlicher Studien widmet sich der Verbraucherwahrnehmung von Tierwohl. So fanden Lagerkvist et al. (2006) beispielsweise für Schweinefleisch heraus, dass Konsumenten Freilufthaltung, keine Anbindehaltung, Verhinderung von Schwanzbeißen und Immunokastration positiv bewerten. Darüber hinaus konnten mehrere Studien eine Mehrzahlungsbereitschaft für Produkte mit einer Tierwohl-Kennzeichnung feststellen (Gracia et al. 2011; Nocella et al. 2010).

Allerdings betrachteten die zuvor genannten Studien Tierwohl als einziges Attribut und somit isoliert von anderen Kennzeichnungen. Andere Studien hingegen konnten bereits zeigen, dass verschiedene Attribute im Lebensmittelmarketing interagieren. Vor allem für Tierwohl und ökologische Erzeugung, aber auch für Tierwohl und regionale Erzeugung, wird eine überlappende Wahrnehmung berichtet (Hjelmar 2011; Zanoli et al. 2012).

Nachdem gekennzeichnete Produkte im Vergleich zu konventionellen Produkten oft teurer sind und die Vertrauensattribute nicht wahrnehmbar sind, stellt sich somit die Frage, wodurch Konsumenten für die Kaufentscheidung motiviert sind. Es wird angenommen, dass ethische Beweggründe eine zunehmende Rolle bei der Kaufentscheidung spielen (Lotz et al. 2013; Gracia et al. 2011). Demgegenüber steht die Theorie, dass Konsumenten ausschließlich egoistisch motiviert sind. Im Fall der Tierwohlkennzeichnung besagt diese Theorie, dass Konsumenten Tierwohlkennzeichnung nutzen, da sie sich von den Produkten eine höhere Lebensmittelqualität oder -sicherheit versprechen (Napolitano et al. 2008).

Zusammenfassend bleibt zu sagen, dass während sich einige Studien bereits mit der Zahlungsbereitschaft für Vertrauensattribute oder Tierwohlaspekte beschäftigt haben, es kaum produktübergreifende Studien gibt. In der vorliegenden Studie wird daher für mehrere Produkte, mittels hypothetischer Choice-Experimente, die Bedeutung von Tierwohl im Vergleich zu anderen Produktattributen betrachtet. Dabei liegt der Fokus auf der Analyse der Präferenzstabilität für die einzelnen Produktattribute, sowie der Mehrzahlungsbereitschaft. Die Frage der Motivation wird ebenfalls im Experimentdesign aufgegriffen.

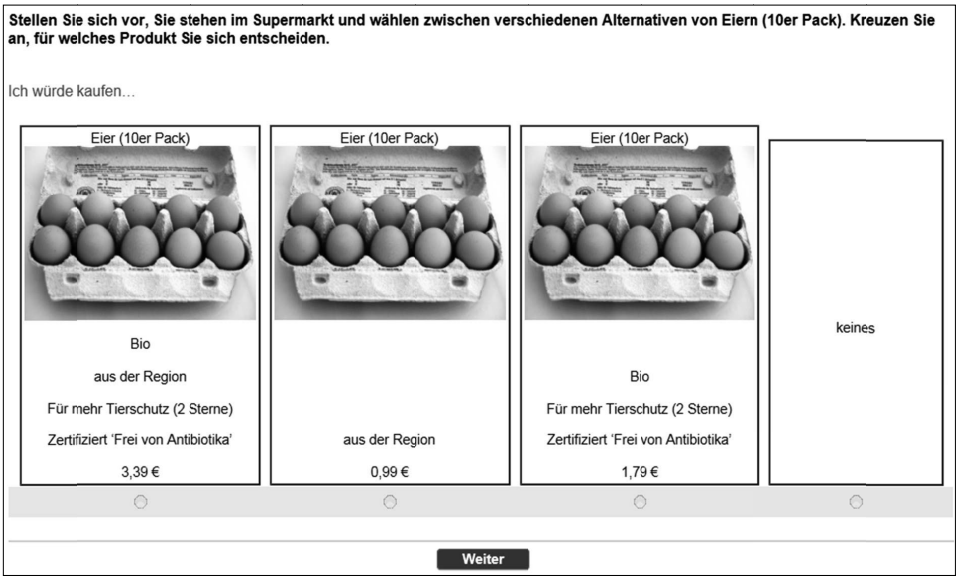
DATEN UND METHODEN

Die Studie basiert auf einer deutschlandweiten Internetbefragung, an der 936 Konsumenten teilnahmen. Zielgruppe der Befragung waren Personen, die zumindest teilweise für den Lebensmitteleinkauf verantwortlich sind. Die Geschlechterverteilung innerhalb der Stichprobe war ausgeglichen, mit 50,7% männlichen und entsprechend 49,3% weiblichen Befragten. Hinsichtlich des Alters liegt die Stichprobe zwischen 19 und 87 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren (SD 17 Jahre). Zudem war die Befragung hinsichtlich Bildung, Beschäftigung und Einkommen repräsentativ für Deutschland.

Kernstück der Befragung waren die hypothetischen Choice-Experimente. Hierfür wurden drei tierische Produkte unterschiedlichen Verarbeitungsgrades ausgewählt: Eiernudeln, Eier und Schweineminutensteaks.

Für jedes der drei Produkte beantwortete jeder Befragte vier hypothetische Kaufentscheidungen, woraus sich insgesamt eine Anzahl von 9624 Entscheidungen, bzw. 3208 Entscheidungen pro Produkt, ergaben. Die Produktalternativen der drei Produkte wurden jeweils mit verschiedenen Ausprägungen der gleichen fünf Attribute „Bio“, „aus der Region“, „Für mehr Tierschutz (2 Sterne)“, „Zertifiziert ‚Frei von Antibiotika‘“ und „Preis“ beschrieben.

Abbildung 1 zeigt ein Befragungsbeispiel für die Kaufentscheidung für Eier. Aufgabe der Befragten Person ist es, sich für eine der dargestellten Produktalternativen zu entscheiden.



Mit Hilfe eines Random-Parameter-Modells wurden die Daten anschließend analysiert, wovon ausgehend die Zahlungsbereitschaft für die einzelnen Produktattribute berechnet wurde. Durch den Vergleich der drei Produkte wird die Stabilität der Präferenz für einzelne Vertrauensattribute über die Produkte hinweg untersucht. Durch die Einbeziehung unterschiedlicher Attribute des Tierwohls („Für mehr Tierschutz (2 Sterne)“, „Zertifiziert „Frei von Antibiotika“) soll zudem festgestellt werden, ob die Konsumenten vorrangig egoistisch oder altruistisch motiviert sind.

ERGEBNISSE

Vor der Beantwortung der hypothetischen Kaufentscheidungen wurden die Teilnehmer der Studie gefragt, ob sie die drei Produkte Eier, Eiernudeln und Schweinefleisch kaufen. Hierzu gaben 8,4% der Befragten an nie Schweinefleisch zu kaufen, 5,7% der Befragten gaben an nie Eiernudeln zu kaufen und 1,8% der Befragten gaben an nie Eier zu kaufen.

Da die Choice-Experimente nur von jenen Befragten beantwortet werden sollten, die grundsätzlich alle drei Produkte kaufen, resultiert dies in einer reduzierten Stichprobe von 802 Befragten für die Choice-Experimente.

Die Ergebnisse der Analyse der Mehrzahlungsbereitschaft sind in Tabelle 1 dargestellt. Vergleicht man die Ergebnisse für die drei Produkte, so wird deutlich, dass die Mehrzahlungsbereitschaft bei Eiernudeln am geringsten und bei Schweineminutensteak am höchsten ist. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass Eiernudeln, durch den hohen Verarbeitungsgrad, nicht vorrangig als tierisches Produkt wahrgenommen werden.

Tabelle 1: Mehrzahlungsbereitschaft für Attribute je Produkt (€)

Attribut	Eiernudeln (500g)	10 Eier	Schweineminutensteak (400g)
Bio	0,28	0,70	0,99
Aus der Region	0,40	0,61	1,34
Für mehr Tierschutz (2 Sterne)	0,49	0,53	1,19
Zertifiziert ‚Frei von Antibiotika‘	0,48	0,68	1,93

Vergleicht man die Mehrzahlungsbereitschaft für die verschiedenen Produktattribute miteinander, so zeigt sich, dass diese je nach Produkt variieren. Während die Mehrzahlungsbereitschaft für eine Zertifizierung ‚Frei von Antibiotika‘ über die Produkte hinweg hoch ist, sind die Ergebnisse für die anderen Attribute gemischt. Für Eiernudeln ist die Zahlungsbereitschaft für die Tierwohlkennzeichnung sowie für die Zertifizierung ‚Frei von Antibiotika‘ am höchsten. Für eine regionale Erzeugung ist die Mehrzahlungsbereitschaft bereits deutlich geringer und am kleinsten ist sie für eine ökologische Erzeugung. Für die beiden anderen Produkte hingegen ist die Zahlungsbereitschaft für Tierwohlkennzeichnung im Vergleich zu den anderen betrachteten Attributen sehr gering. Bei Eiern zeigen die Befragten die höchste Zahlungsbereitschaft für ökologische Erzeugung, gefolgt von der Zertifizierung ‚Frei von Antibiotika‘ und regionaler Erzeugung. Für Schweinefleisch zeigen die Befragten die höchste Zahlungsbereitschaft für die Zertifizierung ‚Frei von Antibiotika‘, gefolgt von regionaler Erzeugung und der Tierwohlkennzeichnung, während die geringste Zahlungsbereitschaft für Schweinefleisch auf die ökologische Erzeugung fällt.

FAZIT

Eine Konsistenz in der Präferenz über alle drei Produkte hinweg konnte nur für das vorrangig egoistisch motivierte Attribut ‚Frei von Antibiotika' gefunden werden. Gleichzeitig wurde dieses Attribut sehr hoch bewertet, wohingegen für die Tierwohlkennzeichnung ‚Für mehr Tierschutz (2 Sterne)', für die unverarbeiteten Produkte Eier und Schweinefleisch, eine deutlich geringere Mehrzahlungsbereitschaft identifiziert wurde. Somit wird deutlich, dass die Konsumenten bei der Wahl von tierischen Produkten vorrangig egoistisch motiviert handeln, also z.B. nicht mit dem Ziel des Tierschutzes, sondern mit dem Ziel höherer Lebensmittelsicherheit. Gleichzeitig zeigte die Analyse aber auch Heterogenität zwischen den Befragten, so dass anzunehmen ist, dass es mehrere, unterschiedlich motivierte, Konsumentensegmente gibt.

QUELLEN

Hjelmar, U., 2011. Consumers' purchase of organic food products. A matter of convenience and reflexive practices. Appetite 56, 336-344.

Lagerkvist, C.J., Carlsson, F., and Viske, D., 2006. Swedish Consumer Preferences for Animal Welfare and Biotech: A Choice Experiment. AgBioForum 9(1), 51-58.

Lotz, S., Christandl, F., and Fetchenhauer, D., 2013. What is fair is good: Evidence of consumers' taste for fairness. Food Quality and Preference 30, 139-144.

Gracia, A., Loureiro, M.L., and Nayga, Jr., R.M., 2011. Valuing an EU Animal Welfare Label using Experimental Auctions. Agricultural Economics 42, 669-677.

Napolitano, F., Pacelli, C., Girolami, A., and Braghieri, A., 2008. Effect of Information About Animal Welfare on Consumer Willingness to Pay for Yogurt. Journal of Dairy Science 91, 910-917.

Zanoli, R., Scarpa, R., Napolitano, F., Piasentier, E., Naspetti, S., and Bruschi, V., 2012. Organic label as an identifier of environmentally related quality: A consumer choice experiment on beef in Italy. Renewable Agriculture and Food Systems 28(1), 70-79.

Dissertationen, Master-, Diplom- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Diem-Trinh Thi Le (2014). Tourist use of Public Transport at Destinations – the Case of Munich, Germany.

Mecking, Rebecca-Ariane (2014). Einflussnahme des Konsumenten auf das Angebot des Lebensmitteleinzelhandels durch Mitteilung persönlicher Informationen.

Master- und Diplomarbeiten

Altan, Sultan (2014). Determinants of Corporations Engaging in Sustainability Practices: A Systematic Literature Review.

Balderas Pèrez, Karla Paola (2014). An Exploratory Study of the Influence of Stress over Investment Decisions. Adults Between 55 and 70 Years Old.

Berninger, Eva-Elena (2014). Landschaftsprägung der Almwirtschaft in den bayerischen Chiemgauer Alpen und ihre Beurteilung durch die Alpentouristen.

Eliud Gomez Raya, Miriam (2014). Consumers` perception of similarity and market power and its effects on levels of trust placed in food processing companies.

Flores Guizar, Alejandro (2014). Consumer Attitude towards Nanotechnology in Sporting Goods.

Hajos-Wisinger, Borbala (2014). An Analysis of the Food Choice Motives of Organic Food Purchasers and CSA Community Members.

Herrmann, Jennifer (2014). Preferences for Wine Countries- and Regions of Origin - a Conjoint Study among Young Wine Consumers in Munich".

Hofreiter, Karen (2014). Capturing the Consumer Mindset: Application of the Zaltman seven deep metaphors in market research.

Hoi-Woon, Anita Fu (2014). Understanding Consumer Online Behavior in the US and China: A Cross-cultural Investigation of Netnography and Market.

Kiak Pheng, Lim (2014). Exploring the Relationships Between Materialism, Conspicuous Consumption & Environmental Concern among Generation-Y Consumers in the Context of Green Cars.

Lachner, Philipp (2014). Eine Akzeptanzanalyse unter den Zeichennutzern zum bayerischen Qualitäts- und Herkunftssicherungsprogramm „Geprüfte Qualität – Bayern“.

Lechner, Martina (2014.) Marktpotenzialanalyse für fischbasierte Wurst- und Fleischwaren.

Moschner, Natalie (2014). Consumer Social Responsibility - An Exploratory Study of Consumption as a Tool to Vote for Business Responsibility.

Muresan, Alina (2014). The Importance of the EU Organic Label for the Development of the Organic Food Sector: A Cross-Cultural Analysis Denmark-Romania.

Musch, Caroline (2014). Effective Positioning Strategies for Sustainable Products.

Oliinyk, Oleksii (2014). Direct and Indirect Consumption of Major Vegetable Oils in Bavaria.

Petershammer, Silke (2014). Tierwohl aus Sicht der Landwirte - Eine Analyse schweinehaltender Betriebe.

Pollmanns, Vera Marie (2014). Qualitäts- und Herkunftssicherung im Lebensmittelbereich: Ein Vergleich der Systeme Regionalfenster "Geprüfte Qualität Bayern" und Regionaltheke am Beispiel Fleisch.

Rupprecht, Margarete (2014). Buying Motives for "Geprüfte Qualität Bayern" Products: A Customer Characterization.

Schneider, Kirsten (2014). The Impact of Sustainability Positioning Strategies on Spillover Effects, Preference and Choice: A matter of strength and gentleness category?

Suazo Pozo, Janet Margarita (2014). Exploring the Reasons for Becoming a Vegetarian: Influence of Life Events on Changes in Food Choice.

Szucs, Krisztian (2014). Shaking the Foundations: A Consumer Behavior Perspective of Diet Replacement Products.

Thomas, Sina (2014). Customer Satisfaction in Long Distance Bus Transportation: An Application of the Kano Model of Customer Satisfaction to the Long Distance Bus Market in Germany.

Vasilevich, Evgeny (2014). Effect of Extended Self-Representation on Real-life Health Behavior in Adolescents.

Völkel, Katrin (2014). The Power of Emotion: Assessing the Applicability of the Concept of Emotion in an Ingredient Branding Context Using the Example of GORE-TEX.

Xiao, Han (2014). Consumer Perception of Automotive GPS Applications.

Bachelorarbeiten

Beck, Malgorzata (2014). Konsumentenakzeptanz von ausgewählten Campylobacter Reduktionsstrategien im Geflügelfleisch.

Bock, Sophie (2014). Kaufverhalten für Bio-Lebensmittel - ein Vergleich zwischen Deutschland und Frankreich.

Dutz, Regina (2014). Autonomy, Independence and Self-Sufficiency Efforts of Consumers.

Kalbfell , Jeschua (2014). Strukturwandel in der deutschen Molkereiwirtschaft 2003 – 2013.

Koch, Magdalena (2014). Einflussfaktoren des Außer-Haus-Verzehrs.

Stanglmaier, Andreas (2014). Das Ernährungsverhalten der deutschen Bevölkerung in Abhängigkeit der sozialen Schicht.

Wildberg, Johannes (2014). Investment Opportunities in Renewable and Sustainable Resources as seen from the Perspective of Private Investors in Germany.

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

Lusk, J., Roosen, J., Bieberstein, A. (2014). Consumer acceptance of new food technologies: Causes and roots of controversies. Annual Review of Resource Economics, 6, 381-405.

Drescher, L.S., J. Roosen, S. Marette (2014): The effects of traffic light labels and involvement on consumer choices for food and financial products. International Journal of Consumer Studies. 38(3): 217-227.

Silvester, D., C. Loibl, J. Roosen (2014). Costs, culture and life decisions: analysing the factors that influence enrolment in master's level education in Germany. International Journal of Consumer Studies. 38(3): 307-315.

Weitere Veröffentlichungen

Forschungsberichte

Reitmeier, M., J. Roosen (2014). Beeinflussen Veränderungen im Leben die Wahrscheinlichkeit des Markenwechsels? Eine Analyse des Lebensmittelkaufverhaltens älterer Konsumenten. Milchwissenschaftliche Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL).

Seitz, C., J. Roosen (2013): Evaluierungsmaßnahmen für die alp Bayern. Bericht für das Bayerische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

Konferenzbeiträge mit Begutachtungsprozess

Bieberstein, A., Roosen, J. (2014). Understanding women's and men's meanings associated with food hazards – A means-end chain approach. AAEA/EAAE/CAES Joint Symposium Social Networks, Social Media and the Economics of Food, Montreal May 2014.

Drescher L., J. Hasselbach (2014). Food Choices under Stress: Considering Internet Usage and Social Support. AAEA/EAAE/CAES Joint Symposium Social Networks, Social Media and the Economics of Food, Montreal May 2014.

Hasselbach, J., J. Roosen (2014) Talking to the sustainable consumer - Motivations behind preferences for local or organic food. Presented paper – International Food Marketing Research Symposium, Aarhus 18-20 June 2014.

Reitmeier, M., J. Roosen (2014) Life Transitions and Food Choice Behavior in Older Adults: How Changes in Social Relationships are Linked to Changes in Brand Preferences. AAEA/EAAE/CAES Joint Symposium Social Networks, Social Media and the Economics of Food, Montreal May 2014.

Seitz, C. C., J. Roosen (2014) Does Consumer Ethnocentrism Influence Product Knowledge? Presented at SenseAsia 2014, Singapur 11-13 May 2014.

Vorträge

Vorträge auf Konferenzen und an Universitäten

Roosen, J. (2014). Local breeds in global markets – exploiting consumer preferences for local and regional specialities. ESF Conference on Livestock Genomic Resources in a Changing world, Cardiff, UK, June 17.

Reitmeier, M.; Haase, C. 2014. Life Transitions and Novel Food Choices in Older Consumers. Präsentation auf der Consumers and Consumption Mini-Conference from Farm to Table. Faculty Club of the University of California, Berkeley, 15. August 2014.

Reitmeier, M. 2014. Life Transition, Emotions and Food Choice. Präsentation im Civic Lab zum Thema Food. Chicago, USA, April 2014.

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:	Prof. Dr. Thilo Fuchs	-3518
	Dr. Evi Lang Halter	-2257
	Dr. Viktoria Krey	-5091
	Dr. Genia Lücking *(Elternzeit ab 01.09.14)*	-5091
	Dr. Stefanie Müller-Herbst	-3945
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Marlies Böhm	-5091
	M.Sc. Katharina Brauer	-5091
	M.Sc. Etienne Doll	-5570
	Dipl.Biol. Lea Fellner	-3945
	M.Sc. Elena Ferrari	-3851
	M.Sc. Jessica Hellinckx	-5570
	M.Sc. Sarah Hücker	-3945
	M.Sc. Christopher Huptas	-5570
	M.Sc. Tanja Kern	-3859
	M.Sc. Anna Mühlig *(bis 31.10.14)*	-3851
	Dipl.Biol. Mario von Neubeck	-5570
	M.Sc. Nicoletta Nolle	-3859
	Dipl.Biol.Johannes Rothhardt *(bis 31.08.14)*	-3859
	M.Sc. Andrea Rütschle	-5091
	M.Sc. Jakob Schardt *(ab 01.04.14)*	-3851
	M.Sc. Lena Staib	-5570
	M.Sc. Sonja Vanderhaeghen *(ab 01.11.14)*	-3945

Technische Mitarbeiter	Christine Braig	-3504
	Sabrina Cabric *(bis 31.10.14)*	-5562
	Sonja Dandl	-5098
	Angela Felsl	-5357
	Petra Hartberger *(Teilzeit)*	-5563
	Gertrud Huith *(Teilzeit)*	-3946
	Angela Kempe *(Teilzeit)*	-5566
	Hildegard Maier *(Teilzeit)*	-5564
	Polte Christine	-3504
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-3517
	Katharina Sturm *(bis 15.08.14)*	-3520
	Romy Wecko*Teilzeit*	-3520

Einführung

In der Forschung arbeiten wir 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 ökogenetischen Grundlagenforschung am Lehrstuhl bis hin zu stark angewandten, lebensmitteltechnologisch relevanten Fragestellungen in der Abteilung Mikrobiologie am ZIEL. In der Mehrzahl der Projekte werden gentechnische und molekularbiologische Techniken eingesetzt. Unsere praxisbezogenen Forschungsarbeiten werden vielfach in enger Kooperation mit der Industrie 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

Der Fokus der Forschungsgruppe liegt auf den Mikrobiota unterschiedlicher Habitate, mit dem Schwerpunkt auf Rohmilch. Von Interesse sind insbesondere die Erfassung und Beschreibung der Biodiversität sowie die Analyse von Populationsveränderungen oder Stabilitäten innerhalb der Mikrobiota. Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern Typisieren auch unterhalb der Artgrenze. Des Weiteren stehen Organismen mit hohem Verderbspotential wie Kältetoleranz oder großem Enzymbildungsvermögen im Zentrum der Arbeiten.

Ein zweiter Schwerpunkt der Gruppe liegt auf der Beschreibung neuer, bislang unbekannter Spezies und Gattungen, die bei detaillierten Biodiversitätsanalysen regelmäßig entdeckt werden. Die neuen Isolate werden molekularbiologisch, biochemisch und chemotaxonomisch charakterisiert und in die bestehende Systematik eingegliedert. Zugleich nutzen wir seit einiger Zeit die Next-Generation-Sequencing-Technologie zur Generierung von Gesamtgenomen und darauf basierenden phylogenetischen Analysen sowie der Biodiversitätsanalyse von Mikrobiota.

Einfluss der Hoflagerung auf die Rohmilch-Mikrobiota – Analyse mittels Next-Generation-Sequencing

Influence of cold storage on raw milk microbiota – Analysis by Next-Generation-Sequencing

Mareike Wenning

Seit einigen Jahren rückt wieder verstärkt die mikrobiologische Qualität von Rohmilch in den Fokus, da sich abzeichnet, dass manche Qualitätsprobleme bei Molkereiprodukten am ehesten über eine Verbesserung der Rohwarenqualität zu lösen sind. Die Lagerdauer der Rohmilch auf dem Hof hat wesentlichen Einfluss auf die mikrobiologische Qualität, da sie mittlerweile z. T. mehrere Tage andauert, in denen sich kältetolerante Bakterien vermehren können. Dennoch ist nicht ganz klar, wie groß der Einfluss tatsächlich ist, da keine neueren Daten verfügbar sind.

Im vorliegenden Projekt wurde daher die Veränderung der Rohmilch-Mikrobiota über den Verlauf der Lagerung sowohl in Bezug auf die Keimzahl als auch die Zusammensetzung erfasst, um abzuleiten, welchen Einfluss die Lagerung hat und ab welcher Lagerdauer dieser zum Tragen kommt. Um einen möglichst großen Überblick über die Mikrobiota zu bekommen, wurden die Analysen in einem kultivierungsunabhängigen Ansatz auf Basis des Next-Generation-Sequencing (NGS) durchgeführt. Dies ermöglicht auch die tiefgehende Analyse von vielen Proben innerhalb kurzer Zeit, was mit dem klassischen kultivierungsabhängigen Ansatz nicht möglich wäre.

Die verwendeten Rohmilchproben stammen von vier verschiedenen, mittelgroßen Höfen mit ca. 40 bis 45 Tieren und enthielten überwiegend zwei Gemelke. Die frische Rohmilch wurde über sieben Tage bei 5-6 °C gelagert und täglich ein Aliquot für die Analyse der Mikrobiota entnommen. Somit wurde jede Milchprobe an acht unterschiedlichen Zeitpunkten (T0 – T7) untersucht. Jeder Hof wurde drei Mal beprobt, womit in Summe zwölf unabhängige Lager-

versuche durchgeführt und insgesamt 96 Proben analysiert wurden. Die DNA wurde aus der Milch extrahiert, dann ein Abschnitt des 16S rRNA-Gens über PCR vervielfältigt und die PCR-Produkte auf einer Illumina MiSeq-Plattform sequenziert.

Die Entwicklung der Gesamtkeimzahl über den Verlauf der Lagerung ist für jeden Durchgang in Abbildung 1 dargestellt. Die Anfangskeimzahl lag bei den meisten Proben etwas unter oder über 10^4 KbE/mL und stieg auf 10^7 bis 10^8 KbE/mL an. Hof Z stellte bei der Ausgangskeimzahl eine Ausnahme dar, da hier die Werte bereits an T0 über 10^5 KbE/mL lagen. Die Proben von Hof U und Z zeigten in allen drei Durchläufen sehr ähnliche Keimzahlentwicklungen, bei Hof K und V gab es jeweils einen abweichenden Durchgang.

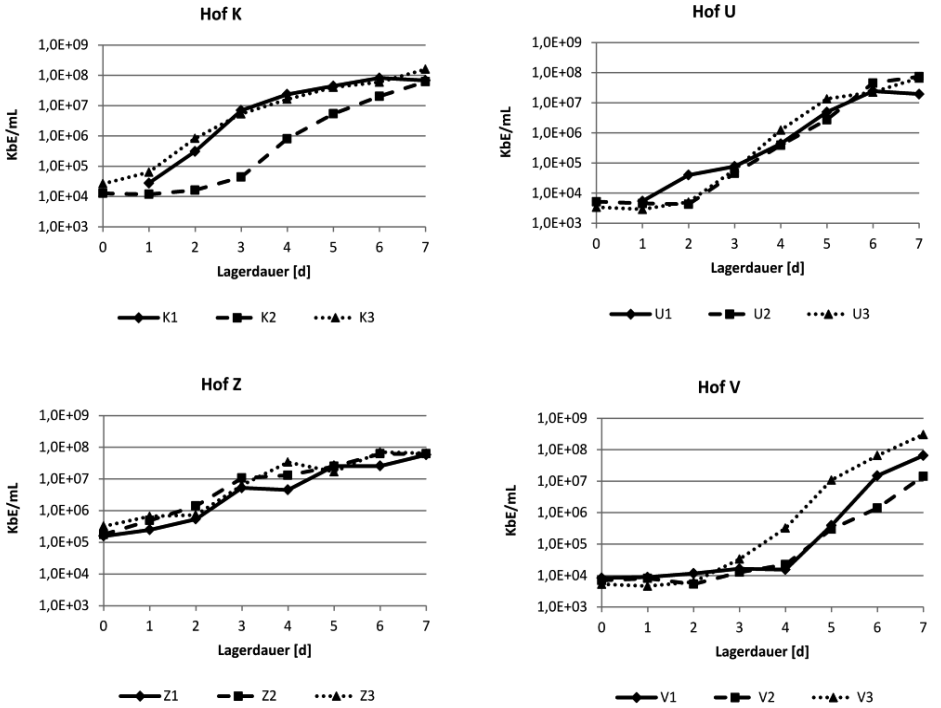


Abb. 1: Entwicklung der Keimzahlen über die Lagerung bei 5-6°C.

Analysiert man die Veränderung der Mikrobiota über die Lagerung, so ergibt sich für alle Proben der gleiche Effekt. Die Organismen, die an die kalten Temperaturen am besten angepasst sind, haben einen Wachstumsvorteil und überwachsen alle anderen Arten.

Eine Einteilung der Sequenzen in bekannte taxonomische Gruppen zeigt, dass insbesondere die gramnegativen oxidativen Keime, zu denen auch die Gattung *Pseudomonas* gehört, wachsen können. Abbildung 2 zeigt beispielhaft für jeweils einen Durchgang mit Milch von Hof K und V die Veränderung des Anteils der einzelnen Großgruppen über die Lagerung. In die Ordnung der *Clostridiales* fallen unterschiedliche anaerobe Gattungen, zu denen auch die Gattung *Clostridium* gehört. Es fällt auf, dass die *Clostridiales* zu Beginn einen erheblichen Anteil an der Mikrobiota haben, nach ein paar Tagen Lagerung jedoch verschwinden, weil sie von anderen Organismen überwachsen werden. Ähnlich verhält es sich mit grampositiven Arten mit hohem G+C-Gehalt in der DNA, zu denen beispielsweise *Microbacterium* oder *Corynebacterium* gehören.

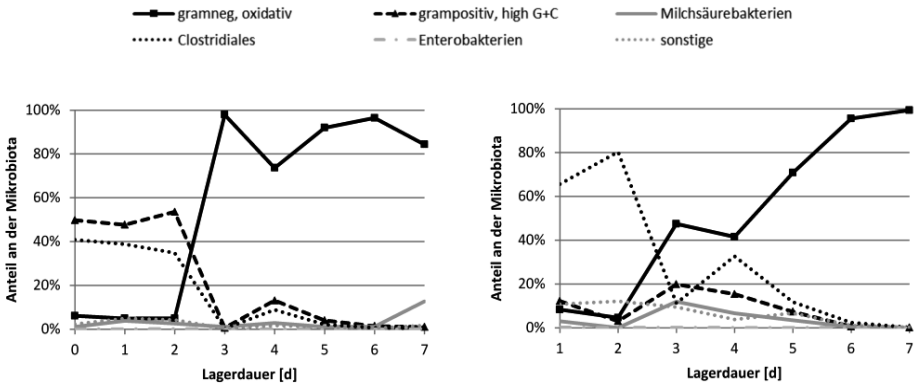


Abb. 2: Veränderung der Mikrobiota anhand mikrobiologischer Großgruppen über die Lagerung bei 5-6°C. Links Hof K, rechts: Hof V.

Betrachtet man für jeden der zwölf Lagerversuche die drei häufigsten Arten oder Artgruppen, die bei NGS-Anwendungen OTUs (operational taxonomic units) genannt werden, so finden sich hier insgesamt nur noch zehn OTUs. Diese gehören zu nur vier Gattungen: *Acinetobacter* (5 OTUs), *Pseudomonas* (2 OTUs), *Lactoccocus* (2 OTUs) und *Serratia* (1 OTU).

Da die gramnegativen oxidativen Organismen wie *Pseudomonas* und *Acinetobacter* die am stärksten kompetitiven Gattungen der Rohmilchmikrobiota bei Kühllagerung sind, liegt die Vermutung nahe, dass ihre Zahl in der frischen Rohmilch ausschlaggebend für die Lagerstabilität ist. Tatsächlich ist genau die Zahl an oxidativen Gramnegativen zum Zeitpunkt T0 der entscheidende Unterschied für die abweichenden Keimzahlentwicklungen bei Versuch K2 und V3 (siehe Abb. 1). Bei K2 sind deutlich weniger Gramnegative enthalten als in den Proben von K1 und K3 und entsprechend ist die Lag-Phase bis zum deutlichen Keimzahlanstieg länger. Bei V3 hingegen ist der Anteil der oxidativen Gram-negativen höher als bei V1 und V2 und hier die Keimzahl zum Zeitpunkt T4 bereits um mehr als eine Log-Stufe höher als bei V1 und V2, obwohl die Ausgangskeimzahl identisch war. Hof V zeichnet sich generell durch einen geringen Anteil an gramnegativen Organismen in der frischen Milch aus, was mit hoher Wahrscheinlichkeit auch der Grund für die sehr gute Lagerstabilität ist.

Die Daten belegen, dass bei ausreichend niedriger Anfangskeimzahl von nicht deutlich über 10^4 KbE/mL der Anteil an gramnegativen Organismen ausschlaggebend dafür ist, ob die Milch über mehrere Tage ohne nennenswerten Anstieg der Gesamtkeimzahl gelagert werden kann oder nicht. Dies zeigt, dass das Augenmerk im Hinblick auf eine Verbesserung der Rohmilchqualität und Lagerfähigkeit nicht allein auf die Keimzahl, sondern zugleich auch auf kritische Vertreter der Mikrobiota gelegt werden sollte. Dass eine erfolgreiche Minimierung gramnegativer Arten möglich ist und dies zu einer sehr hohen Lagerstabilität führt, belegen die Daten von Hof V.

Unentdeckte Vielfalt – Neue Bakterien-Spezies in Rohmilch
Undiscovered Biodiversity – Novel bacterial species in raw milk
Mario Freiherr von Neubeck

Obwohl die Milch-Mikrobiota seit mehreren Jahrzenten untersucht wird, werden in den meisten Studien viele bisher unbekannte, also neue Gattungen und Arten entdeckt, was verdeutlicht, dass die Mikrobiota von Rohmilch viel komplexer ist als gedacht und noch immer zu wenig erforscht ist. Andererseits berücksichtigen viele Studien oft auch nur bestimmte Bakteriengruppen wie z.B. aerobe, Gram-positive Sporenbildner oder Gram-negative Pseudomonaden, ohne dabei die Mikrobiota in ihrer Gesamtheit zu analysieren. Nur wenige Forschungsgruppen widmen sich dieser Aufgabe und das obwohl gerade dieses Wissen um die tatsächlich in Rohmilch vorherrschende Biodiversität von zentraler Bedeutung ist, sowohl für die Wissenschaft, als auch für die Milchindustrie.

Im Rahmen dieser Arbeit, als Teil des AiF-Forschungsvorhabens 16588 N, wurde die mikrobielle Flora von 10 Rohmilchen direkt von den Erzeugerhöfen und von 10 Rohmilchen aus Molkereistapeltanks auf ihre Biodiversität untersucht. Von jeder der 20 Rohmilchproben wurden nach 7-tägiger Inkubation bei 15 °C 150 Einzelkolonien isoliert und durch Fouriertransform Infrarot-(FTIR)-Spektroskopie identifiziert. Die insgesamt 2906 Isolate konnten über eine hierarchische Clusteranalyse (HCA) der FTIR-Spektren auf 966 repräsentative Isolate reduziert werden. Diese wurden ergänzend durch DNA-Sequenzierung identifiziert und 169 Arten aus 61 Gattungen zugeordnet.

Unter den 2906 Isolaten war jedoch auch ein erheblicher Anteil, der keiner bisher bekannten Art oder Gattung zugeordnet werden konnte. Dies traf auf etwa jede Fünfte gepickte Einzelkolonie zu. Die unerwartet hohe Anzahl von insgesamt 528 Isolaten verteilt sich auf 26 potentiell neue Arten und eine neue Gattung (siehe Tabelle 1). Dies entspricht in etwa 16% aller in dieser Studie gefundenen Arten und sogar mehr als 18% aller Isolate.

Tabelle 1: Potentielle aus 20 Rohmilchproben isolierte neue Arten.

Anzahl der Ar-	Anzahl der Iso-	Gen	Ähnlichkeit (%)	Gattung
1	8	16S rRNA	< 95.4	*Empedobacter**
4	265	16S rRNA	< 97.8	*Acinetobacter*
2	3	16S rRNA	< 97.4	*Arthrobacter*
1	2	16S rRNA	< 97.5	*Lactococcus*
1	1	16S rRNA	< 96.6	*Diaphorobacter*
18	249	*rpoD*	< 96.5	*Pseudomonas*

* potentielle neue Gattung

Aus 16 der 20 untersuchten Rohmilchen konnten neue Arten isoliert werden, wobei zwei Proben sich als besonders reich an neuen Arten herausstellten. In einer der Hofmilchproben fanden sich sieben neue Arten, darunter die neue Gattung, eine neue *Acinetobacter*-Art, die beiden neuen *Arthrobacter*-Arten und 3 neue *Pseudomonas*-Arten. Aus einer der Molkereitankmilchen konnten 6 neue Arten isoliert werden (eine neue *Lactococcus*-Art und 5 der neuen *Pseudomonas*-Arten). Zwei weitere Proben enthielten jeweils 4 neue Arten und drei andere jeweils drei.

Die größte Anzahl an neuen Arten wurde innerhalb der Gattung *Pseudomonas* identifiziert; 18 der insgesamt 33 identifizierten *Pseudomonas*-Arten, und damit mehr als die Hälfte, sind bisher unbekannt. Interessanterweise konnten einige der neuen Arten aus mehreren Milchproben isoliert werden, was verdeutlich, dass es sich nicht um sehr selten vorkommende Spezies handelt, sondern sie eine verhältnismäßig hohe Prävalenz haben. Abbildung 1 veranschaulicht an sieben neuen Spezies deren Ähnlichkeitsverhältnisse zu bekannten Arten und gibt Beispiele für Arten, die in mehreren Proben gefunden wurden.

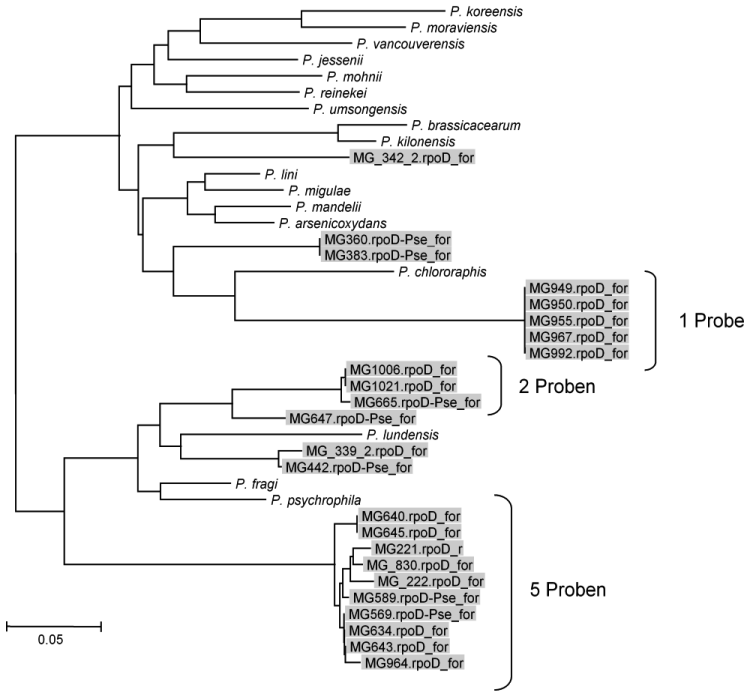


Abb. 1: Positionierung von sieben neuen Pseudomonas-Arten zu ihren nächsten Verwandten. Namen bekannter Spezies sind kursiv geschrieben, neue Arten sind grau hinterlegt.

Von den neuen *Pseudomonas*-Arten konnte eine Art aus einer Hofmilch-Probe und einer Tankmilch-Probe, eine Art aus einer Hofmilch-Probe und zwei Tankmilch-Proben, zwei Arten aus zwei Hofmilchen und zwei Tankmilchen bzw. einer Hofmilch und drei Tankmilchen und eine Art aus je drei Hofmilch- bzw. Tankmilch-Proben isoliert werden.

Bei der häufigsten *Acinetobacter*-Spezies handelt es sich ebenfalls um eine bisher unbekannte Art, diese konnte aus 6 Milchproben mit insgesamt 258 Isolaten isoliert werden. Der Grund für diese hohe Anzahl ist die relative Häufigkeit in zwei der 20 Milchproben und macht dadurch diese Art zur dritthäufigsten, die in den 20 Proben gefunden wurde. Die restlichen neuen Arten und die potentiell neue Gattung wurden aus jeweils einer Rohmilch-Probe isoliert.

Da alle 20 untersuchten Milchproben von unterschiedlichen Höfen oder Molkereien stammen, kann man davon ausgehen, dass alle der potentiellen neuen Arten relativ häufig auftreten und teilweise sogar einen Hauptanteil an der Mikrobiota darstellen können. Viele Arten und Gattungen blieben vermutlich bisher aber auch nur deshalb im Verborgenen, weil in vielen Studien die Stichprobengröße zu gering gehalten wurde und somit in der Regel meist nur die häufigsten Arten und Gattungen isoliert werden konnten. Ein weiterer Grund für die steigen-

den Zahlen neu entdeckter Arten sind aber auch die rasant fortschreitenden Identifizierungsmethoden, die immer genauer werden.

Einige der neuen Arten werden im Rahmen dieser Arbeit neu beschrieben, um in die bestehende Systematik eingegliedert werden zu können. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund von Bedeutung, dass gerade Arten der Gattungen *Pseudomonas* und *Acinetobacter* zu den am häufigsten auftretenden Milchverderbs-Organismen gehören und daher eine zuverlässige Identifizierung unabdingbar ist. Dadurch wird letztlich auch eine differenziertere Betrachtung einzelner Gattungen und Arten mit technologischer Relevanz möglich, um deren Auswirkungen auf die Endprodukte genauer einschätzen zu können.

Das Forschungsvorhaben (AiF 16588 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Prävalenz und Biodiversität psychrotoleranter Sporenbildner in Rohmilch

Prevalence and biodiversity of psychrotolerant sporeforming bacteria in raw milk

Etienne Doll

Unter psychrotoleranten Sporenbildnern versteht man eine Gruppe ubiquitär vorkommender Bakterien, die in ihrer Dauerform extrem resistent gegenüber ungünstigen Umwelteinflüssen sind und neben Raumtemperatur auch bei niedrigen Temperaturen von ≤7°C proliferieren. Psychrotolerante Sporenbildner sind auch Teil der natürlichen Rohmilchmikrobiota. Da sie die Pasteurisierung überdauern und während der Kühllagerung hohe Keimzahlen erreichen können, spielen sie als Verderbserreger in der Milchindustrie, vor allem bei der Herstellung von ESL-Milch eine wichtige Rolle. Von besonderem Interesse ist daher die Rohmilchqualität hinsichtlich der Prävalenz und Biodiversität dieser Problemkeime.

Im AiF-FV 17880 N wurden bisher 149 Rohmilchproben mit Hilfe der Most Probable Number (MPN) Methode auf ihren Gehalt an psychrotoleranten Sporenbildnern untersucht. Die Zellzahlen hierbei waren extrem gering und lagen bei lediglich 460±640 MPN/L. Dabei wurde eine enorme Spanne von weniger als 18 MPN/L bis hin zu 3.500 MPN/L detektiert, zwei Ausreißer enthielten sogar 9.000 bzw. 16.000 Sporen je Liter. Betrachtet man den Verlauf der Keimzahlen über das Jahr (Abb. 1) so fällt auf, dass im Sommer und frühen Herbst ein wesentlich geringerer Gehalt an psychrotoleranten Sporen vorliegt als im Rest des Jahres.

So befindet sich der Median in August und September bei lediglich 70 Sporen/L, während im Dezember 400 Sporen/L detektiert wurden. Auch die Schwankungen zwischen einzelnen Proben fallen im Sommer geringer aus. Eine mögliche Erklärung hierfür sind saisonale Unterschiede in der Tierhaltung. Eine Hauptquelle psychrotoleranter Sporen im Stall ist die Einstreu, mit der das Vieh in den Wintermonaten vermehrt in Kontakt kommt. Auch hemmen niedrigere Temperaturen Teile der Konkurrenzflora. Somit wird die Proliferation psychrotoleranter Sporen im Umfeld des Milchviehs begünstigt und sie finden mehr Eintrag in die Rohmilch. Da die Keimzahlen mesophiler Sporenbildner, die aus den identischen Rohmilchproben bestimmt wurden, keine jahreszeitlich bedingten Schwankungen aufzeigen, können Qualität und Zusammensetzung der Proben als Ursache ausgeschlossen werden. Auch gibt es keine direkte Korrelation zwischen dem Gehalt an mesophilen und psychrotoleranten Sporenbildnern.

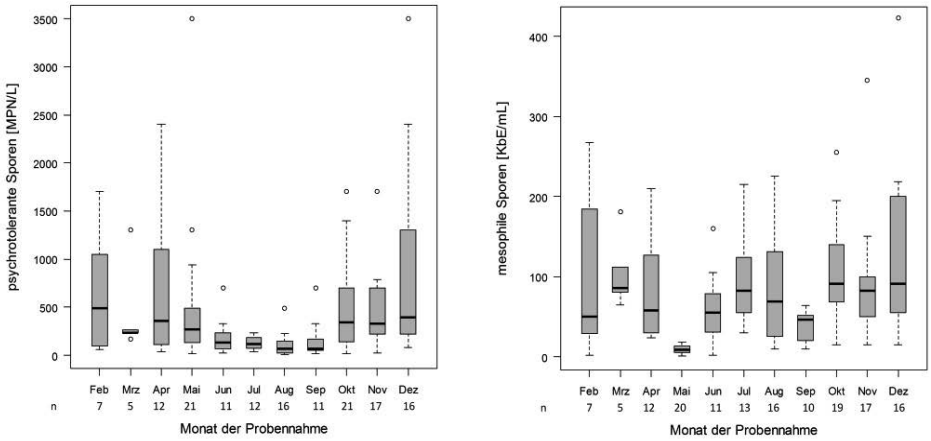


Abb. 1: Saisonaler Einfluss auf die Prävalenz psychrotoleranter (n=149) und mesophiler Sporenbildner (n=146) in Rohmilch aus Molkereistapeltanks.

Neben der Prävalenz wurde auch die Biodiversität psychrotoleranter Sporenbildner in Rohmilch untersucht. Aus 15 Rohmilchproben wurden dafür nach 21-tägiger Anreicherung bei 6°C 843 Isolate gewonnen. Die Reinkulturen wurden mit Hilfe von FT-IR Spektroskopie und anhand ihrer 16S rRNA- bzw. *rpoB*-Gensequenzen identifiziert. Mit 38 verschiedenen Spezies aus 10 Gattungen weist Rohmilch eine große Biodiversität an psychrotoleranten Sporenbildnern auf (Abb. 2).

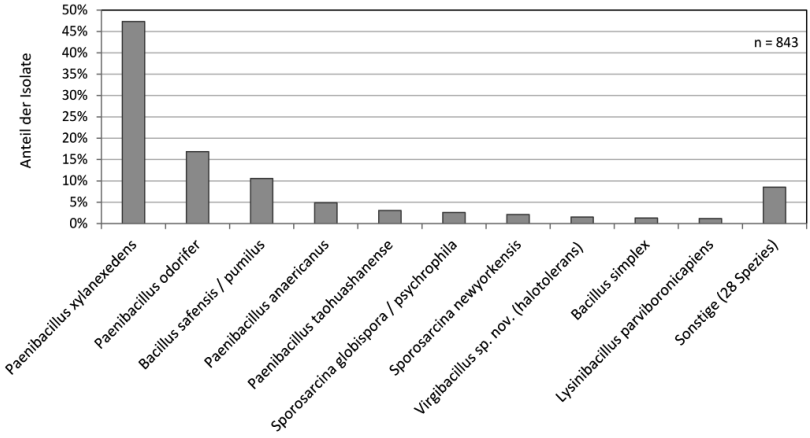


Abb. 2: Quantitative Zusammensetzung psychrotoleranter Sporenbildner auf Speziesebene, isoliert aus 15 Rohmilchproben aus Molkereistapeltanks (n=843). sp. nov.: Neue Art.

Die drei häufigsten Spezies waren *Paenibacillus xylanexedens*, der fast die Hälfte der gesamten Stichprobe ausmachte, *Paenibacillus odorifer* (17%) und *Bacillus safensis/pumilus* (11%). Während sich diese dominanten Arten bereits auf 75% aller Isolate belaufen, sind die meisten anderen Sporenbildner eher selten. So machten 28 Spezies jeweils weniger als 1% der Isolate aus. Auch *Bacillus cereus* und *Bacillus weihenstephanensis*, die als wichtigste Vertreter psychrotoleranter Sporenbildner in Rohmilch gelten, wurden gar nicht bzw. nur ein einziges Mal isoliert. Beachtlich ist auch die große Zahl bisher unbeschriebener Arten und Gattungen. Sieben neue Spezies und sogar zwei neue Genera konnten identifiziert werden.

Um eine ganzheitliche Betrachtung der Problematik psychrotoleranter Sporenbildner zu ermöglichen, werden im weiteren Projektverlauf neben der Prävalenz in Rohmilch auch die Eliminierung während der Herstellung von ESL-Milch und das Verderbspotential psychrotoleranter Sporen im Endprodukt untersucht. Letztendlich soll umfassende Kenntnis über mögliche Stellschrauben zur Verbesserung der Milchqualität bis zum Ende des MHD gewonnen werden.

Das Forschungsvorhaben (AiF 17880 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Arbeitsgruppe: Anpassung pathogener Bakterien an Stress

Gruppenleiterin: Stefanie Müller-Herbst

Unter den in Deutschland meldepflichtigen bakteriellen Infektionskrankheiten spielen vor allem solche, die durch Lebensmittelinfektionserreger hervorgerufen werden, eine zentrale Rolle. Kontaminationen von Lebensmitteln mit pathogenen Bakterien und daraus resultierende Ausbruchsgeschehen bergen neben dem Gesundheitsrisiko für den Verbraucher auch wirtschaftliche Risiken für bestimmte Bereiche der Lebensmittelindustrie. Der Forschungsschwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt auf der molekularen Charakterisierung der Anpassung pathogener Bakterien wie *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium), enterohämorrhagischer *E. coli* (EHEC) sowie *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) an verschiedenste Stress- und Umweltbedingungen, denen der Keim im Lebensmittel, in der Umwelt oder während der Wirtskolonisierung ausgesetzt sein kann. Ein tief greifendes Verständnis der Anpassung pathogener Bakterien an solche Stressbedingungen ist eine wichtige Voraussetzung für eine sichere Produktion von Lebensmitteln.

Inhibitorische Wirkung von Nitrit auf Wachstum und Überleben von *S.* Typhimurium

Inhibitory effect of nitrite on growth and survival of S. Typhimurium

Anna Mühlig, Katharina Sturm

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 bei Schnittkäse und Rohwurstprodukten hat.

Am Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie am Max-Rubner-Institut in Kulmbach konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Nitritpökelsalz bei der Rohwurstherstellung tatsächlich in einer deutlich besseren Reduktion der Keimzahlen von *S.* Typhimurium resultiert. Im Rahmen eines von FEI/AiF geförderten Projekts sollte analysiert werden, auf welche Weise Nitrit in dem Gram negativen Organismus *S.* Typhimurium (AiF_16908 N) auf molekularer Ebene wirkt.

In vitro Wachstumsversuche von *S.* Typhimurium, in denen die inhibitorische Wirkung von Nitrit in Kombination mit weiteren für die Lebensmittelherstellung relevanten Parametern wie pH-Wert, NaCl-Konzentration, Temperatur und Sauerstoffverfügbarkeit untersucht wurde,

ergaben, dass das Wachstum der Pathogenen durch Nitrit vor allem in Kombination mit einem sauren pH-Wert inhibiert wird.

Es wird postuliert, dass nicht Nitrit selbst das eigentliche antibakterielle Agens ist, sondern Derivate, die während des Reifungsprozesses aus Nitrit entstehen. Eine Verbindung, die oft in diesem Zusammenhang genannt wird, ist Stickstoffmonoxid (NO). Interessanterweise sind pathogene Bakterien auch während des Infektionsprozesses NO ausgesetzt, welches von der Wirtsabwehr produziert wird. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass *Salmonella* Typhimurium NO-detoxifizierende Systeme (HmpA, NorV, NrfA) besitzt.

Die Deletion der NO-detoxifizierenden Systeme und die phänotypische Analyse der Mutanten Δ*hmpA*, Δ*norV* und Δ*nrfA in vitro* ergab, dass die Deletion des Flavohämoglobins HmpA in einer erhöhten Sensitivität der Mutante Δ*hmpA* gegenüber Nitrit bei einem sauren pH-Wert resultiert (Abb. 1). Dies deutet darauf hin, dass unter diesen Versuchsbedingungen NO aus Nitrit gebildet wird (Mühlig *et al*., 2014a).

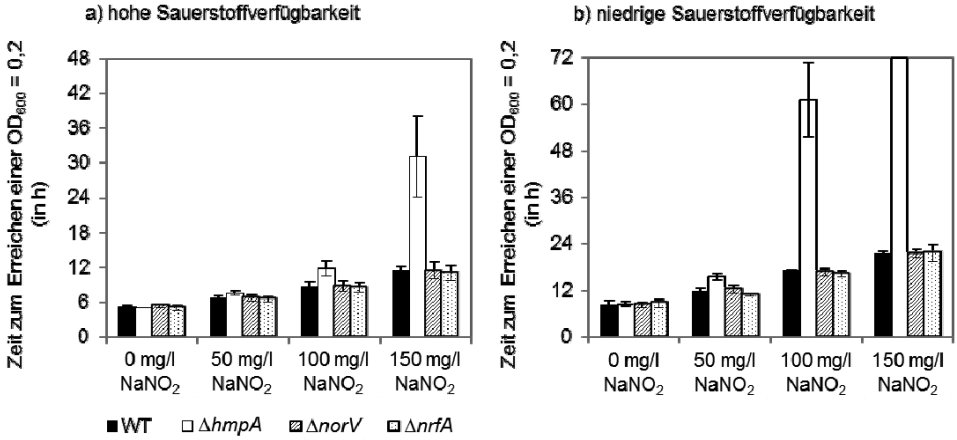


Abb. 1: Wachstumsanalyse des Wildtyps S. Typhimurium WT und der Deletionsmutanten ΔhmpA, ΔnorV und ΔnrfA in Gegenwart verschiedener NaNO2 Konzentration (0, 50, 100, 150 mg/l) bei einem pH-Wert von 5,5 (Modifiziert nach Mühlig et al., 2014a). In Gegenwart von Nitrit kommt es zu einer Verlängerung der Lag-Phase. Es wurde deshalb die Zeit, die die Bakterienkultern benötigen, bis das Wachstum in die exponentielle Wachstumsphase übergeht (Zeit zum Erreichen einer OD_{600} = 0,2) als Parameter für die Auswertung herangezogen. Die erhaltenen Daten sind Mittelwerte aus drei biologisch unabhängigen Wachstumsversuchen, die in Duplikaten im Bioscreen C in Gegenwart von Luftsauerstoff (a) bzw. durch die Überschichtung der Kulturen mit Parraffinöl bei einer niedrigeren Sauerstoffverfügbarkeit (b) durchgeführt wurden.

Challenge-Versuche in kurzgereiften streichfähigen Rohwürsten, welche mit den Mutanten Δ*hmpA*, Δ*norV*, Δ*nrfA* oder dem WT *S.* Typhimurium kontaminiert wurden, ergaben jedoch keinen Hinweis darauf, dass eines der NO-entgiftenden Systeme allein für das Überleben von Nitrit-Stress im Rohwurstprodukt essentiell ist (Mühlig et al., 2014a). Es kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass die Deletion eines Systems durch die Anwesenheit eines weiteren NO-detoxifizierenden Systems kompensiert werden kann. Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass im Rohwurstprodukt neben NO noch weitere reaktive Stickstoffverbindungen aus Nitrit bei einem sauren pH-Wert entstehen, die das Wachstum und Überleben von pathogenen Bakterien inhibieren, eine These, für die noch weitere Indizien existieren.

Mittels globaler Transkriptionsstudien wurde die kurzfristige Stress-Antwort sowie die längerfristige Anpassung von *S.* Typhimurium an Nitrit-Stress bei einem sauren pH-Wert analysiert (Mühlig *et al*., 2014 b). Es konnte eine verstärkte Transkription von Genen beobachtet werden, für die bereits eine Regulation durch NO-Stress beschrieben ist. Dies deutet darauf hin, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen tatsächlich NO aus Nitrit gebildet wird. Weiterhin konnte eine Induktion von Genen beobachtet werden, für deren Produkte ein Beitrag am Überleben von Säurestress in *S.* Typhimurium beschrieben ist. Diese Daten führten zu der Hypothese, dass es in Gegenwart von $NaNO_2$ (150 mg/l) bei einem pH-Wert von 5,5 (der pH-Wert wurde mit Milchsäure eingestellt) zu einer stärkeren intrazellulären Ansäuerung kommt, als bei einem pH-Wert von 5,5 in Abwesenheit von $NaNO_2$. Dies wurde in weiterführenden Versuchen durch die Analyse der Mutante *S.* Typhimurium pEGFP, die ein pH-sensitives GFP Derivat exprimiert, bestätigt (Mühlig et al., 2014b). Unter sauren pH-Bedingungen kann ein Teil des Nitrits zu salpetriger Säure protoniert werden. Dieses ungeladene Molekül kann über die Cytoplasmamembran diffundieren. Im annähernd neutralen Cytoplasma wird die salpetrige Säure weitestgehend deprotoniert, es entsteht Nitrit und ein freies Proton, welches zur intrazellulären Ansäuerung beiträgt. Ob die intrazelluläre Ansäuerung auch im Rohwurstprodukt zur hemmenden Wirkung von Nitrit beiträgt, ist gegenwärtig noch nicht geklärt.

Das Forschungsvorhaben AiF_16908 N wurde im „Programm zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Anaerober Stoffwechsel in *Listeria monocytogenes*

Anaerobic metabolism in Listeria monocytogenes

Elena Ferrari

L. monocytogenes als ubiquitär vorkommender Keim besiedelt häufig ökologische Nischen, in denen ein mikroaerophiles oder anaerobes Milieu vorliegt. Anaerobe bzw. miroaerobe Bedingungen findet der Keim im Boden, im Wasser, in verrottendem Pflanzenmaterial sowie im Gastrointestinaltrakt von Wirtstieren vor. Solche anaeroben Nischen können aber auch im Lebensmittel, vor allem in vakuumverpackten Lebensmitteln vorliegen. Obwohl die Anpassung an anaerobe Bedingungen für *L. monocytogenes* in vielen ökologischen Nischen relevant ist, ist der aerobe Metabolismus deutlich besser untersucht als der anaerobe Metabolismus. Nachdem in vorhergegangenen Projekten die Anpassung von *L. monocytogenes* an anaerobe Wachstumsbedingungen auf Transkriptomebene untersucht wurde und die F_1F_0-ATPase als essentiell für das anaerobe Wachstum des Bakteriums identifiziert wurde (Müller-Herbst *et al*., 2014) (Abb. 2), soll nun in weiteren Studien die Anpassung von *L. monocytogenes* an die Sauerstoffverfügbarkeit in Hinblick auf den Beitrag dieser Anpassung an eine Kolonisierung im Gastrointestinaltrakt des Wirts analysiert werden.

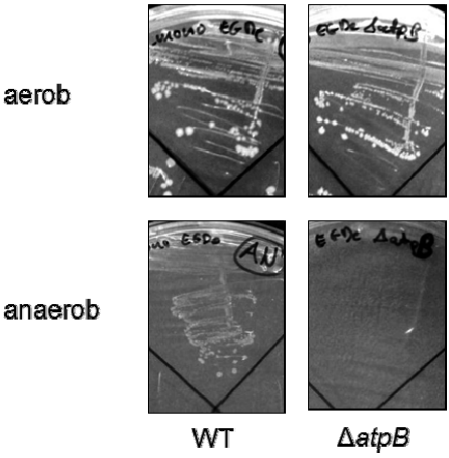


Abb. 2: Aerobes und anaerobes Wachstum von *L. monocytoge-nes* EGDe Wildtyp (WT) und der Deletionsmutante Δ*atpB* (Modifiziert nach Müller-Herbst *et al*., 2014). *atpB* codiert für die a Untereinheit (beteiligt am Protonentransport) der F_1F_0-ATPase. Fehlt diese wichtige Untereinheit des F_1F_0-ATPase-Komplexes, ist die F_1F_0-ATPase nicht mehr funktionsfähig. Die Mutante kann aerob wachsen, ist aber im Gegensatz zum WT nicht in der Lage, sich anaerob zu vermehren. Somit konnte nachgewiesen werden, dass die Expression einer funktionsfähigen F_1F_0-ATPase essentiell für das anaerobe Wachstum von *L. monocytenes* EGDe ist.

Untersucht wird eine Art-spezifische Anpassung verschiedener *Listeria* spp. (pathogene vs. nicht pathogene Art), eine Stamm-spezifische Anpassung (Stämme unterschiedlicher evolutionärer Linien), und eine Temperatur-abhängige Anpassung an die Sauerstoffverfügbarkeit.

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

Temperaturabhängige Anpassung des Stickstoffmetabolismus in *Listeria monocytogenes*

Temperature dependent adaptation of the nitrogen metabolism in Listeria monocytogenes

Daniela Kaspar, Jakob Schardt

Die Temperatur ist ein wichtiges Umweltsignal, welches dem Bakterium *L. monocytogenes* Informationen darüber vermittelt, ob es sich in der Umwelt (Temperaturen meist unter 30 °C) oder im Wirt (Wirtstemperatur ca. 37 °C) befindet, und es dem Bakterium so ermöglicht, sich optimal an die entsprechende ökologische Nische anzupassen. Ein Paradebeispiel für die Temperaturabhängige Anpassung ist die Expression von Virulenzgenen, die bei Wirtstemperatur deutlich verstärkt ist. Aber auch Anpassungen im bakteriellen Metabolismus erlauben es dem Bakterium, sich optimal an die jeweilige Nische anzupassen und die verfügbaren Nährstoffe optimal auszunutzen.

Wachstumsversuche in einem definierten Minimalmedium bei 24 °C (Umwelttemperatur) und 37 °C (Wirtstemperatur) mit Ammonium oder Glutamin als Stickstoffquelle ergaben, dass unter den gewählten *in vitro* Bedingungen Ammonium die bevorzugte Stickstoffquelle ist. Das verminderte Wachstum auf Glutamin im Vergleich zu Ammonium ist offensichtlicher bei 24 °C als bei 37 °C (Abb. 3).

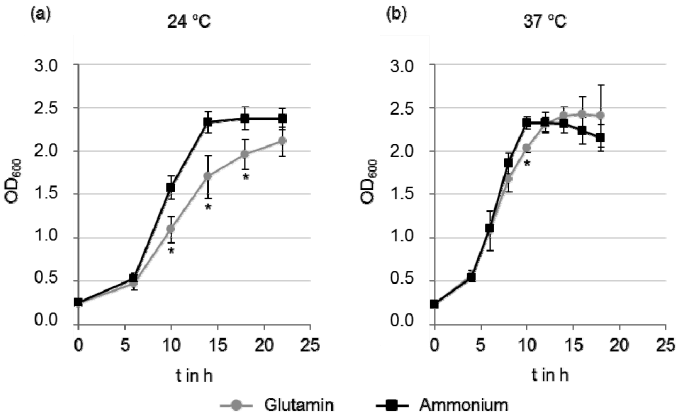


Abb. 3: Temperatur- und Stickstoffquellen-abhängiges Wachstum von L. monocytogenes EGDe (Modifiziert nach Kaspar et al., 2014). Untersucht wurde das Wachstum in einem chemisch definierten Minimalmedium mit Glutamin (graue Kurve) oder Ammonium (schwarze Kurve) als Stickstoffquelle bei 24 °C (a) oder 37 °C (b).

Globale Transkriptionsstudien mittels Microarray Analysen ergaben für *L. monocytogenes* Zellen, die in einem definierten Minimalmedium mit Glutamin als Stickstoffquelle bei 24 °C bzw. 37 °C inkubiert wurden, dass die am stärksten Temperatur-abhängig regulierten Gene solche sind, deren Produkte am zentralen Stickstoffmetabolismus beteiligt sind. Es handelt sich um die Gene *glnR* (codiert für den Glutamin Synthetase Repressor GlnR), *glnA* (codiert für die Glutamin Synthetase GlnA), *amtB* (codiert für den Ammonium-Transporter AmtB), *glnK* (codiert für das PII regulatorische Protein GlnK) und *gdh* (codiert für die Glutamat Dehydrogenase). Wenn die Zellen mit Ammonium als Stickstoffquelle angezogen wurden, konnte, unabhängig davon, ob die Zellen bei 24 °C oder 37 °C inkubiert wurden, eine Transkription dieser Gene vergleichbar zur Transkription von Zellen beobachtet werden, die mit Glutamin als Stickstoffquelle bei 37 °C angezogen wurden. EMSA(electrophoretic mobility shift assays)-Studien und qPCR Analysen im WT *L. monocytogenes* und der Deletionsmutante *L. monocytogenes* Δ*glnR* zeigten auf, dass der Regulator GlnR direkt an der Regulation der Temperatur- und Stickstoffquellen-abhängigen Transkription der Stickstoffmetabolismusgene beteilgt ist (Kaspar *et al*., 2014). Auf welche Weise genau die Temperatur und Stickstoffquelle als Umweltsignal wahrgenommen werden, und wie die Transkriptionsregulation vermittelt wird, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt unklar. Unwahrscheinlich erscheint in *L. monocytogenes*, dass Glutamin, ein Metabolit, für den aus anderen Mikroorganismen bekannt ist, dass er die GlnR Aktivität reguliert, der (alleinige) intrazelluläre Faktor ist, der die Temperatur- und Stickstoffquellen-abhängigen Regulation des Stickstoffmetabolismus steuert.

Dieses Projekt wurde zum Teil über das Forschungsvorhaben AiF_15835 N im „Programm zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Arbeitsgruppe: Neue Gene und ihre Regulation auf Einzelzellebene in pathogenen *Escherichia coli*

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

Um sich an ihre Umwelt anzupassen haben Bakterien verschiedene Strategien entwickelt. Zum einen können alternative Gene verwandt werden, zum anderen muss die Genregulation der aktuellen Situation angepasst werden.

DNA kann, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort mehr als einen offenen Leseraster tragen. Diese überlappenden offenen Leseraster scheinen eine Kodierungsreserve für die Organismen darzustellen. Trotzdem sind beschriebene überlappende Gene aus Bakterien vergleichsweise rar. Ein Projekt widmet sich überlappenden und neuen Genen, die für pathogene *Escherichia coli* wichtig sind.

Des weiteren unterliegt die Genregulation einer einzelnen Bakterienzelle starken stochastischen Schwankungen, die bei der üblichen Messung von Bakterienpopulation nicht erfasst werden. Diese Effekte sind möglicherweise mit ein Grund für sogenannte „Persister“ – Bakterien die eine Antibiotika-Behandlung überleben ohne resistent zu sein. Daher entwickeln wir entwickeln Methoden um die transkriptionelle Aktivität von Einzelzellen messen zu können.

Unsre Arbeiten konzentrieren sich auf 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 DFG Schwerpunkts InKoMBio SPP 1395. Hier kooperieren wir mit dem Lehrstuhl „Datenanalyse und Visualisierung“ von Prof. D. Keim an der Universität Konstanz und dem Lehrstuhl “Nachrichtentechnik“ von Prof. M. Bossert an der Universität Ulm.

Charakterisierung überlappender Gene in EHEC & verbesserte Annotation vom EHEC-Genom

Characterization of overlapping genes in EHEC & genomic re-annotation of EHC

Lea Fellner

Bisher wurden nur wenige überlappende Gene in Bakterien experimentell nachgewiesen und genauer charakterisiert. Um neue Kandidaten für überlappende Gene in EHEC phänotypisch zu untersuchen wurden vielversprechende offene Leserahmen ausgewählt und translational arretierte Knockoutmutanten hergestellt. Diese Mutanten wurden in kompetitiven Wachstumsversuchen unter ca. zwanzig verschiedenen Bedingungen eingesetzt. Einzelne Mutanten haben in bestimmten Bedingungen unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeiten. Die beobachteten Phänotypen wurden in dualen kompetitiven Wachstumsversuchen, d.h. eine Mutante gegen den unveränderten Wildtyp, verifiziert. Außerdem wurden Metabolom-Messungen an den Mutanten durchgeführt. Diese Versuche zeigten einen wenn auch schwachen, so doch signifikanten phänotypischen Einfluss der untersuchten Gene.

Bei einigen Genen wurden die Promoterregionen mit transkriptionalen GFP-Fusionen untersucht. Die Promoteraktivität konnten für einige der Gene unter spezifischen Bedingungen bestätigt werden. Es zeichnet sich ab, dass manche der überlappende Gene in Operons kodiert sein könnten. Unseren Versuchen nach haben überlappende Gene schwache, aber nachweisbare Funktionen unter bestimmten Bedingungen und könnten damit der Ausgangspunkt für genetische adaptive Veränderungen von Bakterien sein.

Experimentelle Charakterisierung nicht-annotierter, überlappender Gene in EHEC
Experimental characterization of non-annotated overlapping genes in EHEC
Sarah Hücker

Eine erstaunliche Zahl von mehr als 7.000 offene Leserahmen im EHEC-Genom, die mit annotierten Genen überlappen, weisen signifikante Homologien zu bekannten Genen in anderen Organismen auf. Doch werden diese überlappenden offenen Leserahmen auch als Gen exprimiert? Zur Untersuchung wurden zwei bakterielle Wachstumsbedingungen miteinander verglichen: Wachstum bei 37°C, was der menschlichen Körpertemperatur entspricht, und Wachstum bei 14°C sowie reduzierter Wasseraktivität, was eher Umweltbedingungen darstellt. Mittels Strang-spezifischer Transkriptom-Sequenzierung wurde untersucht, welche überlappenden Gene in RNA übersetzt werden. Ob die Gene auch translational aktiv sind und somit wahrscheinlich für ein Protein kodieren, wurde durch Sequenzierung von mRNA-Fragmenten ermittelt, die durch Ribosomen vor enzymatischem Abbau geschützt sind (ribosomal footprints). Bei dieser neuen Methode wird nur mRNA sequenziert, die sich innerhalb eines Ribosoms befindet, also gerade in ein Protein translatiert wird (RiboSeq). Für zahlreiche überlappende Gene konnten nicht nur Transkriptom-, sondern auch Translatomsignale nachgewiesen werden. Ein offener Leserahmen der RiboSeq-Signale aufweist ist ein starker Hinweis darauf, dass das die überlappende offenen Leserahmen in der Tat Protein-kodierend sind und damit Gene darstellen.

Evolution von neuen Genen durch *overprinting*
Evolution of novel genes via overprinting
Sonja Vanderhaeghen

Seit überlappende Gene in den 70er Jahren entdeckt wurden, wurden einige von ihnen von Forschungsgruppen in Phagen, Viren, Prokaryoten und Eukaryoten identifiziert, klassifiziert und funktionell untersucht. Es scheint, dass die überlappenden Gene eine wesentliche Rolle bei der *de novo* Gen-Entstehung spielen könnten. Sie entstehen vermutlich aus bislang nicht-kodierenden offenen Leserahmen, die sich - bedingt durch alternative Leseraster - in allen Genen befinden. So kann eine vorhandene DNA-Sequenz für ein weiteres Protein kodieren. Dieser hypothetische Prozess wird *overprinting* (Überdrucken) genannt. Ein Sonderfall der überlappenden Gene sind programmierte translationale Leserasterverschiebungen. An einer vorherbestimmten Stelle rutscht ein Ribosom in einem regulierten Prozess in ein anderes Raster um ein alternatives Protein (Proteoform) zu erzeugen.

In der Vergangenheit wurden computergestützte und statistische Modelle entwickelt, die fähig sind terminale und eingebettete überlappende Gene vorauszusagen, um ihre Evolution zu verstehen. Problematisch ist hierbei die fehlende Unterscheidung zwischen trivialen (kurzen) Überlappungen und nicht-trivialen bei denen z.B. ein Gen vollständig in einem anderen eingebettet ist. Wie und auf welchem Weg das neue, überlappende kodierte Protein-Produkt in der Zelle funktionell werden kann ist unverstanden. Die neue Protein-Sequenz wird, wenigstens zum Teil, vom bereits funktionalen Muttergen festgelegt und unterliegt damit Einschränkungen.

Optimierung der Zuverlässigkeit von Transkriptomsequenzierungen um die Individualität von Einzelzellen zu erfassen
Improving the reliability of RNAseq: Approaching single-cell transcriptomics to explore individuality in bacteria (IRseq)
Richard Landstorfer

Transkriptome von Bakterienpopulationen können mittels moderner *next generation sequencing* Methoden (RNAseq) relativ einfach erzeugt werden. Dabei wird die Expression aller bekannten (und auch neuer) Gene eines Organismus simultan unter verschiedenen Bedingungen analysiert. Ein Nachteil dieser neu entwickelten Methode ist die vergleichsweise hohe Schwankungsbreite der gemessenen Expression, die während der Herstellung der Sequenzierbibliothek verursacht wird. Dafür ist vor allem die PCR verantwortlich, die in Kopierprozess Verschiebungen in den Mengenverhältnissen der RNA-Fragmente zueinander verursacht. In Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Informationstheorie von der Universität Ulm haben wir eine Barcode-Strategie entwickelt, die es uns ermöglicht, diesen PCR-Effekt zu korrigieren. Dabei werden kurze DNA-Barcodes vor der PCR an die zu sequenzierenden DNA-Fragmente angesetzt. Nach der PCR können die PCR-Duplikate, d.h. identische PCR-Fragmente mit identischem Barcode, herausgerechnet werden.

Diese neue Methode ermöglicht es uns zusätzlich, die PCR-Amplifikation über den üblichen Bereich hinaus zu betreiben. Dadurch können wesentlich geringere Mengen an RNA eingesetzt werden, was es uns wiederum erlaubt, Transkriptome von kleinen Zellpopulationen und sogar Einzelzellen zu sequenzieren. Einzelzellsequenzierungen des Transkriptoms von Säugerzellen wurden schon beschrieben, waren aber Aufgrund der viel geringeren RNA-Menge in prokaryotischen Zellen bei Bakterien bisher nicht möglich. Die neuen Möglichkeiten eröffnen die Sequenzierung von bakteriellen Transkriptomen unter interessanten Umweltbedingungen. Bisherige Sequenzierexperimente waren auf die Analyse von Laborbedingungen beschränkt, denn der limitierende Faktor war die Gewinnung ausreichender RNA-Mengen aus einer größeren Mindestzellzahl.

Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Stoffwechsel von Enteropathogenen bei der Besiedelung von Darmnischen
Microbial metabolism relevant for gut niche occupation
Lena Staib, Nicoletta Nolle

Enteropathogene Bakterien benötigen ausreichend Nährstoffe, um im Darm zu proliferieren, Virulenzfaktoren zu exprimieren, sich der Immunabwehr des Wirtes zu erwehren, die Epithelschicht zu kolonisieren und sich in neue Wirte auszubreiten. Bei der Nährstoffversorgung stehen sie einer starken Konkurrenz in Form der kommensalen Mikrobiota gegenüber. Über spezifische metabolische Eigenschaften gelingt es ihnen dennoch, sich ausreichend mit Kohlenstoff-, Stickstoff- und Energiequellen zu versorgen. Metabolische Fähigkeiten werden häufig durch distinkte chromosomale Regionen, sog. genomische Inseln, vermittelt und erhöhen das Potential von Bakterien, bislang unbesiedelte Nischen innerhalb eines Wirtes zu erobern. Das Verständnis des Metabolismus von pathogenen Bakterien dient somit der Prophylaxe und Bekämpfung von Infektionskrankheiten.

In aktuellen Projekten innerhalb des GRK 1482 („Interface function of the intestine between luminal factors and host signals“) und der Nachwuchsgruppe“ Microbe-host interaction“ am ZIEL beschäftigen wir uns daher mit der Fähigkeit von Salmonellen, ubiquitär im Säugetierdarm und in Lebensmitteln vorkommenden Verbindungen wie Zuckeralkohole, Ethanolamin und 1,2-Propandiol abzubauen (Abb. 1).

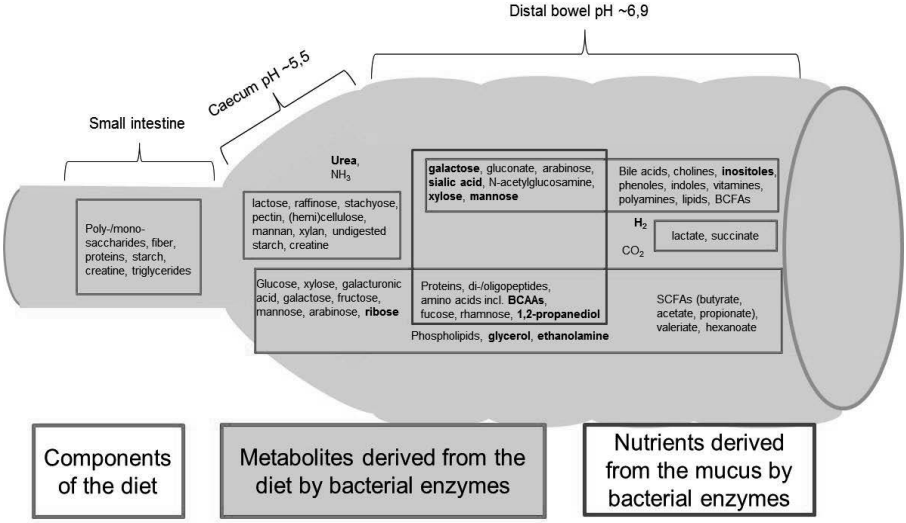


Abb. 1: Nährstoffverfügbarkeit im Darm. Die Abbildung fasst diejenigen Nährstoffe zusammen, die potentiell für die Vermehrung kommensaler und pathogener Bakterien bereitstehen. Die Substrate entstammen direkt der aufgenommenen Diät (grüne Box), der durch bakterielle Enzyme aufgeschlossenen Nahrung (rote Box), oder den Glykanen der Mukusschicht (blaue Box). Der Mukus ist in beiger Farbe hervorgehoben. Magen und Darm von Mäusen und Ratten besitzen eine zweischichtige Glykokalyx mit einer inneren Mukusschicht mit einer Stärke von 50-100 µm, die kovalent mit Epithelzellen verbunden ist, und eine äußere Schicht von bis zu 800 µm. Der entsprechende Monolayer des Dünndarms erreicht eine Dicke von 150-300 µm (Staib&Fuchs, 2014).

Die für den Metabolismus von Ethanolamin und 1,2-Propandiol benötigten Gene kommen nur in wenigen pathogenen Bakterien vor, interessanterweise auch in den Lebensmittelpathogenen *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* und *Clostridium perfringens*. Um einen Selektionsvorteil gegenüber der kommensalen Darmflora aus dem Metabolismus von 1,2-Propandiol und Ethanolamin zu erreichen, bedarf es des Elektronenendakzeptors Tetrathionat, welcher die anaerobe Atmung ermöglicht. Ethanolamin ist ein Abbauprodukt von Phospholipiden, wie Phosphatidylcholin, welches in bakteriellen, tierischen und pflanzlichen Zellmembranen vorliegt. Der Abbau dieser Substanz durch Salmonellen wurde jüngst näher charakterisiert, wobei auch die Relevanz dieses Metabolismus während des Salmonellen-Wachstums in Lebensmitteln und in Nematoden untersucht wurde (Srikumar & Fuchs, Appl. Environ. Microbiol. 2010, 77:281-290). Bei 1,2-Propandiol handelt es sich um ein Endprodukt aus der Fermentation von L-Fucose und L-Rhamnose. L-Fucose und L-Rhamnose sind in pflanzlichem Material zu finden. Des Weiteren liegt L-Fucose im Darm als endständiger Zucker der Glykokonjugate (stark glykosylierte Proteinkerne) der Mukusschicht vor.

Außerdem beschäftigen wir uns mit der Aufnahme und Verwertung von Zuckeralkoholen, wodurch Salmonellen bei der Besetzung von Darmnischen einen weiteren metabolischen Selektionsvorteil erreichen können. Die molekularbiologische Charakterisierung der entsprechenden Stoffwechselwege im Hinblick auf ihre Bedeutung während der Proliferation von Bakterien im Darm und in Lebensmitteln ist mittlerweile weitgehend abgeschlossen.

Der *myo*-Inositol-Metabolismus von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Myo-inositol metabolism of Salmonella enterica serovar Typhimurium

Johannes Rothhardt, Jessica Hellinckx, Angela Felsl

Die Enteritis-Salmonellosen des Menschen gehören zu den bedeutendsten Infektionskrankheiten des Gastrointestinaltrakts. Erfreulicherweise hat sich die Zahl der dem Robert Koch-Institut gemeldeten Fälle seit 2006 etwa halbiert. Im Jahr 2013 wurden aber immer noch mehr als 20.000 Fälle bekannt, wobei die Anzahl der nicht registrierten Erkrankungen vermutlich deutlich höher liegt. Die durch eine Vielzahl verschiedener Salmonellen induzierten Infektionen werden häufig durch die Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel ausgelöst. Die meisten Salmonellen überdauern subklinisch bzw. symptomfrei in verschiedenen landwirtschaftlich genutzten Tierarten und lösen erst beim Menschen typischerweise eine Gastroenteritis oder, in sehr wenigen Fällen, eine systemische Infektion aus. Obwohl Salmonellen zu den sehr gut untersuchten Modellpathogenen zählen, ist es noch weitgehend ungeklärt, welche Nährstoffe ihnen während der Infektion zum Wachstum zur Verfügung stehen, und welche spezifischen, zu ihren Virulenzeigenschaften beitragenden Stoffwechselwege sie dabei für ihre Proliferation aktivieren.

Ein Beispiel hierfür ist die Nutzung von *myo*-Inositol als Kohlenstoff- und Energiequelle durch *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium). Die „metabolische Insel" GEI4417/4436 trägt die für den Abbau benötigten *iol*-Gene. In den letzten Jahren konnten wir die komplexe Regulation der *iol*-Gene entschlüsseln, indem wir die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisierten. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnte der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, charakterisiert werden (Kröger & Fuchs, J. Bacteriol. 2009, 191:545-554). Außerdem gelang in Zusammenarbeit mit Jürgen Stolz (ZIEL, Abteilung Biochemie) die Identifizierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol, dessen Regulation, Expression und Aktivität detailliert bestimmt wurden (Kröger *et al*., Microbiology. 2010, 156:128-138). Zuletzt charakterisierten wir einen neuartigen, für den *myo*-Inositol-Abbau essentiellen Transkriptionsfaktor (Abb. 2). Dieser Faktor, den wir als Aktivator einzelner *iol*-Gene identifizieren konnten und ReiD nannten, ist auch insofern einzigartig, als er in anderen Bakterien bislang nicht gefunden werden konnte. Derzeit entschlüsseln wir im Detail die hoch komplexe Regulation des Inositolabbaus.

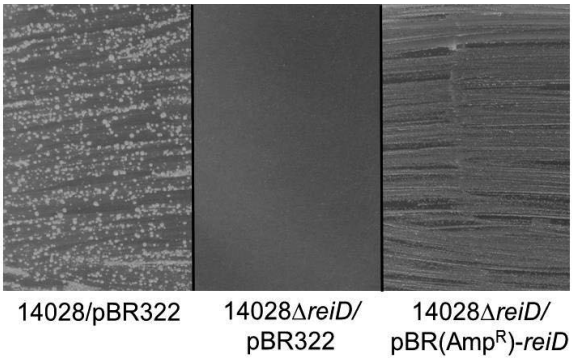


Abb. 2: Wachstum von S. Typhimurium auf Agarplatten mit Inosit als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle. Links: Wildtypischer Phänotyp, der eine ausgeprägte Heterogenität der Koloniebildung zeigt. Mitte: Der Transkriptionsfaktor ReiD ist essentiell für das Salmonellen-Wachstum unter diesen Bedingungen. Rechts: Die Komplementierung der reiD-Deletionsmutante erlaubt wieder das Wachstum, allerdings hebt die leichte Überexpression des Aktivators die Bistabilität auf (Rothhardt et al., 2014).

Ein auffälliges Charakteristikum des Wachstums von *S.* Typhimurium auf *myo*-Inositol ist die außergewöhnlich lange Verzögerungsphase von etwa zwei Tagen bis zum Beginn des exponentiellen Wachstums. Diese Verzögerungsphase kann jedoch durch Deletion des Repressors IolR oder die Zugabe von Hydrogenkarbonat, wodurch ein Darmmilieu simuliert wird, wieder aufgehoben wird.

Als weitere bemerkenswerte Eigenschaft wurde ein bistabiler Phänotyp von *S.* Typhimurium beim Wachstum mit *myo*-Inositol als alleiniger Kohlenstoff- und Energiequelle beobachtet (Kröger *et al*., J. Bacteriol. 2011, 193:1427-1435; Abb. 2). Diese bakterielle Heterogenität konnte durch FACS-gestützte Analyse kausal mit der bistabilen Expression desjenigen Promoters, der die Expression der initialen *myo*-Inositol-abbauenden Enzyme steuert, korreliert werden. Der Schwerpunkt unserer derzeitigen Arbeiten auf diesem Gebiet liegt auf der detaillierten Analyse der molekularen Vorgänge, die dem heterogenen Phänotyp der *myo*-Inositol-degradierenden Salmonellen zugrunde liegen. Insbesondere möchten wir Phänomene wie Bet-hedging und Hysterese nicht zuletzt auch mittels mathematischer Modellbildung besser verstehen lernen.

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**

Tanja Kern

Die meisten bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, jedoch können *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii* bei Mensch und Tier gastrointestinale Beschwerden hervorrufen. In seltenen Fällen, insbesondere bei immunsupprimierten und älteren Menschen, kann es aber auch zu schweren invasiven Verläufen mit eitrigen Entzündungen von Hirnhaut und Gehirn (Enzephalomeningitis) oder Totgeburten bei Schwangeren kommen. *L. monocytogenes* ist vor allem in der Lebensmittelindustrie gefürchtet, weil es sich in Obst, Gemüse, Fisch und vor allem Milch- und Fleischprodukten auch bei niedrigen Temperaturen vermehren kann und damit die Schutzfunktion der Kühlung umgeht. 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 phagozytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagozytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Zytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intrazytoplasmatische Lebensweise ist die Folge von einer Reihe metabolischer Anpassungen des Pathogens, die von uns charakterisiert wurden (Schauer *et al*., BMC Genomics 2010, 11:573; Fuchs *et al*., FEMS Microbiol. Rev. 2012, 36:435-462). Insbesondere wurden hierbei Gene identifiziert, die für die intrazelluläre Lebensphase von *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind. Dazu zählen Spezies-spezifische Transportproteine und für an spezifischen Stoffwechselwegen beteiligte Enzyme. Ein Beispiel ist die Verwertung des im Zytosol durch den Abbau von Phospholipiden oder Triglyceriden freigesetzten Glycerins, das während des intrazellulären Wachstums alternativ zu Glukose als C-Quelle dient. Außerdem sind intrazellulär lebende Listerien von der *de novo* Biosynthese einiger Aminosäuren wie Tryptophan, Isoleucin, Leucin, Valin und Arginin sowie von der Aufnahme von Thiamin-Vorläufern abhängig (Josep et al., J. Bacteriol. 2006, 188:556-568; Schauer et al., J. Bacteriol. 2009, 191:2218-2227).

Unsere Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Zytosol auf die Fähigkeit des Pathogens zurückgeht, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen. In Zusammenarbeit mit Wolfgang Eisenreich (Lehrstuhl für Biochemie der Technischen Universität München, Garching) wurden umfangreiche Untersuchungen zum Kohlenhydrat-Metabolismus von *L. monocytogenes* durchgeführt. Hierbei wurden die metabolischen Flüsse *in vitro* und während der Infektion von Epithelzellen mittels der ^{13}C-Isotopologen-Analyse gemessen und analysiert (Abb. 3).

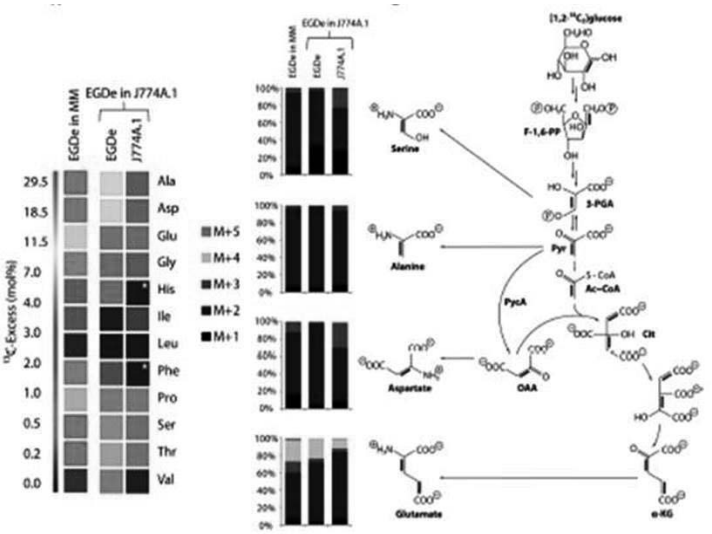


Abb. 3: 13C-Isotopologen-Profilanalyse. Listerien werden in Medien kultiviert, die z. B. 13C-markierte Glukose oder Glycerol enthalten. Nach dem Ernten werden die bakteriellen Zellen aufgeschlossen und ihre Proteine in Aminosäuren hydrolysiert. Diese werden anschließend via GC/MS analysiert. Die 13C-Einbauraten und die Markierungsmuster erlauben Rückschlüsse auf metabolische Flüsse (Grubmüller et al., 2014).

Im Mittelpunkt stand dabei die Fragestellung, in welchem Ausmaß welche Kohlenstoffquellen in den Anabolismus oder den Katabolismus der Listerienzelle einfließen, und welche Stoffwechselwege hierfür genutzt werden.

Insektizide Aktivität von *Yersinia enterocolitica*
***Insecticidal activity of* Yersinia enterocolitica**
Katharina Brauer, Mandy Starke

Die Gruppe der Yersinien umfasst mindestens 15 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. Während die für den Menschen krankheitsauslösenden Faktoren des Pathogens mittlerweile gut untersucht sind, ist über die Molekularbiologie der Vermehrung von Yersinien außerhalb des Menschen noch vergleichsweise 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. Als notwendige Grundlage für eine solche Untersuchung wurde von uns das komplette Genom des Stammes *Y. enterocolitica* W22703 sequenziert, annotiert und analysiert (Fuchs *et al*., BMC Microbiology 2011, 12:168). Besonders bemerkenswerte Ergebnisse waren die Identifikation eines neuen Typ 3-Sekretionssystems sowie die Charakterisierung einer artspezifischen Zone hoher genomischer Flexibilität.

Der Stamm *Y. enterocolitica* Stamm W22703 trägt außerdem eine temperaturregulierte Pathogenitätsinsel, die so genannte TC-PAI$_{Ye}$ (*toxin complex pathogenicity island of Y. enterocolitica*), deren Gene für insektizide Toxinkomplexe (Tc) kodieren (Abb. 4). Diese werden nur bei Umwelttemperaturen produziert, während ihre Transkription bei 37°C vollständig reprimiert ist. Die Tc-Proteine kommen auch in dem mit Nematoden assoziierten, gegenüber Insektenlarven hochpathogenen Bakterium *Photorhabdus luminescens* vor. Obwohl von *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* bereits länger entsprechende Genomdaten 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 (Bresolin *et al*., Mol. Microbiol. 2006, 59:503-512). Überraschenderweise zeigen die *Yersinia*-Arten und -Stämme eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential (Fuchs *et al*., BMC Microbiology 2008, 8:214). 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 (ZIEL, Abteilung Biochemie) konnten die Kolonisierung und die Proliferation von *Y. enterocolitica* W22703 in *C. elegans* sowie die Expression des insektiziden Toxins *tcaA* im Nematoden nachgewiesen werden (Spanier *et al*., Appl. Environ. Microbiol. 2010, 76:6277-6285).

Mit Hilfe des Luziferase-Reportersystems sowie durch den Knockout verschiedener globaler *Yersinia* Transkriptionsregulatoren haben wir jüngst die molekularen Mechanismen, die der kälteinduzierten Expression der *tc*-Gene sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zugrunde liegen, aufgeklärt (Starke *et al*., 2013; Starke&Fuchs, 2014).

Hierbei wurde ein neuartiger, LysR-artiger Transkriptionsfaktor als Schlüsselfaktor für die Aktivierung der *tc*-Gene bei niedrigen Temperaturen identifiziert. TcaR2 ist autoreguliert,

bindet an verschiedene Promotoren der Pathogenitätsinsel und ist bei 37°C instabil. Gleichzeitig wirkt ein Komplex aus dem DNA-bindenden Faktor H-NS und dem sog. „*Yersinia* modulator of virulence“ repressorisch auf die Expression der *tc*-Gene. Mit abnehmender Temperatur hingegen stabilisiert sich TcaR2, dessen Produktion dadurch gesteigert wird, während der H-NS/YmoA-Komplex zunehmend an Funktionalität verliert (Abb. 4).

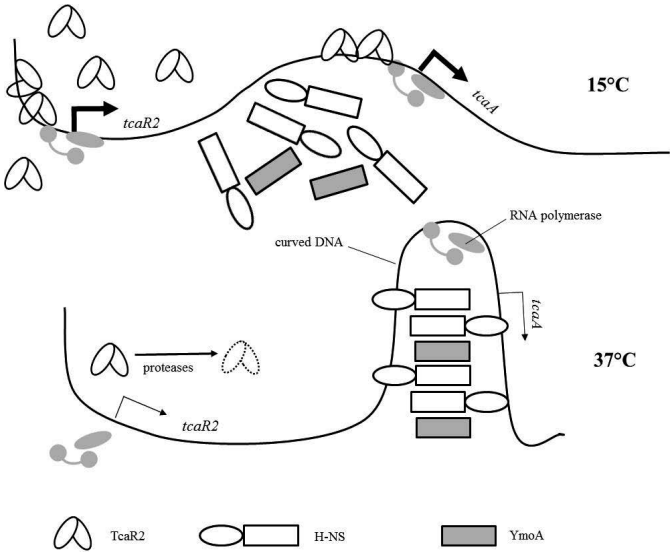


Abb. 4: Modell der temperaturabhängigen Regulation der insektiziden Aktivität. Der autoinduzierte Faktor TcaR2 aktiviert bei 15°C die tcaA-Transkription. Unter diesen Umständen dominiert TcaR2 seinen Gegenspieler, den repressorischen Komplex aus H-NS und YmoA, da die Tetramerisierungsrate von H-NS mit der Temperatur abnimmt. Bei 37°C jedoch wird TcaR2 proteolytisch abgebaut, und die Transkription von tcaR2 wird reduziert. Auf der anderen Seite steigt die intrazellluläre Konzentration an funktionalem H-NS/YmoA-Komplex, wodurch die Transkription von tcaR2 und tcaA blockiert wird (aus: Starke & Fuchs, 2014).

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.

Forschungsprojekt: Entwicklung einer routinetauglichen Quantifizierungsmethode von Cereulid aus *B. cereus* und Studien zur Bildung und Stabilität des Toxins in Lebensmitteln

Genia Lücking, Elrike Frenzel[1], Timo Stark[2], Andrea Rütschle, Sandra Marxen[2], Monika Ehling-Schulz[1], Thomas Hofmann[2], Siegfried Scherer

[1] Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Funktionelle Mikrobiologie
[2] Technische Universität München, WZW, Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik

Ausgangssituation: Emetische *Bacillus cereus*

Europaweit ist eine Zunahme von Lebensmittelvergiftungen zu verzeichnen, die auf bakterielle Toxine zurückgehen. Der EFSA-Report vom April 2009 gibt eine 42 %ige Zunahme der durch *Bacillus*-Toxine verursachten Erkrankungen innerhalb der EU an. Die Bedeutung von *Bacillus cereus* für die Lebensmittelindustrie steigt massiv, 1998-2000 war *B. cereus* bereits an bis zu 60 % der Ausbrüche von Lebensmittelvergiftungen in Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen beteiligt. In den letzten Jahren häufen sich Berichte über durch das Toxin Cereulid verursachte Intoxikationen. Die Aufnahme des Toxins über ein kontaminiertes Lebensmittel verursacht im besten Fall ein Erbrechenssyndrom, kann jedoch auch schwerwiegende Erkrankungen auslösen, die eine Hospitalisierung erfordern und in Ausnahmefällen sogar tödlich verlaufen. Auffällig sind hohe Inzidenzraten, häufig erkranken 100 % der Konsumenten.

Ein schnelles, akkurates und kostengünstiges Nachweisverfahren für das Toxin Cereulid existiert bislang nicht. Es ist außerdem derzeit nur unter erheblichem Aufwand möglich zu bestimmen, ob eine *B. cereus*-Kontaminante in einem Lebensmittel ein starker oder nur ein schwacher Toxinbildner ist. Genau diese Kenntnis ist jedoch Voraussetzung, um zu entscheiden, wie ein Be-trieb im relativ häufigen Fall einer Belastung mit *B. cereus* reagiert. Aus diesem Grund müssen matrixunabhängige Bestimmungsverfahren entwickelt werden, die für den Einsatz in der Routi-neanalytik geeignet sind und der mittelständischen Industrie eine objektive, analytische Be-wertung der Konzentration und Toxizität von Cereulid im gegebenen Lebensmittel zu ermögli-chen. Aufgrund der Stabilität und ausgeprägten biologischen Aktivität von Cereulid wären Prä-ventionsstrategien zur Hemmung der Toxinproduktion wichtig. Zu diesem Zweck muss jedoch bekannt sein, wie die Synthese des Toxins reguliert wird und welche Lebensmittelzusatz- bzw. Inhaltsstoffe die Toxinbildung hemmen oder möglicherweise sogar stimulieren.

Ziel des Forschungsvorhabens ist die Entwicklung eines schnellen und sicheren Analyseverfahrens zur Konzentrationsbestimmung und zur objektiven Bewertung der Toxizität von Cereulid und dessen Strukturvarianten in Lebensmitteln.

Forschungsergebnisse

Im Rahmen des Projektes wurde die Stabilisotopenverdünnungsanalyse für die Quantifizierung von Cereulid in mehreren Punkten optimiert: die Extraktionszeit signifikant und die Messzeit auf unter 1 min verkürzt, sowie eine Empfindlichkeitssteigerung um ca. Faktor 10 erreicht. Die erfolgreiche Validierung der Extraktions- und Messmethode erfolgte im Rahmen der Beteiligung zur Erstellung einer einheitlichen Quantifizierungsmethode durch das Europäische Komitee für Normung (CEN). Mittels UPLC-TOF-MS Messung, präparativer und analytischer HPLC war es möglich 18 Strukturhomologe von Cereulid zu identifizieren und sieben zu isolieren. Es konnten vier Varianten (Variante a-d) bestimmt werden, bei denen im Vergleich zu der Struktur von Cereulid der Austausch einer α-Hydroxysäure oder Aminosäure erfolgte. Für die Varianten f und g konnte gezeigt werden, dass sie aus denselben Dipeptiden wie Cereulid aufgebaut sind, diese jedoch zum einen in anderen Verhältnissen und zum anderen in einer anderen Anordnung (Sequenz der Amino- und Hydroxysäuren) vorliegen. Variante e zeigte im Vergleich zu Cereulid den Austausch einer α-Hydroxysäure kombiniert mit einem anderen Verhältnis der Dipeptide. Mit Hilfe von zwei Aktivitätstests (HEp-2 Cytotoxizität und Membranleitfähigkeit) wurde die Toxizität von den Varianten im Vergleich zu Ce-

reulid ermittelt. Varianten b-e und g erwiesen sich als geringer toxisch und Varianten a und f zeigten eine 8-fach höhere Toxizität als Cereulid. Für die Quantifizierung von Cereulid in Kombination mit sieben Stukturhomologen (Variante a-g) wurde die vorhandene Messmethode ausgebaut.

Zur Aufklärung der zellulären Lokalisation von Cereulid wurde der Toxingehalt in verschiedenen Zellfraktionen quantitativ bestimmt sowie Extraktionsversuche mit unterschiedlichen Lösungsmitteln durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass Cereulid vorwiegend in großen Zellbruchstücken vorhanden ist und sich effektiv von Zelloberflächen isolieren lässt, woraus zu schließen ist, dass sich ein großer Teil des produzierten Cereulids an der Außenseite von *B. cereus* Zellen befindet. Auch von aufgereinigten Sporen konnte Cereulid extrahiert werden, womit sowohl Sporen als auch vegetative Zellen von *B. cereus* als Toxinträger in Frage kommen und bei der Verbreitung des Toxins, z.B. auch im Lebensmittelproduktionsumfeld, eine wichtige Rolle spielen können.

Im Rahmen des Projekts konnte der Transkriptionsfaktor CodY als ein zentraler Regulator der Toxinbildung identifiziert werden. CodY vernetzt direkt den Primärstoffwechsel der Zellen mit der Toxinbiosynthese. Verzweigtkettige Aminosäuren erwiesen sich hierbei als Schlüssel-Metabolite. Diese Erkenntnis wurde genutzt, um die Cereulid-Ausbeute für Strukturanalysen und für die Untersuchung der unterschiedlichen Cytotoxizität von Cereulid-Strukturvarianten zu erhöhen. Ein neu generierter monoklonaler Antikörper gegen die Cereulidsynthetase liefert einen Ansatzpunkt zur Entwicklung ELISA-basierter Nachweissysteme. Ein Referenzset bestehend aus 80 emetischen *B. cereus* Stämmen wurde zusammengestellt und das Cereulidbildungsvermögen der Stämme mittels UPLC-ESI^{+}-TOF-MS erfolgreich in Hoch-, Mittel- u. Niedrigproduzenten eingeteilt. Begleitend durchgeführte Metabolom-Studien zeigten, dass sich hochtoxische und schwach toxische Stämme in ihren metabolischen Kapazitäten unterscheiden. Dies liefert die Möglichkeit, zukünftig ausgewählte Referenzmetabolite zur Bestimmung hoch- und niedrig-toxinogener Stämme heranzuziehen.

Zur Identifizierung möglicher Cereulidsynthese-hemmender Substanzen wurde die Wirkung von Lebensmittelzusatzstoffe und Einzelsubstanzen pflanzlicher Herkunft auf das Wachstum und die Cereulidproduktion von *B. cereus* untersucht. Ca. die Hälfte der getesteten Substanzen zeigte das Potential Bakterienwachstum und/oder die Cereulidproduktion zu hemmen, allerdings war die Wirkung der meisten Substanzen in komplexen Lebensmitteln geringer bzw. produktspezifisch.

Wirtschaftliche Bedeutung des Projektes

Die Ergebnisse werden insbesondere für die deutsche Milch erzeugende sowie Milch verarbeitende Industrie und für ihre Zulieferer, wie z.B. Gewürz-, Gemüse- und Kakaohersteller, sowie für Produzenten von Tiernahrungsmitteln, Lebensmittelzusatzstoffen und Hersteller diätetischer Lebensmittel von Relevanz sein.

Die erzielten Forschungsergebnisse des Projektes, insb. die SIDA-UPLC-MS/MS Methodenoptimierung und Validierung, ermöglicht den quantitativen Nachweis des hitzestabilen emetischen Toxins Cereulid in Lebensmitteln und somit eine bessere Abschätzung des Risikopotentials von mit *B. cereus* kontaminierten Produkten. Durch die Identifizierung von teilweise bis zu 8-fach toxischeren Strukturvarianten, besteht nun die Möglichkeit, das Gefährdungspotential durch emetischen *B. cereus* besser verstehen und erfassen zu können.

Die Untersuchungen der Regulationsmechanismen der Cereulidproduktion auf enzymatischer, molekularer, Proteom- sowie Metabolom-Ebene liefern äußerst wichtige Daten und Einblicke zum Verständnis der Cereulid-Synthese. Diese Erkenntnisse werden langfristig zur Verbesserung von Qualitätskonzepten beitragen, da sie als Meilenstein einer heutzutage angestrebten „Risiko-orientierte Diagnostik“ im Gegensatz zur derzeit standardisierten „taxonomisch-orientierten Diagnostik“ gewertet werden können. Eine aktuelle Auseinandersetzung zum Thema Verbesserungskonzepte in der *B. cereus*-Diagnostik ist einem Review von Ehling-Schulz und Messelhäusser zu entnehmen (siehe Publikationen). In einem umfangreichen Hemmstoffscreening wurden Lebensmittelzusatzstoffe und andere Substanzen ermittelt, welche das Wachstum und die Cereulidproduktion unter Laborbedingungen und teilweise auch im Lebensmittel selbst inhibieren. Diese Daten können zur Entwicklung von Präventionsstrategien dienen, um z.B. durch Rezepturänderungen die Toxinproduktion in besonders gefährdeten Lebensmitteln zu hemmen und somit die Produktsicherheit zu erhöhen. Die etablierte UPLC-TOF-MS Screening Methode erlaubt eine schnelle Eingruppierung der emetischen Stämme von *B. cereus* in Hoch-, Mittel- und Niedrigtoxinproduzenten, was die Risikoabschätzung und das Gefährdungspotential von kontaminierten Lebens- und Futtermitteln für die Produzenten beschleunigt und erleichtert.

Begleitende Untersuchungen zur effektiven Neutralisation von Cereulid bilden die Grundlage zur Etablierung von Detoxifikationsstrategien von Cereulid in Lebensmitteln. Kleine und mittelständische Unternehmen können hierdurch eigene langwierige und kostenintensive mikrobiologische Untersuchungen reduzieren.

Forschungsprojekt AiF 16845 N
Förderung über Forschungskreis der Ernährungsindustrie FEI vom BMWi via AiF
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Industriegruppe
Milchindustrie-Verband e.V. (MIV), Berlin

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Kaspar, Daniela, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 23.07.2014
„Molekulare Effekte von Nitrit auf *Listeria monocytogenes* und die temperaturabhängige Regulation des Stickstoffmetabolismus in *Listeria monocytogenes*”

Kabisch, Jan, Dr. rer.nat., Technische Universität München, 15.10.2014
„Mikrobiologische Sicherheit von Rohwurstprodukten" Wirkung von Natriumnitrit Auf Lebensmittelinfektionserreger”

Landstorfer, Richard: Dr. rer. nat., Technische Universität München, 27.06.2014
„Comparative transcriptomics and translatomics to identify novel overlapping genes, active hypothetical genes, and ncRNAs in *Escherichia coli* 0157:H7 EDL933"

Rieser, Gernot, Dr. rer.nat., Technische Universität München, 20.11.2014
„Biodiversität von Mikroorganismen im Produktionsumfeld pharmazeutischer Betriebe"

Masterarbeiten

Berthold Stefanie: „Stammtypisierung von *Bacillus cereus*, *Bacillus weihenstephanensis* und *Bacillus mycoides* unter Verwendungvon RAPD-PCR und MALDI-TOF-MS"

Illig Tina: „Funktionelle Charakterisierung einer S-Domain-Receptor-Like Kinase in der pflanzlichen Immunabwehr durch heterologe Expression in Tabak"

Kegel, Marcel: „Insektizide Aktivität von *Yersinia enterocolitica* im Invertebraten-Infektionsmodell"

Opferkuch Eva: „Biodiversiy of heat-resistant psychrotolerant bacteria in raw and ESL milk and their removal by microfiltration and pasteurization"

Pauker Viktoria: „The unambiguous differentiation of *Bacillus anthracis* from the other *Bacillus* spp. In the *Bacillus cereus sensu lato* group via MALDI-TOF Mass Spectrometry"

Schardt, Jakob: „Further characterization of the nitrogen metabolism in *Listeria monocytogenes*"

Schreiner Manuela: „Biodiversitätsanalyse der Rohmilchmikrobiota mittels Next Gereneration Sequencing: Methodenoptimierung und Veränderung der Mikrobiota während der Kühllagerung"

Schruf Carina: „Etablierung und Untersuchung einer mikrobiologischen off site Bodenaufbereitungsmethode zum Abbau von MKW- und PAK Kontaminationen unter Verwendung eines aeroben Selektiv-Anzuchtverfahrens

Schwab Elisabeth: „Comparative analyses of *Listeria monocytogenes´*strain specific adaptations to anaerobiosis"

Zölch, Benjamin: „Einfluss des probiotischen Bakteriums *E. faecalis* auf den Modellorganismus *C. elegans* nach EHEC-Infektion"

Bachelorarbeiten

Ahomaa, Kaarin: „ Bistabile Expression insektizider Gene in Y. enterocolitica"

Keim, Lydia: „Analyse überlappender Gene verschiedener Bakterien mit Hilfe bioinformatischer Methoden"

Lettl, Clara: „Validierung eines variabel anpassbaren internen Kontrollsystems für RT-qPCR Anwendungen"

Ramichler, Stephan: „Charakterisierung der Promotorregionen der nhe und hbl Operons in enterophathogenen B. Cereus"

Samaras Arista Sophia: „Temperature dependet adaptation of *Listeria monocytogenes* to oxygen"

Veröffentlichungen

Cogan TM, Goerges S, Gelsomino R, Larpin S, Hohenegger M, Bora N, Jamet E, Rea MC, Mounier J, Vancanneyt M, Guéguen M, Desmasures N, Swings J, Goodfellow M, Ward AC, Sebastiani H, Irlinger F, Chamba J-F, Beduhn R, Scherer S (2014) Biodiversity of the Surface Microbial Consortia from Limburger, Reblochon, Livarot, Tilsit, and Gubbeen Cheeses. Microbiol Spectrum 2(1):CM-0010-2012. Doi:10.1128/microbiolspec.CM-0010-2012

Daniel H, Moghaddas Gholami A, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, Mondot S, Lepage P, Rothballer M, Walker A, Böhm C, Binder U, Wenning M, Skerra A, Wagner M, Blaut M, Schmitt-Kopplin P, Kuster B, Haller D and Clavel T (2014)
High fat diets alters gut microbiota physiology in mice.
The ISME Journal 8(2):295-308.

Grubmüller S, Schauer K, Goebel W, Fuchs TM, Eisenreich W (20149
Analysis of carbon substrates used by *Listeria monocytogenes* during growth in J774A.1 macrophages suggests a bipartite intracellular metabolism
Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 4,156:1-14

Kaspar D, Auer F, Schardt J, Schindele F, Ospina A, Held C, Ehrenreich A, Scherer S, Müller-Herbst S (2014) Temperature- and nitrogen source-dependent regulation of GlnR target genes in *Listeria monocytogenes.* FEMS Microbiol Lett 355:131-141

Landstorfer R, Simon S, Schober S, Keim D, Scherer S, Neuhaus K (2014) Comparison of strand-specific transcriptomes of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 EDL933 (EHEC) under eleven different environmental conditions including radish sprouts and cattle feces BMC Genomics 15:353

Mühlig A, Kabisch J, Pichner R, Scherer S, Müller-Herbst S (2014)
Contribution of the NO-detoxifying enzymes HmpA, NorV and NrfA to nitrosative stress protection of Salmonella Typhimurium in raw sausages. Food microbiology 42:26-33

Mühlig A, Behr J, Scherer S, Müller-Herbst S (2014)
Stress response of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium to acidified nitrite.
Appl Environ Microbiol. Vol. 80, 20:6373-6382

Müller-Herbst, S, Wüstner S, Krementowski A, Eder D, Fuchs TM, Hedl C, Ehrenreich A, Scherer S (2014) Identification of genes essential for anaerobic growth of *Listeria monocytogenes*.
Microbiology 160:752-765

Reuter, S., Connor, T. R., Barquist, L., Walker, D., Feltwell, T., Harris, S., Fookes, M., Hall, M. E., Fuchs, T. M., Corander, J., Dufour, M., Ringwood, T., Savin, C., Bouchier, C., Martin, L., Miettinen, M., Shubin, M., Laukkanen-Ninios, R., Sihvonen, L. M., Siitonen, A., Skurnik, M., Falcão, J. P., Fukushima, H., Scholz, H. C., Prentice, M., Wren, B. W., Parkhill, J., Carniel, E., Achtman, M., McNally, A., and N. R. Thomson (2014) Parallel independent evolution of pathogenicity within the genus *Yersinia.* PNAS Vol. 111 No.18, 6768-6773

Rothhardt JE, Kröger C, Broadley SP, Fuchs TM (2014)
The orphan regulator ReiD of Salmonella enterica is essential for myo-inositol utilization. Molecular Microbiology 94(3):700-712

Staib L, Fuchs TM (2014) From food to cell: nutrient exploitation strategies of enteropathogens
Microbiology 160:1020-1039, DOI 10.1099/mic.0.078105-0

Starke M und Fuchs TM (2014) YmoA negatively controls the expression of insecticidal genes in *Yersinia enterocolitica.* Molecular Microbiology 92(2): 287-301, doi:10.1111/mmi.12554

Wenning M, Breitenwieser F, Konrad R, Huber I, Busch U, Scherer S (2014) Identification and differentiation of food-related bacteria: A comparison of FTIR spectroscopy and MALDI-TOR mass spectrometry. Journal of Microbiological Methods 103:44-52.

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

Einfluss neuartiger Handelsbeleuchtung auf die Produktqualität von Kondensmilch und Kaffeesahne

Nadine Böhner, Ludmilla Adolf, Dr. Klaus Rieblinger, Prof. Dr. Horst-Christian Langowski
Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik TUM und Fraunhofer IVV

1 Problemstellung

Bei der Ausleuchtung von Verkaufsräumen im Einzelhandel spielt die Energieeffizienz und Lichtqualität eine große Rolle. Das hat wirtschaftliche Gründe, da zum einen der Energieverbrauch reduziert und der Absatz durch ein ausgefeiltes Lichtkonzept gesteigert werden kann. Die Eigenfarbe der Lebensmittel kann durch eine spezielle Beleuchtung hervorgehoben werden, so dass die Waren für den Kunden attraktiver aussehen und der Konsument durch eine angenehme Verkaufsatmosphäre zum Kauf angeregt wird. Dabei werden die klassischen Leuchtmittel zunehmend durch spezielle Lampen ersetzt. Je nach Anforderung an die Licht-

qualität stehen ökonomische Energiespar-, Halogen- oder LED-Lampen zur Auswahl. Bei Leuchtstoffröhren (Fluoreszenzleuchten) ist die eigentliche Lichtquelle eine Fluoreszenzschicht in den Lampen, welche die durch Entladung von Quecksilberdampf emittierte Strahlung in sichtbares Licht umformt. Charakteristisch für diese Lampen ist, dass sie neben einem kontinuierlichen Spektrum einige Spektrallinien mit größerer Intensität abstrahlen (Elvidge, Keith, Tuttle, & Baugh, 2010). Dies kann von Nachteil sein, wenn die belichteten Lebensmittel in diesem Bereich ein Absorptionsmaximum aufweisen. Riboflavin (Vitamin B_2) ist ein in Milchprodukten vorkommendes Vitamin, das zur Farbgebung beiträgt und gegenüber Erhitzung, Säuren und Oxidationsmitteln stabil ist. Riboflavin ist jedoch gegenüber blauem Licht und UV-Licht sehr empfindlich. Das Absorptionsmaximum liegt bei 445 nm (Intawiwat, Wold, Skaret, Rukke, & Pettersen, 2013; Mortensen, Bertelsen, Mortensen, & Stapelfeldt, 2004).

Die LED – Technologie bietet die Möglichkeit, die spektrale Zusammensetzung des Lichts so zu gestalten, dass sie dem Reflexionsverhalten der Warenoberflächen angepasst ist. Das ist mit Gasentladungslampen nicht möglich, da die spektrale Zusammensetzung des erzeugten Lichts von der Gasfüllung bzw. der Fluoreszenzschicht abhängig ist. Der Einsatz von Spektralfiltern kann zwar zu einer Reduzierung einzelner Lichtbanden führen, jedoch ist das Emissionsspektrum für jede Gasentladungslampe charakteristisch.

In den Verkaufsregalen sind die Produkte während der gesamten Ladenöffnungszeit dem Licht der Verkaufsbeleuchtung ausgesetzt. Von Milchprodukten ist bekannt, dass sie empfindlich gegenüber Licht und Sauerstoff reagieren. Kaffeesahne und Kondensmilch werden hocherhitzt, homogenisiert und anschließend sterilisiert, um über einen langen Zeitraum ungekühlt mikrobiologisch stabil zu bleiben (Spreer, 2011). Allerdings können weitere Inhaltsstoffe wie der natürliche Photosensibilisator Riboflavin, die Aminosäure Methionin oder die enthaltenen Fettsäuren mit dem Restsauerstoff in der Verpackung unerwünschte Reaktionen eingehen. Die Verpackung schützt das Produkt während des Lager- und Verkaufsprozesses vor äußeren Einflüssen. Klassischer Weise wurden diese Produkte bis vor einigen Jahren in Weißblechdosen verpackt. Dadurch waren sie vor Licht und Sauerstoff geschützt. In den letzten Jahrzehnten haben sich weitere Verpackungsvarianten auf dem Markt etabliert, wie Verbundkartons, Glasflaschen, Milchkännchen bis hin zur portionierten Einzelverpackung in Kunststoffbechern (Langowski, 2006). Diese haben den Vorteil, dass sie für den Verbraucher attraktiver aussehen, aufgrund der kleineren Portionen handlicher sind, aber auch den großen Nachteil, dass diese Verpackungen aus Glas und Kunststoff licht- oder licht- und sauerstoffdurchlässig sind. Hohe Lichtdurchlässigkeiten in Verbindung mit Sauerstoff führen bei Milchprodukten zu Aromaveränderungen, Vitaminverlusten oder Farbfehlern (Larsen, Tellefsen et al., 2009). Aufgrund des enthaltenen Photosensibilisators Riboflavin kann es zur Photooxidation der schwefelhaltigen Aminosäure Methionin, den Vitaminen und Fettbestandteilen kommen (Langowski, 2006; Moyssiadi et al., 2004).

Da Licht für den Verkaufsprozess unersetzlich ist, kann der Einsatz von speziellen Lampen, die in ihren spektralen Eigenschaften auf die zu beleuchtenden Produkte abgestimmt sind (z.B. durch eine reduzierte Emission im Bereich des Absorptionsmaximums des Riboflavins), zur Verringerung der lichtinduzierten Qualitätsbeeinträchtigungen führen.

2 Projektziel

Ziel des Projektes war es, den Einfluss diverser im Einzelhandel eingesetzter Lichtquellen auf die Qualität von Kaffeesahne und Kondensmilch in unterschiedlichen Verpackungsvarianten zu untersuchen. Durch das unterschiedliche Verpackungsdesign und Material variieren auch die Licht- und Sauerstoffdurchlässigkeiten. Mit Hilfe von Farb- und Sauerstoffmessungen, der Bestimmung des Hexanal- sowie des Riboflavingehalts sollten die Qualitätsveränderungen ausgewählter Produkte in Abhängigkeit von der Beleuchtung über die Haltbarkeitsdauer ermittelt werden.

3 Lösungsweg

Auswahl des Probenmaterials

Für den Versuch wurden Kaffeesahne und Kondensmilch unterschiedlicher Hersteller in verschiedenen Verpackungsvarianten in einem Großhandel mit einem hohen Durchsatz erworben, um möglichst frische Produkte zu untersuchen. Die Produktbezeichnung, das Verpackungsmaterial sowie weitere charakteristische Daten sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Eigenschaften der Kaffeesahne- und Kondensmilch-Muster sowie deren Verpackung (OTR: Sauerstoff-Permeationsrate in cm³ (STP) / (Packung d bar) bei 23 °C / 50 % rel. Luftfeuchte)

Produkt	Fettgehalt [%]	Verpackung	OTR	Inhalt [g]	Haltbarkeit [Wochen]
Portionspackung Kaffeesahne	10	Polystyrol mit Aluminiumfoliendeckel	2,31±0,10	10	20
Kännchen Kaffeesahne	12	Polypropylen, Boden aus Aluminium	3,08±0,05	200	12
Gläschen Kaffeesahne	10	Glasflasche mit Aluminiumdeckel	nicht messbar	100	41
Verbundkarton Kondensmilch	10	Verbundkarton	nicht messbar	340	21
Dose Kondensmilch	10	Weißblechdose	nicht messbar	80	49

Die Proben wurden mit 4 verschiedenen Lampen belichtet (Tabelle 2). Der Abstand der Lampen wurde so eingestellt, dass die Bestrahlungsstärke auf der Auflagefläche ca. 2,7 - 2,8 W/m^2 betrug. Das entsprach bei den Leuchtstoffröhren und LEDs einer Beleuchtungsstärke von ca. 920 lux, bei der Natriumdampflampe von ca. 440 lux. Die Lagertemperatur betrug konstant 20 °C.

Tabelle 2: Lampeneigenschaften bei Bestrahlungsstärken von nominal 2,8 W/m2

Lampe	Bestrahlungs-stärke 300-1100 nm [W/m²]	Bestrahlungs-stärke 300-500 nm [W/m²]	Beleuchtungs-stärke [lux]	Abstand Lampe/Produkt [m]
Tageslichtleuchtstoffröhre (TLSR)	2,8	1,08	920	1,10
Leuchtstoffröhre (LSR)	2,8	0,62	920	0,40
Hochdruck-Natriumdampflampe (NDL)	2,8	0,18	440	1,60
LED	2,8	0,36	920	1,70

Durchführung der Untersuchungen

Die Portionspackungen wurden alle 2 Wochen, die Glasflaschen bzw. die Kännchen alle 4 Wochen und die Dosen bzw. die Verbundkartons nach 4 und 16 Wochen untersucht.

Zu Beginn des Versuchs wurde die Sauerstoffkonzentration in den Proben mittels der PreSens Fluoreszenzmesstechnik bestimmt. Anschließend wurden die Farbe mittels DigiEye als L*a*b*-Wert, der Riboflavingehalt mittels HPLC und der Hexanalgehalt mittels Headspace GC-MS gemessen. Die Probennahme erfolgte jeweils als Dreifach-Bestimmung. Ein 10-köpfiges Sensorikpanel bewertete die Proben bezüglich Geruch und Geschmack.

Anschließend wurden die Proben unter den verschiedenen Lichtquellen positioniert, so dass die Bestrahlungsstärke auf der Produktoberfläche zwischen 2,7 und 2,8 W/m^2 lag. In regelmäßigen Abständen wurden die Proben gedreht, um sicherzustellen, dass die auf die Proben einwirkende Lichtenergie gleichmäßig über alle Proben verteilt war. Als Referenzen wurden dunkel gelagerte Proben verwendet.

4 Ergebnisse

Die Lichttransmissionsmessungen an den Verpackungen zeigen ganz deutlich die unterschiedlichen Lichtdurchlässigkeiten der verschiedenen Materialen (siehe Abb. 1). Die Glasflaschen lassen im Wellenlängenbereich zwischen 310–800 nm ungefähr 90 % des Lichts durch. Die Portionspackungen lassen zwischen 400–800 nm etwa 10-20 % und die Kännchen oberhalb von 410 nm ungefähr 5-15 % des sichtbaren Lichts durch. Der Verbundkarton und die Dose sind lichtundurchlässig. Vergleicht man die Transmissionsspektren der Verpackungen mit dem Absorptionsspektrum des Riboflavins, so wird deutlich, dass sich ein Großteil des Riboflavinspektrums mit dem Transmissionsspektrum der Glasflasche überschneidet. Auch die Polystyrol- und Polypropylenverpackung lassen einen Teil des Lichts durch, welches dann vom Riboflavin absorbiert werden kann, wodurch in der Verpackung eine Photooxidation mit vorhandenem Restsauerstoff stattfinden kann.

Vergleicht man die Emissionsspektren der Lampen miteinander, ist deutlich zu erkennen, dass die spektrale Lichtverteilung unterschiedlich ist. Die beiden Leuchtstoffröhren zeigen vier deutliche Peaks im Bereich von 300 bis 500 nm und weisen in diesem Spektralbereich eine größere Bestrahlungsstärke auf als die Natriumdampflampe und die LED (siehe auch Tabelle 2).

Die Ergebnisse der Sauerstoffmessung über die Lagerdauer von 16 Wochen zeigen, dass der Sauerstoffgehalt in den Portionspackungen während des gesamten Versuchszeitraums zwischen 6 und 8 mg/L lag. Der Sauerstoffgehalt im Kännchen ist unter den beiden Leuchtstoffröhren innerhalb der ersten 4 Wochen auf ca. 3 mg/L abgesunken, wohingegen der Sauerstoffgehalt bei der dunkel gelagerten Probe leicht auf 8 mg/L angestiegen und bei der Natriumdampflampe und der LED erst nach 12 Wochen leicht von 6 auf 4-5 mg/L abgesunken ist. In den Glasflaschen blieb die Sauerstoffkonzentration bei den dunkel gelagerten Proben konstant bei 3 mg/L, wohingegen dort nach 4 Wochen bei allen Belichtungsvarianten der Sauerstoffgehalt auf 0 mg/L abgesunken ist. Bei den Verbundkartons und Dosen änderte sich der Sauerstoffgehalt während der Lagerung nicht.

Der starke Abfall auf 0 mg/L bei der Kaffeesahne in den Glasflaschen ist durch die Photooxidation zu erklären. Die hohe Transmission durch das Glas ermöglicht die lichtinduzierte Oxidation des Riboflavins mit dem Restsauerstoff in der Kaffeesahne innerhalb der ersten 4 Wochen, bis der Sauerstoff vollkommen verbraucht ist. Durch das Glas und den Verschluss können auch keine wesentlichen Sauerstoffmengen hindurchpermeieren. In den Kännchen und Portionspackungen konnte durch die hohe Sauerstoffdurchlässigkeit vom Polystyrol (2,31±0,10 cm^3 (STP) / (Pckg d bar)) und Polypropylen (3,08±0,05 cm^3 (STP) / (Pckg d bar)) immer wieder neuer Sauerstoff durch die Verpackung permeieren, wenn dieser im Innern verbraucht wurde.

Die Farbmessungen an der Kaffeesahne zeigten, dass bereits nach 2 Wochen deutliche Farbveränderungen bei den belichteten Portionspackungen zu erkennen waren (siehe Abb. 3). Der b*-Wert, der im CIE-Farbraum die blau-gelbe Achse darstellt, sank bei Exposition der Proben unter den beiden Leuchtstoffröhren von 9,5 auf ca. 5 und unter der LED bzw. Natriumdampflampe auf ungefähr 7. Das bedeutet, dass die Proben einen Teil ihrer gelben Farbe verlieren. Die dunkel gelagerten Proben veränderten sich dagegen nicht signifikant. Bei Kaffeesahne in Glasflaschen waren die Änderungen des b*-Werts bei den belichteten Proben nicht signifikant unterschiedlich, allerdings stieg der b*-Wert bei den dunkel gelagerten Proben im Verlauf der Lagerung leicht an. Die b*-Werte der Kaffeesahne und Kondensmilch in Kännchen, Dosen und Verbundkartons unterschieden sich im Vergleich zur Dunkelprobe nicht signifikant.

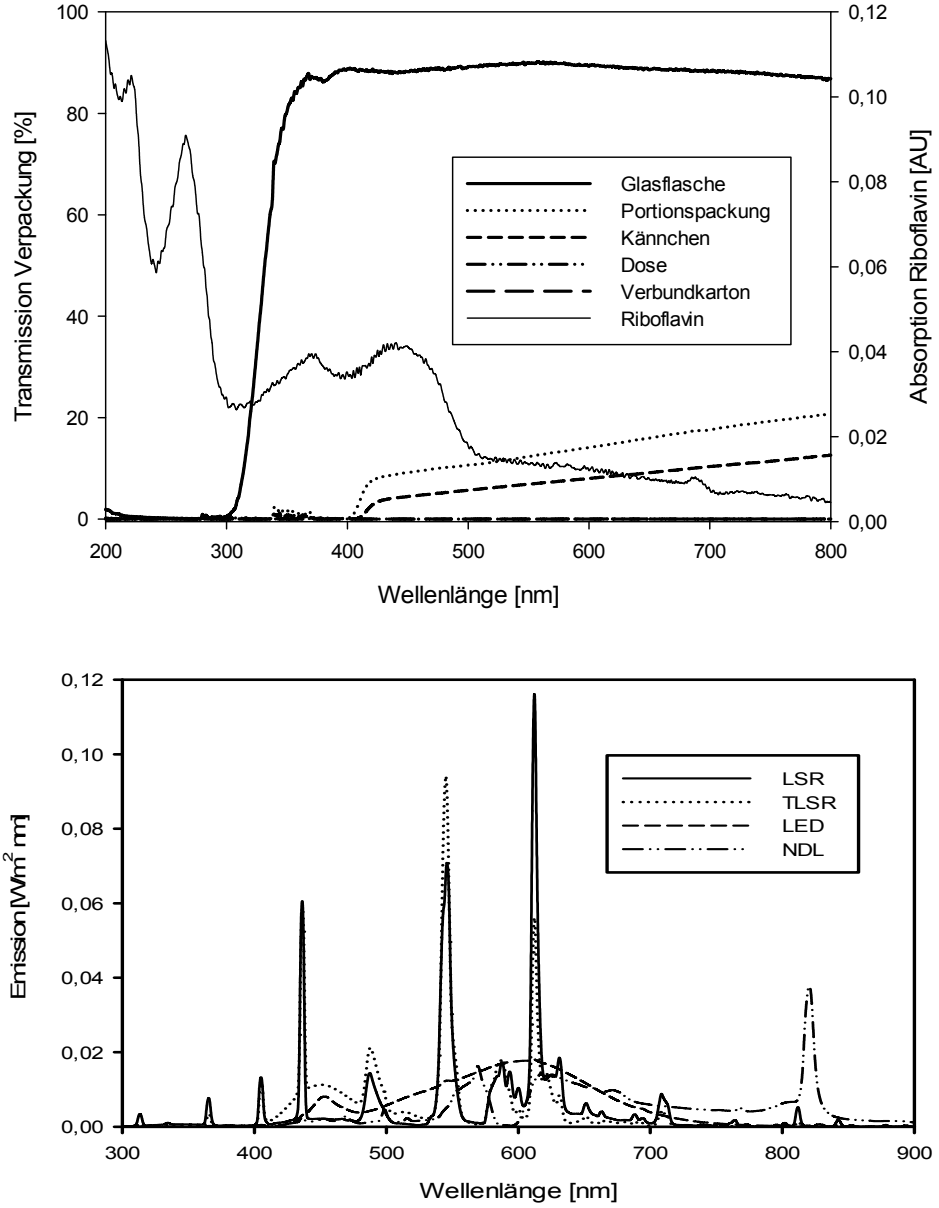


Abb. 1: Oben: Transmissionsspektren der Verpackungen und Absorptionsspektrum vom Riboflavin
Unten: Emissionsspektren der Tageslichtleuchtstoffröhren (TLSR), Natriumdampflampen (NDL), LEDs und Leuchtstoffröhren (LSR), jeweils mit 2,8 W/m^2

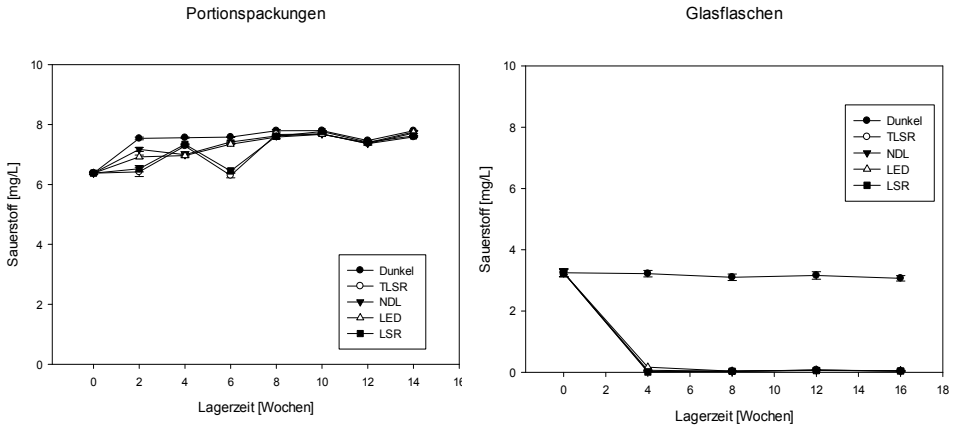


Abb. 2: Verlauf der Sauerstoffkonzentration [mg/L] in der Kaffeesahne verpackt in Portionspackungen (links) und Glasflaschen (rechts) während der Lagerung unter Tageslichtleuchtstoffröhren (TLSR), Natriumdampflampen (NDL), LEDs und Leuchtstoffröhren (LSR) mit 2,8 W/m^2, sowie bei Dunkellagerung

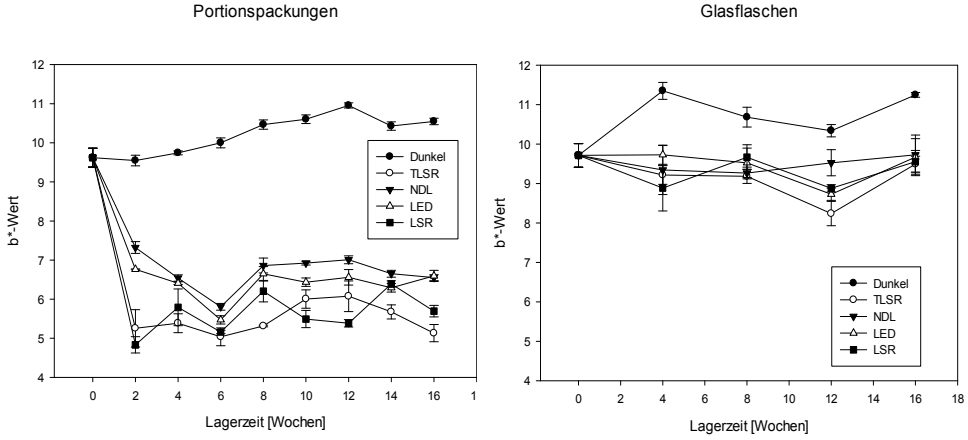


Abb. 3: Verlauf des b*-Wertes (Gelbwert) der Kaffeesahne verpackt in Portionspackungen (links) und Glasflaschen (rechts) während der Lagerung unter Tageslichtleuchtstoffröhren (TLSR), Natriumdampflampen (NDL), LEDs und Leuchtstoffröhren (LSR) mit 2,8 W/m^2, sowie bei Dunkellagerung

Die Messung der Riboflavin-Konzentration in der Kaffeesahne in Portionspackungen und Glasflaschen zeigt, dass bei den Proben, die mit den beiden Leuchtstoffröhren beleuchtet wurden, das Riboflavin bereits nach 4 Wochen fast vollständig abgebaut wurde (siehe Abb. 4). Der Riboflavingehalt bei den Proben unter der LED und Natriumdampflampe sank in 2 Wochen von 0,04 mg/100g auf 0,02±0,005 mg/100g. Im weiteren Verlauf der Lagerung wurde das Riboflavin auch hier vollständig abgebaut. In den dunkel gelagerten Proben blieb die Riboflavinkonzentration während der 16 Wochen stabil bei 0,04 mg/100g.

Bei der in Kännchen abgefüllte Kaffeesahne war der Konzentrationsverlauf des Riboflavins ähnlich zu den Portionspackungen, allerdings war der Abbau hier etwas langsamer, so dass die Proben unter den Leuchtstoffröhren erst nach 12 Wochen unter 0,01 mg/100g lagen und die Proben unter der NDL und LED erst nach 16 Wochen. Bei den licht- und sauerstoffgeschützten Proben in den Verbundkartons und Dosen war keine signifikante Änderung des Riboflavingehalts während der gesamten Lagerdauer zu messen.

Der Verlauf des Riboflavingehalts bei den Portionspackungen ist ähnlich dem Verlauf des b*-Wertes (siehe Abb. 3 und 4). Die hohe Licht- und Sauerstoffdurchlässigkeit des Polystyrols der Portionspackungen ermöglichte eine Oxidation durch den Photosensibilisator Riboflavin, welcher sich durch die Typ 2 - Photooxidation selbst abbaut.

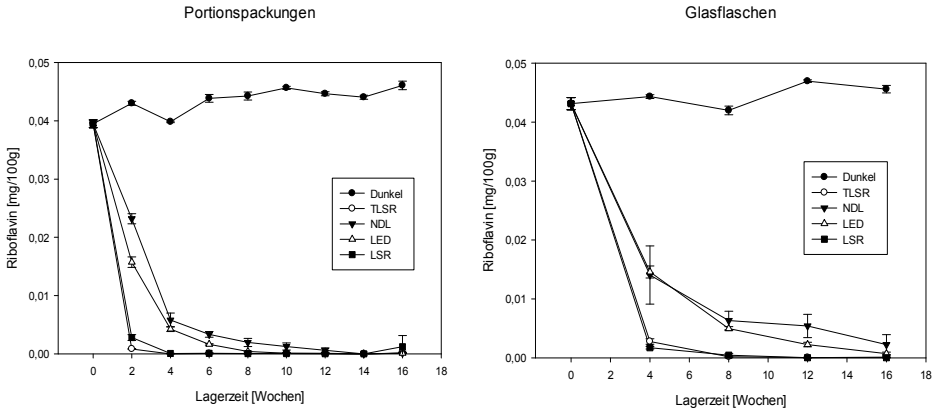


Abb. 4: Verlauf des Riboflavingehalts [mg/L] der Kaffeesahne verpackt in Portionspackungen (links) und Glasflaschen (rechts) während der Lagerung unter Tageslichtleuchtstoffröhren (TLSR), Natriumdampflampen (NDL), LEDs und Leuchtstoffröhren (LSR) bei 2,8 W/m^2, sowie bei Dunkellagerung

Betrachtet man die Ergebnisse der Hexanalmessung in diesem Versuchszeitraum, wird dies bestätigt. Die Hexanalwerte der Kaffeesahne in den Portionspackungen stiegen unter den beiden Leuchtstoffröhren bereits nach 2 Wochen von 0 auf 0,25 mg/L an. Der Anstieg ging bis Woche 8 weiter auf 0,6 mg/L. Danach war ein leichter Abfall des Hexanalgehalts auf 0,4 mg/L zu beobachten. Das ist dadurch zu erklären, dass das Hexanal als Reaktionsprodukt der Lipidoxidation weiter abgebaut wird. Die Hexanalgehalte der Kaffeesahneproben in den Portionspackungen bei Exposition durch LED und NDL waren etwas geringer, erreichten aber auch den maximalen Gehalt nach 8 Wochen. In den dunkel gelagerten Proben war kein Hexanal messbar.

Bei der Kaffeesahne in den Kännchen ist ein stetiger Anstieg zu erkennen. Auch hier können die Ergebnisse in 3 Gruppen eingeteilt werden. Die Proben unter den beiden Leuchtstoffröhren zeigten den stärksten Anstieg und somit die stärkste Oxidation. Die LED und NDL zeigten einen mittleren Anstieg und die dunkel gelagerten Proben blieben bei 0 mg/L.

Der Hexanalgehalt in den Glasflaschen stieg innerhalb der ersten 8 Wochen ganz leicht auf 0,1 mg/L an und sank danach wieder leicht ab, was durch den limitierten Sauerstoffgehalt zu erklären ist. In den Dosen und Verbundkartons war kein Hexanal messbar.

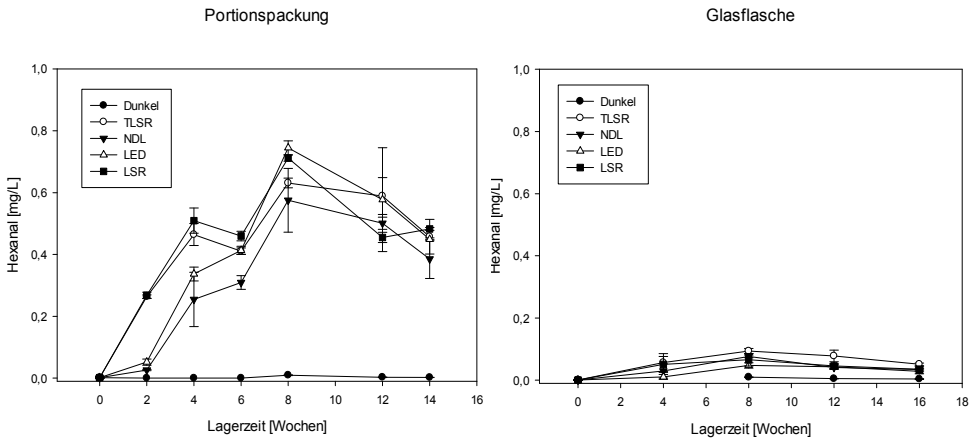


Abb. 5: Verlauf des Hexanalgehalts [mg/L] der Kaffeesahne verpackt in Portionspackungen (links) und Glasflaschen (rechts) während der Lagerung unter Tageslichtleuchtstoffröhren (TLSR), Natriumdampflampen (NDL), LEDs und Leuchtstoffröhren bei 2,8 W/m^2, sowie bei Dunkellagerung

Bei der geruchlichen und geschmacklichen Beurteilung der gelagerten Kaffeesahneproben durch das Sensorikpanel konnten die belichteten Proben in licht- und sauerstoffdurchlässigen Verpackungen, bezüglich Lichtgeschmack und produkttypischen Geruch deutlich von den dunkel gelagerten Referenzen unterschieden werden. Auch hier zeigten die Produkte unter den Leuchtstoffröhren größere geruchliche und geschmackliche Veränderungen als die Proben unter der Natriumdampflampe und LED.

5 Schlussfolgerungen

Diese Ergebnisse zeigten deutlich, dass es durch die hohe Licht- und Sauerstoffdurchlässigkeit des Polystyrols bei den Portionspackungen bereits nach kurzer Zeit zu einer Photooxidation in der Kaffeesahne durch den Photosensibilisator Riboflavin kommt. Das durch (sichtbares) Licht angeregte Riboflavin gibt die Energie an den Sauerstoff weiter. Dabei wird dieser energetisch vom Triplettzustand in den deutlich reaktiveren Sigulettzustand angehoben und kann dadurch schnell mit den Fettsäuren Hydroperoxide bilden, wodurch es zu einem Anstieg im Hexanalgehalt kommt. Auf einem anderen Reaktionsweg kann der Sigulettsauerstoff mit der Aminosäure Methionin den typischen Lichtgeschmack der Milch, das Dimethyldisulfid bilden. Auf einem dritten Reaktionsweg kann der reaktive Sauerstoff das Riboflavin selbst zerstören, wodurch der Riboflavinabbau und die Änderung der gelben Farbe (b*-Wert) zu erklären ist.

Das Gleiche passiert in der Kaffeesahne in den Kännchen, allerdings langsamer. In der Glasflasche kommt es zu Beginn der Belichtung zu einer Photooxidation des Riboflavins mit dem Restsauerstoff in der Flasche. Wie jedoch die Sauerstoffmessungen zeigen, ist der Sauerstoff innerhalb von 4 Wochen restlos verbraucht. Dadurch fehlt ein Reaktionspartner und die weiteren Reaktionen stoppen, bzw. laufen viel langsamer ab.

Zwischen den einzelnen Beleuchtungsvarianten war ebenfalls ein deutlicher Unterschied sichtbar. Die beiden Leuchtstoffröhren, die im Bereich von 300 – 500 nm eine Bestrahlungsstärke von 1,08 W/m^2 (TLSR) und 0,62 W/m^2 (LSR) aufweisen, führten bei den semitransparenten und sauerstoffdurchlässigen Verpackungen zu einem schnelleren Abbau des Riboflavins und zu einer stärkeren Bildung von ranzigen Oxidationsprodukten. Die beiden anderen Lampen hatten einen geringeren Strahlungsanteil im Bereich von 300 - 500 nm (LED: 0,36 W/m^2, NDL: 0,18 W/m^2) wodurch es zwar auch zur Photooxidation in den Verpackungen mit Licht- und Sauerstoffdurchlässigkeit kam, allerdings war diese Reaktion etwas verlangsamt. Durch den Einsatz von neuartigen Leuchtmitteln wie LEDs oder Natriumdampflampen können die qualitätsmindernden lichtinduzierten Reaktionen in Kaffeesahne, die in licht- und sauerstoffdurchlässigen Verpackungen verpackt ist, zwar nicht verhindert, jedoch im Vergleich zu klassischen Leuchtstoffröhren deutlich verlangsamt werden.

6 Literatur

Elvidge, C. D., Keith, D. M., Tuttle, B. T., & Baugh, K. E. (2010). Spectral identification of lighting type and character. *Sensors, 10*(4), S. 3961–3988.

Intawiwat, N., Wold, J. P., Skaret, J., Rukke, E. O., & Pettersen, M. K. (2013). Minimizing photooxidation in pasteurized milk by optimizing light transmission properties of green polyethylene films. *Journal of Dairy Science, 96*(11), S. 6818–6829.

Langowski, H.-C. (2006). Entwicklungen bei Kunststoff-Verpackungen für Molkereiprodukte. Teil I. *Deutsche Molkerei-Zeitung (dmz)*, S. 26–29.

Larsen, H., Tellefsen, Siri Birgitte Geiner, & Dahl, A. V. (2009). Quality of Sour Cream Packaged in Cups with Different Light Barrier Properties Measured by Fluorescence Spectroscopy and Sensory Analysis. *Journal of Food Science, 74*(8), S 345.

Mortensen, G., Bertelsen, G., Mortensen, B. K., & Stapelfeldt, H. (2004). Light-induced changes in packaged cheeses—a review. *International Dairy Journal, 14*(2), S. 85–102.

Moyssiadi, T., Badeka, A., Kondyli, E., Vakirtzi, T., Savvaidis, I., & Kontominas, M. G. (2004). Effect of light transmittance and oxygen permeability of various packaging materials on keeping quality of low fat pasteurized milk: chemical and sensorial aspects. *International Dairy Journal, 14*(5), S. 429–436.

Spreer, E. (2011). *Technologie der Milchverarbeitung* (10., vollst. überarb. Aufl). Hamburg: Behr.

Das Projekt wurde dankenswerterweise finanziell unterstützt von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V.

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
E-Mail: Vorname.Name(at)tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-4205
Mitarbeiter:	M.Sc. Sabine Ambros	-3856
	Raimund Bachschneider (ab 01.08.2014)	-3481
	M.Sc. Simon Bauer	-5031
	B. Sc. (FH) Ralf Berlehner	-2474
	M.Sc. Janina Brand	-3856
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	Dipl.-Ing. (FH) Evelyn Dachmann	-5317
	Dipl.-Ing. Jannika Dombrowski	-3534
	Dipl.-Ing. Joseph Dumpler	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dipl.-Ing. Elisabeth Eschlbeck	-3939
	Prof. Dr.-Ing. Petra Först	-3289
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dr. rer.nat. Ronald Gebhardt	-3536
	M.Sc. Oliver Gmach (ab 01.07.2014)	-5317
	Christian Gottwald	-3856
	Dipl.-Ing. (FH) Sabine Grabbe	-3534
	Ilona Hager	-2474
	M.Sc. Nicole Haller (ab 01.06.2014)	-3534
	Brigitte Härter	-3941
	Dipl.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht	-3481
	Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller	-5056
	M.Sc. Sabine Husby (bis 30.08.2014)	-3719
	M.Sc. Malee Kallbach (bis 31.03.2014)	-5317
	Claudia Kanli	-3937
	M.Sc. Verena Klaus (ab 01.12.2014)	-5032
	Dipl.-Ing. Christian Kleemann	-2507
	M.Sc. Elena Leeb	-3719
	M.Sc. Yuhong Mao (ab 01.10.2014)	-3855

M.Sc. Melanie Marx	-3855
Dipl.-Ing. Patricia Meyer	-3719
Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Dipl.-Chem. Daniel Saalfeld	-3481
Erich Schneider	-3537
Astrid Steen	-3937
Dipl.-Ing. Tim Steinhauer	-2507
Cornelia Strixner (bis 14.04.2014)	-3856
Dipl.-Ing. Thomas Strixner (bis 31.01.2014)	-2507
Mirjana Stulac	-5056
M.Sc. Ikuko Ueda (15.07.-31.12.2014)	-3536
Günther Unterbuchberger	-3942
Dipl.-Ing. Linda Voswinkel (bis 31.12.2014)	-5032
Dipl.-Ing. (FH) Julia Wilke	-3855
Heidi Wohlschläger	-3941
Dipl.-Ing. Magdalena Wolz	-5032
Dipl.-Ing. Rebecca Würth	-5317
M.Sc. Yu Zhuang	-5056

Gäste

Delegation AgroParistech (G. Trystram, C. Voreux, A. Holl-Nicauds, M. Godoux, C. Sodore, M. Hayert, R. Mille) am 01./02. Dezember 2014

Maria Florencia Zacarias, Erasmus Scholarship - ARCOIRIS Program to perform a doctoral 6-month research stage, 10.07.2013 – 10.02.2014

Vorwort

Das Jahr 2014 war geprägt vom Aufwand an zusätzlichen Arbeiten, Erhebungen und Nachbereitungen, die im Zuge der ZIEL-Evaluierung im November 2013 und der Evaluierung der Fakultät im Laufe des Jahres angefallen sind. Als Ergebnis der ZIEL-Evaluierung wurde von den externen, internationalen Gutachtern allen Abteilungen des ZIEL, so auch der Abt. Technologie, eine hervorragende, international auf hohem Niveau wettbewerbsfähige Leistungsfähigkeit attestiert. Das Ergebnis der Fakultätsevaluierung steht noch aus. Welche Schlussfolgerungen die Hochschulleitung aus den Ergebnissen zieht, ist zum Teil noch offen, mit strukturellen Änderungen ist aber in jedem Fall zu rechnen. Wir sehen den sich daraus ergebenden Entwicklungen optimistisch entgegen und werden versuchen, uns in diesen windigen Zeiten auch weiterhin in Art und Umfang als leistungsfähige Institution in der Lebensmittelforschung und konstruktiver Partner für unsere industriellen und universitären Kooperationspartner zu erweisen.

Die im letzten Jahr getätigten umfangreichen Investitionen sind nunmehr in den Betrieb integriert. Sie erweisen sich als die angestrebte Steigerung unserer Möglichkeiten im analytischen und verfahrenstechnischen Bereich. Hohe Aufwendungen für den Erhalt unserer von vielen externen Besuchern und Gästen als beeindruckend eingestuften Infrastruktur werden auch zukünftig kontinuierlich zu leisten sein.

Vier Dissertationen konnten 2014 erfolgreich abgeschlossen werden. 14 laufende Forschungsvorhaben, ca. 1,6 Mio. € im Wettbewerb eingeworbene Forschungsmittel, 89 Vorträge und Poster bei 27 internationalen und nationalen wissenschaftlichen Tagungen sowie 18 Publikationen in wissenschaftlichen und weitere in Fachjournalen bzw. Proceedings komplettieren die Ergebnisbilanz. In 44 Bachelor und 25 Diplom- und Masterarbeiten wurden Studenten mehrerer Studiengänge an die Methodik des wissenschaftlichen Problemlösens in systematischer Arbeitsweise herangeführt.

Großer Dank geht an alle MitarbeiterInnen, die wieder in höchstem Einsatz die Gesamtleistung erbracht haben, sowie an alle Förderer unserer Projektarbeit.

Auszeichnungen 2014

Dr.-Ing. Iris Schmitz-Schug, Herausragende Doktorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 09.10.2014 in Weihenstephan

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozess-, Aseptik- und Steril-Verfahrenstechnik
Workgroup Bioprocess Engineering, Aseptic- and Sterile Technology

Das Potenzial des Mikrowellen-Gefriertrocknungsverfahrens zur Konservierung von mikrobiellen Kulturen

The potential of microwave-freeze for the preservation of microbial cultures

Sabine Ambros, Maria Florencia Zacarías

Aufgrund der besonders hohen Produktqualität gilt die Gefriertrocknung (GF) als Goldstandard für die industrielle Produktion von sensitiven Produkten, wie Starter- und probiotischen Kulturen. Die gefriergetrockneten Pulver zeichnen sich durch gute funktionelle Eigenschaften, wie eine gute Vermahl- und Rehydrierbarkeit, aus und zudem durch einen hohen Aktivitätserhalt unmittelbar nach dem Trocknungsprozess. Allerdings ist die GF sehr zeit- und energieaufwändig. Mit Hilfe des volumetrischen Energieeintrags über Mikrowellen (MW) anstelle der Wärmeübertragung mittels Kontakt- oder Infrarotheizung bei der konventionellen GF könnte den Trocknungsprozess von meist 1-3 Tagen auf wenige Stunden verkürzen.

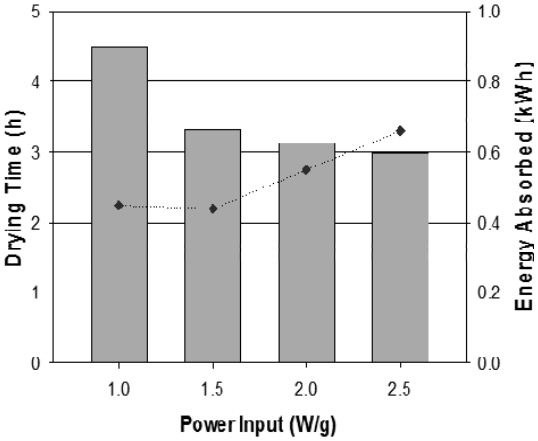


Abb.1: Trocknungsdauer (Balken) und Gesamt-MW-Energieaufwand (Symbole) in Abhängigkeit der MW-Leistung

Der Einfluss der MW-Leistung auf die Trocknungsdauer und die Überlebensrate des probiotischen Modelstamms *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* INL1 wurde in dieser Arbeit untersucht.

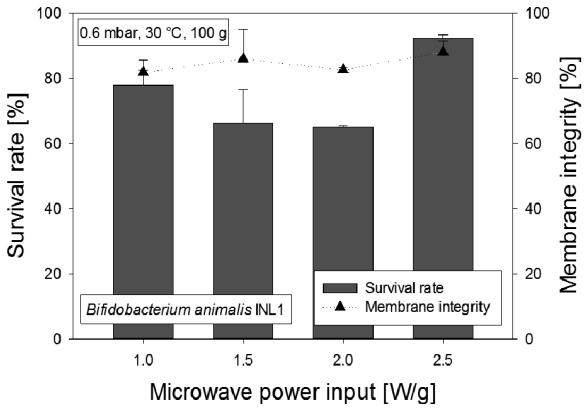


Abb. 2: Überlebensrate von INL1 bei unterschiedlichen MW-Leistungen

Dieser Keim wurde aus humaner Muttermilch isoliert und ist daher besonders relevant für den Einsatz in Formulierungen für Säuglingsnahrung (Zacarías et al., 2011). Die MW-GF-Versuche wurden bei einem Kammerdruck von 0,6 mbar und einer maximalen Produkttemperatur von 30 °C durchgeführt. Die MW-Leistung wurde zwischen 1 und 2,5 °W/g in 0,5 W/g-Schritten variiert. Abb. 1 zeigt die resultierenden Trocknungszeiten für die getesteten MW-Einträge. Mit zunehmender MW-Leistung nahm die Trocknungsdauer von etwa 4,5 h bei 1 W/g auf ca. 3 h bei 2,5 °W/g ab. Jedoch sind die Unterschiede in der Trocknungsdauer zwischen 1,5 und 2,5 W/g mit wenigen Minuten unerwartet gering. Dies kann daran liegen, dass der dielektrische Verlustfaktor von Eis sehr niedrige Werte mit einer etwa vier Größenordnungen niedrigeren Verlustzahl im Vergleich zu Wasser mit einem dielektrischen Verlustfaktor ε'' zwischen 15 und 20 annimmt (Regier et al., 2004). Trotz des höheren MW-Eintrags ist das Eis im Produkt möglicherweise nicht in der Lage mehr Energie aufzunehmen, sodass auch für die höheren Leistungen ähnlich lange Trocknungszeiten benötigt werden. Einen weiteren Anhaltspunkt dafür liefert die über den Trocknungsprozess aufsummierte absorbierte MW-Energie. Während von 1 `W/g auf 1,5 W/g MW-Leistung lediglich die Trocknungsdauer verkürzt wird und sich die benötigte MW-Energie kaum verändert, nimmt sie bei 2,0 und 2,5 W/g weiter zu. D. h., mehr MW-Energie wird im Prozessraum bis zum Erreichen der Gleichgewichtsfeuchte absorbiert. Ein Teil der Energie dient wahrscheinlich nicht der Energiezufuhr ins Produkt, sondern wird von Bauteilen etc. im Prozessraum absorbiert. Hoher Energieeintrag über die Aufnahmekapazität des Produktes hinaus macht den Prozess daher weniger effizient. Die getrockneten Produkte wurden anschließend mittels Oberflächenspatelverfahren auf ihre Überlebensrate hin untersucht. Zudem wurde die Membranintegrität der Kulturen nach Anfärben mit den Fluoreszenzfarbstoffen Thiazolorange und Propidiumiodid im Durchflusszytometer bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 dargestellt. Die Membranintegrität nahm für alle MW-Einstellungen Werte um 80 % an. Die Überlebensrate resultierte in Werten zwischen 65 % für 2 W/g und knapp 95 % für 2,5 W/g. Diese Werte sind vergleichbar mit der GF, mit der bei folgenden

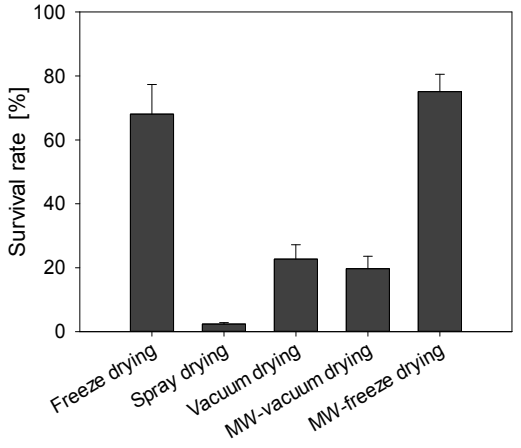


Abb. 3: Überlebensraten von INL1 bei unterschiedlichen Trocknungsverfahren

Einstellungen ein Überleben von etwa 70 % erzielt wurde: Kammerdruck: 0,37 mbar, Stellflächentemperatur: -15 °C/25 °C, 24 h (Vinderola et al., 2011). In Abb. 3 ist ein Vergleich der Überlebensraten mit der GF und weiteren gängigen Verfahren dargestellt. Dazu wurden folgende Einstellungen verwendet: Sprühtrocknung: Lufteintrittstemperatur: 160 °C, Luftaustrittstemperatur: 80 °C; Vakuumtrocknung: 15 °C Stellflächentemperatur, 15 mbar Kammerdruck; MW-Vakuumtrocknung: MW-Leistung: 2 W/g, maximale Produkttemperatur: 30 °C, Kammerdruck: 7 mbar). Es ist deutlich zu erkennen, dass für den untersuchten Modellstamm die GF-Verfahren, sowohl konventionell als auch MW-unterstützt, zum höchsten Aktivitätserhalt führen. Das Vakuum- und MW-Vakuumtrocknungsverfahren liefern ebenfalls ähnliche Werte im Bereich zwischen 20 und 25 % Überleben. Mit 4 % weist die Sprühtrocknung den geringsten Wert an überlebenden Zellen auf. Hier sei allerdings vermerkt, dass sich die Ergebnisse auf Trocknungsversuche ohne Schutzstoffzusatz beziehen, um den Effekt der Trocknungsverfahren auf die Kulturen bewerten zu können. Es ist anzunehmen, dass die Überlebensraten mit Einsatz von geeigneten Schutzstoffen für alle Trocknungsverfahren weiter ansteigen. In weiteren Versuchen sollten die Lagerstabilitäten der unterschiedlich getrockneten Mikroorganismen untersucht und bewertet werden. Es ist bekannt, dass gefriergetrocknete Kulturen aufgrund ihrer hochporösen Struktur und dadurch erleichterter Diffusionsprozesse während der Lagerung schneller inaktiviert werden (Poddar et al., 2014). Da aufgrund der vergleichbaren Trocknungsdrücke und des Wasserentzugs mittels Sublimation die MW-GF in ähnlichen Produktstrukturen resultiert wie die konventionelle GF, kann auch das Lagerverhalten vergleichbar zu gefriergetrockneten Proben sein. Dies gilt es zu bestätigen.

Literatur:

Regier, M, Knörzer, K, Erle, U: Mikrowellen- und Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Lebensmitteln, Chemie-Ingenieur-Technik, 76 (4), 424-432

Vinderola, G, Zacarías, MF, Bockelmann, W, Neve, H, Reinheimer, J, Heller, KJ (2011): Preservation of functionality of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 after incorporation of freeze-dried cells into different food matrices, Food Microbiol, 30, 274-280

Zacarías, MF, Binetti, A, Laco, M, Reinheimer, J, Vinderola, G (2011): Preliminary technological and potential probiotics characterisation of bifidobacteria isolated from breat milk for use in dairy products, Int Dairy J 21, 548-555

Poddar, D, Das, S, Jones, G, Palmer, J, Jameson, GB, Haverkamp, RG, Singh, H (2014): Stability of probiotics *Lactobacillus paracasei* during storage as affected by the drying method, Int Dairy J 39 (1) 1-7

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 17477 N des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Effekt der Polysorbat-Art im Fermentationsmedium auf die Zusammensetzung der Zellmembran und die Trocknungsstabilität von *Lb. paracasei* F19

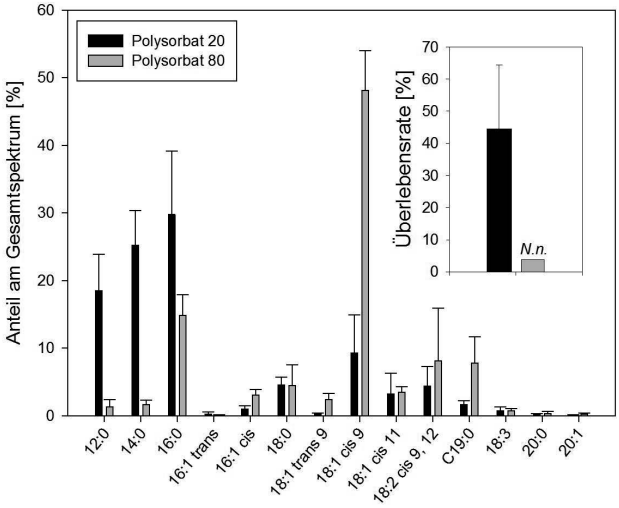
Effect of Polysorbate type in the fermentation broth on membrane composition and drying stability of Lb. paracasei F19

Simon A.W. Bauer, Sören Bernauer

Übliche Verfahren zur Konservierung von Starterkulturen sind das Tiefgefrieren und die Trocknung. Allerdings ist die Trocknung aufgrund des niedrigeren Transportgewichtes und der praktischeren Lagertemperaturen von Vorteil. Die Kulturen werden meist gefriergetrocknet. Die Gefriertrocknung ist allerdings sehr zeit- und energieintensiv. Darüber hinaus können Zellen bereits bei dem notwendigen Einfrierschritt geschädigt werden. Mehrere Studien konnten zeigen, dass die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (NTVT) als alternatives Trocknungsverfahren in Betracht kommt. Um allerdings ein effizientes Verfahren zu etablieren, müssen die Trocknungsprozessparameter und die Wechselwirkungen der Produkteigenschaf-

ten, die aus der Herstellung bzw. Fermentation der Kultur resultieren, mit dem verwendeten Prozess verstanden werden. Als Hauptschädigungsort bei der Trocknung wurde bereits die Zellmembran identifiziert. Das Membranfettsäurespektrum scheint dabei den entscheidenden Einfluss zu haben. Um diesen Einfluss besser erforschen zu können ist es nötig die Zellmembranzusammensetzung gezielt zu verändern. Bisher wurden Unterschiede im Fettsäurespektrum durch das Auslösen von Stressfaktoren während der Fermentation erreicht. In der vorliegenden Arbeit dagegen wurde untersucht inwieweit allein durch die Darreichung von definierten Fettsäuren Einfluss auf die Membranfettsäurezusammensetzung genommen werden kann und wie sich die Änderung auf die Trocknungsstabilität auswirkt. Da allerdings, insbesondere langkettige Fettsäuren, kaum im Fermentationsmedium löslich sind und somit den Zellen nur marginal zur Verfügung stehen ist es nötig die Fettsäuren in Form von Polysorbaten zuzusetzen. Diese Substanzen sind gut lösliche Ester aus Sorbitol und definierten Fettsäuren. Für die Untersuchungen wurden zwei Polysorbatarten verwendet: Zum einen Polysorbat 80 als Lieferant der Ölsäure (C18:1 cis 9; ungesättigte, langkettige Fettsäure) zum anderen Polysorbat 20 als Lieferant der Laurinsäure (C12:0; gesättigte, kurzkettige Fettsäure). Ziel war es dabei Zellen zu gewinnen, die einen hohen Anteil der jeweiligen Fettsäure in ihrer Zellmembran enthalten haben.

Für die Versuche wurde *Lb. paracasei* F19 als Teststamm verwendet. Die Kultur wurde in 2L-Labor-Fermentern auf einem modifizierten MRS-Medium fermentiert. Hierfür wurde entweder 2 g/L Polysorbat 20 oder 2 g/L Polysorbat 80 zugesetzt und die Zellen in der frühstationären Wachstumsphase geerntet, aufbereitet und getrocknet. Die Trockenpräparate wurden hinsichtlich ihres Restwassergehaltes und der Überlebensrate untersucht. Vor der Trocknung wurde die Membranfettsäurezusammensetung bestimmt. Hierzu wurden die Zellsuspensionen durch Ultraschallbehandlungen aufgeschlossen und mittels Methanol- Chloroform-Gemischen doppelt extrahiert. Die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung erfolgte mittels Gaschromatographie.



Die Ergebnisse der Fettsäurebestimmung (Abb. 1) zeigen, dass für Polysorbat 20 verstärkt kurzkettige, gesättigte Fettsäuren (C12:0, C14:0, C16:0) in die Zellmembran eingebaut wurden. Die Verwendung von Polysorbat 80 führt dagegen zu einem hohen Anteil an Ölsäure im Spektrum.

Abb. 1: Fettsäurezusammensetzung der Zellmembran von Lb. paracasei F19 fermentiert auf modifiziertem MRS mit Polysorbat 80 bzw. Polysorbat 20 mit Überlebensraten (kleines Diagramm; N.n.= nicht nachweisbar) nach der NTVT (35°C Stellflächentemperatur, 15 mbar Kammerdruck, 24 Stunden Trocknungzeit)

Dies bedeutet, dass zwar die Membranzusammensetzung durch die Art des verwendeten Polysorbates beeinflusst wird man aber nicht davon ausgehen kann, dass nur die entsprechende Fettsäure in der Membran wiederzufin-den ist. Für die Ölsäure scheint dies zwar größtenteils zuzutreffen allerdings ist für die Laurinsäure feststellbar, dass es neben der Erhöhung des Anteils an dieser Fettsäure auch zu einem hohen Anteil an Myristinsäure (C14:0) und Palmitinsäure (C16:0) kommt. Interessanter Weise konnte bei den Trocknungsversuchen festgestellt werden (Abb.1, kleines Diagramm), dass Zellen, die mit Polysorbat 20 fermentiert wurden, nach der Trocknung nicht mehr kultivierbar waren. Bei Zellen aus Fermentationen mit Polysorbat 80 dagegen konnten ca. 45 % wieder reaktiviert werden. Es scheint, dass kleine Fettsäuren die Membran insgesamt destabilisieren.

Dank: Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Erhöhung der Wasserstoffperoxidkonzentration im Entkeimungsgas bewirkt bei Kondensatbildung keine verbesserte Inaktivierung bakterieller Sporen

Higher hydrogen peroxide concentrations at condensation processes do not improve the inactivation of bacterial spores

Elisabeth Eschlbeck

Gasförmiges Wasserstoffperoxid (H_2O_2) wird häufig zur Dekontamination von Verpackungsmaterialien eingesetzt. Einerseits stellt Wasserstoffperoxid eine hocheffektive Alternative zur thermischen Inaktivierung dar, die gerade für kunststoffbeschichtete Packmaterialien schädlich ist, andererseits weist H_2O_2 durch seinen Zerfall zu Wasser und Sauerstoff keine schädlichen Rückstände auf. In Abhängigkeit der Wasserstoffperoxidkonzentration im Gasgemisch existiert ein bestimmter Taupunkt. Als Taupunkt wird die Temperatur bezeichnet, ab der sich Kondensat bildet. Diese Taupunkttemperatur wurde rechnerisch mit Hilfe von Formeln nach Parks und Watling (2004) berechnet.

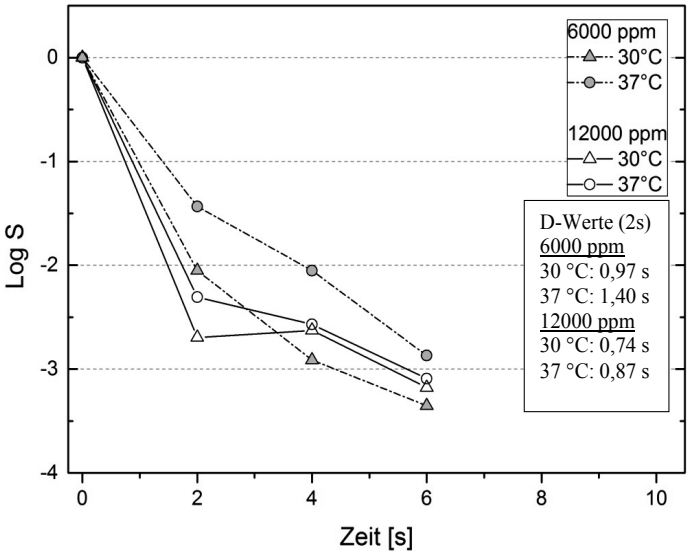


Abb. 1: Inaktivierung ohne Kondensatbildung mit 6000 ppm und 12 000 ppm H_2O_2 im Gasgemisch

Bei 35%igem Wasserstoffperoxid in der Ausgangslösung liegt der Taupunkt für eine Gaskonzentration von 6000 ppm bei 46,6 °C, für eine Gaskonzentration von 12 000 ppm bei 58,7 °C.

Inaktiviert wurden zwei verschieden angezüchtete *Bacillus subtilis* Sporen, die sich hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Wasserstoffperoxid unterscheiden. Der bei 37 °C angezüchtete Stamm hat sich als widerstandsfähiger gegenüber flüssigem H_2O_2 bei Raumtemperatur erwiesen.

Um eine möglichst schnelle, vollständige Inaktivierung mit gasförmigem H_2O_2 zu erwirken, wurde der Einfluss der Konzentration mit und ohne Kondensatbildung untersucht. Um Kondensatbildung zu kontrollieren, wurden kontaminierte, auf eine Temperatur ober- bzw. unterhalt des Taupunktes konditionierte in die Anlage gegeben. Die Kammertemperatur betrug 70 °C. In Abbildung 1 ist die Inaktivierung bei einer Probe, welche auf eine Temperatur oberhalb des Taupunktes und somit ohne Kondensatbildung erhitzt wurde, dargestellt.

Es ist deutlich zu erkennen, dass eine Erhöhung der H_2O_2 Konzentration eine schnellere Inaktivierung der bakteriellen Sporen und somit eine Verbesserung der Dekontaminationsleistung mit sich bringt. Die widerstandsfähigeren, bei 37 °C angezüchteten Sporen werden bei einer Erhöhung H_2O_2 Menge von 6000 auf 12000 ppm anstatt in 1,40 s innerhalb von 0,87 s um eine Zehnerpotenz reduziert. Die weiteren Inaktivierungsverläufe befinden sich, speziell für die Inaktivierungen mit 12000 ppm, nach 2 s knapp an der Detektionsgrenze.

Bei identischem Versuchsaufbau, bei dem der kontaminierte Packstoff jedoch bei Raumtemperatur in die Entkeimungsanlage gegeben wurde, bildet sich Mikrokondensat auf der Packstoffoberfläche. Im Verlauf des Behandlungszeitraums erwärmt sich der Packstoff durch die warme, umströmende Luft auf eine Temperatur oberhalb der Taupunkttemperatur. Erst bei Überschreiten dieser Temperatur beginnt das entstandene Mikrokondensat, wieder zu verdunsten. Es folgt aufgrund des höheren Siedepunktes von H_2O_2 eine Konzentrierung.

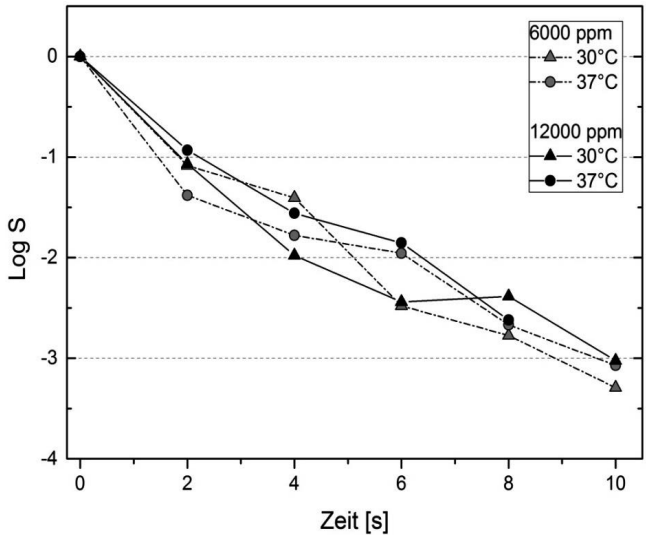


Abb. 2: Inaktivierung mit Kondensatbildung mit 6000 ppm und 12 000 ppm H_2O_2 im Gasgemisch

Abb. 2 zeigt die ermittelten Inaktivierungskurven. Lediglich geringe Unterschiede lassen sich bei einer Verdoppelung der H_2O_2-Menge von 6000 auf 12000 ppm feststellen. Eine Erhöhung des H_2O_2-Gehaltes bei diesen Bedingungen ist also nicht förderlich für den Inaktivierungserfolg. Begründen lassen sich diese Ergebnisse mit der Erwärmung des Packstoffes. Erst nach 6 s weist der bei Raumtemperatur (22 °C) in die Behandlungskammer eingebrachte Packstoff eine Temperatur von 45 °C auf.

Der Taupunkt liegt bei 6000 ppm bei 46,6 °C, für eine Gaskonzentration von 12 000 ppm bei 58,7 °C. Das bedeutet, dass sich bis zur 6. Sekunde nur Kondensat auf der Oberfläche bildet. Dieses besitzt unabhängig von der Konzentration im Gas die gleiche Konzentration.

Die Konzentrierung des H_2O_2 für die geringere Gaskonzentration setzt erst ab der 6. Behandlungssekunde ein, bei der höheren Gaskonzentration sogar noch später. Im Bereich zwischen 6 und 10 s ist die Detektionsgrenze allerdings schon fast erreicht. Für eine schnelle Inaktivierung mit Kondensatbildung im Bereich von 6000 ppm lohnt sich eine Erhöhung der H_2O_2-Konzentration im Gasgemisch folglich nicht.

Literatur:

Parks, M, Watling, D: The Relationship between Saturated Hydrogen Peroxide, Water Vapour and Temperature, Pharmaceutical Technology Eur, 16, 50 – 54

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 17721 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142 – 148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforderung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss von Produkt- und Prozessparametern auf die Kapselbildung

Influence of product and process parameters on the capsule formation

Rebecca Würth, Max Günther Müller[*], Eva Schlosser[*]
([*]TUM Lehrstuhl Verfahrenstechnik disperser Systeme)

Die Sprühtrocknung ist ein sehr gängiges Verfahren zur Verkapselung sensitiver Inhaltsstoffe, wie z.B. Probiotika. Meistens werden dabei jedoch wasserlösliche Kapseln gebildet, weshalb die Barriere nur während der trockenen Lagerung, nicht aber beim Einsatz in einem feuchten Lebensmittel aufrechterhalten werden kann. Bei diesem Prozess hingegen können durch die Sprühtrocknung eines kalt-eingelabten Magermilchkonzentrats und anschließendem warmen Rehydratisieren wasserunlösliche Kapseln erzeugt werden. Die Herausforderung ist, die Labgelbildung nach Ablauf der enzymatischen Primärphase gerade noch zu verhindern, um ein Versprühen zu ermöglichen. Der erste Teil der Gelbildung findet dabei im Verlauf der Sprühtrocknung statt, der zweite Teil zu vollständig ausgebildeten Hydrogelkapseln durch Rehydratisierung bei 40 °C.

Zur Beschleunigung der Gelbildung wurde der Einfluss einer $CaCl_2$-Zugabe zum Rehydratisierungsmedium untersucht. Aus der Käsereitechnologie ist bekannt, dass durch die Zugabe von $CaCl_2$ die Vernetzung der Caseinmizellen verstärkt wird. Somit soll eine vollständige Kapselbildung bei moderaten Temperaturen ablaufen. In Abb. 1 ist die Auswirkung der Salzzugabe auf die Kapselbildung dargestellt. Abb. 1 (A) zeigt den Caseinanteil, der nach Abzentrifugieren der Kapseln im Überstand gemessen wird. Dies wird als Maß für unvernetztes Casein interpretiert. Ein geringer Anteil an freiem Casein spricht für einen hohen Grad an Kapselbildung. Es zeigte sich, dass ohne Salzzugabe noch ein sehr hoher Anteil Casein in unvernetzter Form vorliegt. Durch die Zugabe von 0,68 bzw. 1,34 mM $CaCl_2$ kann dies auf ca. 10 bzw. 5 % reduziert werden. Bei einer höheren Konzentration verschlechtert sich die Kapselbildung dagegen wieder. Erklären lässt sich dies damit, dass bei höheren Konzentrationen die positive Ladung an der Oberfläche der Caseine so weit ansteigt, dass diese sich wieder abstoßen.

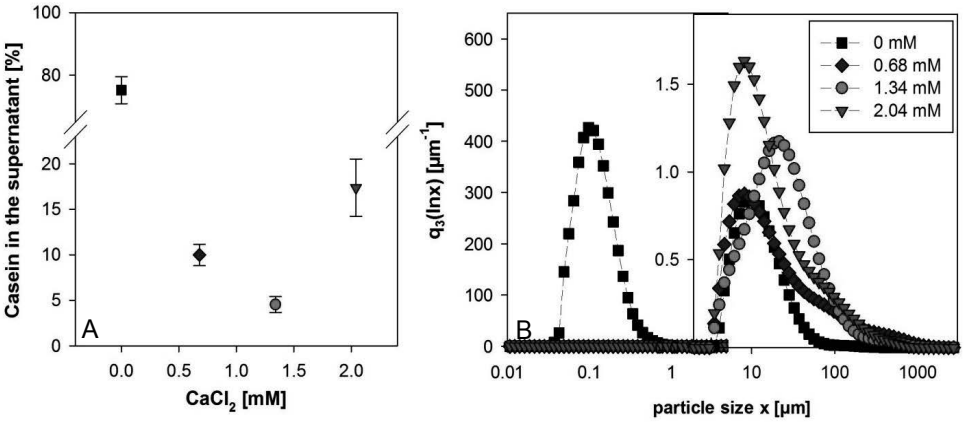


Abb. 1: Einfluss der $CaCl_2$-Konzentrationen auf die Kapselbildung: (A) Anteil freies Casein in der Rehydratisierungslösung und (B) Partikelgrößenverteilung der Kapseln

Die Untersuchung der Partikelgröße (Abb. 1 (B)) ergab, dass ohne Salzzugabe eine bimodale Verteilung gemessen wird. Der erste Peak liegt im Bereich von nicht-aggregiertem Casein, der zweite im Bereich der Kapseln. Die dabei gemessene Verteilung der Kapseln ist allerdings sehr breit. Daher wurde im Nachfolgenden das Pulver nach der Sprühtrocknung in der Wirbelschicht agglomeriert, um den Kapselbildungsschritt noch weiter vor dem Rehydratisieren ablaufen zu lassen und so die Verteilungsbreite zu reduzieren.

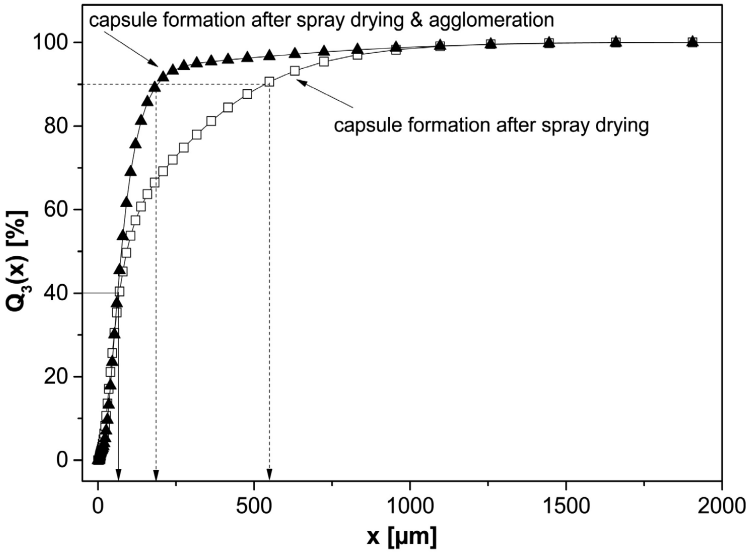


Abb. 2: Partikelgrößenverteilung der Kapseln aus Pulvern direkt nach der Sprühtrocknung und nach zusätzlicher Agglomeration

Die Partikelgrößenverteilungen dieser Kapseln, die aus Pulver mit und ohne vorherigem Agglomerationsschritt hergestellt worden sind, sind in Abb. 2 dargestellt. Diese zeigen, dass sich die beiden Pulver hinsichtlich der Kapselbildung für die kleineren Partikel bis ca. 50 µm (40 % aller Partikel) identisch verhalten. Für 90 % der Kapseln ist jedoch ein großer Unter-

schied zu erkennen. 90 % der Hydrogelkapseln aus agglomeriertem Pulver sind unter ca. 200 µm, aus nicht agglomeriertem Pulver dagegen mehr als doppelt so groß. Es kann daher angenommen werden, dass durch den zusätzlichen Prozessschritt der Agglomeration in der Wirbelschicht die Gelbildung im Kapselpulver weiter voranschreitet und so weniger Gelbildung während dem Rehydratisieren stattfindet, was sich positiv auf die resultierende Kapselgröße auswirkt. Es werden zudem nach dem Rehydratisieren wesentlich kleinere Kapseln erzeugt, was auch aus sensorischer Sicht anstrebenswert ist.

Forschungsgebiet Proteintechnologie und Mikrostruktur-Verfahrenstechnik / Workgroup Protein Technology and Microstructure Engineering

Einfluss von hitzeinduzierten Strukturveränderungen auf das Schäumungsverhalten von β-Lactoglobulin

Impact of heat-induced structural changes on the foaming properties of β-lactoglobulin

Jannika Dombrowski, Florian Johler

Aufgrund ihrer vielfältigen techno-funktionellen Eigenschaften werden Molkenproteine häufig zur Strukturbildung und -stabilisierung in geschäumten Lebensmitteln eingesetzt. Das majore Molkenprotein β-Lactoglobulin ist hierbei von besonderem Interesse, da es eine ausgeprägte Tertiär- sowie Quartärstruktur besitzt und sowohl in nativem Zustand als auch in Form von thermisch aggregierten Partikeln zum Einsatz kommen kann. In Abhängigkeit der besonderen strukturellen Eigenschaften dieses Proteins ergeben sich verschiedene Situationen hinsichtlich der Besetzung der Luft/Wasser-Grenzfläche, was sich auch in den resultierenden Schaumstrukturen widerspiegeln kann. Das Ziel dieser Arbeit war daher eine Korrelation der molekularen Proteineigenschaften (u. a. Partikelgröße) mit den makroskopischen Schaumeigenschaften, um das Wissen zur Bildung und zum Zerfall milchproteinstabilisierter Schäume zu erweitern.

Nachdem der pH-Wert einen entscheidenden Einfluss auf das Ausmaß an inter- und/oder intramolekularen strukturellen Modifikationen während der Erhitzung nimmt, wurde β-Lactoglobulin bei verschiedenen pH-Werten (pH 6,8 und pH 8,0) denaturiert. Aus der Literatur ist bekannt, dass es bei β-Lactoglobulin in Abhängigkeit des pH-Wertes zu einer reversiblen Oligomerisierung über nicht-kovalente Wechselwirkungen kommt (T = 20 °C). Beim physiologischen pH-Wert der Milch (pH 6,8) liegen die Moleküle beispielsweise hauptsächlich als Dimere vor. Unterhalb von pH 3 sowie oberhalb von pH 7,5 überwiegt hingegen die monomere Form. Ausgehend vom physiologischen pH-Wert der Milch kommt es während einer thermischen Behandlung bei Temperaturen zwischen 40 °C und 50 °C zunächst zu einer Dissoziation der Dimere. Eine zunehmende Temperaturerhöhung resultiert in einer Auffaltung der nativen Proteinstruktur, wodurch zuvor im Inneren der globulären Struktur versteckte hydrophobe Bereiche sowie die freie Thiolgruppe freigelegt werden. Durch einen weiteren Temperaturanstieg wird die irreversible Aggregation der reaktiven Moleküle vor allem über hydrophobe Wechselwirkungen sowie Thiol-Austauschreaktionen induziert [Bauer et al., 2000; Schokker et al., 2000; Tolkach & Kulozik, 2007].

Tab. 1: Erzielte Denaturierungsgrade (DG)

	DG [%]
Denaturiert, pH 6,8	93
Denaturiert, pH 8,0	82

Für die Versuche in dieser Arbeit wurde β-Lactoglobulin als 1 %ige Lösung für 90 min auf eine Temperatur von 80 °C erhitzt. Die erzielten Denaturierungsgrade (DG) wurden mittels Hochleistungsflüs-

sigkeitschromatographie (RP-HPLC) bestimmt und sind in Tab. 1 dargestellt. Hierbei zeigte sich, dass die bei pH 6,8 denaturierte Probe im Vergleich zu pH 8,0 einen höheren DG erreichte. Allgemein verblieb ein gewisser Restanteil an nativem Protein (7 % bei pH 6,8 bzw. 18 % bei pH 8,0). Durch die verschiedenen pH-Werte der Lösungen sollten gezielt Denaturate unterschiedlicher Größe gebildet werden. Dass es während des zweiten, irreversiblen Reaktionsschrittes der Erhitzung in Abhängigkeit der Milieubedingungen zur Bildung unterschiedlicher Aggregate kam, zeigen die Resultate der Partikelgrößenmessung. Die gebildeten Aggregate wurden mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) hinsichtlich ihrer Partikelgröße im Vergleich zur nativen Ausgangsprobe (pH 6,8) charakterisiert. Hierfür wurden die Proben mit enthärtetem Wasser auf eine Proteinkonzentration von 0,1 % verdünnt und sowohl die Viskosität (1,01 mPa s) als auch der Brechungsindex (1,333) bei den Messungen berücksichtigt. Die Ergebnisse hierzu sind in Abb. 1 dargestellt.

Der mittlere Durchmesser des nativen β-Lactoglobulins (dimere Form) lag bei etwa 3,7 nm. Durch die thermische Denaturierung bei diesem pH-Wert wurden Aggregate mit einer Größe von ca. 46 nm gebildet. Im Vergleich dazu resultierte die Erhitzung auf 80 °C für 90 min bei einem pH Wert von 8,0 in Partikeln deren Durchmesser in einer vergleichbaren Größenordnung wie das native β-Lactoglobulin lagen (3,2 nm). Zurückgeführt wurden diese Beobachtungen darauf, dass bei pH 8,0 aufgrund der negativeren Nettoladung der Proteinmoleküle (IEP = pH 5,2) eine stärkere elektrostatische Abstoßung auftrat und dadurch kleinere Denaturate, sog. „nicht-native Monomere“ gebildet wurden. Croguennec et al. (2003) erklärten die ausbleibende Aggregation im leicht alkalischen Milieu zudem mit der hohen Reaktivität der freien Thiolgruppe in diesem Bereich, welche bei pH 8,0 deprotoniert vorliegt. Daraus resultierend kommt es zu intramolekularen Thiol-Austauschreaktionen sowie einer Umstrukturierung des Proteins, jedoch nicht zu einer Aggregation mit anderen Molekülen.

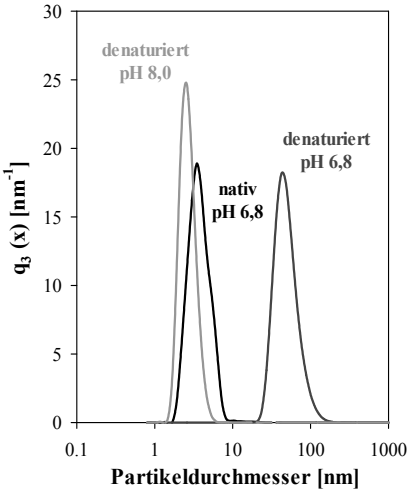


Abb. 1: Einfluss der thermischen Denaturierung auf die Partikelgröße

Basierend auf den Ergebnissen zur Partikelgrößenverteilung wurden die Schaumbildung und der Schaumzerfall, der bei pH 6,8 bzw. pH 8,0 gebildeten Denaturate im Vergleich zur nativen Ausgangslösung untersucht. Hierfür wurden 0,1 %ige Lösungen der hergestellten Aggregate verwendet, um den Einfluss der Viskosität sowie des Restanteils an nativem Protein (7 % bzw. 18 %) vernachlässigen zu können. Dies lässt sich damit rechtfertigen, dass Lösungen mit einem β-Lactoglobulingehalt < 0,05 % (natives Protein) nicht schäumen. Der pH-Wert der Lösungen betrug 6,8 und die Versuche wurden bei einer Temperatur von 20 °C durchgeführt.

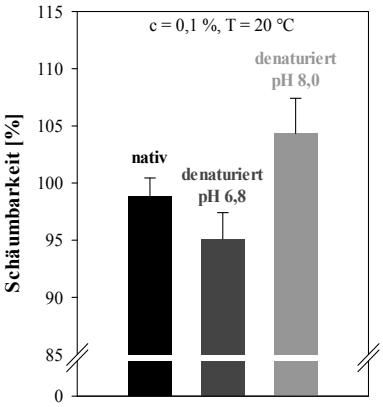


Abb. 2: Einfluss Einfluss der thermischen Denaturierung auf die Schäumbarkeit

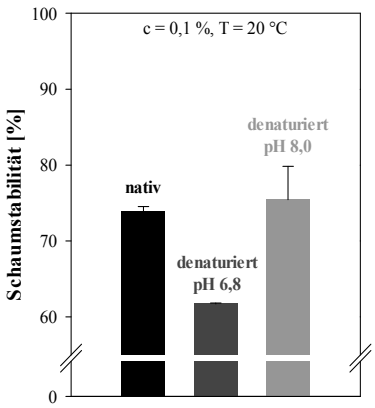


Abb. 3: Einfluss der thermischen Denaturierung auf die Schaumstabilität

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, wurden für die Schäumbarkeit der untersuchten Proben Werte zwischen 95 % und 105 % erreicht. Die Schäumbarkeit beschreibt das allgemeine Schaumbildungsvermögen einer Lösung und ist ein Maß für die Volumenzunahme während des Gaseintrags. Eine Korrelation der Schäumbarkeit mit der Partikelgröße des β-Lactoglobulins ergab einen klaren Zusammenhang und zeigte, dass mit zunehmender Partikelgröße ein geringeres Schaumvolumen aus einem definierten Volumen an Ausgangslösung gebildet wurde (Abb. 4).

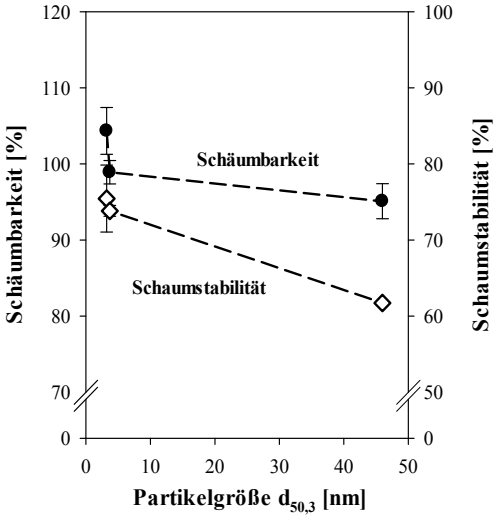


Abb. 4: Korrelation von Partikelgröße und Schaum eigenschaften

Daraus folgt, dass die Größe der Partikel die Diffusion und Adsorption der Proteine zur bzw. an die Luft/Wasser-Grenzfläche in diesem Bereich beeinflusst. Allerdings waren die Unterschiede nicht so stark ausgeprägt wie erwartet. Die lässt den Schluss zu, dass weitere Moleküleigenschaften (z. B. Oberflächenladung und Oberflächenhydrophobizität) ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Grenzflächenbesetzung spielen. Hinsichtlich der Schaumstabilität konnte ebenfalls eine Abhängigkeit von der Partikelgröße ermittelt werden (Abb. 4). Wie in Abb. 3 dargestellt ist, lag die Stabilität der nativen sowie der bei pH 8,0 denaturierten Proben (Partikeldurchmesser: 3,7 nm bzw. 3,2 nm) bei etwa 75 %. Im Vergleich dazu war die Schaumstabilität des bei pH 6,8 denaturierten β-Lactoglobulins (Partikelgröße: 46 nm) signifikant geringer und erreichte einen Wert von 62 %. Zurückführen lässt sich dieser Trend auf die bei kleineren Molekülgrößen höhere Belegungsdichte an der Luft/Wasser-Grenzfläche, was in höheren Schaumstabilitäten resultiert. Zusam-

menfassend lässt sich festhalten, dass durch die Wahl der Milieubedingungen (z. B. pH-Wert, Ionenstärke) bei der thermischen Behandlung gezielt Denaturate unterschiedlicher Größe erzeugt werden können, deren Schäumungseigenschaften sich von der nativen Vergleichsprobe teilweise signifikant unterscheiden.

Literatur:

Bauer, R, Carrotta, R, Rischel, C, Øgendal, L (2000): Characterization and Isolation of Intermediates in β-lactoglobulin Heat Aggregation at High pH, Biophys J, 79 (2), 1030

Croguennec, T, Bouhallab, S, Mollé, D, O'Kennedy, BT, Mehra, R (2003): Stable monomeric intermediate with exposed Cys-119 is formed during heat denaturation of β-lactoglobulin, Biochem Bioph Res Co, 301 (2), 465–471

Schokker, EP, Singh, H, Creamer, LK (2000): Heat-induced aggregation of β-lactoglobulin A and B with α-lactalbumin, Int Dairy J, 10, 843–853

Tolkach, A, Kulozik, U (2007): Reaction kinetic pathway of reversible and irreversible thermal denaturation of β-lactoglobulin, Le Lait, 87 (4-5), 301–315

Zúñiga, RN, Tolkach, A, Kulozik, U, Aguilera, JM (2010): Kinetics of Formation and Physicochemical Characterization of Thermally-Induced β-Lactoglobulin Aggregates, J Food Sci, 75 (5), E261-E268

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 17124 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Thermische Stabilität von bovinen Immunglobulinen in Milch

Thermal stability of bovine immunoglobulins in milk

Hans-Jürgen Heidebrecht, Felix Hermann Wagmüller

Der Einsatz von bovinen Immunglobulinen aus Milch ist eine mögliche Behandlungsmethode für verschiedene Humankrankheiten. Damit kann eine Alternative gegenüber teuren und teilweise unwirksamen Therapien mit Antibiotika geschaffen werden (Mehra et al. 2006). Um Ig-reiche Produkte für humanmedizinische Zwecke nutzen zu können, sind verschiedene Prozessschritte notwendig. Dabei wird die Stabilität der Ig insbesondere durch hohe Temperaturen negativ beeinflusst. Bisherige Studien haben nur einzelne Temperatur/Zeitkombinationen untersucht und weisen große Unterschiede auf. Eine systematische Untersuchung einer möglichst geringfügigen Denaturierung von bovinen Immunglobulinen in Milch bei gleichzeitig ausreichender mikrobiologischer Stabilität existiert bisher nicht. Ziel war es daher, die Denaturierung der majoren Immunglobulinklasse IgG kinetisch zu beschreiben, um so Erhitzungsprozesse berechnen und optimieren zu können.

Dafür wurde Milch im Bereich von 70 – 80 °C für unterschiedliche Zeiten im Wasserbad erhitzt und der Einfluss auf IgG mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt. Abb. 1 a) zeigt die Restaktivität von IgG als Funktion der Zeit bei verschiedenen Temperaturen. Es geht hervor, dass die Denaturierung von IgG mit steigender Temperatur und Zeit zunimmt. Beispielsweise beträgt die Denaturierung bei 70 °C nach 900 s 60 %, während eine ähnliche Denaturierung von 62 % bei 78 °C bereits nach 90 s eintritt. Für die Berechnung der Linien Gleichen Effektes werden die Daten im ersten Schritt gemäß dem Geschwindigkeitsgesetz nach Gleichung 1 aufgetragen und die Reaktionsordnung (n) ermittelt. Abb. 1 b) zeigt die Auftragung entsprechend Gl 2 (integrierte Form von Gl 1 für $n \neq 1$) für $n = 1{,}5$.

$$\frac{dC}{dt} = k_n \cdot C^n \quad (1)$$

$$\left(\frac{C_t}{C_0}\right)^{1-n} = 1 + (n-1) \cdot C_0^{n-1} \cdot k \cdot t \quad (2)$$

C = native IgG Konzentration zum Zeitpunkt t_0 bzw. t, , k = Geschwindigkeitskonstante

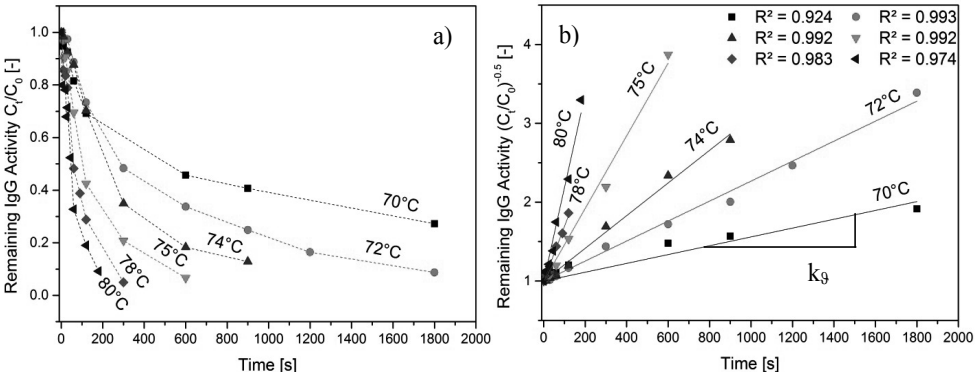


Abb. 1: Thermisch bedingter Verlust von IgG gemäß der Reaktionsordnung 0 (a) und 1,5 (b)

Bei dieser Auftragung sind die Werte für den Korrelationskoeffizienten $R^2 > 0{,}97$ (mit Ausnahme von 70 °C), so dass sich ein linearer Verlauf ergibt. Die Schlussfolgerung daraus ist, dass die Denaturierung von IgG der Reaktionsordnung 1,5 folgt. Aus den Steigungen der Ausgleichsgeraden werden nach Gl. 2 die temperaturabhängigen Geschwindigkeitskonstanten k_ϑ berechnet. Durch die logarithmische Auftragung der Geschwindigkeitskonstanten als Funktion der reziproken absoluten Temperatur (T) können im zweiten Schritt entsprechend der Arrhenius Beziehung nach Gl. 3 die Aktivierungsenergie (E_a) und die Geschwindigkeitskonstante (k_0) aus der Steigung bzw. dem y-Achsenabschnitt ermittelt werden.

$$k = k_0 \cdot exp\left(-\frac{E_a}{R \cdot T}\right) \quad (3)$$

Für die Aktivierungsenergie ergibt sich ein Wert von 303 kJ/mol, der innerhalb der Spanne von 258 – 370 kJ/mol von publizierten Daten liegt (Li-Chan et al. 1995; Mainer et al. 1997). Für k_0 ergibt sich ein Wert von 9.8E+42 s^{-1}. Durch die Zusammenführung des Geschwindigkeitsgesetzes und der Arrhenius Beziehung können nach Gl. 4 die Linien gleichen Effektes berechnet werden (Abb. 2).

$$t = \left[-\frac{ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right)^{1-n} - 1}{(n-1)C_0^{n-1}k_0}\right] \cdot exp\left(\frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}\right) \quad (4)$$

Jede Linie von Abb. 2 repräsentiert eine Temperatur/ Zeitkombination für unterschiedliche Denaturierungsgerade von IgG in Milch. Es ist beispielweise ersichtlich, dass eine Denaturierung von 10 % bei 70 °C nach 81 s auftritt während derselbe Effekt bei 80 °C in 4 s erreicht wird. Bei 72 °C und 15 s wird IgG 3-5 % denaturiert, so dass es möglich ist, die IgG-Fraktion in der Milch bei minimalen Pasteurisationsbedingungen fast vollständig zu erhalten. Allerdings muss bedacht werden, dass die verschiedenen IgG- Regionen nicht zur gleichen Zeit auffalten (Vermeer und Norde, 2000), die so dass biologische Aktivität abweichen kann. Insgesamt können, zusammen mit der bekannten Inaktivierung von pathogenen Mikroorganismen in Milch, verschiedene Wärmebehandlungsverfahren bezüglich ihres Einflusses auf die Veränderung von IgG beurteilt werden.

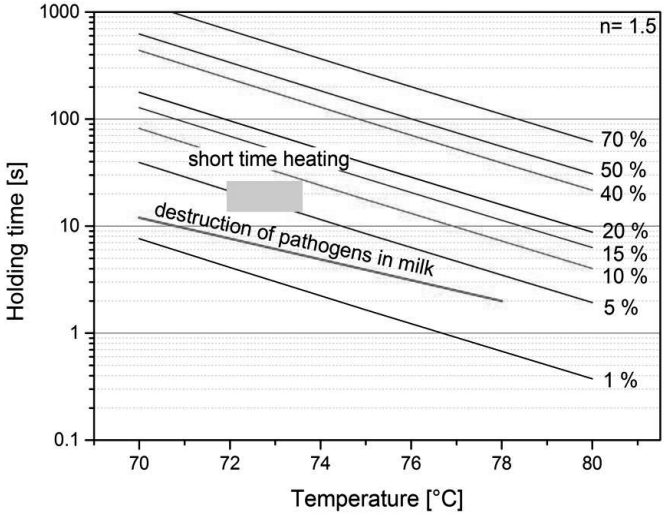


Abb. 2: Linien gleichen Effektes für IgG in Milch

Literatur

Li-Chan, E, Kummer, A, Losso, JN, Kitts, DD, Nakai, S (1995): Stability of bovine immunoglobulins to thermal treatment and processing, Food Research International, 28 (1), 9–16

Mainer, G, Sanchez, L, Ena, JM, Calvo, M (1997): Kinetic and Thermodynamic Parameters for Heat Denaturation of Bovine Milk IgG, IgA and IgM, J Food Science, 62 (5), 1034–38

Mehra, R, Marnila, P, Korhonen, H (2006): Milk immunoglobulins for health promotion, Int Dairy J, 16 (11) 1262–71

Vermeer, AWP, Norde, W: The Thermal Stability of Immunoglobulin: Unfolding and Aggregation of a Multi-Domain Protein, Biophysical Journal 2000, 78, 394–404

Natrium-Caseinat Hydrogele als Vorstufe überkritisch getrockneter Aerogele und deren Nutzbarkeit als Schutz- und Transportmatrix

Sodium caseinate hydrogels as precursor of supercritically dried aerogels and their applicability as protection and transportation matrix

Christian Kleemann, Ilka Selmer*, Patrick Loy und Miriam Bosch *(TU Hamburg-Harburg)

Die überkritische Trocknung ist ein Verfahren zur Trocknung von unterschiedlichsten Substanzen, welches die Struktur dieser Produkte in nahezu unveränderter Form erhält. Außerordentlich gut eignet sich diese Form der Trocknung für Gelstrukturen. Besonders hervorzuheben ist, dass sogenannte Aerogele eine sehr große spezifische innere Oberfläche im Bereich von bis zu 1000 m^2/g aufweisen. Diese Eigenschaft soll genutzt werden, um ein neues Verfahren zur Mikroverkapselung zu etablieren. Es ist eine große Beladungskapazität zu erwarten, wenn diese Oberfläche mit sensitiven oder sensorisch störenden Stoffen beladen wird. Im Bereich der Lebensmittel ist der Einsatz von Protein als Matrixmaterial naheliegend, da diese

natürlicher Bestandteil von Lebensmitteln sind. Die grundsätzliche Eignung von Milchproteinen zur Herstellung von Aerogelen konnte bereits durch Betz et al. (2012) gezeigt werden.

Proteingele aus Natrium-Caseinat (NaCas) eignen sich besonders zur Verkapselung hitzesensitiver und pH-sensitiver Stoffe wie probiotischer Mikroorganismen. Die Quervernetzung wird dabei durch Transglutaminase induziert, deren Wirkoptimum bei sehr milden Milieubedingungen (50 °C, pH 7) liegt. Mikrokapseln werden dabei durch Emulgieren der Proteinlösung in Öl und der langsam verlaufenden Gelbildung gewonnen (Heidebach et al., 2009).

Darauf aufbauend soll diese Technologie der Herstellung von Mikrokapseln genutzt werden, um ein neuartiges Verkapselungssystem auf Basis von NaCas-Aerogelen zu entwickeln. Vorteilhaft gegenüber den Hydrogelsystemen ist dabei, dass das Kernmaterial erst im Anschluss an den Herstellungsprozess in die Kapseln eingebracht wird und dass getrocknete Mikrokapseln besser und länger gelagert werden können.

Um den Prozess zu etablieren, muss die Eignung der Hydrogele zur Überführung in den Aerogelzustand überprüft werden. Dafür wurden makroskopische Hydrogelkörper aus NaCas-Lösungen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen hergestellt und diese auf ihre texturellen und rheologischen Eigenschaften untersucht. NaCas-Lösungen mit variierendem Proteingehalt wurden mit 10 U/g $_{Protein}$ Transglutaminase versetzt und in zylindrische Gefäße (80 x 35 mm) gefüllt, luftdicht verschlossen und zwei Stunden bei 40 °C im Trockenschrank inkubiert. Die Transglutaminase induziert dabei die kovalente Quervernetzung der Aminosäuren Glutamin und Lysin über eine Isopeptidbindung. Dabei entsteht ein sehr stabiles irreversibel verknüpftes Proteinnetzwerk. Abb. 1 zeigt, dass mit zunehmender Proteinkonzentration die Ruhestrukturstärke der Gele zunimmt. Quantifiziert wurde die Ruhestrukturstärke dabei über das Speichermodul G‘ [Pa] der Probe bei einer Kreisfrequenz von $\omega = 0{,}1$ rad/s. Vergleichend wurde mit einem Texture Analyzer die benötigte Kraft gemessen, um die Probe zu komprimieren. Als Bezugswert dient dabei die verrichtete Arbeit (Abb. 1). Diese verdoppelt sich in etwa, wenn die Proteinkonzentration um 2,5 % gesteigert wird. Die Erhöhung der Gelstärke bei höheren Proteinkonzentrationen lässt sich durch eine höhere Konzentration an Glutamin und Lysin als beteiligte Aminosäuren an der Quervernetzungsreaktion erklären. Die größere Zahl an Bindungsstellen schafft eine engmaschigere Netzwerkstruktur und resultiert in einer geringeren Deformierbarkeit. NaCas-Hydrogele lassen daher bei steigender Proteinkonzentration eine größere spezifische Oberfläche erwarten, einhergehend mit einer größeren Beladungskapazität.

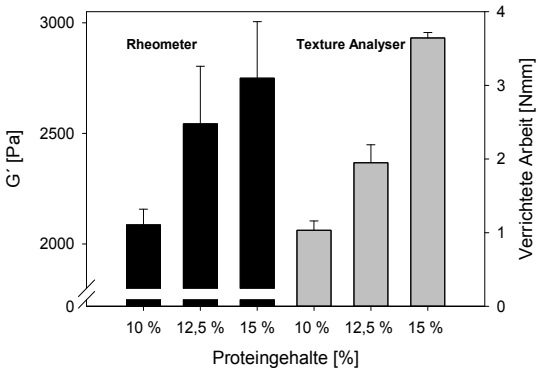


Abb. 1: Ruhestrukturstärke und Gelfestigkeit von NaCas-Hydrogelen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen, gemessen mit Rheometer und Texture Analyzer

Der tatsächliche Einfluss der Proteinkonzentration auf die spezifische Oberfläche der Aerogele wurde ausgehend von makroskopischen Hydrogelkugeln (Durchmesser 5 mm) untersucht. Für den Lösungsmittelaustausch wurden die Gelkörper entweder direkt in reines Ethanol oder in eine wässrige Ethanollösung (EtOH 80 % (w/w)) überführt. Das Ethanol wurde viermal erneuert bzw. die Ethanolkonzentration im zweiten Austauschschritt auf 100 % erhöht und im Folgenden noch dreimal erneuert. Die Gelkugeln wurden dann unter Verwendung von überkritischem CO_2 getrocknet. Die spezifische Oberfläche wurde über eine BET-Messung bestimmt.

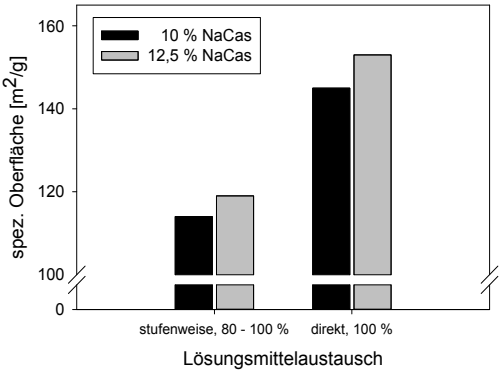


Abb. 2: Spezifische Oberfläche (BET) von NaCas-Aerogelen nach stufenweisem bzw. direktem Ethanolaustausch mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen

Abb. 2 zeigt die spezifische Oberfläche in m^2/g sowohl für den stufenweisen als auch den direkten Ethanolaustausch. Der stufenweise Austausch zeigt dabei etwa 25 % kleinere spezifische Oberflächen. Der erwartete Vorteil einer schonenden Veränderung der Struktur durch das Ethanol konnte damit nicht bestätigt werden. Der direkte Ethanolaustausch scheint hier die Struktur des Proteinnetzwerkes besser zu stabilisieren. Die größere spezifische Oberfläche durch eine höhere Proteinkonzentration ist zwar in der Tendenz erkennbar, fällt aber deutlich geringer aus als erwartet. Die Ergebnisse aus den rheologischen und texturellen Untersuchungen der Hydrogele können somit nicht direkt in Relation mit den spezifischen Oberflächen der Aerogele gesetzt werden. Das vermutete engmaschigere Proteinnetzwerk trägt demnach im Wesentlichen zur mechanischen Stabilität der Hydrogele und nicht zur spezifischen Oberfläche der Aerogele bei. Inwiefern dieses auch zur mechanischen Stabilität der Aerogele beiträgt sollen weiterführende Untersuchungen zeigen.

Literatur:

Betz, M, García-González, C, Subrahmanyam, R, Smirnova, I, Kulozik, U (2012): Preparation of novel whey protein-based aerogels as drug carriers for life science applications, The Journal of Supercritical Fluids, 72, 111–119

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U (2009): Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells, Intern. Dairy J, 19 (2), 77–84

Dank:

Das IGF-Vorhaben AiF 17485 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss des Hydrolysegrads auf die emulgierenden Eigenschaften von β-Lactoglobulin
Impact of the degree of hydrolysis on the emulsifying properties of β-lactoglobulin

Elena Leeb, Benjamin Barbu

Beim Einsatz von Protein als Emulgator diffundiert und adsorbiert es während des Emulgierprozesses an die sich ausbildende Grenzfläche der sich nicht mischenden Phasen. Durch die Anlagerung und partielle Umstrukturierung des Moleküls an der Grenzfläche können bei ausreichender Konzentration des Emulgators stabile Membranen ausgebildet werden. Wichtige Faktoren, die Einfluss auf die grenzflächenaktiven Eigenschaften von Proteinen nehmen sind die Löslichkeit, Amphiphilie und Flexibilität der Moleküle.

Die emulgierenden Eigenschaften von Molkenproteinen können durch eine Hydrolyse verbessert werden. Neben einer Verringerung des Molekulargewichtes und einer Steigerung der Anzahl ionisierbarer Gruppen werden hydrophobe Gruppen freigelegt. Die so erreichte zusätzliche Exposition grenzflächenaktiver Regionen ermöglicht den verbesserten Einsatz dieser Proteinfragmente als Emulgatoren. Jedoch ist ebenfalls bekannt, dass eine Hydrolyse bis hin zu sehr hohen Hydrolysegraden negative Effekte auf die Stabilität der Emulsionen mit sich bringt. Nachdem ein amphiphiler Charakter der Peptide erforderlich ist, um eine Stabilisierung der Grenzfläche zu ermöglichen, sind diese Peptide meist nur Zwischenprodukte der enzymatischen Hydrolyse und werden im weiteren Verlauf der Hydrolyse in kleinere Peptide gespalten. Die stetige Verkürzung der Moleküle vermindert ihre Amphiphilität und eine damit verbundene Adsorption an der Grenzfläche.

Ziel der Untersuchungen war es daher, die emulgierenden Eigenschaften des majoren Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-LG) in Abhängigkeit des Hydrolysegrades zu untersuchen. Dazu wurde β-LG mit der spezifischen Protease Trypsin verdaut und die Hydrolyse zu definierten Hydrolysegraden von 1 %, 5 % und am maximalen Hydrolysegrad (DH_{max}) von etwa 11,2 % abgebrochen. Die native Proteinlösung als auch die unterschiedlichen Hydrolysate wurden anschließend auf ihre emulgierenden Eigenschaften in einer O/W-Modellemulsion in Abhängigkeit von der eingesetzten Proteinkonzentration untersucht.

Die Fähigkeit von Proteinen Emulsionen zu stabilisieren, wird meist durch deren Fähigkeit, schnell an Grenzflächen adsorbieren zu können, bewertet. Daher bieten die Reduktion der Grenzflächenspannung als auch die Öltröpfchengröße der Emulsionen geeignete Beurteilungskriterien der Emulgiereigenschaften. Emulsionen sind umso stabiler, je niedriger die Grenzflächenspannung und je kleiner die sich bildenden Öltröpfchen sind.

In Abb. 1 sind die mittleren Öltröpfchengrößen in Abhängigkeit von der eingesetzten Emulgatorkonzentration und dem Hydrolysegrad dargestellt. Beim Einsatz des nativen β-LG sind konzentrationsabhängige Unterschiede in der Partikelgröße der Öltröpfchen nachweisbar, wobei mit einer Erhöhung der Proteinkonzentartion von 0,25 % auf 2,5 % eine Verringerung der Partikelgröße von 2,3 µm auf 1,3 µm ermittelt wird. Wird nun das Molkenprotein durch den Einsatz des Enzyms Trypsin hydrolysiert, ergeben sich je nach Hydrolysegrad und eingesetzter Emulgatorkonzentration unterschiedliche Effekte. Dabei konnten für niedrige Hydrolysegrade von 1 und 5 % und niedrige Emulgatorkonzentrationen von 0,25 % und 1,0 % verringerte Tröpfchengrößen von etwa 1 µm erreicht werden. Der positive Effekt der enzymatischen Hydrolyse auf die emulgierenden Eigenschaften ist auf eine Verringerung des Molekulargewichts und einer damit schnelleren Diffusion der Peptide an die Grenzfläche sowie einer Steigerung der grenzflächenaktiven Gruppen zu erklären. Die damit einhergehende schnellere und verstärkte Absenkung der Grenzflächenspannung (siehe Abbildung 2) führt zur

Bildung kleinerer Tröpfchen. Wird jedoch eine Hydrolyse des Proteins bis zum DH_{max} durchgeführt ist bei einer niedrigen Emulgatorkonzentration von 0,25 % keine Verringerung der Tröpfchengröße feststellbar. Der Abbau des Proteins zu kurzkettigen Peptiden führt zwar ebenfalls zu einer Absenkung der Grenzflächenspannung, wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist. Eine ausreichende Stabilisierung der Grenzfläche wird hingegen nicht erreicht. Erst durch eine Erhöhung der Peptidkonzentration auf 1,0 % sind die kurzkettigen Peptide in der Lage, einen stabilen Grenzflächenfilm auszubilden und es sind mittlere Tröpfchengrößen von 1 µm realisierbar. Eine weitere Erhöhung der Peptidkonzentration auf 2,5 % führt zu einer Erhöhung der Tröpfchengrößen auf 1,5 µm. Auch bei geringeren Hydrolysegraden konnte eine Erhöhung der Tröpfchengrößen bei einer Emulgatorkonzentration von 2,5 % ermittelt werden, jedoch in geringerem Maß. Dieser negative Effekt konnte durch die Bestimmung der Aggregationsfaktoren auf Peptidinteraktionen und einer damit verbundenen Flokkulation der Töpfchen zurückgeführt werden.

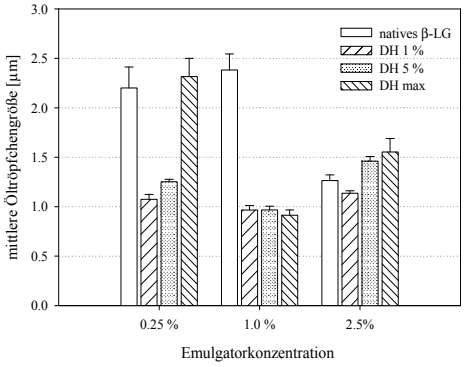


Abb.1: Mittlere Tröpfchengrößen der mittels unterschiedlich hydrolysiertem β-LG stabilisierten Emulsionen, in Abhängigkeit der eingesetzten Proteinkonzentration

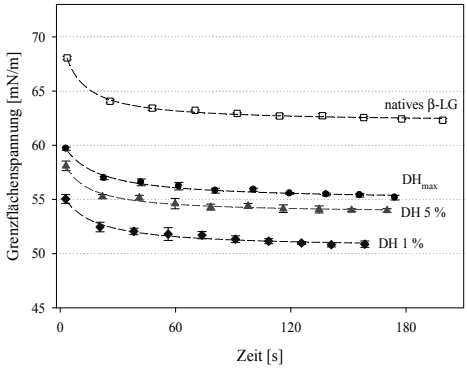


Abb. 2: Dynamische Grenzflächenspannung des nativen und unterschiedlichen Hydrolysegraden hydrolysiertem β-LG bei einer Emulgatorkonzentration von 0,25 %

Verwendete Abkürzungen: DH = Hydrolysegrad, DH_{max} = maximaler Hydrolysegrad

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass eine enzymatische Hydrolyse des Molkenproteins zu einer Steigerung seiner emulgierenden Eigenschaften genutzt werden kann. Durch die Bildung grenzflächenaktiver Peptide wird eine schnellere Besetzung und Stabilisierung der Grenzfläche ermöglicht, so dass notwendige Proteinkonzentrationen zur Stabilisierung der Emulsionen deutlich reduziert werden können.

Wird jedoch eine Total-Hydrolyse des Moleküls durchgeführt, sind die gebildeten Spaltprodukte zu klein und es ist kein ausreichend amphiphiler Charakter vorhanden, um eine Adsorption an der Grenzfläche zu ermöglichen.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 16541 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss von Prozessbedingungen bei der Extrusion auf die Mikropartikulation von Molkenproteinen

Influence process parameters during extrusion on particle size of whey protein microparticulates

Magdalena Wolz

Strukturbildende Eigenschaften können bei Molkenproteinen durch gezielte Partikelbildung mittels thermisch-mechanischer Behandlung erreicht werden. Ziel dabei ist es, aus sensorischen Gründen (Mehligkeit/Sandigkeit), Mikropartikulate im Größenbereich zwischen 0,5 und 10 µm durch Aggregation der Molkenproteine zu erzeugen.

Die Größe und Struktur der erzeugten Aggregate und damit deren funktionelle Eigenschaften hängen stark von den gewählten Prozessbedingungen ab. Die Proteinkonzentration bestimmt wesentlich die Denaturierungskinetik der Molkenproteine. Auch die Erhitzungstemperatur beeinflusst entscheidend die Geschwindigkeit der Denaturierungsreaktion. Sie bestimmt in Kombination mit der Heißhaltezeit den Grad der Denaturierung bzw. der Aggregation. Die Höhe der Scherbelastung während des Prozesses wird dagegen maßgeblich für die Limitierung der Aggregatgröße verantwortlich gemacht.

Im Extruder besteht die Möglichkeit zur Gestaltung eines kombinierten Erhitzungs- und Scherprozesses mit größerer Bandbreit der Prozessbedingungen im Vergleich zu bisher eingesetzten Verfahren mit einem Schabewärmetauscher (SSHE).

Die Mikropartikulierung wurde in einem gleichsinnig drehenden Doppelschneckenextruder ZSK 25 (Coperion, Stuttgart) mit ineinandergreifenden Schnecken durchgeführt. Als Ausgangsstoff wurde ein Molkenproteinkonzentrat mit einer Proteinkonzentration von 80 % verwendet.

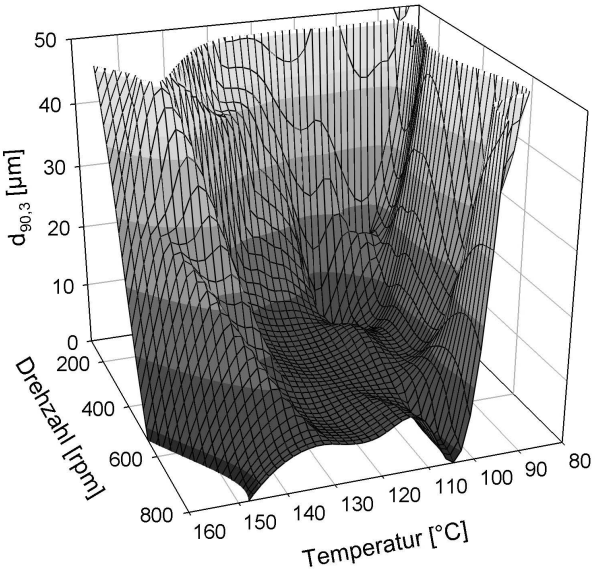


Abb. 1: Einfluss von Extrusionstemperatur und Extruderdrehzahl auf die maximale Aggregatgröße ($d_{90,3}$) für eine Proteinkonzentration von 20 % (w/w)

Der Einfluss von Temperatur und Drehzahl auf die maximale Partikelgröße ($d_{90,3}$) für eine Proteinkonzentration von 20 % ist in Abb. 1 dargestellt. Der Kennwert $d_{90,3}$ ist eine wichtige Größe zur Beurteilung des Extrusionsergebnisses bei der Mikropartikulierung, da diese die größten gebildeten Molkenproteinaggregate beschreibt. Werden die Aggregate zu groß (> 20 µm), kann dies zu einem sensorisch störenden Mundgefühl beim Einsatz in Lebensmitteln führen.

In Abb. 1 ist zu erkennen, dass bei sehr hohen Temperaturen und im Bereich niedriger Drehzahlen die Partikel am größten sind. Im Temperaturbereich zwischen 110 bis 130 °C werden bei dem verwendeten Extrusionsprozess dagegen die kleinsten Aggregate gebildet. Dieser Temperaturbereich kann dabei je nach Proteinkonzentration und damit verbundenen unterschiedlichen Denaturierungskinetiken bei anderen Temperaturen liegen. Der Effekt der Drehzahl auf die Aggregatgröße wird dabei von der Temperatur nicht beeinflusst, jedoch liegt das Niveau der Partikelgrößen bei höheren Temperaturen (> 130 °C) insgesamt höher.

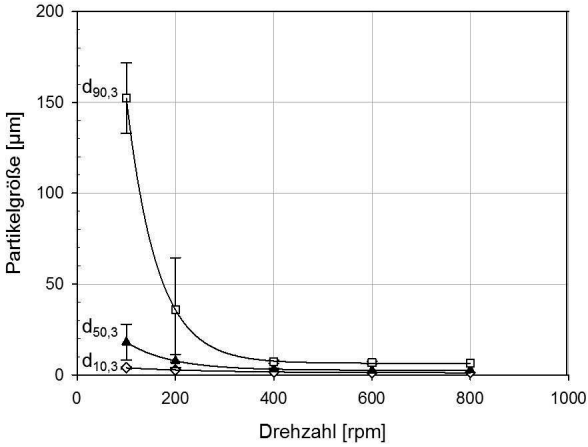


Abb. 2: Einfluss der Drehzahl auf die Partikelgröße bei einer Extrusionstemperatur von 110°C und einer Proteinkonzentration von 20 %

Der Einfluss der Schneckendrehzahl auf die Kenngrößen der Partikelgrößenverteilung, $d_{10,3}$, $d_{50,3}$ und $d_{90,3}$ ist in Abb. 2 dargestellt.

Mit steigender Drehzahl ist eine exponentielle Abnahme der Partikelgröße festzustellen. Dies ist auf die mit steigender Drehzahl zunehmenden Scherkräfte zurück zu führen. Diese sorgen für eine Zerkleinerung der Aggregate und damit zu einer Verkleinerung der resultierenden Partikelgrößenverteilung.

Mittels der Extrusion können also Mikropartikulate im angestrebten Größenbereich durch Variation der Prozessparameter hergestellt werden. Dabei ist es möglich, die Größe der Mikropartikulate durch die Schneckendrehzahl zu steuern. Es gelingt offenbar mit dem Extrusionsprozess ohne große Anstrengung, die Aggregatgröße auf die angestrebte Obergrenze von 10 µm zu begrenzen. Im Schabewärmetauscher gelingt dies nicht ohne weiteres, nur im Temperaturbereich von 80 – 90 °C bei entsprechend langer Verweilzeit konnte Spiegel (1999) zeigen, dass im SSHE Aggregate mit einem Durchmesser < 20 µm erhalten werden.

Literatur:

Spiegel, T (1999): Thermische Denaturierung und Aggregation von Molkenproteinen in Ultrafiltrationsmolkenkonzentraten, Dissertation, TU München

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 17140 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Forschungsgebiet Membran- und Chromatographie-Trenntechnik
Workgroup Membrane and Chromatography Separation Techniques

Einfluss der Eiklarvorbehandlung auf die Lysozymfraktionierung mittels tangential überströmter Membran-Adsorptions-Chromatographie im Pilotmaßstab

Influence of egg white pre-treatment on the lysozyme fractionation by means of tangential flow membrane adsorption chromatography in pilot plant scale

Janina Brand, Ralf Berlehner

Das Enzym Lysozym wird aufgrund seiner antimikrobiellen Wirkung in der Lebensmittelindustrie als Konservierungsstoff oder zur Vermeidung der Spätblähung bei der Käseherstellung eingesetzt. Als Hauptquelle zur kommerziellen Gewinnung von Lysozym dient Hühnereiklar. Lysozym weist im Vergleich zu den anderen Eiklarproteinen einen sehr hohen isoelektrischen Punkt (10,7) auf, weshalb die Ionenaustauschchromatographie (IEX) für dessen Isolierung verwendet werden kann.

Voraussetzung für die Verwendung von klassischen Chromatographiesystemen ist eine vorhergehende Filtration des Substrates. Da Eiklar nicht filtrierbar ist, wurde zur Fraktionierung ein spezielles Ionenaustauschsystem eingesetzt, das ohne Vorfiltration mit Eiklar beaufschlagt werden kann. Dies wird durch den tangential überströmten Membranadsorber der Firma Sartorius ermöglicht (Abb. 1). Bei diesem Modul ist eine Membran der Träger von Ionenaustauschgruppen. Zwischen den 200 µm dicken Membranschichten befindet sich ein 250 µm breites Spacernetz, wodurch ein definierter Strömungskanal entsteht. Da das System durch diese offene Konstruktion nur einen sehr geringen Gegendruck erzeugt, ist es möglich, mit unfiltrierten Medien zu arbeiten. Zusätzlich können 10-30fach höhere Flussraten als bei konventionellen IEX-Systemen verwendet werden. Jedoch ist noch unklar, ob die hohe Viskosität des Eiklars den Fraktionierungsprozess behindert. Brand et al. (2014) zeigten auf, dass es möglich ist mittels eines Hochdruckhomogenisators die Viskosität von Eiklar signifikant zu verringern.

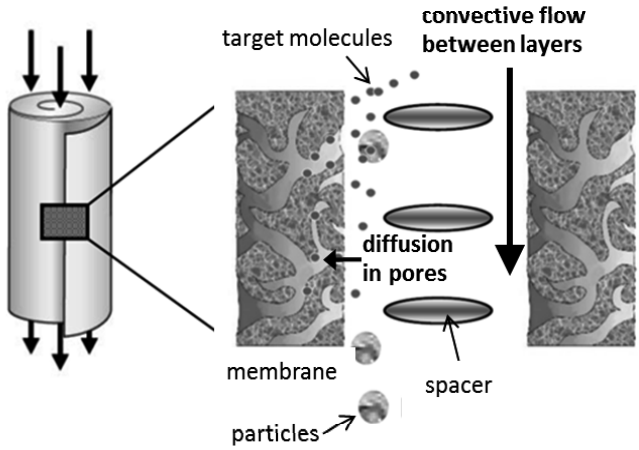


Abb. 1: Aufbau des tangential überströmten Membranadsorbers Sartobind® direct capture (modifiziert nach Sartorius)

Daher war es das Ziel dieser Arbeit, die Lysozym-Bindung in Abhängigkeit der Eiklar-Vorbehandlung zu untersuchen. Hierfür wurde der Beladungsprozess von unbehandeltem Eiklar mit dem von homogenisiertem und verdünntem (im Verhältnis 1:2 mit 75 mM NaCl) Eiklar verglichen. Der in dieser Arbeit verwendete Membranadsorber ´Sartobind® direct capture´ hat ein Volumen von 250 mL und eine aktive Fläche von 9000 cm^2. Die Beladung erfolgte im Rezirkulationsmodus.

In Abb. 2 wird deutlich, dass die Lysozym-Bindung beim vorbehandelten Eiklar deutlich effektiver ist als beim unbehandelten Eiklar. Brand et al. (2014) zeigten auf, dass Lysozym durch den Homogenisierungsprozess freigesetzt wird, wodurch es für die Fraktionierung zur Verfügung steht. Da für die Liganden-Bindung in den Membranporen eine Diffusion der Proteine in das Innere der Poren stattfinden muss (s. Abb. 1), kann die schlechtere Bindung des unbehandelten Eiklars durch die höhere Viskosität (~70 mPas) im Vergleich zum homogenisierten und verdünnten Eiklar (2,5 mPas) erklärt werden. Die Viskosität (η) ist eine maßgebliche Größe des Diffusionskoeffizienten (s. Gl. 1).

$$D = \frac{k_B T}{6\pi R_0} \cdot \frac{1}{\eta} \qquad (1)$$

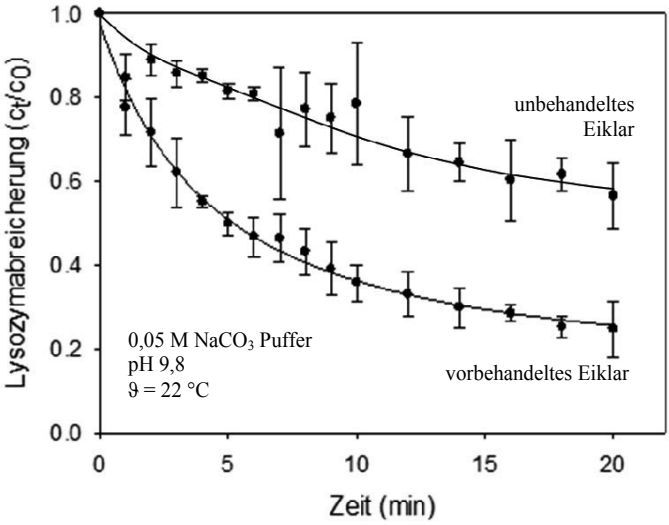


Abb. 2: Vergleich der Lysozymabreicherung eines homogenisierten und verdünnten Eiklars mit der eines nicht homogenisierten und nicht verdünnten Eiklars

Zusätzlich ergab sich bei unbehandeltem Eiklar ein vergleichsweise hoher Gegendruck von 2 bar (vs. 0,2 bar).

Es kann gefolgert werden, dass der tangential überströmte Membranadsorber ein gutes Konzept für die Trennung von Eiklar darstellt. Durch den Fluss über die Membranschichten ist es möglich, ohne eine Vorfiltration sowie mit hohen Viskositäten zu arbeiten.

Literatur:

Brand, J, Pichler, M, Kulozik, U (2014): Enabling egg white protein fractionation processes by pre-treatment with high-pressure homogenization, J Food Engineering, 132, 48–54.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 17479 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Nutzung der Vorerhitzung zur gezielten Steigerung der Hitzestabilität von Magermilchkonzentrat unterschiedlicher Trockenmasse

Utilization of preheat treatment to increase heat stability of concentrated milk of various total solids content

Joseph Dumpler, Laura Helgert

Die Erhitzung von Milch und Milchprodukten wird meist zur Inaktivierung von Verderbniserregern oder potentiell pathogenen Mikroorganismen sowie von milcheigenen oder bakteriellen Enzymen verwendet, um die Haltbarkeit von Milchprodukten zu verlängern. Die reaktionskineische Beschreibung dieser notwendigen mikrobiologischen und enzymatischen Inaktivierungseffekte als eine Funktion der Erhitzungstemperatur und –zeit ermöglicht es, gleichzeitig ablaufende chemische Effekte sowie sensorische Veränderungen zu minimieren.

Bei Magermilchkonzentraten kommt neben chemischen Veränderungen ein weiterer Faktor negativer Produktveränderungen hinzu, der bei unkonzentrierter Milch nahezu keine Rolle spielt. Durch den hohen Gehalt an Milchproteinen und Milchsalzen kommt es zur hitzeinduzierten Aggregation der Caseine (Hinrichs, 2000). Diese während der Erhitzung gebildeten großen Proteinpartikel sind sensorisch wahrnehmbar und sedimentieren im Verlauf der Lagerung.

Um die Ursache für diese unerwünschte Produktveränderung zu verstehen, wurden zahlreiche Versuche zur Anreicherung und Abreicherung von Milchinhaltsstoffen und deren Einfluss auf die Hitzestabilität durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die Caseinmicelle unter Erhitzung teilweise dissoziiert und über lösliche zweiwertige Ionen, vor allem Calcium, aggregiert (Tessier & Rose, 1961). Im Labormaßstab konnte für Konzentrate unterschiedlicher Trockenmasse gezeigt werden, dass sich die hitzeinduzierte Aggregation der Caseinmicellen unter dem Einfluss steigender Calcium- und Proteinkonzentrationen reaktionskinetisch beschreiben lässt.

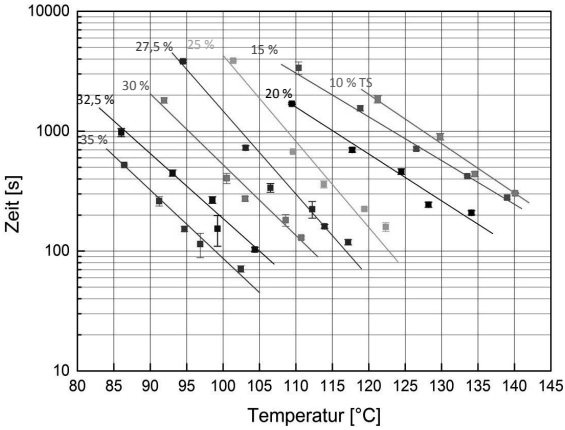


Abb. 1: Korrelation zwischen erreichter Erhitzungstemperatur und Zeit bis zur sichtbaren Koagulation der Konzentrate unterschiedlicher Trockenmasse

Die gefundenen Temperatur-Zeit-Kombinationen im Labormaßstab in Abb. 1 besitzen allerdings eingeschränkte Gültigkeit für den Technikums- und industriellen Maßstab. Abb. 1 zeigt, dass eine niedrigere Erhitzungstemperatur zu einer deutlich längeren Zeit bis zur Aggregation der Caseinmicellen führt. Mit steigender Trockenmasse verschieben sich die Linien gleichen Effektes jedoch in Richtung kleinerer Temperatur-Zeit-Kombinationen. Das bedeutet, dass die Erhitzbarkeit mit steigender Trockenmasse immer weiter abnimmt. Dadurch sinkt auch der mögliche Entkeimungseffekt und damit die erreichbare Haltbarkeit der Konzentrate ohne weitere Maßnahmen der Entkeimung der Magermilch vor der Konzentrierung und Erhitzung der Konzentrate. Durch die Übertragung der Ergebnisse des Labormaßstabes in den Technikumsmaßstab können Temperatur-Zeit-Kombinationen für die Erhitzung von Konzentraten im industriellen Maßstab definiert

werden, die eine deutlich verlängerte Haltbarkeit bei gleichzeitig maximaler Trockenmasse im Vergleich zu den bisher marktüblichen pasteurisierten Konzentraten zulassen.

Eine bereits aus der Herstellung von steriler Kondensmilch zur Erhöhung der Hitzestabilität bekannte Maßnahme ist die Vorerhitzung, die zudem zu einer deutlichen Reduktion der Ausgangskeimzahl der Milch bis hin zur Sterilisation der Milch führen kann (Bell & Webb, 1943; Webb & Bell, 1943; Webb et al., 1943; Deysher et al., 1929). Diese Vorerhitzung der unkonzentrierten Milch, bei der keine hitzeinduzierte Aggregation durch zu starke Erhitzung zu erwarten ist, kann auf die maximale Hitzestabilität des daraus hergestellten Konzentrates angepasst werden. Abb. 2 zeigt die Hitzestabilität unterschiedlich vorerhitzter Milch. Die Ergebnisse der Hitzestabilitätstest zeigen, dass die Hitzestabilität der nicht vorerhitzten Kontrollprobe erwartungsgemäß mit steigender Trockenmasse sinkt. Durch eine gezielte Vorerhitzung lässt sich die Hitzestabilität der Konzentrate, auch bei höherer Trockenmasse deutlich steigern. Es besteht jedoch keine (bisher bekannte) Korrelation zwischen der Hitzeintensität und der Hitzestabilität. Vorerhitzungen von 125°C/200 s wie sie für Kondensmilch angewandt werden, zeigen bei höheren Trockenmassen keinen stabilisierenden Effekt.

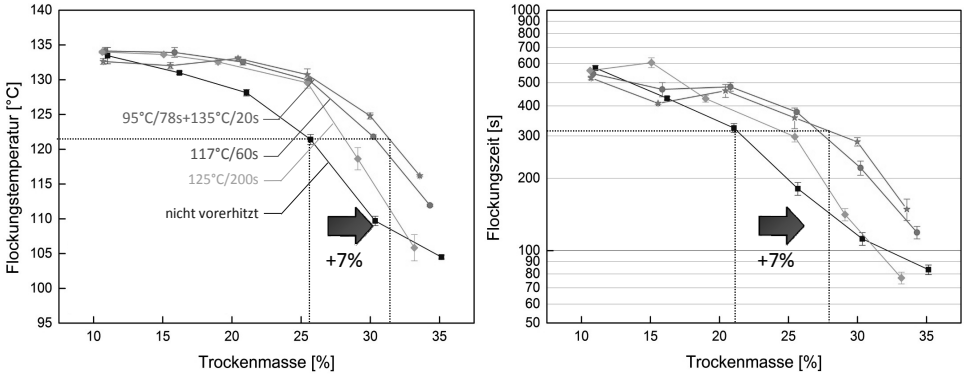


Abb. 2: Hitzestabilität von Magermilchkonzentraten, hergestellt aus unterschiedlich vorerhitzter Magermilch durch Konzentrierung mittels Umkehrosmose

Die höchste Hitzestabilität für Konzentrate ließ sich durch eine zur Herstellung indirekt erhitzter haltbarer Trinkmilch verwendete Sterilisation bei 135 °C mit Vorheißhaltung bei 95 °C erzielen. Durch diese Art der Vorerhitzung konnte die Hitzestabilität der Konzentrate soweit gesteigert werden, dass bei gleicher Temperatur-Zeit-Kombination Konzentrate mit 7% höherer Trockenmasse erhitzt werden können.

Durch die vorgezogene Sterilisation kann eine Inaktivierung thermophiler Sporenbildner in der Magermilch erreicht werden, die in Konzentraten aufgrund der verschlechterten Inaktivierung durch einen verringerten Wassergehalt deutlich höhere thermische Belastung bedeuten würde. Zum derzeitigen Stand der Umkehrosemose-Technik ist jedoch ein rekontaminationsfreies Konzentrieren nicht möglich. Durch die vorangegangene Sterilisation der Magermilch kann aber die zweite Erhitzung zur Widerherstellung der Sterilität deutlich milder ausfalle. Durch Erhöhung der Hitzestabilität durch die Vorerhitzung können um bis zu 7% höhere Trockenmassen hitzebehandelt werden, wobei die Rekontamination des Konzentrates bei der Konzentrierung mittels Umkehrosmose die Intensität der zweiten Erhitzung zur Haltbarmachung definiert. Je höher die Temperatur-Zeit-Kombination der Erhitzung des Konzentrates sein muss, desto niedriger ist die maximal mögliche Trockenmasse des haltbaren Magermilchkonzentrates.

Unter Kühllagerung ist eine kommerzielle Sterilität der Konzentrate nicht erforderlich, sodass die Intensität der zweiten Erhitzung noch geringer ausfallen kann. So lässt sich bei Konzentraten bis zu 34% Trockenmasse eine Haltbarkeit von bis zu 7 Wochen erzielen.

Weitere Lagerversuche mit den mittels dieser Verfahrenskombination hergestellten sterilen Konzentraten werden zeigen, mit welcher Trockenmasse eine Lagerdauer von bis zu drei Monaten bei Raumtemperatur möglich ist. Inwiefern die Konzentrate Milchpulver nicht nur aus Sicht der Ressourceneffizienz und Weiterverarbeitung überlegen sind, sondern sich auch in die Wertschöpfungskette der Molkereien integrieren lassen, werden wirtschaftliche Betrachtungen zeigen, die am Lehrstuhl für Sully Chain Planning (TUM) von Prof. Martin Grunow durchgeführt werden.

Literatur:

Bell, RW, Webb, BH (1943): Relationships between High Temperature Forewarming and the Color and Heat Stability of Evaporated Milks of Different Solids Content, J Dairy Sci, 26 (7), 579–585

Deysher, E F, Webb, BH, Holm, GE (1929): The Relations of Temperature and Time of Forewarming of Milk to the Heat Stability of its Evaporated Product, J Dairy Sci, 12 (1), 80–89

Hinrichs, J (2000): UHT processed milk concentrates, Le Lait, 80 (1), 15–23

Tessier, H, Rose D (1961): Heat Stability of Casein in the Presence of Calcium and Other Salts, J Dairy Sci, 44 (7), 1238–1246

Webb, BH; Bell, RW (1943): The Effect of High-Temperature-Short-Time Heating of Concentrated Milk Upon its Heat Stability, J Dairy Sci, 26 (12), 1071–1077

Webb, BH, Bell, RW, Deysher, EF, Holm, GE (1943): The Effect of Various Degrees of Forewarming upon the Heat Stability of Milks of Different Solids Concentrations, J Dairy Sci, 26 (7), 571–578

Dank: Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Trennung und Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma

Separation and functionalisation of egg yolk main fractions granula and plasma

Oliver Gmach

Die zentrifugale Trennung von Eigelb in seine Hauptfraktionen Granula und Plasma ist bereits ein gut untersuchtes Verfahren. Ebenso ist schon viel über das technofunktionelle Potential der beiden Einzelfraktionen bekannt. In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass Granula und Plasma getrennt als Emulgatoren eingesetzt werden können und dabei unterschiedliche emulgierende Eigenschaften zeigen, wodurch sie gezielt in einem breiten Anwendungsbereich eingesetzt werden können (Strixner, 2014; Strixner & Kulozik, 2012; Daimer, 2010; Guilmineau & Kulozik, 2006). Dies ist auf die unterschiedlichen Bestandteile zurückzuführen. Die Plasmafraktion besteht zum Großteil aus low-density-Lipoproteinen (LDL), die Granulafraktion aus high-density-Lipoproteinen, Phosvitin und einem kleinen Anteil LDL. Die Granulabestandteile bilden eine komplexe micellare Struktur aus, die durch Calciumphosphatbrücken stabilisiert wird. Auf diesen Erkenntnissen aufbauend wird in der Weiterführung des Projekts untersucht, wie sich eine weitere Prozessierung der Fraktionen auf die technofunktionellen Eigenschaften wie Proteinlöslichkeit, Partikelgrößenverteilung, Grenzflächenaktivität und Strukturbildung auswirkt. Dazu werden die Auswirkungen von unterschiedlichen Milieubedingungen und pH-Werten, der enzymatischen Behandlung mit Phospholipase A2 (PLA_2) und einer Temperaturbehandlung auf die emulgierenden Eigenschaften untersucht. In diesem Bereich wurde bereits gezeigt, dass das Ionenmilieu einen großen Einfluss auf die emulgierenden Eigenschaften hat, da sie die Struktur der Granulafraktion maßgeblich beeinflusst. Auch wurde gezeigt, dass die enzymatische Behandlung des Eigelbs und seiner Einzelfraktio-

nen zu einer erhöhten Hitzestabilität führt. Dies ist von Nutzen, da Eigelb hitzebehandelt werden muss um ein mikrobiologisch sicheres Produkt zu gewährleisten. Durch den Einsatz von PLA_2 können dazu neue Temperatur-Zeit-Bedingungen realisiert werden, ohne dass es zu unerwünschten Denaturierungs- bzw. Aggregationsvorgängen kommt, die eine weitere Verarbeitung erschweren.

Ausgehend von diesen Vorkenntnissen wurden Untersuchungen durchgeführt, welche die Veränderung der separierten Fraktionen nach enzymatischer Behandlung während eines Erhitzungsvorganges aufklären sollten. Auch die getrennte Erhitzung der Einzelfraktionen nach enzymatischer Vorbehandlung könnte die bisher bei Gesamteigelb auftretenden Prozessierprobleme verringern. Dazu wurde Granula und Plasma nativ und enzymatisch behandelt unterschiedlichen Erhitzungsbedingungen ausgesetzt. Die Intensität der Erhitzung entsprach einer Pasteurisierung bzw. einer Hocherhitzung. Die Auswirkungen auf die emulgierenden Eigenschaften Partikelgröße und Viskosität sind in den folgenden Abbildungen dargestellt.

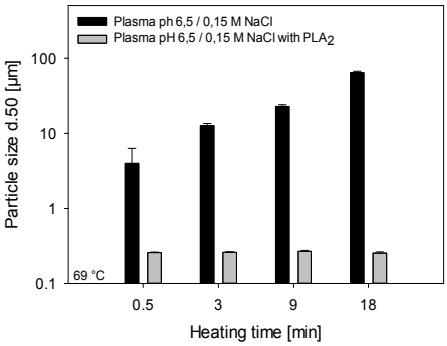


Abb. 1: Einfluss der Erhitzungsdauer auf die Partikelgröße

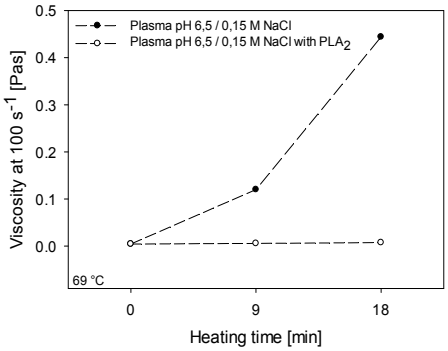


Abb. 2: Einfluss der Erhitzungsdauer auf die Viskosität

Die Partikelgrößenverteilungen der Plasmabestandteile wurden durch dynamische Laserbeugung mittels Mastersizer 2000 (Malvern Instruments) gemessen, die Viskosität mittels Modular Compact Rheometer MCR 302 (Anton Paar). Die Ergebnisse zeigen, dass durch die Vorbehandlung der Plasmafraktion mit PLA_2 bei anschließender Erhitzung auf 69 °C die Aggregation enthaltener Komponenten verhindert werden kann, was an der konstant bleibenden Partikelgröße zu sehen ist. Ebenso konnte ein Viskositätsanstieg, wie er bei der unbehandelten Probe zu erkennen ist, verhindert werden. Diese Untersuchungen werden im weiteren Projektverlauf auf weitere pH-Bereiche und Milieubedingungen sowie Temperatur-Zeit-Bedingungen und auch auf die Granulafraktion ausgeweitet.

Literatur:

Daimer, K (2010): Behandlung von Eigelb und dessen Fraktionen mit Phospholipase A2, 1. Aufl. München, Verl. Dr. Hut

Guilmineau, F, Kulozik, U (2006): Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 1, Effect of the heating time, Food Hydrocolloids, 20 (8), 1105–1113

Strixner, T (2014): Fraktionierung und Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma, Dissertation TU München

Strixner, T, Kulozik, U (2012): Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma, Abschlussbericht zu AiF/FEI 16009 N, TU München

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 18122 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Selektive Abreicherung von β-Lactoglobulin aus Molkenproteinisolat: Einfluss der Erhitzungstemperatur auf die strukturellen Eigenschaften der gebildeten Aggregate

Selective removal of β-lactoglobulin from whey protein isolate: impact of heating temperature on the structural properties of the formed aggregates

Nicole Haller

Das Molkenprotein β-Lactoglobulin, welches nicht in menschlicher Muttermilch, aber in Kuhmilch enthalten ist, löst bei Säuglingen, die nicht gestillt werden, zunehmend Kuhmilchallergien aus (Høst, 1994). Bislang sind keine Säuglingsnahrungsprodukte auf dem Markt erhältlich, deren Proteinzusammensetzung der humanen Milch hinreichend nachempfunden ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass es noch kein effektives, kontinuierliches und wirtschaftliches Verfahren zur Entfernung dieses allergenen Proteins gibt.

In den letzten Jahrzehnten wurde die selektive thermische Denaturierung von Proteinen ausgiebig erforscht. Durch das Einstellen spezifischer Milieu- und Erhitzungsbedingungen kann eine selektive Aggregation von β-Lactoglobulin-Molekülen in einem Proteingemisch induziert werden, wodurch dessen Abtrennung ermöglicht wird. Ein gängiges Verfahren zur Separation solcher Aggregate stellte bislang die Mikrofiltration im Diafiltrationsmodus dar. Durch die zahlreichen erforderlichen Diafiltrationsschritte erfolgt allerdings eine starke Verdünnung des Produktes. Eine Alternative zum herkömmlichen Verfahren stellt die kontinuierliche zentrifugale Abtrennung dar, welche im Rahmen dieses Projektes etabliert werden soll. Das innovative Verfahrenskonzept nutzt die Möglichkeit der kontrollierten selektiven Proteinaggregation des β-Lactoglobulins, um dessen Abtrennung von den restlichen Molkenproteinen mittels einer Dekanterzentrifuge zu realisieren. Für dieses Vorhaben wurde eigens ein Labordekanter für Produktströme bis 100 L/h und Beschleunigungen bis 4400 g der Firma Lemitec (Abb.1) installiert. Ziel ist hierbei zum einen die Erzeugung einer engen Partikelgrößenverteilung großer β-Lac-toglobulin-Aggregate, um eine effektive zentrifugale Separation zu gewährleisten. Zum anderen soll ein hoher Nativitätsgrad der weiteren Molkenproteinfraktionen, insbesondere des α-Lactalbumins, angestrebt werden.

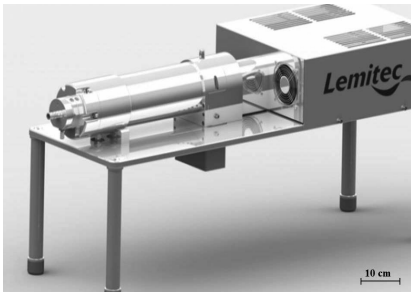


Abb. 1: Labordekanter der Firma Lemitec

Es wurde zunächst der Einfluss der Erhitzungstemperatur bei konstanter Heißhaltezeit auf die strukturellen Eigenschaften, u. a. Nativität, Partikelgrößenverteilung und Partikelform der majoren Proteinfraktionen α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin untersucht. Die Erhitzung der wässrigen Molkenproteinlösungen mit einem Proteingehalt von 5 g/L und einem pH-Wert von 6,5 erfolgte in einer UHT-Anlage im Pilotmaßstab. Die Temperatur wurde in einem Bereich von 75 °C bis 90 °C variiert, die Heißhaltezeit betrug 15 s.

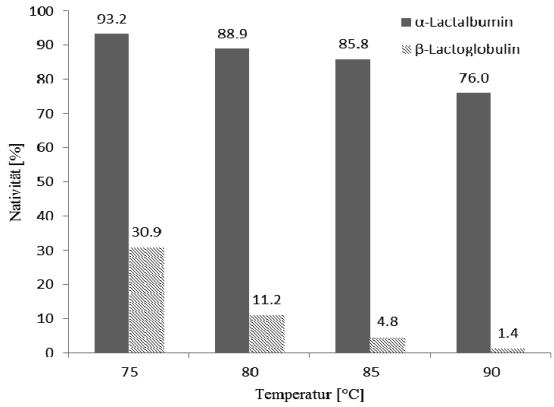


Abb. 2: Nativität der beiden Hauptmolkenproteinkomponenten in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur

Abb. 2 zeigt den Nativitätsgrad der majoren Molkenproteine α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin in Abhängigkeit von der Erhitzungstemperatur. Es zeigte sich, dass der Anteil an nativem Protein für beide Proteine mit zunehmender Temperatur abnahm. Die Denaturierung des β-Lactoglobulins war im Vergleich zum α-Lactalbumin deutlich stärker ausgeprägt.

Bei allen Temperaturen konnte α-Lactalbumin zu mehr als 75 % nativ erhalten werden. Als effektivste Bedingungen zeichnete sich die Erhitzung bei 85 °C ab. Hier konnten 95 % des β-Lactoglobulin denaturiert werden, bei einem Verlust von nur etwa 15 % des Zielproteins α-Lactalbumin.

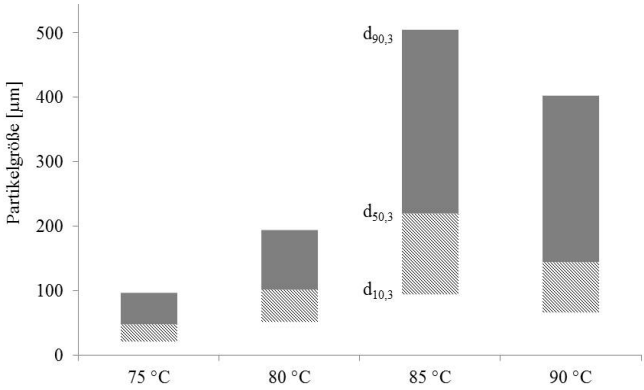


Abb. 3: Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Erhitzungsbedingungen

Wie bereits erwähnt, ist neben dem Erhalt der Nativität des α-Lactalbumins auch die Partikelgrößenverteilung der β-Lactoglobulin-Aggregate für eine effiziente Prozessführung von wesentlicher Bedeutung. In Abb. 3 ist die Partikelgrößenverteilung der gebildeten Aggregate in Abhängigkeit von der Erhitzungstemperatur bei einer Heißhaltezeit von 15 s dargestellt. Aufgetragen sind das 10er Perzentil ($d_{10,3}$), der Median ($d_{50,3}$) und das 90er Perzentil ($d_{90,3}$) in Form eines Boxplots. Wie die Ergebnisse zeigen, resultierte die Erhöhung der Erhitzungstemperatur zum einen in der Bildung größerer Aggregate. Zum anderen nahm die Breite der Partikelgrößenverteilung zu. Da kleine Partikelgrößen die Abtrennung im Dekanter erschweren, wurde die Temperatur/Zeit-Kombination von 75 °C und 15 s als ungeeignet für den nachfolgenden Prozess eingestuft. Die Bildung größerer Aggregate in einem Temperaturbereich von 85°C bis 90°C lässt sich damit begründen, dass hier ein Übergang vom auffaltungslimitierten zum aggregationslimitierten Bereich stattfindet. Bei Temperaturen unter 80 °C

stellt die Auffaltungsgeschwindigkeit des β-Lactoglobulins den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Denaturierungsreaktion dar. Die anschließende Aggregation der Moleküle aufgrund von Thiolaustauschreaktionen und Disulfidbrückenbildung verläuft nahezu ohne Verzögerung. Der Temperaturbereich der Aggregationslimitierung (> 90 °C) zeichnet sich dadurch aus, dass die Proteine zwar sehr schnell auffalten, aber die Aggregation den Prozess bremst. An der Schnittstelle der beiden charakteristischen Bereiche (~ 87 °C) herrscht eine Art Gleichgewichtszustand, bei dem Auffaltung und Aggregation in etwa gleicher Geschwindigkeit ablaufen. Hierdurch entstehen sehr große Aggregate, jedoch mit einer sehr breiten Verteilung. Anders als zunächst vermutet, erwies sich die breite Partikelgrößenverteilung bei der späteren Zentrifugation nicht als nachteilig. Als erfolgsentscheidendes Kriterium für den Dekantierprozess konnte die Grenzpartikelgröße definiert werden. Diese bezieht sich auf den kleinsten Partikel, der bei einer Zentrifugation abgetrennt werden kann und wird nach folgender Formel berechnet:

$$d_{GK} = \sqrt{\frac{V_{Anlage}}{t_m} \cdot \frac{3}{(2\pi)^3} \cdot \frac{1}{n^2} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{18\,\eta_S}{\rho_P - \rho_S} \cdot \frac{r_0 - r_i}{r_0^3 - r_i^3}}$$

Anlagenvolumen V_{Anlage}, mittlere Verweilzeit t_m, Umdrehungszahl n, Länge L, Suspensionsviskosität η_S, Partikel-/Suspensionsdichte ρ_P und ρ_S, Außen-/Innendurchmesser r_0, r_i

Es zeigte sich, dass die verhältnismäßig kleinen Partikel, die bei der Erhitzung bei einer Temperatur von 75 °C entstanden sind, teilweise bereits die Grenzpartikelgröße unterschritten. Daraus resultierte, dass sie nicht sedimentierten und nicht von der Dekanterschnecke ausgetragen werden konnten. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass der Temperaturbereich zwischen 85 °C bis 90°C sehr geeignet scheint, um das oben beschriebene Vorhaben zu realisieren. Um letztendlich ein Produkt zu erhalten, das vollständig von β-Lactoglobulin befreit ist, müsste ein weiterer Reinigungsschritt, beispielsweise eine Chromatographie, angeschlossen werden.

Literatur:
Høst, A (1994): Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy Some clinical, epidemiological and immunological aspects, Pediatric Allergy and Immunology 5 (S6), 5–36

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 18126 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Beeinflussung grenzflächenaktiver Eigenschaften von MFKM-Material aus Buttermilch-Molke durch hitzeinduzierte Wechselwirkungen mit Molkenproteinen

Influence on the surface activity of MFGM material of buttermilk whey by heat-induced interactions with whey proteins

Wolfgang Holzmüller, Lisa Saemann

Milchfettkugelmembran (MFKM)-Material, welches zu über 90 % aus Proteinen und polaren Lipiden besteht, wird ein hohes funktionelles Potential zugeschrieben. Hitzeinduzierte Wechselwirkungen zwischen Molkenproteinen und MFKM-Bestandteilen sind bekannt. Die Ausbildung von kovalenten als auch nicht-kovalenten Bindungen treten bei verschiedenen Temperatur-Zeit-Bedingungen unterschiedlich stark auf [1, 2]. Es entstehen neue „Misch-Komplexe“, welche sich in ihren funktionellen Eigenschaften von den reinen Bestandteilen unterscheiden können.

Als Ausgangssubstanz wurde eine sogenannte Buttermilch-Molke verwendet, welche durch labinduzierte Gelbildung aus Buttermilch gewonnen wurde. Neben Molkenproteinen enthielt die Buttermilch-Molke große Anteile an MFKM-Material, wohingegen Caseine durch vorherige Gelbildung vollständig entfernt wurden. Parallel wurde eine „klassische“ Süßmolke untersucht, um den Einfluss nativer und denaturierter Molkenproteine zu bewerten.

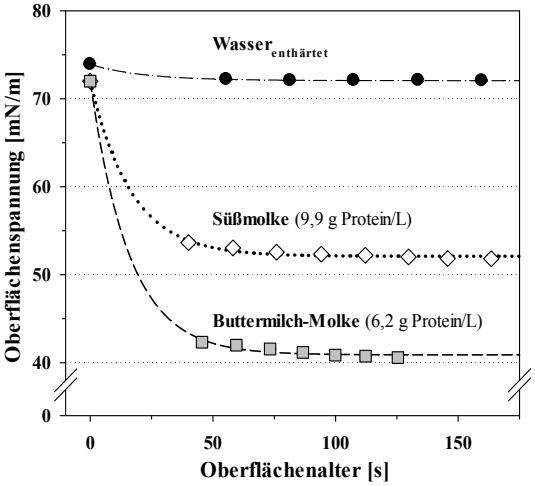


Abb. 1: Oberflächenspannung von Wasser, Süßmolke und Buttermilch-Molke in Abhängigkeit des Oberflächenalters

Abb. 1 zeigt, dass die Buttermilch-Molke im Vergleich zur Süßmolke trotz eines geringeren Proteingehalts die Oberflächenspannung weiter herabsetzt. Folglich haben MFKM-Bestandteile einen signifikanten Einfluss auf die Grenzflächenbelegung und -stabilisierung. Um zu untersuchen welche Effekte auf das MFKM-Material zurückzuführen sind, wurde die MFKM gezielt präzipitiert und konzentriert. Bei pH 4,2 und einer Leitfähigkeit von maximal 500 µS-/cm fallen MFKM-Bestandteile und denaturierte Molkenproteine bei anschließender Zentrifugation (1500 g, 15 min) aus, wohingegen native Molkenproteine im Überstand verbleiben [3].

Eine vorherige Erhitzung (40-80 °C/ 30 min) der Buttermilch-Molke sowie der Süßmolke führte aufgrund hitzeinduzierter Wechselwirkungen zu unterschiedlichen MFKM-Molkenprotein-Verhältnissen bzw. einer Denaturierung der Molkenproteine. In Abb. 2 sind die Anteile an Molkenprotein (β-Lactoglobulin (β-LG) und α-Lactalbumin (α-LA)) der jeweiligen Präzipitate in Abhängigkeit einer vorherigen Erhitzung bezogen auf die native Ausgangslösung dargestellt. Bereits bei nicht erhitzten Proben waren ca. 8 % der Molkenproteine in beiden Proben (Süßmolke & Buttermilch-Molke) enthalten. Es ist bekannt, dass es bereits ab 40 °C zur reversiblen Auffaltung von β-LG kommt. Trotz Exposition der reaktiven Thiolgruppe in β-LG zeigt Abb. 2, dass Erhitzungsbedingungen von 40-60 °C/ 30 min keinen Einfluss auf die Fällung (pH 4,2; 500 µS/cm; 1500 g/15 min) der Molkenproteinen haben. Erst eine Erhitzung bei 80 °C/ 30 min führte zu erhöhten Anteilen an Molkenproteinen im Pellet nach Zentrifugation. Für Süßmolke wurden ca. 20 %, für Buttermilch-Molke sogar 45 % des Ausgangsgehalts an Molkenproteinen festgestellt. Diese Ergebnisse lassen schlussfolgern, dass aufgrund der Erhitzung der Buttermilch-Molke mindestens 25 % der Molkenproteine mit der MFKM wechselwirken. Durch freie Thiolgruppen von β-LG wie auch MFKM-Proteinen (z.B. XO/XDH) kommt es bei diesen Temperaturen zur Ausbildung von Disulfidbrücken und Aggregatbildung [1], was zu einem verstärkten Ausfallen und folglich zur Anreicherung der Molkenproteine im Präzipitat führt.

Nachfolgend wurden die grenzflächenaktiven Eigenschaften von MFKM-Konzentraten aus Buttermilch-Molke nach unterschiedlicher Erhitzung untersucht. Abb. 3 zeigt, dass MFKM-Konzentrate durch eine vorherige Erhitzung (80 °C/ 30 min) die Oberflächenspannung etwas weiter herabsetzen als MFKM-Konzentrate aus nicht erhitzter Buttermilch-Molke. Ein Vergleich der Intensitäten der Molkenproteine (β-LG und α-LA) auf der SDS-PAGE verdeutlicht ergänzend, dass nach einer Erhitzung ein signifikant höherer Anteil an Molkenproteinen in dem MFKM-Konzentrat vorliegt. Die Intensitäten der MFKM-Proteine auf der SDS-PAGE und somit ihr Gehalt in den gefällten Proben bleiben bei einer Erhitzung von 80 °C/ 30 min nahezu unverändert.

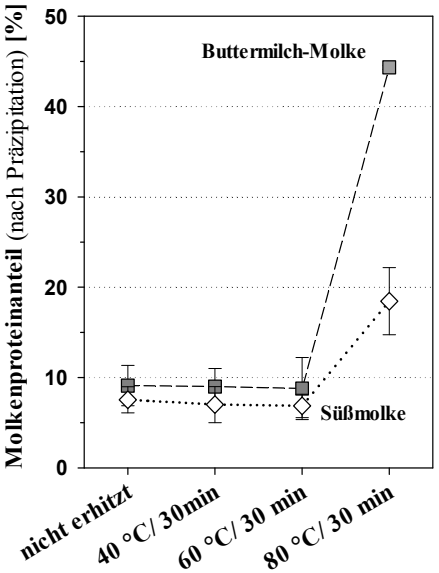


Abb. 2: Anteil an Molkenproteinen (β-LG und α-LA) von Buttermilch-Molke und Süßmolke nach Präzipitation in Abhängigkeit der Erhitzung im Vergleich zur nativen Ausgangslösung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Grenzflächenaktivität von MFKM-Material aus Buttermilch-Molke durch eine vorherige Erhitzung nicht negativ beeinflusst wird und sogar etwas von Vorteil sein kann. Hitzeinduzierte Wechselwirkungen zwischen Molkenproteinen und MFKM-Proteinen führen zu einem höheren Anteil an β-LG und α-LA in den MFKM-Konzentraten, was in einem geringen Herabsetzen der Oberflächenspannung resultiert.

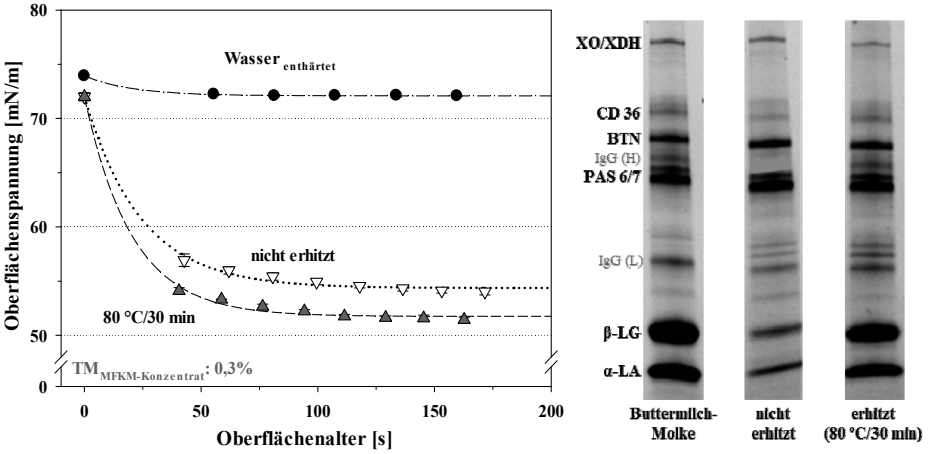


Abb. 3: Oberflächenspannung von Wasser und MFKM-Konzentraten aus nicht erhitzter und erhitzter (80 °C/ 30min) Buttermilch-Molke in Abhängigkeit des Oberflächenalters (links); SDS-PAGE (4-20 % Gradientengel, red. Bedingungen, UV induzierte Fluoreszenz) einer nativen Buttermilch-Molke und MFKM-Konzentraten aus nicht erhitzter und erhitzter (80 °C/ 30min) Buttermilch-Molke (rechts) (XO/XDH: Xanthinoxidase/-dehydrogenase, CD 36: Cluster of differentiation 36, BTN: Butyrophilin, PAS 6/7: Periodic Acid Schiff 6/7, β-LG: β-Lactoglobulin, α-LA: α-Lactalbumin, IgG (H)/(L); Immunoglobulin G (heavy chain)/(light chain)

Literatur:
[1] Ye, A, Singh, H, Taylor, MW, Anema, S (2004): Interactions of whey proteins with milk fat globule membrane proteins during heat treatment of whole milk, Le Lait, 84 (3), 269-283
[2] Saffon, M, Jiménez-Flores, R, Britten, M, Pouliot, Y (2014): On the use of buttermilk components as aggregation nuclei during the heat-induced denaturation of whey proteins, J Food Engineering 132, 21-28
[3] Damodaran, S. (2011): Straightforward Process for Removal of Milk Fat Globule Membranes and Production of Fat-free Whey Protein Concentrate from Cheese Whey, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59 (18) 10271-10276

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 16226 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss der Zusammensetzung von Molkenkonzentraten auf die thermische Molkenproteindenaturierung

Influence of the composition of whey concentrates on thermal whey protein denaturation

Melanie Marx

Um Molkenproteine in eine lagerfähige Form zu bringen, wird meist die Sprühtrocknung eingesetzt. Allerdings ist die Trocknung per se sehr energieaufwändig. Energieeffiziente Verfahren, wie die Erhitzung von mittels Membranfiltration konzentrierter Molke, stellen Alternativen zur Trocknung dar. Für die Herstellung flüssiger Molkenkonzentrate können die Filtrationsverfahren Umkehrosmose (UO) und Nanofiltration (NF) eingesetzt werden, wenn sämtliche wertgebenden Komponenten der Molke konzentriert werden sollen. Flüssige Molkenkonzentrate können allerdings nur dann als Lebensmittelinhaltsstoffe fungieren, wenn die gewünschte Proteinfunktionalität garantiert ist. Daher ist es notwendig, Kenntnisse über den Einfluss signifikant erhöhter Trockenmassegehalte und unterschiedlicher Trockenmassenzusammensetzungen auf die thermische Denaturierung der Molkenproteine zu erlangen.

Ziel dieser Untersuchung war es, den Einfluss des Trockenmassegehaltes und der Konzentration einwertiger Kationen auf die Denaturierung der majoren Molkenproteine α-Lactalbumin (α-La) und β-Lactoglobulin (β-Lg) in Molkenkonzentraten zu ermitteln.

Hierfür wurden mit Hilfe der UO sowie der NF Molkenkonzentrate mit definierten Trockenmassen (12, 18, 24%) hergestellt. Durch Anwendung der NF wird die Molke teildemineralisiert, da 40-45% der einwertigen Kationen, wie Na^+ und K^+, die Membran permeieren können. Die UO- bzw. NF-Molkenkonzentrate wurden bei unterschiedlichen Temperaturen (75°-140°C) und Heißhaltezeiten (0 – 30 s) erhitzt. Mittels RP-HPLC wurde der Gehalt an nativem α-La sowie β-Lg in den Proben bestimmt. Der Denaturierungsgrad (DD) von α-La sowie β-Lg wurde mit Hilfe von Gl. 1 berechnet,

$$DD = \left(1 - \frac{c_t}{c_0}\right) * 100\% \qquad (1)$$

wobei c_t die Konzentration an nativem Protein nach der Erhitzung und c_0 die Konzentration an nativem Protein in der unbehandelten Probe darstellt.

In Abb.1 ist die Denaturierung von β-Lg in Molke sowie in mittels UO bzw. NF hergestellten Molkenkonzentraten im Temperaturbereich zwischen 75°C und 140°C für eine Heißhaltezeit von 15 s dargestellt. Es wird deutlich, dass die Denaturierung von β-Lg stark temperaturabhängig ist. Vor allem bei Erhitungstemperaturen zwischen 75°C und 90°C geht eine Erhöhung der Temperatur mit einem drastischen Anstieg im Denaturierungsgrad einher. Bei Temperaturen ≥ 90°C übt auch der Trockenmassegehalt einen signifikanten Einfluss auf

die Denaturierung von β-Lg aus. So weist UO-Konzentrat (24% TM) nach 15 sekündiger Erhitzung bei 90°C einen im Vergleich zu Molke (DD = 43%) um 19% erhöhten DD von 62% auf. Die thermische Stabilität von β-Lg nimmt demnach mit zunehmendem Trockenmassegehalt der Molke ab. Selbst bei einer Erhitzungstemperatur von 140°C liegt der DD von β-Lg in Molke noch signifikant unterhalb der DD der Konzentrate, die unter diesen Erhitzungsbedingungen keine Unterschiede mehr aufweisen und nahezu maximale DD von knapp 100% zeigen. Im Gegensatz zu UO-Molkenkonzentraten weisen NF-Molkenkonzentrate im Temperaturbereich zwischen 90°C und 125°C allerdings deutlich niedrigere DD von β-Lg auf. In mittels NF hergestelltem Konzentrat (24% TM) liegt der DD von β-Lg lediglich 5% oberhalb des DD nichtkonzentrierter Molke. Durch den im Vergleich zu UO-Konzentraten reduzierten Salzgehalt in NF-Konzentraten wird folglich die thermische Stabilität von β-Lg im Tempera-turbereich zwischen 90°C und 125°C erhöht.

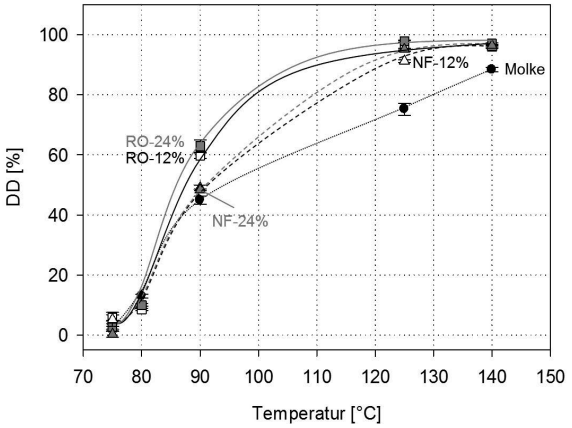


Abb. 1: Denaturierung von β-Lg in Molke und - konzentraten nach Erhitzung für 15 s in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur

Die Denaturierung von α-La in Molke und UO- bzw. NF-Molkenkonzentraten bei Erhitzungstemperaturen zwischen 75°C und 140°C und einer Heißhaltezeit von 15 s ist in Abb. 2 gezeigt. Mit zunehmender Temperatur steigt der Denaturierungsgrad von α-La sowohl in Molke als auch in Molkenkonzentraten nahezu linear an. Bei Erhitzungstemperaturen ≥ 90°C ist ein signifikanter Anstieg des DD mit zunehmendem Trockenmassegehalt erkennbar.

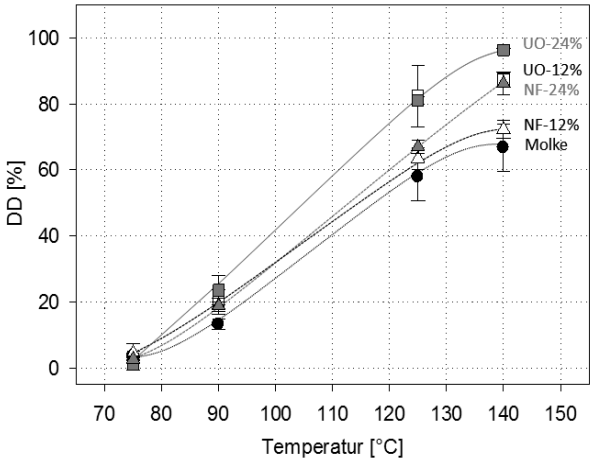


Abb. 2: Thermische Denaturierung von α-La in Molke sowie Molkenkonzentraten nach einer Heißhaltezeit von 15 s in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur

Wie bereits für β-Lg beschrieben, zeigt auch α-La in UO-Konzentraten höhere DD als in NF-Konzentraten, wobei dieses Phänomen bei α-La in Richtung höherer Temperaturen verschoben ist.

Bei Temperaturen ≥ 125°C wird der DD von α-La um 15–20% reduziert, wenn die thermische Behandlung in NF-Konzentrat anstatt in UO-Konzentrat durchgeführt wird. Durch den reduzierten Gehalt an einwertigen Kationen wird sowohl die thermische Stabilität von α-La als auch von β-Lg gesteigert. Die Ursache hierfür stellt vermutlich die durch höhere Salzkonzentrationen verstärkte Aggregationsneigung von Proteinen dar. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass konzentrierte Molke hinsichtlich der thermischen Denaturierung der majoren Molkenproteine nur bedingt mit Molke vergleichbar ist und der Trockenmassegehalt einen starken Einfluss auf die Proteindenaturierung ausübt. Durch eine gezielte Abreicherung monovalenter Kationen mit Hilfe der NF kann der Einfluss der Trockenmasse auf die Denaturierungsreaktion allerdings reduziert werden und somit eine Qualitätssteigerung des erhaltenen Konzentrates erzielt werden.

Dank:
Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Ultrafiltration von hochviskosen Magermilchproteinkonzentraten

Ultrafiltration of highly viscous skim milk protein concentrates

Patricia Meyer

Bei der Herstellung von Milchpulver erfolgt häufig eine Vorkonzentrierung mittels Umkehrosmose (UO). Aufgrund der fluxlimitierenden Phänomene Konzentrationspolarisation und Deckschichtbildung ist der mittels UO erreichbare Konzentrierungsfaktor auf ca. 2,5 limitiert. Ein möglicher Ansatz zum Erreichen höherer Konzentrierungsgrade ist eine Kaskadenschaltung mehrerer Membrantrennverfahren. Hierbei wird der UO eine Ultrafiltration (UF) vorgeschaltet. Die Anreicherung der Proteinfraktion wird damit auf ein geringeres Druckniveau verlagert und kann ohne Konzentrationspolarisation der niedermolekularen Bestandteile erfolgen. Im nächsten Schritt kann das Permeat der UF in der UO deckschichtfrei konzentriert werden. Zum Erzeugen hochangereicherter Proteinkonzentrate soll in diesem Vorhaben zunächst die klassische Cross-Flow-Ultrafiltration eingesetzt werden. Die Konzentrierung der Proteinfraktion erfolgt meist unter Einsatz von Spiralwickelmodulen (SWM). Diese sind jedoch auf Grund der steigenden Viskosität des Retentates im erreichbaren Konzentrierungsfaktor limitiert. Eine Ergänzung zu diesem konventionellen Verfahren stellen dynamische Filtrationssysteme mit rotierenden Membranen (DCF) dar. Durch die Rotation der Membran wird eine Differenzgeschwindigkeit zum Fluid aufgebracht und so die erforderliche Wandschubspannung erzeugt, die der Bildung einer Deckschicht entgegenwirkt. So kann mit deutlich geringeren Feedvolumenströmen gearbeitet werden. Damit zeichnen sich dynamische Filtrationssysteme durch einen deutlich niedrigeren spezifischen Energiebedarf aus. Hersteller solcher Systeme postulieren außerdem ein hohes Potenzial zur Herstellung von hochangereicherten Milchproteinkonzentraten bei vergleichsweise geringem spezifischem Energiebedarf.

In der vorliegenden Studie sollte ein Vergleich zwischen konventionellen und dynamischen Systemen in Bezug auf die maximal prozessierbare Viskosität des Retentates angestellt werden. Aus diesem Grund wurden Konzentrierungsversuche mit einem konventionellen Spiralwickelmodul (Δp_{TM} = 2 bar; Δp_L = 1 bar; ϑ = 50 °C) sowie mit einem dynamischen Filtrati-

onssystem mit rotierenden Membranen (Δp_{TM} = 1 bar; n = 1000 min^{-1}; ϑ = 50 °C) durchgeführt. Parallel dazu wurden die rheologischen Eigenschaften der erhaltenen Retentate untersucht und der Konsistenzfaktor, welcher ein Maß für die Viskosität darstellt, bestimmt. Die Resultate sind in Abb. 1 dargestellt.

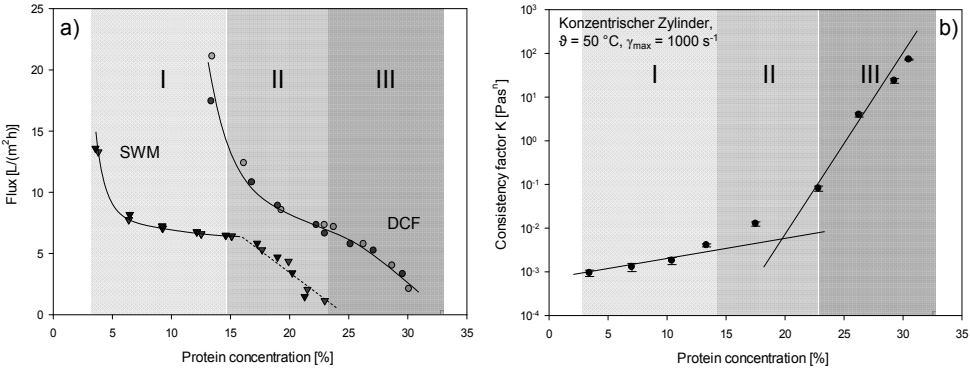


Abb. 1: Flux (a) und Konsistenzfaktor (b) als Funktion von der Proteinkonzentration

Aus Abb. 1 (a) geht hervor, dass der Flux mit zunehmender Proteinkonzentration sowohl bei Verwendung eines SWM als auch im DCF abfällt. Des Weiteren wird ersichtlich, dass der Flux des SWM zu Filtrationsbeginn stark absinkt. Dies ist zurückzuführen auf den hohen konvektiven Transports von deckschichtbildendem Material zur Membran in der Anfangsphase der Filtration, was in einer stark ausgeprägten initialen Deckschichtbildung und infolgedessen in einem starken Fluxabfall resultiert. Im weiteren Filtrationsverlauf fällt der Flux bis zu einer Proteinkonzentration $c_P \sim 15$ % nur noch geringfügig ab. Eine weitere Erhöhung der Proteinkonzentration führt zu einem zweiten steilen Rückgang. Bei Proteinkonzentrationen von ca. 21 – 22 % nimmt der Flux Werte < 2 L/(m^2h) an und die Filtration kommt zum Erliegen. Im Vergleich dazu weist das DCF im gesamten Filtrationsverlauf höhere Fluxwerte und keine Limitierung der Filtration ab einer Proteinkonzentration von $c_P \sim 15$ % auf. Vielmehr können mittels des dynamischen Systems Konzentrate mit Proteinkonzentrationen von bis zu 30 % erzeugt werden, bevor die Filtration aufgrund geringer Fluxwerte beendet wird.

Abb. 1 (b) ist zu entnehmen, dass die Viskosität mit steigender Proteinkonzentration ansteigt. Es können drei Bereiche unterschieden werden. Im ersten Abschnitt (bis ca. 15 %), steigt die Viskosität linear mit der Proteinkonzentration an. In diesem Konzentrationsbereich kann der Prozess mittels SWM gut beherrscht werden. Im zweiten Abschnitt steigt die Viskosität überproportional an. Dies ist mit verstärkten Wechselwirkungen der Kaseinmizellen in der konzentrierten Lösung zu erklären. Dies führt zu einer starken Fluxabnahme bis die Filtration nach Erreichen einer Proteinkonzentration von ca. 21 – 22 % zum Erliegen kommt. Der dritte Abschnitt ist durch sehr hohe Viskositäten der Retentate gekennzeichnet. Hier kann eine Prozessierung ausschließlich noch durch das dynamische System erfolgen. Durch die Rotation der Membran können vergleichsweise hohe Scherraten erzeugt werden, die insbesondere bei hohen Proteingehalten für einen ausreichenden Deckschichtabtrag unerlässlich sind. Zur Veranschaulichung der Viskositätserhöhung sind in Abb. 2 Bilder des vergleichsweise niedrigviskosen Vorkonzentrates zu Beginn der Konzentrierung mittels DCF mit einem Proteingehalt von 13,5 % (a) sowie des Endkonzentrates mit einem Proteingehalt von 30 % (b) dargestellt.

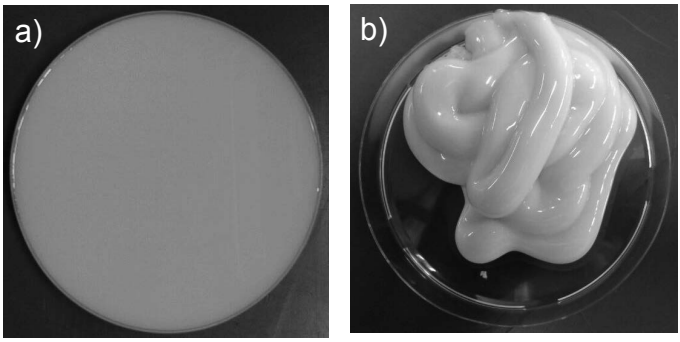


Abb. 2: Milchproteinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 13,5 (a) bzw. 30 % (b)

Es wurde gezeigt, dass sich dynamischer Filtrationssysteme zur Herstellung hochangereicherter Milchproteinkonzentrate eignen. Dynamische Systeme sind jedoch aufgrund der vergleichsweise geringen Kapazitäten und hohen Anschaffungskosten nicht als Ersatz, sondern im Bereich hoher Konzentrierungsgrade bzw. bei hohen Viskositäten als Ergänzung der konventionellen Systeme vorstellbar. Denkbar wäre deshalb eine Verschaltung von SWM und DCF, in welcher zunächst mittels SWM ein Vorkonzentrat mit einem Proteingehalt von 15 bzw. 22 % hergestellt wird, bevor auf das dynamische System umgeschaltet wird, um Endproteingehalte von bis zu 30 % zu erreichen.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 16836 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss der Prozesstemperatur auf die Filtrationsleistung bei der Mikrofiltration von Süßmolke

Impact of processing temperature on filtration performance during microfiltration of sweet whey

Tim Steinhauer, Sabrina Hanély

Sowohl bei der Konzentrierung von Molken mittels Ultrafiltration (UF) als auch bei deren Mikrofiltration (MF) zur Abreicherung von deckschichtbildenden Partikeln und Keimen müssen Prozessparameter gewählt werden, die eine maximale Filtrationsleistung bei gleichzeitig sicherer Prozessierung gewährleisten. Limitierend für die Leistung druckgetriebener Membrantrennprozesse sind drei Hauptfaktoren. Wie aus nachstehender Gleichung (Gesetz von Shirato & Darcy) hervorgeht,

$$J(\vartheta) = \frac{TMP}{\eta(\vartheta) \cdot (R_M + R_{DS})} \tag{1a}$$

hängt der flächenspezifische Permeatvolumenstrom (J) direkt vom transmembranen Druckunterschied (TMP) zwischen Retentat- und Permeatseite, dem Membran- und Deckschichtwiderstand (R_M und R_{DS}) ab. Ein weiterer Parameter, der sich unmittelbar auf den Permeatvolumenstrom auswirkt, ist die temperaturabhängige Permeatviskosität (η). Diese nimmt für wässrigen Molkenproteinlösungen wie Molke bis zu Temperaturen unterhalb der Denaturierungstemperatur der Molkenproteine ($\leq$ 55°C) ab. Es ist demnach zu erwarten, dass sich höhere Prozesstemperaturen positiv auf die Filtrationsleistung auswirken können.

Dieser Effekt wurde für Süßmolke im Labormaßstab mithilfe einer Querstrom-MF-Einheit untersucht. Abbildung 1 zeigt dazu den MF-Flux von Süßmolke als Funktion der Prozesszeit bei den Temperaturen 10-50 °C.

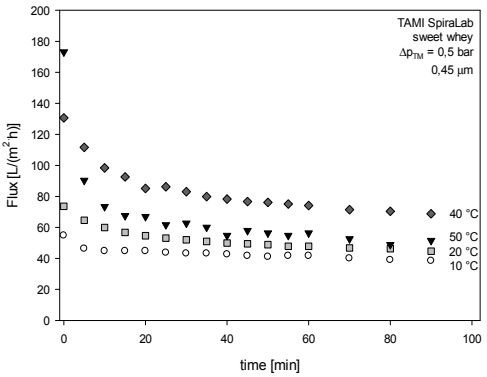


Abb. 1: Mikrofiltrationsflux von Süßmolke in Abhängigkeit der Prozesszeit für verschiedene Prozesstemperaturen

In der initialen Phase der Filtration (t = 0 min), bevor Deckschichtbildung einsetzt, staffelt sich der Flux entsprechend der Viskosität (Gleichung 1a). Der Flux nimmt dabei zu höheren Temperaturen hin zu. Darauffolgend wurde bei allen Prozesstemperaturen eine Abnahme des Permeatvolumenstromes als Funktion der Filtrationszeit bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustandes (stationärer Flux) beobachtet. Nach einer Filtrationszeit von 90 min war für alle untersuchten Temperaturen das stationäre Niveau erreicht.

Entgegen der Erwartung, dass bei höherer Temperatur auch ein höherer stationärer Flux gemessen werden kann, führte der Fluxabfall von 70% bei einer Filtrationstemperatur von 50 °C zu einem Unterschreiten des Fluxniveaus, das bei 40 °C beobachtet wurde.

Es konnte demnach eine Staffelung des stationären Fluxes beobachtet werden, der durch Temperaturerhöhung nur bis zu einer Temperatur von 40 °C erhöht werden konnte. Trotz einer weiteren Verringerung der Viskosität bei einer Temperatursteigerung auf 50 °C nahm der stationäre Flux ab. Das deutet darauf hin, dass ein Sekundäreffekt die Filtrationsleistung limitiert.

Der Flux ist sowohl von der Viskosität als auch vom Deckschichtwiderstand abhängig. Ein fluxsteigernder Effekt durch Viskositätsabnahme kann demnach durch eine temperaturabhängige Erhöhung des Deckschichtwiderstandes überlagert werden. Deshalb muss zur Beurteilung der Temperaturabhängigkeit der Deckschichtbildungsreaktion Gleichung 1a nach dem viskositätsunabhängigen Deckschichtwiderstand R_{DS}

$$R_{DS} = \frac{TMP}{J(\vartheta) \cdot \eta(\vartheta)} - R_M \qquad (1b)$$

aufgelöst werden (Gleichung 1b). Nachdem der TMP während den Filtrationsexperimenten konstant gehalten wurde und der Membranwidertand R_M eine intrinsische Materialkonstante der spezifischen Membran beschreibt, kann der Deckschichtwiderstand durch Messung des Flux bei bekannter Viskosität in Abhängigkeit der Temperatur ermittelt werden.

Abb. 2 zeigt den Deckschichtwiderstand als Funktion der Prozesstemperatur, der jeweils aus dem stationären Flux (t = 90 min) ermittelt wurde.

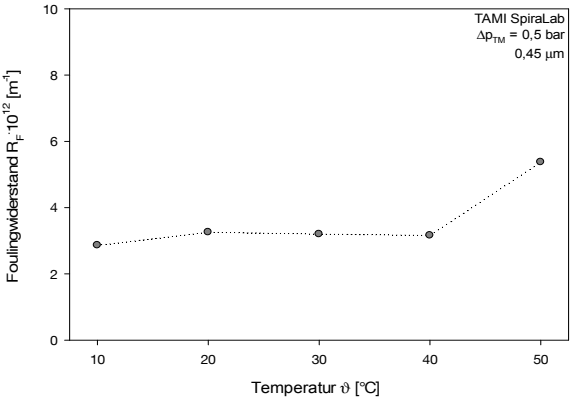


Abb. 2: Deckschichtwiderstand bei der Mikrofiltration von Süßmolke als Funktion der Prozesstemperatur

Es wurde festgestellt, dass sich der Deckschichtwiderstand bei Temperaturen zwischen 10 °C und 40 °C nicht signifikant ändert. Bei einer Temperatur von 50 °C nimmt der Deckschichtwiderstand dann zu.

Zur Begründung des sprunghaften Anstieges des Deckschichtwiderstandes kann zum einen die inverse Löslichkeit des Milchkalziums herangezogen werden. Diese nimmt mit steigender Temperatur ab und durch Kalziumphosphatpräzipitation auf der Membran würde die Filtrationsleistung reduziert. Zusätzlich ist denkbar, dass die sprunghafte Zunahme des Deckschichtwiderstandes durch eine veränderte Ablagerungswahrscheinlichkeit der deckschichtbildenden Molkenproteine erfolgt. Für das majore Molkenprotein β-Lactoglobulin (60-80% vom Gesamtmolkenprotein in Molke) ist bekannt, dass es bei Temperaturen oberhalb 40 °C zu einer reversiblen Auffaltung der Molekülstruktur kommt (Sakurai & Goto, 2006). Diese Auffaltungsreaktion wird durch die Auflösung einer Wasserstoffbrückenbindung ausgelöst. Sie führt zur Exposition der reaktiven Thiolgruppe (-SH) und einer Erhöhung der Proteinhydrophobizität. Die Erhöhung der Hydrophobizität bedingt eine erhöhte Ablagerungswahrscheinlichkeit von β-Lactoglobulin (β-Lg) auf der Membran. Im Zusammenspiel mit der freien Thiolgruppe des β-Lg entsteht auf der Membranoberfläche eine reaktive Deckschicht. Durch Wechselwirkung der reaktiven Thiolgruppe des β-Lgs mit anderen Molkenproteinen werden eine beschleunigte Deckschichtbildung sowie ein höherer Proteinquervernetzungsgrad induziert. Dies resultiert in einem sprunghaften Anstieg des Deckschichtwiderstandes bei Temperaturen oberhalb 40 °C führt.

Stellt man diese Ergebnisse in den Kontext der Anlagenstandzeit bei der Molkenverarbeitung, so ist anzunehmen, dass mit längeren Standzeiten von Filtrationsanlagen zur Molkenfraktionierung und -konzentrierung bei Temperaturen unterhalb 40 °C zu rechnen ist. Das Wachstum mesophiler, vegetativer Keime, wie das der Käsereikultur selbst oder das von Verderbniserregern, kann jedoch nur im Temperaturbereich unterhalb 20 °C oder oberhalb 50 °C vermieden werden. Daher kann zusammenfassend gefolgert werden, dass für die sichere Verarbeitung von Süßmolke bei gleichzeitig langer Anlagenstandzeit eine Prozesstemperatur von 10 °C anzustreben ist.

Literatur:
Sakurai K, Goto, Y (2006): Dynamics and Mechanism of the Tanford Transition of Bovine β-Lg Studied using Heteronuclear NMR Spectroscopy, Journal of Molecular Biology (356), 483–496

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 16300 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Untersuchung der Adsorption von β-Lactoglobulin in Anionentauschermembranen mittels Konfokaler Laser Scanning Mikroskopie

Investigation of the adsorption of β-lactoglobulin to anion exchange membranes by confocal laser scanning microscopy

Linda Voswinkel

Die selektive Adsorption von β-Lactoglobulin (β-Lg) mittels Ionenaustauschchromatographie kann genutzt werden, um das allergene Potential von Molke zu reduzieren. Da β-Lg das Hauptmolkenprotein ist, muss eine hohe Bindungskapazität bereitgestellt werden, um einen effizienten Prozess zu ermöglichen. Daher war das Ziel vorhergehender Arbeiten, die Bindungskapazität zu optimieren, wobei sich die Temperatur als signifikanter Einflussfaktor herausstellte. Da die Adsorption über elektrostatische Wechselwirkungen nur in geringem Maße von der Temperatur abhängt, wurde vermutet, dass die beobachteten Effekte auf die Bindung von β-Lg durch molekulare Strukturveränderungen hervorgerufen wurden. Die Konformation des Proteins ändert sich deutlich durch veränderte Umgebungsbedingungen wie pH-Wert und Temperatur insofern, dass bei physiologischem pH-Wert oberhalb von ca. 40 °C Monomere vorliegen, welche bei niedrigeren Temperaturen dimerisieren. Des Weiteren erhöht sich die Reaktivität des globuläre Proteins durch eine exponierte Thiolgruppe. Es neigt zur Auffaltung, wenn die Temperatur über 50°C liegt (Wit, 2009).

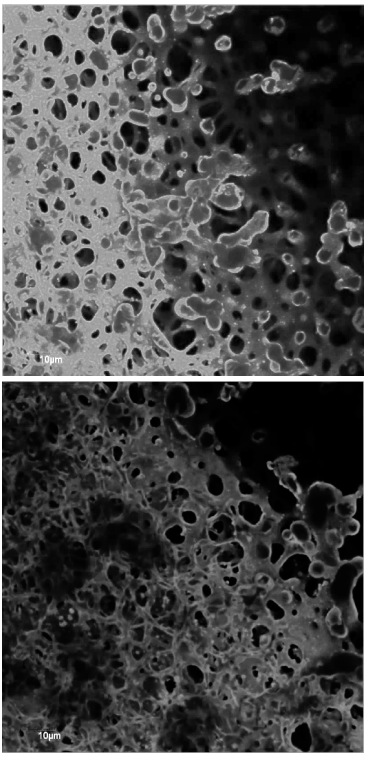


Abb. 1: Fluoreszenz-markiertes β-Lactoglobulin adsorbiert an eine Anionentauschermembran, Proteinmasse = theor. Bindungskapazität, bei 10 °C (oben) und 50 °C (unten)

Daher wurden die Hypothesen aufgestellt, dass mit zunehmender Temperatur die Bindungskapazität abnimmt, weil bei gleicher Anzahl an Liganden mehr Protein gebunden werden kann, wenn β-Lg als Dimer vorliegt und weil bei hoher Temperatur das Protein möglicherweise auffaltet und somit mehr Bindungsfläche einnimmt als ein natives Protein. Um diese möglichen Effekte zu untersuchen, wurde die konfokale Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) eingesetzt, welche durch fluoreszenzbasierte Detektion eine sehr hohe Empfindlichkeit hat und zudem dreidimensional auflösen kann. Die zuvor angefärbten Proteine wurden bei verschiedenen Temperaturen adsorbiert, um dann die Proteindichte auf der Oberfläche der Ionenaustauschmembran mikroskopisch zu untersuchen.

Dazu wurde ein Labellingprotokoll adaptiert nach Angaben von Hermanson, 2008. Eine 3 mg/mL Proteinlösung wurde in 25 mM Ammoniumbicarbonatpuffer hergestellt und mit dem Farbstoff 5-FAM ethylendiamine (FAM) gelabelt. Die Reaktion wurde durch den Crosslinker 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) aktiviert. Da diese Verbindung in wässrigen Lösungen leicht hydrolysiert wird, wurde die Halbwertszeit zusätzlich durch N-Hydroxysuccinimid verlängert.

Die molaren Verhältnisse von β-Lg:FAM: EDC:NHS waren 1:10:100:30. Nach der Labellingprozedur wurden die überschüssigen Reagenzien vom Protein über Diafiltration (MWCO 10 kDa) mit 30 mM Phsophatpuffer, pH 7 abgetrennt. Nach einem zehnfachen Volumenaustausch war das Permeat farblos und das Retentat wurde zur Adsorption im Ionentauscher eingesetzt. Dazu wurde die gleiche Anionentauschermembran verwendet, wie in den vorhergegangenen Experimenten, jedoch im 96-well-Format anstatt einer Chromatographiesäule. Dieses hat den Vorteil, dass, nur kleine Probenvolumina benötigt werden und durch die Operation in einer Zentrifuge die Prozesstemperatur leicht eingestellt werden kann. Die Membranen wurden vor der Adsorption mit 30 mM Phosphatpuffer equilibriert und nach der Adsorption damit gewaschen. Die Membranen wurde anschließend aus dem Well entnommen und in Reinstwasser zwischen einem Objektträger und einem Deckglas fixiert.

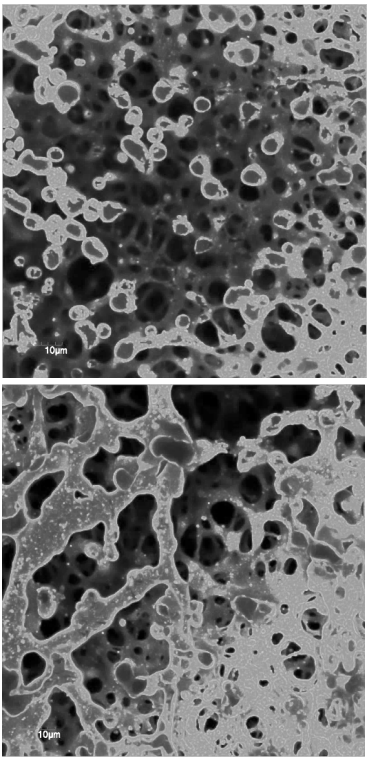


Abb. 2: Fluoreszenz-markiertes β-Lactoglobulin adsorbiert an eine Anionentauschermembran, Proteinmasse = zweifache theor. Bindungskapazität, bei 10 °C (oben) und 50 °C (unten)

Für die Mikroskopie wurde das Gerät Fluoview 1000 (Olympus, Hamburg) mit einem w60-Objektiv verwendet. Die Extinktions- und Emissionswellenlängen betrugen 494/518 nm und die Laserintensität zur Bildaufnahme betrug 0.1 %. Um auszuschließen, dass die Cellulosemembran eine Eigenemission bei dieser Wellenlänge hat, wurde diese bei 0,1-20 % Laserintensität gemessen, es konnte keine Fluoreszenz beobachtet werden. Die Membran wurde in z-Richtung von 0-20 µm im Abstand von 0.5 µm gescannt und die Ebenen übereinander gelegt.

Die Membranen wurden jeweils mit unterschiedlicher Proteinmasse beladen, welche der einfachen (Abb. 1) oder zweifachen (Abb. 2) theoretischen Bildungskapazität entsprach. Bei Beladung mit der einfachen Bindungskapazität war die Oberfläche nur vereinzelt besetzt, hier waren bei 10 °C mehr Proteine gebunden als bei 50 °C. Bei der doppelten Proteinmasse war die Fluoreszenz deutlich intensiver, bei 10 °C war die Fluoreszenz nochmals gestiegen. Die Hypothese, dass bei 50 °C das Protein auffaltet und die Membranoberfläche kontinuierlich besetzt, konnte mit den Mikroskopaufnahmen nicht bestätigt werden. Bei beiden Proteinmengen waren nur einzelne Proteinpartikel erkennbar (Abb. 1 und 2, unten), ansonsten war das Protein gleichmäßig verteilt. Es scheint jedoch, als sei die Besetzungsdichte bei 10°C größer als bei 50°C.

Inwiefern dies der Monomer-Dimer-Struktur zuzuordnen ist, konnte mit den Untersuchungen nicht abschließend geklärt werden. Es hat sich aber gezeigt, dass die konfokale Laser Scanning Mikroskopie eine schnelle und unkomplizierte Methode ist, um poröse Membranen nicht invasiv im dreidimensionalen Raum zu untersuchen.

Literatur:
Hermanson, GT (2008): Bioconjugate techniques. Amsterdam: Academic Press
Verband Weihenstephaner Milchwissenschaftler, B.-u.L.e. (2014): Jahresbericht 2013, 1. Gotha, Thür: d/m/z Druckmedienzentrum Gotha
Wit, J, de (2009): Thermal behaviour of bovine β-lactoglobulin at temperatures up to 150°C, A review, Trends in Food Science & Technology, 20 (1), 27–34

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 16540 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Forschungsgebiet Molekulare Strukturen und Biogrenzflächen
Workgroup Molecular and Interfacial Structures
Leitung: Dr. rer. nat. Ronald Gebhardt

Determination of bacterial shape and dimension by angle-dependent static light scattering under in vivo conditions

In-situ Bestimmung der Bakterienform und –größe mittels winkelabhängiger statischer Lichtstreuung

Ronald Gebhardt, Simon Bauer, Julia Wilke

Bacteria show a variety of morphologies ranging from spherical, rod-shaped and twisted to filamentous shapes. Their sizes can range over six orders of magnitudes. Cells are normally symmetric resulting from the need to equally distribute genom and cytoplasm among the daughter cells (Young, 2006). Static light scattering had been used to characterize the size, shape and interactions of latex spheres, oil in water emulsion droplets (Lindner et al. 2001) or bacteria.

In a recent Nature paper quantitative phase imaging and Fourier transform light scattering techniques had been utilized to investigate species-specific characteristics of rod shaped species (Jo et al. 2014). Holographic images of *Lactobacillus casei* were obtained in single shot measurements. Although the technique is considered to become the method of choice in future, imaged bacteria currently appear still rather blurred and un-symmetric.

In this study, we used conventional angle-dependent light scattering (Fig. 1) ans an alternative. A red laser beam is focused on the sample, i.e. a cuvette filled with the bacterial culture suspended in fermentation medium at the end of the exponential growth phase. Scattered light is detected by a photosensitive detector in the scattering plane. If particles such as bacteria are larger than the wavelength of the used light a strong angle-dependence is observed. Information about the shape of the scattering particles can be obtained by analyzing the scattered intensity as a function of the scattering angle.

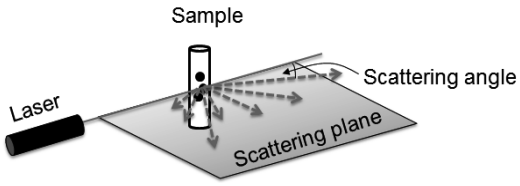


Fig. 1: Schematic representation of the geometry used in the conventional scattering experiment. The angle-dependence of the scattered light is indicated by the different length of the arrows in the scattering plane

In our case, rigid body modeling has been applied to image bacterial shapes and dimensions. Bacterial cells were cultivated and harvested in the post-exponential growth phase. After centrifugation, the cells were suspended in buffer, the number of bacterial cells being adjusted by a flow cytometer. Static light scattering measurements at room temperature were subsequently performed over a broad angular range ($\theta = 20 - 150°$). For the analysis of the light scattering data we used the DAMMIN software (Svergun 1999). The output of the program is a 3-D dummy atom model (DAM). In detail, an annealing procedure during which the temperature is stepwise decreased is used by DAMMIN to optimize the fit of the DAM to the scattering data. The simulation describes the scattering data in good accordance. The deviations were randomly distributed along the angular-axis within a margin of error of 15%.

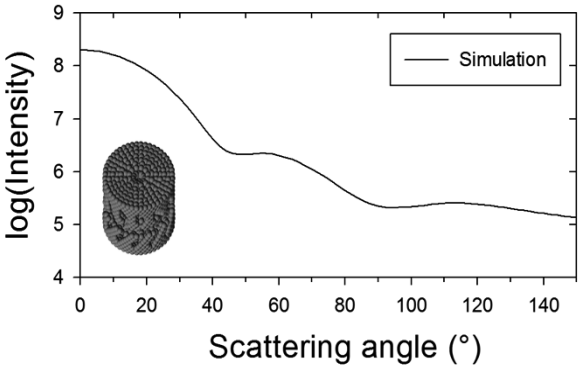


Fig. 2: Simulated scattering intensity as a function of the scattering angle. The resulting cylindrical model for the bacteria is shown as an insert

A DAM model with cylindrical shape as expected for *Lactobacillus casei* was obtained from the simulation (Fig. 2, insert). Structural features as seen on the lateral surface could be associated with cell division process or osmotic adaptation and are currently subject of a more detailed investigation. Future studies aim to investigate structural changes of microorganism under conditions relevant for process operations. The influence of protective components on size and shape is especially interesting for attempts to improve storage stability during freeze drying.

References:

Jo, YJ, Jung, JH, Lee, JW, Della S, Park, HJ, Nam, KT et al. (2014): Angle-resolved light scattering of individual rod-shaped bacteria based on Fourier transform light scattering, Scientific reports 4, 5090

Lindner, H, Fritz, G, Glatter, O (2001): Measurements on Concentrated Oil in Water Emulsions Using Static Light Scattering, J Colloid and Interface Science, 242 (1), 239–246

Svergun, DI (1999): Restoring Low Resolution Structure of Biological Macromolecules from Solution Scattering Using Simulated Annealing, Biophysical J, 76 (6), 2879–2886

Acknowledgements: We are grateful to Maxim Petoukhov (European Molecular Biology Laboratory, Hamburg) and Michael Sztucki (European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble) for helpful suggestion concerning simulation and modeling.

Untersuchung von Einfluss der hydrostatischen Druckbehandlung auf der Struktur von β-Lactoglobulin

Influence of hydrostatic pressure treatment on the structure of β-Lactoglobulin

Ikuko Ueda, Daniel Saalfeld und Ronald Gebhardt

β-Lactoglobulin (β-Lg) ist ein globuläres Protein und nimmt neben Casein den größten Anteil am Gesamtprotein in Kuhmilch ein. Nicht nur wegen der wirtschaftlichen Bedeutung, sondern auch aufgrund der funktionellen Eigenschaften hat β-Lg ein großes Potential in der Lebensmitteltechnologie. Deshalb sind seine Struktur und strukturelle Änderungen durch eine Vielzahl experimenteller Techniken untersucht. Aber die biologische Funktion sowie das Verhalten des Proteins in einem komplexen System sind noch ungeklärt. Die Lichtstreuung ist eine Methode, bei der das Streulicht eines Lasers an einer gelösten bzw. suspendierten Substanz analysiert wird und zur Charakterisierung biologischer Makromolekülen sowie kolloidaler Lösungen eingesetzt. In dieser Arbeit wurde der Effekt von Hochdruck auf den hydrodynamischen Radius (R_H) des β-Lg mithilfe winkelabhängiger dynamischer Lichtstreuung überprüft. Die Messung der Lichtstreuung des nativen, mit 150 MPa sowie 250 MPa hochdruckbehandelten β-Lg nach der Druckfreigabe wurde über einen Winkelbereich von 30-150° durchgeführt. Alle Druckbehandlungen wurden unter gleichen Prozessbedingungen bei 20 °C, 18 Stunden lang durchgeführt. R_H wurden durch eine Fluktuationsanalyse des gestreuten Lichts bestimmt.

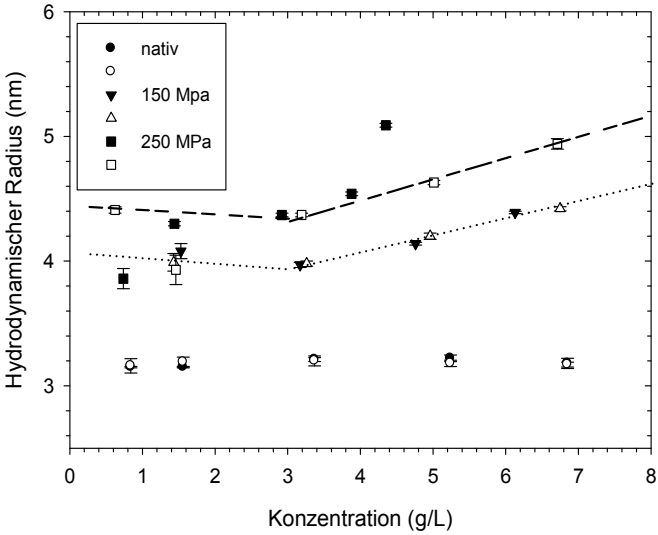


Abb. 1: Hydrodynamischer Radius von nativem (Symbol(Symbol ● und ○) und mit 150 MPa (Symbol ▼ und △), mit 250 MPa druckbehandeltem β-Lg (Symbol ■ und □) beim Winkel 150° in Abhängigkeit von der Konzentration

Die Abhängigkeit des R_H des nativen sowie mit 150 MPa (R_{H150}), 250 MPa (R_{H250}) hochdruckbehandelten β-Lg von der Konzentration ist in Abb. 1 dargestellt, wobei nur die Messungen beim Streuwinkel von 150° ausgewertet wurden. Der Messfehler wurde aus den Ergebnissen der Dreifach-Messungen bestimmt. Bei nativem β-Lg ist beim Radius keine Konzentrationsabhängigkeit zu sehen. Dagegen vergrößern sich R_{H150} von 4 nm auf ca. 4.5 nm mit steigender Konzentration. Eine weitere Zunahme des R_{H250} auf ca. 5 nm wurde beobachtet.

Dabei ist zu erkennen, dass die Zunahme des Radius bei einer Konzentration von ca. 3 mg/mL beginnt. In Abb. 2 a und c sind des R_H des nativen, mit 150 sowie 250 MPa hochdruckbehandelten β-Lg in Abhängigkeit vom Winkel in geringerer Konzentration (ca. 3 mg/mL) und in höherer Konzentration (ca. 6.5 mg/mL) dargestellt. Dadurch lässt sich die Winkel- sowie Konzentrationsabhängigkeit des R_H aller Proben vergleichen.

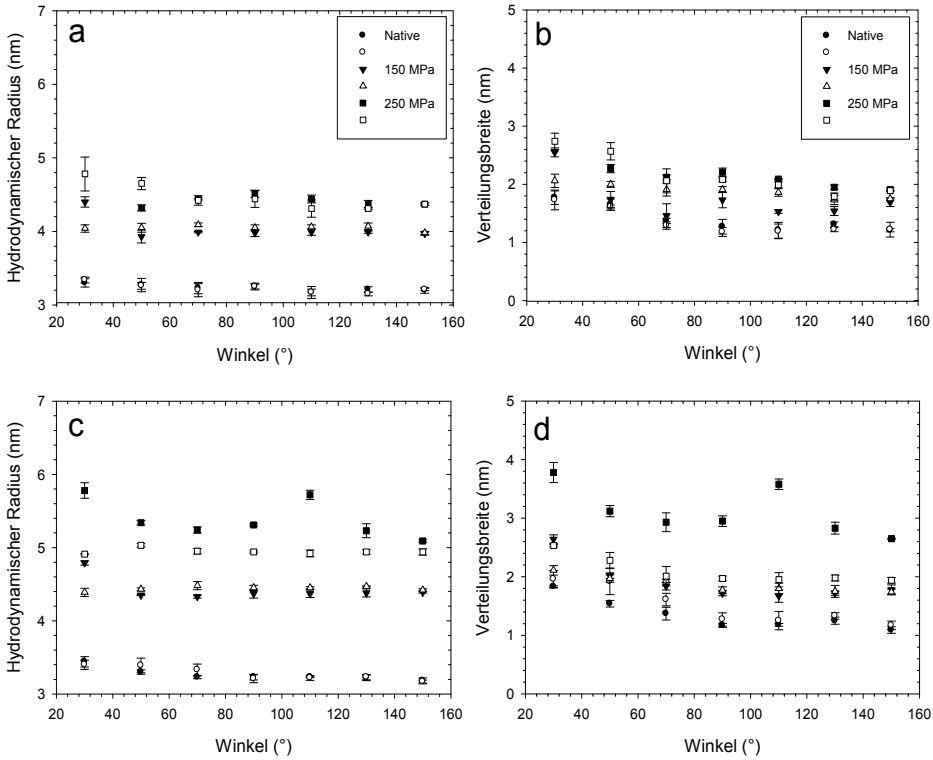


Abb. 2: Winkelabhängigkeit der hydrodynamischen Radien und Verteilungsbreite gemessen an nativem (● und ○: c = 3.37 mg/mL) und hochdruckbehandelter Probe mit 150MPa (▼: c = 3.19 mg/mL und △: c = 3.26 mg/mL), 250 MPa (■: c = 2.92 mg/mL und □: c = 3.17 mg/mL) (a), (b) und an nativem (● und ○: c = 6.85 mg/mL) und hochdruckbehandelter Probe mit 150 MPa (▼: c = 6.13 mg/mL und △: c = 6.75 mg/mL), 250 MPa (■: c = 6.2 mg/mL und □: c = 6.71 mg/mL) (c), (d)

Natives β-Lg in einer höheren Konzentration hat einen R_H von ca. 3.3 nm und R_{H150} von 4.4 nm. Für beide Messwerte ist eine geringe Abweichung zu sehen. Bei mit 250 MPa hochdruckbehandeltem β-Lg ist der R_H 5-5.5 nm. Im Gegensatz zu den anderen beiden Proben ist die Abweichung beim Doppel-Versuch so groß, dass die Messergebnisse nicht innerhalb der statistischen Fehlergrenzen der einzelnen Proben liegen. Demgegenüber wurde beim R_H aller Proben in einer geringeren Konzentration kaum Abweichung beobachtet. Trotz der gleichbleibenden R_H des nativen β-Lg ist der R_{H150} ca. 4 nm, R_{H250} ca. 4.5 nm und damit im Vergleich zur R_H in einer höheren Konzentration leicht verringert. Unter Berücksichtigung von Fehlern ist nur eine geringe Abhängigkeit des R_H vom Winkel zu erkennen. Betrachtet man die Konzentration von ca. 3 mg/mL als kritische Konzentration, können die hochdruckinduzierte Änderungen des R_H im unterschiedlichen Konzentrationsbereich wie folgt erklärt werden. β-Lg befindet sich vor der Druckbehandlung in einem globulären Zustand. In einer etwas

konzentrierteren Lösung ändern sich die Oberflächeneigenschaften nicht. Aufgrund der druckinduzierten Auffaltung der Struktur hat β-Lg eine größere Oberfläche als natives, dadurch steigt die Reaktivität der Aminogruppe an der Oberfläche. Anschließend folgt eine leichte Zunahme des R_H. In verdünnter Konzentration führt nur der Druck-Effekt zur Vergrößerung des R_H des β-Lg. In konzentrierter Lösung kommt noch der Konzentrationseffekt dazu. Aufgrund der engen räumlichen Verteilung in einer konzentrierten Lösung beeinflusst der Hochdruckeffekt die Strukturänderung des β-Lg stärker. Dadurch liegt β-Lg noch weiter aufgefaltet vor. Infolgedessen wird eine Konzentrationsabhängigkeit des R_H beobachtet.

Zusätzlich konnte eine Konzentrationsabhängigkeit der Verteilungsbreite des R_H beobachtet werden (Abb. 2, b und d). Die leichte Abweichung bei kleinen Winkeln von 30 bis 50 ° kann auf die Anwesenheit von Fremdpartikeln zurückgeführt werden. Besonders bei der Analyse kleiner Molekülen wie β-Lg beeinträchtigt Staub die Qualität der Messergebnisse wesentlich stärker als bei der von Größeren.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die hier beschriebenen Forschungsergebnisse neue Erkenntnisse zur Stabilität von β-Lg liefern, wenn dieses moderaten Drücken (< 250 MPa) und langen Behandlungszeiten ausgesetzt wurde. Zusätzlich konnte im Hinblick auf frühere Lichtstreuarbeiten die Signifikanz der Forschungsergebnisse weiter erhöht werden indem auch die Konzentrationsabhängigkeit des Druckeffekts sowie die Verteilungsbreiten des R_H berücksichtigt werden.

Die Methode der winkelabhängigen dynamischen Lichtstreuung kann zukünftig zur Charakterisierung weiterer, lebensmittelrelevanter Milchproteine wie Casein, Lysozym eingesetzt werden. Für die Untersuchung der Interaktion der Proteine mit anderen Nahrungsmittelkomponenten wie Fett, Zucker, Polysaccharide, Salz und Weichmacher wäre die Anwendung statischer Lichtstreuung ebenfalls von Interesse. Somit könnten Strukturbildungen im komplexen Lebensmittelsystem gründlich untersucht werden.

Literatur:
Ueda, I, Riegel, I, Kulozik, U, Gebhardt, R (2014): Effect of hydrostatic pressure treatment on the structure-foaming relationships of β-lactoglobulin, High Pressure Research 34, 419-427, DOI: 10.1080/08957959.2014.967768

Danksagung: Die Beschaffung des Kompakt Goniometers ALV/CGS-3 wurde von der Vereinigung zur Förderung zur Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. finanziell unterstützt.

Molecular approach to explain mechanical properties of protein films

Molekularer Ansatz zur Erklärung mechanischer Eigenschaften von Proteinfilmen

Namrata Pathak and Ronald Gebhardt

Protein films are widely used as edible coatings in food industry because they offer a number of functional properties, such as variable permeability's for gases. For improved flexibility, elongation or toughness of the films plasticizers such as glycerol and sorbitol are often added. Recently, spiral crack patterns were used as tools to explore the influence of plasticizers on the cohesive and adhesive interactions in β-lactoglobulin (β-LG) films (Gebhardt und Petkeviciute 2014). Besides interactions, structural changes of β-LG should have a strong impact on mechanical properties of resulting films. The latter can be probed by ultrasonic measurements. Last year we reported on the variation of the adiabatic compressibility of β-LG solutions with glycerol concentration (Pathak and Gebhardt 2014). Now, we took the analysis one step further and calculated apparent specific quantities which are related to unit mass of pro-

tein. It had been shown that three main parts of a protein contribute to specific volumes and compressibility's (Kauzmann 1959; Priev et al. 1996):

$$\Phi_V = V_{intrinsic} + V_{cavity} + \Delta V_{solvation} \quad (1)$$

$$\Phi_\kappa = \kappa_{intrinsic} + \kappa_{cavity} + \Delta\kappa_{solvation} \quad (2)$$

where $V_{intrinsic}$ and $\kappa_{intrinsic}$ are the volumes and compressibility's of the amino acids constituting the polypeptide chain, V_{cavity} and κ_{cavity} are the quantities for voids and cavities inside the protein and $\Delta V_{solvation}$ and $\Delta\kappa_{solvation}$ take changes due to the solvation (hydration) into account. We computed Φ_V and Φ_K by the following relations

$$\Phi_V = \frac{1}{\rho_0} - [\rho] \quad (3)$$

$$\Phi_K = \kappa_0 \left(2\Phi_V - 2[u] - \frac{1}{\rho_0} \right) \quad (4)$$

and estimated the relative concentration increments(protein concentration: C_P) in sound velocity [u], adiabatic compressibility [κ] and density [ρ] according to:

$$[u] = \frac{u - u_0}{u_0 c_P}, [\kappa] = \frac{\kappa - \kappa_0}{\kappa_0 c_P}, [\rho] = \frac{\rho - \rho_0}{\rho_0 c_P} \quad (5)$$

In this formula u_0, ρ_0, κ_0 are the velocity, density and adiabatic compressibility of the reference solvent and u, ρ, κ those for the protein solution. In the following, we discuss specific volumes and compressibility's of β-Lg measured at T = 30°C. Figure 1 shows how both quantities vary with protein concentration when different amounts of glycerol are added. Under dilute conditions (no glycerol added) we observed Φ_V = 0.765 mL/mol and $\Phi_\kappa = 8 \cdot 10^{-11}$ mL/g/Pa which is in good accordance with literature (Valdez et al. 2001). Both, specific volume and compressibility decrease with increasing glycerol concentration as expected from literature (Priev et al. 1996).

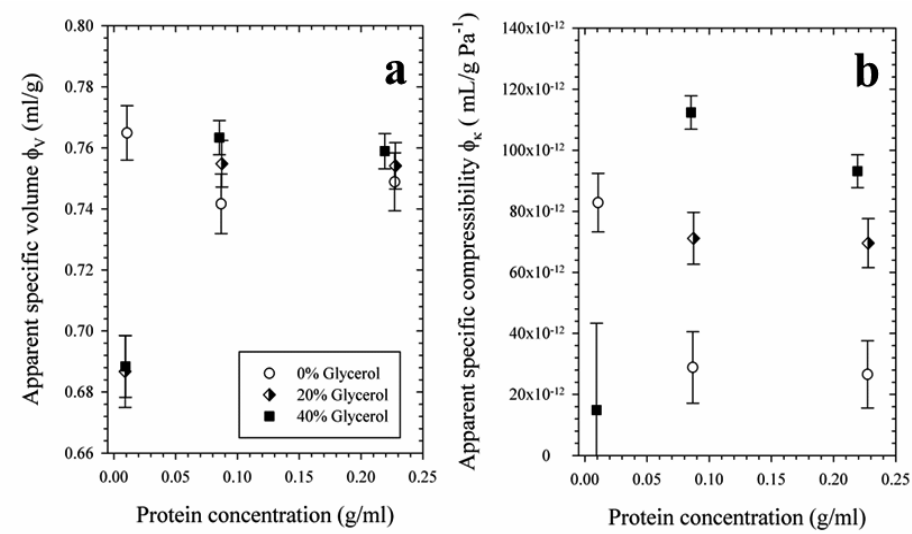


Fig. 1: Effect of glycerol on molecular quantities of β-LG at T = 30°C. Apparent specific volumes, Φ_V (a) and partial specific compressibilities, Φ_κ (b) are plotted as a function of protein concentration.

However, at high protein concentrations we observed the opposite. Instead of a decrease, we observed slightly higher specific volumes but substantially increased compressibility's after addition of glycerol. We note that the glycerol effect reverses at high protein concentrations and hence probably also in very dense media such as films. Volume and flexibility of proteins increase and reach values as found under dilute conditions without glycerol. In summary, information about the volumetric properties of proteins in dense media such as in films or deposits can be obtained from the experimental results. These are relevant to the understanding of structure-formation processes in food stuffs where capillary, osmotic or hydrostatic pressures are involved

References:
Gebhardt, R, Petkeviciute, I (2014): β-Lactoglobulin films with spiral cracks. Food Structure 1 (2), 155–163
Kauzmann, W (1959): Some Factors in the Interpretation of Protein Denaturation, Advances in Protein Chemistry Vol 14, Bd. 14, Elsevier (Advances in Protein Chemistry), 1–63
Priev, A, Almagor, A, Yedgar, S, Gavish, B (1996): Glycerol decreases the volume and compressibility of protein interior, Biochemistry, 35 (7), 2061–2066
Valdez, D, Le Huérou, J-Y, Gindre, M, Urbach, W, Waks, M (2001): Hydration and Protein Folding in Water and in Reverse Micelles: Compressibility and Volume Changes, Biophysical J, 80 (6), 2751–60

Einflussgrößen auf ein Hochfrequenz-Resonanz-Messsystem zur online-Fettgehaltsbestimmung von Milch

Influencing factors on a high frequency-resonance-measuring-system for the online determination of the milk fat content

Daniel Saalfeld, Mirjana Stulac

Die Zusammensetzung von Milch, insbesondere der Fettgehalt, variiert abhängig von dem Futter, der Verfassung der Kuh und der Jahreszeit.

Deswegen ist bei der Verarbeitung und Produktion von Konsummilch vor allem die ständige Fettbestimmung wichtig, um den Mindestfettgehalt garantieren zu können. Neben den offline-Methoden Röse-Gottlieb und Gerber, welche sich nicht für die kontinuierliche prozesstechnische Überwachung und Regelung eignen, sind bereits online-fähige Methoden auf dem Markt. Dazu zählen die Nah-Infrarot-Technologie und die Dichtebestimmung. Die Genauigkeit dieser beiden Methoden liegt allerdings bei 0,1 % Fett und ist damit für die Einstellung des Fettgehalts von Konsummilch nicht ausreichend. Hierfür ist eine Genauigkeit von <0,1 % Fett nötig, um das rechtzeitige Erkennen und Gegensteuern von Trends zu ermöglichen.

Im Rahmen eines Kooperationsprojektes wurde ein neuartiges Hochfrequenz-Resonanz-Messsystem, unter praxisrelevanten Bedingungen, in einem inline Setup geprüft. Für die Validierung und Kalibrierung dieses Systems wurde der Einfluss von der Strömungsgeschwindigkeit, der Temperatur und des Fettgehaltes auf das Messsignal untersucht.

In Abb. 1 ist die Resonanzfrequenz bei einem Fettgehalt von 0,1 % als Funktion der Strömungsgeschwindigkeit dargestellt. Es konnte festgestellt werden, dass eine Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit bei konstantem Fettgehalt und unterschiedlichen Temperaturen keinen Einfluss auf das Messsignal hat und somit als Einflussgröße ausscheidet. Dies ist, im Hinblick auf die Verwendung des Messsystems in großen Molkereien, durchaus positiv zu sehen, da es den universellen Einsatz unabhängig vom Rohrquerschnitt bzw. dem Volumenstrom ermöglicht und somit an unterschiedlichen Stellen in der Produktion eingebaut werden kann.

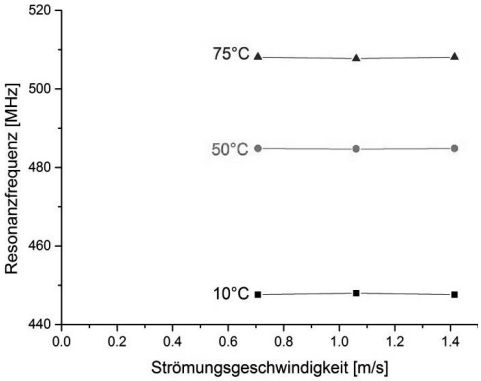


Abb.1: Einfluss der Strömungsgeschwindigkeit auf die Resonanzfrequenz bei einem Fettgehalt von 0,1 %

Zur Untersuchung einer weiteren prozesstechnischen Größe wurde der Einfluss der Temperatur auf das Messsignal betrachtet.

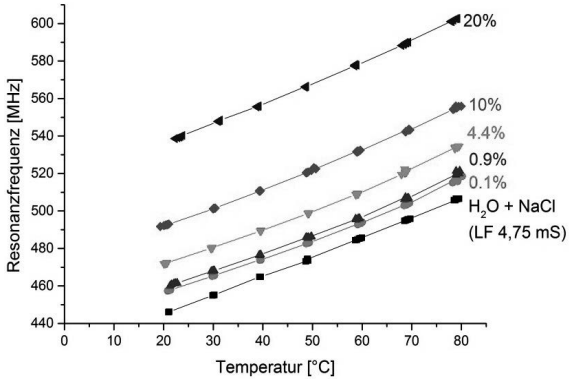


Abb. 2: Einfluss der Temperatur auf die Resonanzfrequenz bei unterschiedlichen Fettgehalten

Abb. 2 zeigt die Resonanzfrequenz als Funktion der Temperatur bei unterschiedlichen Fettgehalten. Wie zu erkennen, konnte ein signifikanter Einfluss auf das Messsignal, welcher auf Grund des Messprinzips zu erwarten war, nachgewiesen werden. Dabei wurde ein exponentieller Zusammenhang dritter Ordnung zwischen Resonanzfrequenz und Temperatur berechnet.

Neben den prozesstechnischen Größen hat auch die Zusammensetzung der Milch einen Einfluss auf das Messsignal.

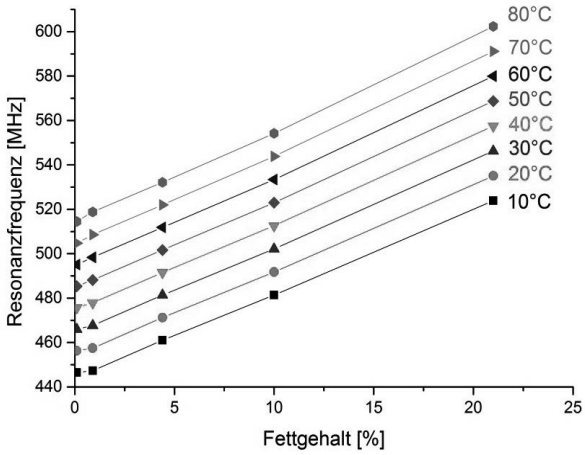


Abb. 3: Einfluss der Fettgehaltes auf die Resonanzfrequenz

Die Resonanzfrequenz als Funktion des Fettgehaltes bei unterschiedlichen Temperaturen ist in Abb. 3 dargestellt. Auch hier konnte ein signifikanter Einfluss der Messgröße auf die Resonanzfrequenz festgestellt werden. Im Gegensatz zur Temperatur (Abb. 2) handelt es sich hierbei um einen linearen Zusammenhang zwischen den Messgrößen. Aus den gewonnenen Erkenntnissen wird im weiteren Verlauf des Projektes eine Kalibrierfunktion erstellt, die essentiell für die spätere praktische Anwendung ist. Es konnte gezeigt werden, dass die Strömungsgeschwindigkeit als Einflussgröße auszuschließen ist.

Die Temperatur sowie der Fettgehalt zeigten einen signifikanten Einfluss auf das Messsignal, was bei der Erstellung der Kalibrierfunktion zu beachten ist. Hierfür müssen Untersuchungen durchgeführt werden, die auch beinhalten, ob die restlichen Bestandteile wie Laktose oder Proteingehalt ebenfalls Auswirkungen auf die Resonanzfrequenz haben und somit in die Kalibrierfunktion einbezogen werden müssen.

Dank: Das Forschungsvorhaben (KF2271412AK2) wird im Rahmen der ZIM – Kooperationsprojekte der AiF Projekt GmbH gefördert.

Vergleich des Einflusses unterschiedlicher Salze auf die Aggregation von Beta-Lactoglobulin

Comparison of the influence by different salts on the aggregation behaviour of beta-lactoglobulin

Daniel Saalfeld; Ronald Gebhardt

Durch vielfältige technofunktionelle Eigenschaften und Einsatzmöglichkeiten hat das Milchprotein Beta-Lactoglobulin (blg) in den vergangenen Jahren immer mehr an Bedeutung für die Nahrungsmittelindustrie gewonnen. Weitere Studien müssen die Zusammenhänge zwischen dem umgebenden Milieu sowie den Prozessparametern wie z.B. Scherung, Temperatur und hohem hydrostatischen Druck (HHP) aufzeigen, um die funktionellen Produkteigenschaften gezielt verändern zu können.

Ein mögliches Werkzeug für neue Wege der Funktionalisierung stellt die HHP - Technologie dar. Für blg unter Hochdruck konnte gezeigt werden, dass sowohl die Konformation als auch die Aggregation von blg beeinflusst wird [1]. Dagegen ist noch ungeklärt, inwieweit die Zugabe von Salzen gemäß der Hofmeister - Serie Einfluss auf die Struktur von blg unter Hochdruck nimmt. Ausgehend von den Chloriden, die als Nullpunkt der Serie gelten, wurde gezeigt, dass die Effekte der reinen Hochdruckbehandlung verstärkt werden können [2]. Zum Vergleich sollte der Einfluss von Nitraten bestimmt werden, die laut Hofmeister die Proteinstabilität herabsetzen und somit die Denaturierung fördern.

Aus diesem Grund erfolgten Untersuchungen zur hochdruckinduzierten Aggregation einer 5 %igen (w/w) blg-Lösung unter Variation des Salzgehaltes und des Drucks. Im Anschluss an die Behandlung wurden die Proben hinsichtlich Partikelgröße und gegebenenfalls Gelstärke untersucht. Durch die Analyse mittels RP-HPLC wurde der Denaturierungsgrad von blg bestimmt. Abb. 1 zeigt den Einfluss des Drucks auf die Partikelgröße in Lösung verschiedener Salzmilieus. Es wird ersichtlich, dass ohne Salzzugabe mit steigendem Druck in der reinen blg-Lösung keine Veränderung an der Partikelgröße hervorgerufen wird. Im Gegensatz dazu konnte durch Zugabe von Salzen mit Konzentrationen von 100 mM bereits bei Atmosphärendruck eine Aggregation von blg beobachtet werden. Dies ist auf die elektrostatische Abschirmung zurückzuführen. Bei Betrachtung der Partikelgrößenveränderung mit steigendem Druck ist durch den Einsatz der Chloride eine Abnahme der Partikelgröße zu erkennen, wohingegen durch die Nitrate ein Wachstum der Partikel verursacht wurde. Des Weiteren kam es bei Zugabe von $NaNO_3$ bzw. KNO_3 zur Ausbildung eines geringen Anteils an größeren Aggregaten mit einem Durchmesser von ca. 30 nm (in Abbildung nicht gezeigt). Dies lässt darauf schließen, dass die Konformation von blg durch Nitrate stärker beeinflusst wird als durch Chlorid. In Übereinstimmung mit der Reihenfolge in der Hofmeister - Serie sinkt die Proteinstabilität, wodurch die Möglichkeit zur Bildung neuer Disulfildbrücken auf Grund der zunehmenden Freilegung von reaktiven Thiolgruppen steigt. Für das weitere Verständnis der Salzwirkung auf blg unter Hochdruck wurden Untersuchungen mit zweiwertigen Salzen ($CaCl_2$ bzw. $Ca(NO_3)_2$) durchgeführt. Die Wahl fiel dabei auf die Calciumsalze, da bekannt ist, dass Calcium zum einen in der Lage ist Calciumbrücken auszubilden und zum anderen neben Kalium als Hauptbestandteil der Salze in Kuhmilch enthalten ist.

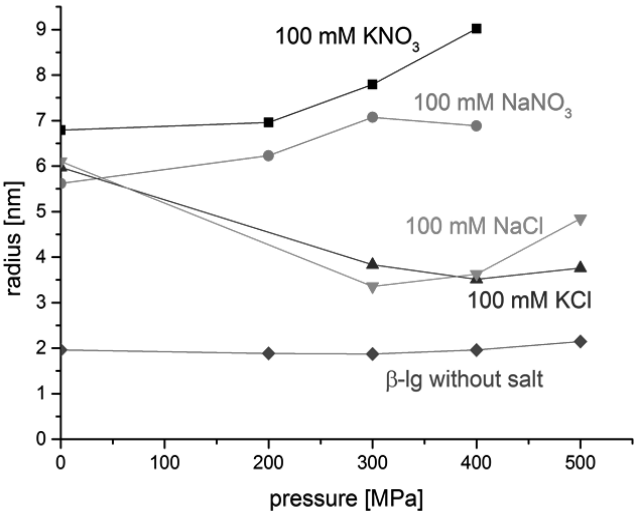


Abb. 1: Einfluss des Drucks bei verschiedenen Salzen auf die Partikelgröße einer behandelten 5 % (w/w) blg-Lösung

In Abb. 2 ist der Denaturierungsgrad (a) und die Gelstärke einer 5 %igen (w/w) blg-Lösung mit 100 mM $Ca(NO_3)_2$ bzw. $CaCl_2$ als Funktion des Drucks dargestellt.

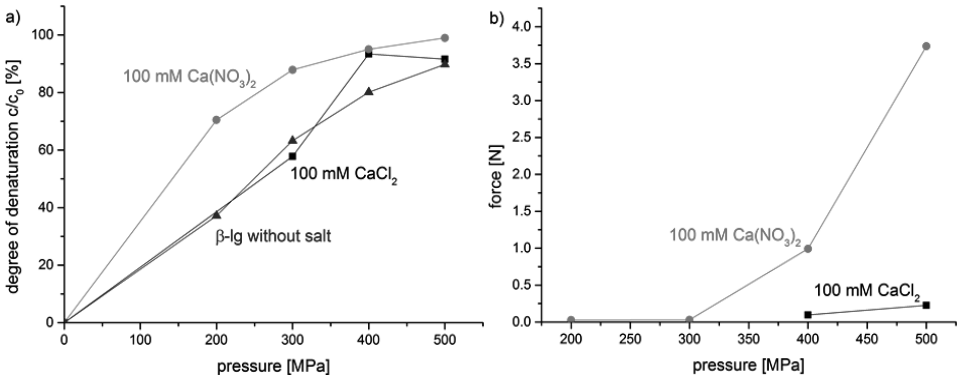


Abb. 2: Einfluss des Drucks auf a) den Denaturierungsgrad und b) die Gelstärke einer behandelten 5 % (w/w) blg-Lösung mit 100mM $CaNO_3$ bzw. $CaCl_2$ Zusatz

Dabei wird ersichtlich, dass durch Zugabe der Calciumsalze eine Gelbildung von blg induziert werden kann, wobei die Stärke des Gels mit zunehmendem Druck ansteigt. Anhand des Vergleichs der Denaturierungsgrade zwischen den Salzen konnte beobachtet werden, dass ca. 70% des blg aufgefaltet vorliegen muss damit eine Gelbildung einsetzte. Vergleicht man auch hier wieder den Einfluss der mehrwertigen Salze auf die Struktur von blg, so ist ein signifikanter Unterschied sichtbar. Dieser äußert sich deutlich in der Stärke der entstandenen Gele. Während bei $CaCl_2$ erst bei Drücken ab 400 MPa die Gelbildung beginnt, konnte durch Zugabe von $Ca(NO_3)_2$ bereits bei Drücken ab 200 MPa ein Gel erhalten werden. Dies bestätigt die Annahme, dass Nitrate im Vergleich zu Chloriden die Proteinstruktur stärker destabilisieren. Die weitere Zunahme der Gelstärke mit steigendem Druck kann durch die zunehmende Auffaltung des Proteins, die zur Freilegung der freien reaktiven Thiol- und Carboxylgruppen führt, erklärt werden. Daraus resultiert einerseits die Möglichkeit der Bildung von weiteren vernetzenden Disulfidbrücken. Andererseits ist das Calcium in der Lage, Wechselwirkungen mit den Carboxylgruppen des Proteins einzugehen und die Gelstruktur weiter zu stabilisieren.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von einwertigen (Na^+, K^+) und zweiwertigen (Ca^{2+}) Chloriden bzw. Nitraten in Kombination mit HHP auf die Strukturbildung von blg getestet. Während die Zugabe einwertiger Salze in löslichen Aggregaten resultierte, kam es bei den zweiwertigen Calciumsalzen zu Gelbildung. Die Aggregatgröße ließ sich je nach Art des Anions der einwertigen Salze vergrößern oder verkleinern. Im Vergleich zu $CaCl_2$ [2] konnte nach Zugabe von $Ca(NO_3)_2$, sowohl der Denaturierungsgrad als auch die Stärke der resultierenden Gele erhöht werden. Zukünftig sollen die hier betriebenen Hochdruckexperimente zum Verständnis der thermisch induzierten Partikulierung und Gelbildung beitragen, da der Einsatz von Hochdruck die getrennte Untersuchung von Auffaltung und Aggregation erlaubt.

Literatur
[1] Gebhardt, R, et al. (2012): **Soft Matter, 8,** 11654-660
[2] Saalfeld, D, Gebhardt, R (2013): Jahresbericht der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL, 131-133

Investigation of casein micro-particles in casein/pectin blend film

Untersuchung von Casein Mikropartikeln in Casein-Pektin Filmen

Yu Zhuang, Julia Sterr*, Ronald Gebhardt (*TUM Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik)

In recent years, interest has grown for studying micro-particle as a carrier of bioactive compounds. Apart from its packaging function, polymer based films is an ideal object to study phase transformation, structure formation or deformation. Bonnaillie and his co-workers reported that aggregates appeared when 1.0% pectin was added to the casein-based film, and these aggregates altered the mechanical properties of film [1]. This phenomenon is a result of volume exclusion effect between polymers at neutral pH. However, little knowledge was obtained on casein particles. Our study applied confocal Raman microscopy to investigate casein micro-particles after adding of pectin in films. The spatial distribution of casein micro-particle and pectin was explored in films

We prepared films from a mixed casein/pectin solution (mixing ration 1:0.1 w/w) under neutral pH condition. 2 ml of the solution was carefully deposited onto cut-edge glass slides. They were dried under 30% relative humidity at 20°C for 48 hours. Raman spectra were obtained at room temperature using a confocal Raman microscopy (Alpha 500, WITec GmbH, Germany). Raman images were recorded by combining single spectra with a vertical depth scan of 60 µm x 20 µm. CH-deformation of carbohydrate ring configuration was used to identify pectin. And Amide I band indicated the appearance of casein. Fig. 1 shows a color-coded Raman image generated by integration over selected vibration bands for casein-rich region (blue) and pectin-rich region (green). It is clear shown that casein formed a micro-particle and pectin surrounds its surface. The aggregated structures were a result of the volume exclusion effects, which occurred, as the casein was concentrated during film formation [2].

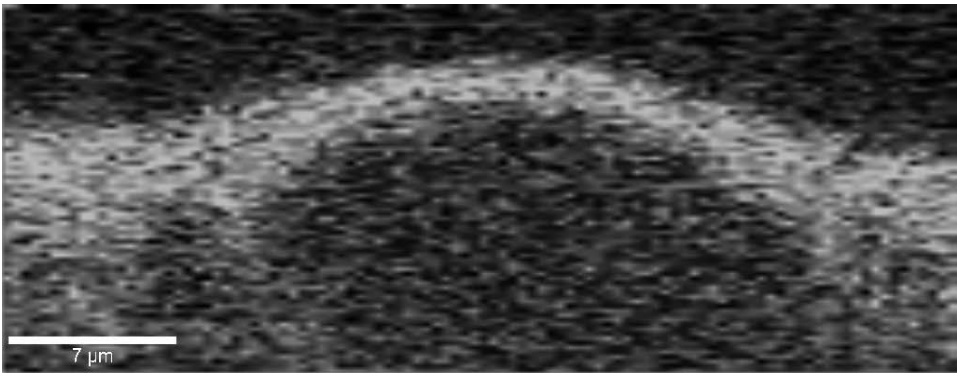


Fig. 1: Color-coded Raman microscopic image by integration over selected vibrational bands in vertical direction, casein-rich region (blue), and pectin-rich region (green)

A flat ellipsoidal structure of casein micro-particle was also observed in Fig.1. We attributed this kind of micro-particle deformation to the compression induced by capillary pressure in vertical direction during drying. Interestingly, this observation is in agreement with a previous study on casein micelle film, which revealed single casein micelle became compressed in films [3].

In order to investigate the structure of casein micro-particles, we dissolved casein/pectin films in solution. Casein micro-particle can be isolated from pectin matrix and released into solution. We can visualize a casein micro-particle in solution by optical microscopy. A clear round structure was observed. Similar to the micro-particles in films states, the size of this round structure was approximately 15 µm. This process shows a potential to further use casein micro-particle as carrier for bioactive components, such as polyphenol or vitamins.

To conclude, casein micro-particle could be fabricated through film formation process with assistance of pectin. Drying process concentrated micellar casein into micro-particles. In future studies, swelling properties of the micro-particles, after they separated from the pectin matrix, should be investigated in detail. It is also worth to study their inner structure (integrity and connectivity of CM) to understand formation and properties of the film structures. We also plan to vary drying conditions, such as temperature and relative humidity, to generate micro-particles of various size and elasticity.

Literature:

[1] Bonnaillie, LM, Zhang, H, Akkurt, S, Yam, K.L, Tomasula, PM (2014): Casein Films: The Effects of Formulation, Environmental Conditions and the Addition of Citric Pectin on the Structure and Mechanical Properties, Polymers, 6, 2018-2036

[2] Zhuang, Y, Sterr, J, Kulozik, U, Gebhardt, R (2015): Application of confocal Raman microscopy to investigate casein micro-particles in blend casein/pectin films, International Journal of Biological Macromolecules, DOI 10.1016/j.ijbiomac.2014.11.017 *In Press*

[3] Gebhardt, R, Kulozik, U (2014): Simulation of the shape and size of casein micelles in a film state. Food & Function, 5(4), 780-785

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Schmitz-Schug, Iris: Modeling lysine losses during spray drying of dairy powders, 12.2.2014

Aschenbrenner, Mathias: The relevance of glassy state dynamics on structure formation and stabilization of bacteria during freeze-drying and subsequent storage, 28.3.2014

Strixner, Thomas: Fraktionierung und Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potenzials der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma, 29.7.2014

Bauer, Simon: Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Starter- und probiotischen Kulturen – Einfluss von Fermentationsbedingungen und Trocknungsprozessparametern und deren Wechselwirkungen, 17.12.2014

Bachelorarbeiten

Alpers, Thekla: Einfluss von HM-Pektin auf fraktionierte Caseinmicellen

Baur, Carmen: Prozessentwicklung zur Herstellung gefriergetrockneter Cryogele

Biebl, Patrick: Löslichkeit von Calciumphosphat und Lactose in der Serumphase von Magermilch

Böck, Anna: Einfluss von Prozessbedingungen bei der Gefrier- und Mikrowellengefriertrocknung auf die Produktqualität von Himbeeren

Böhmer, Barbara: Einfluss der Anzuchttemperatur auf die Oberflächenhydrophobizität und Resistenz von Bacillus subtilis Sporen

Boos, Constanze: Untersuchung der Schutzstoffwirkung von Maltodextrin bei der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Brandl, Daniel Markus: Untersuchungen zur Inaktivierung von Bifidobacterium animalis ssp. lactis INL1 während der Mikrowellen-Vakuumtrocknung

Dobiasch, Carolin: Einfluss physikalischer Prozessparameter auf die Partikelgröße bei W/O-Emulsionen zur Herstellung proteinbasierter Mikrokapseln

Dörle, Marie-Therese: Fraktionierung von Immunoglobulin in Süßmolke mittels Mikrofiltration

Eber, Verena: Untersuchung zur Inaktivierung von Lactobacillus paracasei ssp.paracasei F19 bei der Mikrowellen-Vakuumtrocknung

Edel, Felix Christoph: Einsatz von mikropartikulierten Molkenproteinen in Magermilchjoghurt

Geiger, Michael: Einfluss einer erhöhten Salzkonzentration auf die Hydrogeleigenschaften, gemessen mit neuer Probenaufbereitung

Greßlinger, Andreas Stefan: Beeinflussung der Oberflächenhydrophobizität von Bacillus thringiensis durch Kontrolle des pH-Wertes bei der Anzucht im Submersverfahren und durch Lagerbedingungen

Gschwendtner, Matthias: Beeinflussung der Hydrophobizität von Bacillus subtilis Sporen durch verschiedene Anzuchtbedingungen

Hartinger, Martin: Konzentrierung von proteinfreiem Milchserum mittels Nanofiltration

Hintermayr, Julia: Einfluss der Trockenmasse von mittels Nanofiltration hergestellten Molkenkonzentraten auf die hitzeinduzierte Sporeninaktivierung sowie Molkenproteindenaturierung

Hobmeier, Karina: Einfluss des Fermentations-pH-Wertes auf das Überleben von Lactobacillus *paracasei ssp. paracasei* in der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Karl, Corinna: Einfluss der Zusammensetzung von nanofiltrierten Molkenkonzentraten auf die thermische Denaturierung von ß-Lactoglobulin und α-Laktalbumin

Kärtner, Stefanie: Validierung einer Methode zur digitalen Messung der Verweilzeitverteilung in einem Extruder

Kubbutat, Peter: Einfluss von Temperatur, Scherrate und Heißhaltezeit auf die Denaturierung und Aggregation von Molkenproteinen

Loy, Patrick: Charakterisierung rheologischer und textureller Eigenschaften von NaCas-Hydrogelen als Vorstufe zur Herstellung von Aerogelen

Machmüller, Andrea: Einfluss unterschiedlicher Diafiltrationsmedien auf Caseinstabilität und Filtrationsleistung bei der Casein/Molkenproteinfraktionierung

Murr, Larissa: Untersuchung der PL-Fällung aus Buttermilch mittels Thermocalcic Aggregation zur Gewinnung von MFKM Proteinen

Müther, Kathrin: Influence of product and process paramters on the dynamic ultrafiltration of whey

Nobbe, Konstantin: Einsatz der Schutzstoffe Sorbitol und Trehalose bei der Mikroverkapselung von Probiotika mittels Sprühtrocknung

Pruscevic, Deni: Inaktivierungsmechanismen während der Mikrowellen-Vakuumtrocknung von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19

Riederer, Anna Magdalena: Untersuchungen zur Inaktivierung von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19 während der Mikrowellen-Schaumtrocknung

Ritter, Anne: Machbarkeitsstudie zu alternativen Reinigungsmedien im GMP-Produktionsumfeld

Rybalka, Yuliya: Fraktionierung von bovinen Immunoglublinen in Milch mittels Mikrofiltration

Sauter, Julia: Auswirkungen von Massenstrom, Drehzahl und Proteingehalt auf die Verweilzeit und die Eigenschaften von Molkenproteinen im Extrusionsprozess

Schulte, Alica-Sophie: ACE-inhibitorische Wirkung der Fraktionen von ß-Lactoglobulin-Hydrolysaten

Schuster, Raffael: Untersuchungen zu Verfahrensalternativen für länger haltbare Magermilchkonzentrate

Schwarzbach, Christine: Abgeschwächte ATR-FTIR (Total-Reflexion-Fourier Transform-Infrarot-Spektroskopie) zur Bestimmung der Membranübergangstemperatur von Kulturen

Schweiger, Tobias: Einfluss von Produkt- und Prozessparametern auf die dynamische Ultrafiltration von Molke

Sewart, Christian: Untersuchung der Kondensatbildung von gasförmigem Wasserstoffperoxid mit einem kapazitiven Tausensor

Siegler, Sebastian: Ultrafiltration von Magermilch und Magermilchproteinkonzentraten mittels einer keramischen Röhrenmembran

Silberbauer, Alina: Vergleich verschiedener mechanischer Methoden zur Viskositätssenkung von Eiklar

Spielmannleitner, Kathrin: Evaluierung des Eiklarproteinzustandes nach der Hochdruckhomogenisierung

Sraga, Anna: Einfluss von Nitraten auf die Aggregation von ß-Lactoglobulin unter Hochdruck

Ständer, Fabian: Einfluss der Salzzusammenstellung und des Laktosegehaltes auf die Hitzestabilität von Magermilchkonzentrat

Tallarita, Isabella: Einfluss des Trockenmassegehaltes von Nanofiltrations-Molkenkonzentraten auf die thermisch induzierte Molkenproteindenaturierung sowie Sporenaktivierung

Weckert, Maximilian: Untersuchung der Trocknungskinetik der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung mittels ATR-FTIR Spektroskopie

Weinzierl, Schelly: Einfluss der Probenformulierung auf die Kollapstemperatur

Wekel, Milena: Ultrafiltration von Molke mittels keramischer Rohrmembran: Varation von Prozessparametern und Produkteigenschaften

Zink, Joel: Einfluss des Austausches von Wasser durch Ethanol auf die strukturellen Eigenschaften von Molkenproteinisolat- und Eiklargelen

Diplom- und Masterarbeiten

Bernauer, Sören: Effect of Polysorbate type and concentration on membrane composition and drying stability of L. paracasei F19

Besl, Marina: Funktion der Eiklarproteine Lysozym und Ovotransferrin bei der Bildung und Stabilisierung von Eiklarschäumen

Feidl, Fabian: Investigation of the binding orientation of ß-lactoglobulin to an anion exchange membrane

Gmach, Oliver: Charakterisierung der lab-induzierten Gelbildung zur Gewinnung von Buttermilch-Molke

Hernandez-Zenil, Erick: A contribution towards understanding the relationship between bitterness and calcium distribution in acid curd chesses

Hofbeck, Tatiana: Swelling and shrinkage behavior of egg white protein hydrogels in salt and ethanol solutions

Hubert, Karina Irmgard Elisabeth: Mikrowellen-Schaumtrocknung von Bifidobacterium animalis ssp. lactis INL1

Johler, Florian: Einfluss einer thermisch-induzierten Aggregation auf die Schäumungseigenschaften der gebildeten Denaturate aus ß-Lactoglobulin

Lang, Julia: The influence of process conditions during microwave vacuum drying on the activity of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

Leda, Sabrina: Charakterisierung des Labgelbildungsprozesses für schnelle Temperaturrampen als Grundlage für die Mikroverkapselung von Probiotika mittels Sprühtrocknung

Löw, Sebastian: Untersuchung der funktionellen Eigenschaften von Milchfettkugel-Membranmaterial in Joghurt

Saemann, Lisa Marie: Untersuchung der Grenzflächenaktivität von Milchfettkugelmembran-Konzentraten

Lu, Manman: Untersuchung der Schutzstoffwirkung von Maltodextrin und Sorbitol in der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Lactobacillus *paracasei ssp. paracasei F19*

Mattejat, Carmen Isabell: Mikro-, meso- und makroskopische Charakterisierung von Milchschaum

Mitlyanska, Nataliya: Charakterisierung des Erhitzungsverhaltens von Eiklar

Pathak, Namrata: Volumentric properties of ß-Lactoglobulin by ultrasonic velocity and density measurements

Reiner, Alexandra: Einfluss der Lagertemperatur und -feuchte auf die Überlebensrate mikroverkapselter Probiotika in Laktose-reduzierter Matrix

Riggert, Tatiana: Lactosylation of ß-Lactoglobulin and its Impact on Tryptic Hydrolysis

Ryschka, Daniel Peter: Vergleich der Durchführung einer Entfärbung bei der Downstream-Prozessierung von Antibiotika mittels Ionenaustauscherharz und Membranadsorbern

Shylkina, Liuba: Einfluss der Prozessbedingungen bei der Mikrowellen-Vakuumtrocknung auf die Produktqualität von Lactobacillus *paracasei ssp.paracasei* F 19

Ueda, Ikuko: Untersuchung intermolekularer Wechselwirkung von ß-Lactoglobulin mit Hilfe der statistischen und dynamischen Lichtstreuung

Vogel, Thomas: Einfluss der Eisensättigung von Lactoferrin auf das Adsorptionsverhalten an einem starken Kationenaustauscher

Weinzierl, Lena Marie: Stability of Caseins and Whey Proteins during UHT Treatment of Skim Milk Concentrates

Yan, Yan: Effects of high-methoxyl pectin on casein micelles from solution to film

Zochowski, Bianca: Methodenentwicklung zur chromatographischen Eiklarproteinfraktionierung mittels tangential überströmten Membranadsorbern im Pilotmaßstab

Vorträge

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppen „Mechanische Flüssigkeitsabtrennung“ und „Trocknungstechnik“, Karlsruhe, 20.02.2014

- Steinhauer, T, Gebhardt, R, Lonfat, J, Kulozik, U: Strukturaufbau von Milchproteindeckschichten

10th PhD Seminar on Chromatographic Separation Science, Egmond an Zee / Niederlande, 23.-25.02.2014

- Voswinkel, L, Kulozik, U: Mass transfer in Sartobind Direct Capture compared to membrane adsorber systems dominated by diffusion or convection
- Brand, J, Kulozik, U: Lysozyme fractionation out of egg white by fast flow membrane ion exchange chromatography

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Freising, 26.-28.02.2014

- Dumpler, J, Kulozik, U: Kristallisation von Calciumphosphat aus Ultrafiltrationspermeaten
- Heidebrecht, HJ, Toro Sierra, J, Kulozik, U: Membrantrenntechnik als Prozessoption zur Gewinnung eines biologisch aktiven Molkenproteinkonzentrats
- Eschlbeck, E, Pruss, K, Kulozik, U: Einfluss der Oberflächenhydrophobizität biologischer Indikatoren auf die Inaktivierung mit kondensierendem Wasserstoffperoxid
- New Frontiers in Anhydrobiosis, Pornichet / Frankreich, 24.-27.03.2014
- Ambros, S, Kulozik, U: Inactivation kinetics of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei during microwave vacuum drying and effect of protective sugars on survival
- Kallbach, M, Kulozik, U: Investigation of interaction mechanisms of sugars with biomolecules during low temperature vacuum drying of Lactobacillus paracasei ssp. Paracasei

DLG-Symposium „Eier und Eitechnologie“, Celle, 25.-26.03.2014

- Kulozik, U, Brand, J: Neuere Erkenntnisse zum System Ei als funktionelles Agens in der Lebensmittelindustrie
- Brand, J, Kulozik, U: Neuere Erkenntnisse zum Fraktionieren des Systems Ei und Nutzung der Komponenten als innovative funktionelle Agentien

Food Structure and Functionality Forum Symposium: From Molecules to Functionality, Amsterdam / Niederlande, 30.03.-02.04.2014

- Gebhardt, R, Kulozik, U: Structure-function relationships of food macromolecules on interfaces
- Würth, R, Kulozik, U: Improving the probiotic stability by a novel spray dried milk protein encapsulation system

Infotag Membrantechnik „Neuentwicklungen Cross Flow Filtration – Membranen, Module und Prozesse“, Frankfurt am Main, 09.04.2014

- Meyer, P, Husby, S, Kulozik, U: Dynamische Ultrafiltration mit rotierenden Membranen: Ein neues Verfahren zur Herstellung hochangereicherter Proteinkonzentrate

Arbeitstagung der Technischen Sachverständigen / Amtsingenieure, Beratungsingenieure und Architekten für das Molkereiwesen, Dresden, 09.-10.04.2014

- Marx, M, Dumpler, J, Kulozik, U: UHT-Erhitzung von Milch und Molkenkonzentraten – Eine Alternative zur Trocknung
- Kulozik, U, Meyer, P: Hochkonzentrieren von Milch und Molke mit Membrantrenntechnik

15th Food Colloids Conference, Karlsruhe, 13.-16.04.2014

- Wolz M, Kulozik U: Extrusion cooking as a new process for the production of whey protein aggregates as functional food colloid

Banff Egg Forum - Egg: Bioactive Treasure, Wroclaw / Polen, 26.-27.06.2014

- Brand, J, Kulozik, U: Egg white protein fractionation with membrane ion exchange chromatography
- Kleemann, C, Kulozik, U: Reducing detrimental swelling and shrinkage of egg white protein hydrogels as precursor for highly porous protein aerogels

Tag der Studienfakultät Brau- und Lebensmitteltechnologie, Freising, 27.06.2014

- Meyer, P, Husby, S, Kulozik, U: Energieeffiziente Membrankaskaden zum Hochkonzentrieren von flüssigen Lebensmitteln

10th European Conference on Foams, Emulsions and Applications, Thessaloniki / Griechenland, 07.-10.07.2014

- Ambros, S, Dombrowski, J, Kulozik, U: Protein-stabilized foam structures as protective carrier systems during microwave drying of probiotics
- Dombrowski, J, Mattejat, C, Kulozik, U: New Insights into the Structure of Milk Foam: A Mesoscopic Approach

Université Laval, Québec / Kanada, 14.07.2014

- Kulozik, U: Food Process Engineering Research at the Technical University Munich

The 8th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, Nantes / Frankreich, 15.-18.07.2014

- Gebhardt, R, Ueda, I, Riegel, Kulozik, U: Effect of Hydrostatic Pressure on the Structure and Intermolecular Interactions of β-Lactoglobulin

10th International Congress on Membrane and Membrane Processes (ICOM2014), Suzhou / China, 20.-25.07.2014

- Heidebrecht, HJ, Toro Sierra, J, Kulozik, U: Microfiltration of Milk to fractionate biofunctional bovine Immunoglobulins and Casein
- Husby, S: Influence of the removal of proteins on the efficiency of the reverse osmosis and the nanofiltration used to produce high yield milk and whey concentrates
- Meyer, P, Husby, S, Kulozik, U: High enrichment of milk and whey with reduced energy demand by means of a membrane cascade with novel dynamic filtration devices

2014 ADSA-ASAS-CSAS Joint Annual Meeting "Linking Animal science and Animal Agriculture: Meeting the Global Demands of 2050", Kansas City / USA, 20.-24.07.2014

- Holzmüller, W, Kulozik, U: Separation of proteins from the milk fat globule membrane with minimal losses
- Kulozik, U: Autocatalytic multistage gel formation reaction in dairy based systems in relation to compositional factors

19th International Drying Symposium, Lyon / Frankreich, 25.-27.08.2014

- Ambros, S, Dombrowski, J, Kulozik, U: Microwave vacuum drying of probiotics

7th International Whey Conference, Rotterdam / NL, 07.-09.09.2014

- Dombrowski, J, Johler, F, Kulozik, U: Understanding the role of heat-induced structural changes of β-lactoglobulin in relation to its foaming properties
- Kulozik, U: Membrane separation techniques in whey concentration and fractionation and ways to control deposit formation
- Saalfeld, D, Kulozik, U: The effect of nitrates and chlorides on the aggregation behaviour of beta-lactoglobulin during high pressure processing
- Wolz, M, Kulozik, U: Extrusion cooking as a new process for the microparticulation of whey proteins using high protein concentrations

FEI-Jahrestagung "Beiträge Industrieller Gemeinschaftsforschung für den Innovations- & Produktionsstandort Deutschland", Freising, 09.-10.09.2014

- Kulozik, U: Neue Wege zur Erzeugung von bioaktiven oder technologisch aktiven Peptiden mit blutdrucksenkenden bzw. grenzflächenaktiven Eigenschaften

Technology Seminar Weihenstephan - Food Bioprocessing: New functionalities through production, concentration and stabilization of biologically active components, Freising, 17.-19.09.2014

- Ambros, S, Bauer, SAW, Kulozik, U: Fundamental aspects and differentiation of drying methods and storage conditions for the preservation of microbial cultures
- Bauer, SAW: Effect of the culturing conditions on the resistance of starter cultures and probiotic bacteria against thermal and dehydration stress
- Eschlbeck, E, Kulozik, U: Effect of microbial surface properties on adhesion properties to solid and physiological surfaces
- Heidebrecht, HJ: Separation of immunoglobulins from milk
- Heidebrecht, HJ: Sensitivity of immunoglobulins and their reactivity to processing stress
- Kleemann, C, Kulozik, U, Selmer, I, Smirnova, I, Heinrich, S: Aerogels as a novel adsorptive matrix to encapsulate physiologically active components
- Kulozik, U: Separation methods in food technology and bioprocessing applications - Fundamentals and new perspectives -
- Kulozik, U: Fractionation of caseinomacropeptide (CMP) and removal from rennet whey for infant food manufacture by enzymatic crosslinking and other means
- Leeb, E, Kulozik, U: Targeted enzymatic hydrolysis of proteins to produce bioactive or technologically valuable peptides
- Voswinkel, L, Kulozik, U: Removal of ß-lactoglobulin as single target protein from whey to reduce the allergenic potential of whey products
- Würth, R, Först, P, Kulozik, U: Protection of probiotic microorganisms by microencapsulation

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 09.-10.10.2014

- Meyer, P, Husby, S, Kulozik, U: Energiesparendes Hochkonzentrieren von Milch und Molke mittels Membranverfahren in Kaskadenschaltung
- Dumpler, J, Kulozik, U: „Quo vadis Magermilchkonzentrat?“ – Lösungsansätze für (ultra) hocherhitzbare Magermilchkonzentrate hoher Trockenmasse
- Gebhardt, R, Ueda I, Kulozik, U; Untersuchungen intermolekularer Wechselwirkungen von ß-Lactoglobulin mithilfe der statistischen und dynamischen Lichtstreuung

BLE Innovationstage 2014 - Neue Ideen für den Markt, Bonn, 15.-16.10.2014

- Kulozik, U, Marx, M, Dumpler, J: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von Milch- und Molkekonzentraten als Ersatz für Milch- und Molkepulver

Treffen des Arbeitskreises „Schnittstellenproblematik bei Aseptikanlagen“ des VDMA, Frankfurt am Main, 17.10.2014

- Eschlbeck, E, Kulozik, U: Einflussfaktoren auf die Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mittels gasförmigem Wasserstoffperoxid - Erzeugung bakterieller Sporen im Submersverfahren

8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija / Kroatien, 21.-24.10.2014

- Eschlbeck, E, Kulozik, U: Decontamination with gaseous H2O2 depends on bacterial surface hydrophobicity
- Heidebrecht, HJ, Toro Sierra, J, Kulozik, U: Process Options to Obtain an Immunoglobulin - Rich Whey Protein Concentrate for Human Health Issues
- Zhuang, Y, Kulozik, U, Gebhardt, R: Effects of high-methoxyl pectin on assembly of casein micelles on films

8. MIV-Ideenbörse Forschung „Unsere Milch in alle Welt“, Fulda, 12.-13.11.2014

- Kulozik, U: Überblick zur Technologieoptimierung nicht-fermentierter Milcherzeugnisse

28th EFFoST International Conference | 7th International Food Factory for the Future Conference, Uppsala / Schweden, 25.-28.11.2014

- Eschlbeck, E, Pruß, K, Kulozik, U: Decontamination with gaseous H_2O_2 depends on bacterial surface hydrophobicity
- Ambros, S, Kulozik, U: Microwave freeze drying: A promising substitute for conventional freeze drying shown by the preservation of berries

Sitzungen der Projektbegleitenden Ausschüsse der AiF/FEI und BLE–Forschungsvorhaben

- Ambros, S, Kulozik, U: Entwicklung eines energieeffizienten, mikrowellenunterstützen Vakuumtrocknungsverfahrens zur schonenden Herstellung von mikrobiellen Kulturen, AiF-FV 17124 N, Freising, 03.11.2014
- Bauer, SAW, Kulozik, U: Ressourcenschonende Produktion und Anwendung mikrobieller Kulturen für Milcherzeugnisse, BLE 281740111, Freising, 03.07.2014
- Brand, J, Kulozik, U: Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, AiF-FV 17479 N, Neuenkirchen-Vörden, 04.12.2014

- Dombrowski, J, Kulozik, U: AiF-FV 17124 N „Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen“, AiF/DFG-CV PAK 551/0 „Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation, Berlin, 27.05.2014
- Dombrowski, J, Kulozik, U: AiF-FV 17124 N „Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen“, Abschlusssymposium des AiF/DFG-CV PAK 551/0 „Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation, Bonn, 26.09.2014
- Eschlbeck, E, Kulozik, U: Einflussfaktoren auf die Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mittels gasförmigem H2O2, AiF-FV 17721 N, Freising, 29.09.2014
- Kleemann, C, Kulozik, U, Selmer, I, Smirnova, I, Heinrich, S: Hochporöse Aerogelpartikel aus Protein als Trägermatrix für sensitive und sensorisch störende Stoffe in Lebensmitteln, AiF-FV 17485 N, Freising, 09.05.2014
- Marx, M, Dumpler, J, Kulozik, U: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von Molkenkonzentraten als Ersatz für Molkenpulver, BLE 313.06.01-28-174.005-11, Freising, 24.10.2014
- Meyer, P, Kulozik, U: Hochkonzentrieren von Milch und Molke durch Membrantrenntechnik mit reduziertem Energieverbrauch, AiF-FV 16836 N, Freising, 28.05.2014
- Wolz, M, Kulozik, U: Mikropartikulierung von Molkenproteinen mittels Heißextrusion, AiF-FV 17140 N, Freising, 04.11.2014

Posterpräsentationen

DESY Photon Science Users' Meeting, Hamburg, 31.01.2014

- Steinhauer, T, Perlich, J, Kulozik, U, Gebhardt, R: Deposit structure of milk proteins formed during frontal filtration
- Gebhardt, R, Steinhauer, T, Meyer P, Perlich, J, Kulozik, U: Cross-flow Filtration Cell for X-ray Studies on Proteins in Deposit Layers

Users' Meeting 2014 & Associated Workshops – ESRF, Grenoble / Frankreich, 04.-05.02.2014

- Gebhardt, R, Meyer, P, Steinhauer, T, Reynolds, M, Burghammer, M, Kulozik, U: Effect of filtration forces on the internal structure of casein micelles: Nanobeam SAXS in a single membrane pore

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppen „Mechanische Flüssigkeitsabtrennung“ und „Trocknungstechnik“, Karlsruhe, 19.-21.02.2014

- Meyer, P, Kulozik, U: Konzentrierung von Magermilch mittels dynamischer Ultrafiltration mit rotierenden Membranen

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Freising, 26.-28.02.2014

- Schmitz-Schug, I, Kulozik, U, Först, P: Lysinverluste während der Sprühtrocknung von Milchpulvern: Einfluss des physikalischen Zustands und der Trocknungskinetik
- Voswinkel, L, Kulozik, U: Direct capture membrane adsorption chromatography for crude cheese whey at technical scale
- Dombrowski, J, Dechau, J, Holzmüller, W, Kulozik, U: Impact of pH and temperature on the structure and foaming properties of casein micelles

- Leeb, E, Cheison, S, Kulozik, U: Thermal pre-treatment of β-Lactoglobulin to increase the production of functional peptides by enzymatic hydrolysis
- Meyer, P, Kulozik, U: Application of a membrane cascade to produce milk and whey concentrates with reduced energy demand
- Würth, R, Först, P, Kulozik, U: Spray drying for gentle microencapsulation of probiotics
- Holzmüller, W, Kulozik, U: Alternative methods for the isolation of milk fat globule membrane to reduce the loss on milk fat globule membrane proteins

Infotag Membrantechnik „Neuentwicklungen Cross Flow Filtration – Membranen, Module und Prozesse“, Frankfurt am Main, 09.04.2014

- Heidebrecht, HJ, Toro Sierra, J, Kulozik, U: Fraktionierung von bovinen Immunglobulinen in Milch mittels Mikrofiltration

15th Food Colloids Conference, Karlsruhe, 13.-16.04.2014

- Dombrowski, J, Johler, F, Kulozik, U: Understanding the role of heat-induced structural changes of β-lactoglobulin in relation to its foaming properties
- Dumpler, J, Kulozik, U: Changes in the composition of milk serum and its influence on heat stability of concentrated milk
- Heidebrecht, HJ, Kulozik, U: A Process Option to obtain a bioactive Whey Protein Concentrate
- Saalfeld, D, Kulozik, U, Gebhardt, R: Influence of pH and salt concentration during high pressure processing on β –Lactoglobulin
- Zhuang, Y, Kulozik, U, Gebhardt, R: Effects of high-methoxyl pectin on casein based thin film

7th International Whey Conference, Rotterdam / NL, 07.-09.09.2014

- Marx, M, Kulozik, U: Influence of the dry matter content and composition of whey concentrates on the thermal stability of proteins and spores
- Saalfeld, D, Kulozik, U, Gebhardt, R: The effect of nitrates and chlorides on the aggregation behaviour of β -Lactoglobulin during high pressure processing

Deutsche Tagung für Forschung mit Synchrotronstrahlung, Neutronen und Ionenstrahlen an Großgeräten 2014, Bonn, 21.-23.09.2014

- Zhuang, Y, Sterr, J, Kulozik, U, Yang C, Zhao, N, Bian, F, Tian, F, Gebhardt, R: Nano/mesoscale structures of protein-polysaccharide systems

28th EFFoST International Conference 7th International Food Factory for the Future Conference, Uppsala / Schweden, 25.-28.11.2014

- Ambros, S, Kulozik, U: The potential of pulsed microwave vacuum drying for energy-efficient conservation of probiotics and starter cultures

Veröffentlichungen

Peer reviewed

Aschenbrenner, M, Grammüller, E, Kulozik, U, Först, P: The contribution of the inherent restricted mobility of glassy sugar matrices to the overall stability of freeze-dried determined by low resolution solid state 1H-NMR, Food Bioprocess Technol, 7, 4, 1012-1024, 2014

Barukčić, I, Božanić, R, Kulozik, U: Effect of pore size and process temperature on flux, microbial reduction and fouling mechanisms during sweet whey cross-flow microfiltration by ceramic membranes , Int. Dairy J, 39, 8-15, 2014

Baum, M, Schantz, M, Leick, S, Berg, S, Betz, M. Frank, K, Rehage, H, Schwarz, K, Kulozik, U, Schuchmann, H, Richling, E: Is the antioxidative effectiveness of a bilberry extract influenced by encapsulation? J. Sci. Food Agr. 94 (11) 2301-2307, 2014

Brand, J, Pichler, M, Kulozik,U: Enabling egg white protein fractionation processes by pre-treatment with high-pressure homogenization, J. of Food Engineering, 132, 48-54, 2014

Eggert, A, Müller, M, Nachtrab, F, Dombrowski, J, Rack, A, Zabler, S: High-speed in-situ tomography of liquid protein foams, International Journal of Materials Research, 105 (7) 632-639, 2014

Gebhardt, R: Effect of filtration forces on the structure of casein micelles, J Applied Crystallography, 47, 29-34, 2014

Gebhardt, R, Petkeviciute, I: ß-Lactoglobulin films with spiral cracks, Food Structure, 1 (2) 155-163, 2014

Gebhardt, R, Teulon, JM, Pellequer, JL, Burghammer, M, Colletierdef, JP, Riekel, Chr: Virus particle assembly into crystalline domains enabled by the coffee ring effect, Soft Matter, 10, 5458-5462, 2014

Gebhardt, R, Kulozik, U: Simulation of the shape and size of casein micelles in a film state, Food & Function, 5, 780-785, 2014

Hausmann, A, Sanciolo, P, Vasiljevic, T, Kulozik, U, Duke, M: Performance assessment of membrane distillation for skim milk and whey processing, 97, 1, 56,-71, 2014

Leeb, E, Holder, A, Letzel, T, Cheison, SC, Kulozik, U, Hinrichs, J: Fractionation of dairy based functional peptides using ion-exchange membrane adsorption chromatography and cross-flow electro membrane filtration, Int. Dairy J, 38, 116-123, 2014

Schmitz-Schug, I, Gianfrancesco, A, Niederreiter, G, Först, P, Kulozik, U: Reaction kinentics of lysine loss in a model dairy formulation as related to the physical state. Food Bioprocess Technol, 7, 3, 877-886, 2014

Steinhauer, T, Kulozik, U, Gebhardt, R: Structure of milk protein deposits formed by casein micelles and β-lactoglobulin during frontal microfiltration, J Membrane Sci, 468, 126-132, 2014

Strixner, T, Sterr, J, Kulozik, U, Gebhardt, R: Structural Study on Hen-egg Yolk High Density Lipoprotein (HDL), Granules, Food Biophysics, 9, 314–321, 2014

Ueda, I, Riegel, I, Kulozik, U, Gebhardt, R: Effect of Hydrostatic pressure treatment on the structure-foaming relationships of ß-Lactoglobulin, High Pressure Research, doi.org/10.1080/08957959.2014.967768

Vinderola, G, Burns, P, Binetti, A, Torti, P, Kulozik, U, Forzani, L, Renzulli, P, Rehinheimer, G: Adminstration of caseinomacropeptide-enriched to mice enhances the calcium content of femur in a low-calcium diet, Int. Dairy J, doi:10.1016/j.idairyj.2014.12.005, 2014

Voswinkel, L, Kulozik, U: Fractionation of all major and minor whey proteins with radial flow membrane adsorption chromatography at lab and pilot scale, Int. Dairy J, 39, 209-214, 2014

Zhuang, Y, Sterr, J, Kulozik, U, Gebhardt, R: Application of confocal Raman microscopy to investigate casein micro-particles in blend casein/pectin films, Int. J Biol Macromol, doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.11.017, 2014

Congress Proceedings/Praxisorientierte Publikationen

Leeb, E, Kulozik, U: Trennung durch Bindung – Fraktionierung funktioneller Peptide mittels ionenaustauschbasierter Membranadsorptionschromatographie, Labor&More, 7, 30-34, 2014

Kulozik, U, Dombrowski, J, Hanke, R, Eggert, A: Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen (AIF 17124 N), in: Zentrale Ergebnisse des DFG/AIF-Clusterprojektes Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation, Hrsg. Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), 51-65, ISBN: 978-3-925032-53-0, 2014

Dombrowski, J, Kulozik, U, Eggert, A, Hanke, R: Neue Methoden zur zwei- und dreidimensionalen in-situ Charakterisierung von Schäumen, FOOD-Lab, 4 (14) 4-6, 2014

Livney, Y. D, Kulozik, U, Gebhardt, R.: Delivery of Functionality in Complex Food Systems: Physically Inspired Approaches from Nanoscale to Microscale: 5th Symposium, Food Biophysics, 9, 301–303, 2014 (Editorial)

Technologietransfer/Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen (im Berichtszeitraum aktive Forschungsvorhaben)

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 9.-10. Oktober 2014 in Weihenstephan

Technology Seminar "Food Bioprocessing: New functionalities through production, concentration and stabilization of biologically active components", September 17th -19th, 2014

AIF-FV 15611 N Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, 01.05.2011 – 30.04.2014

AIF-FV 16836 N Integrierte Kaskadenschaltung von dynamischen und Cross-flow-Membranverfahren zum Hochkonzentrieren von Magermilch und Molke, Laufzeit 01.12.2011 – 30.06.2014

AIF-FV 17479 N Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, Laufzeit 01.04.2012 – 31.12.2014

AIF-FV 17477 N Entwicklung eines mirowellenunterstützten Vakuumtrocknungsverfahren zur schonenden und effizienten Herstellung von mikrobiellen Kulturen, Laufzeit 01.04.2012 – 31.12.2014

AIF 17140 N Mikropartikulierung von Molkenproteinen mittels Heißextrusion. Laufzeit 01.01.2013 – 30.06.2015

AIF-FV Einflussfaktoren auf die Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mittels gasförmigem H2O2 01.04.2013 – 30.09.2015

AIF 17485 N Hochporöse Aerogelpartikel aus Protein als Trägermatrix für sensitive und sensorisch störende Stoffe in Lebensmitteln 01.09.2013 – 29.02.2016

AIF 18126 N Gewinnung ß-Lactoglobulin-freier Molkenerzeugnisse mittels selektiver thermischer Aggregation und Fraktionierung der entstandenen Komponenten 01.04.2014 – 30.09.2016

AIF 18122 N „Separate Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma zur Steigerung von deren Emulgiereigenschaften 01.04.2014 – 30.09.2016

AIF-ZIM/KF:2271412AK2: Hochfrequenz-Resonanz-Messsystem zur Bestimmung von Flüssigkeitskonzentrationen 01.10.2013 – 31.03.2015

BLE Vorhaben: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/ Logistik und Einsatz von Milch- und Molkekonzentraten als Ersatz für Milch und Molkepulver, Laufzeit 15.07.2012 – 14.09.2016

DFG 2375/1-1: Struktur und Bildung von Kasein-Mizellen-Ablagerungen auf porösen Oberflächen während der Mikrofiltration, Laufzeit 01.10.2012 – 31.10.2014

BLE Verbundprojekt RESOCULT: Ressourcenschonende Produktion und Anwendung mikrobieller Kulturen für Milcherzeugnisse, Laufzeit 01.02.2013 – 31.03.2016

sowie ein weiteres bilateral finanziertes Forschungsprojekt

Typprüfungen

Typprüfung 6600 INF/070 – Hocherhitzungsanlage der Fa. GEA TDS GmbH am 24./25.06. in Schwäbisch Hall, Hohenloher Molkerei eG

Exkursionen

31.01.2014	Fachexkursion mit 20 Studenten im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik zur Fa. Roche, Penzberg
09.06. – 13.06.2014	Fachexkursion mit 37 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel– und Zulieferbetrieben (Raum Graz, Wien, Linz)
10.06. – 13.06.2014	Fachexkursion mit 30 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik/Molekulare Biotechnologie zu Lebensmittel– und Zulieferbetrieben (Raum Ulm, Stuttgart, Frankfurt)
01.09. – 03.09.2014	Fachexkursion mit 15 Studenten im Rahmen der Vorlesung Technologie der Milch- und Milchprodukte (Raum Leutkirch, Friedrichshafen, Sulgen, Feldkirch, Ravensburg, Schongau)

Partnerschaft Technische Universität München in bayerischen Gymnasien

Im Rahmen des TUM–Programms „Partnerschaft Schule“ werden 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 Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- Berufenes Mitglied in der International Academy of Food Science and Technology (IAFoST)
- Mitglied im Wiss. 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)
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der Allianz Industrie Forschung (AIF) "Otto von Guericke" e.V. zur Evaluierung von Forschungsanträgen an das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi)

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

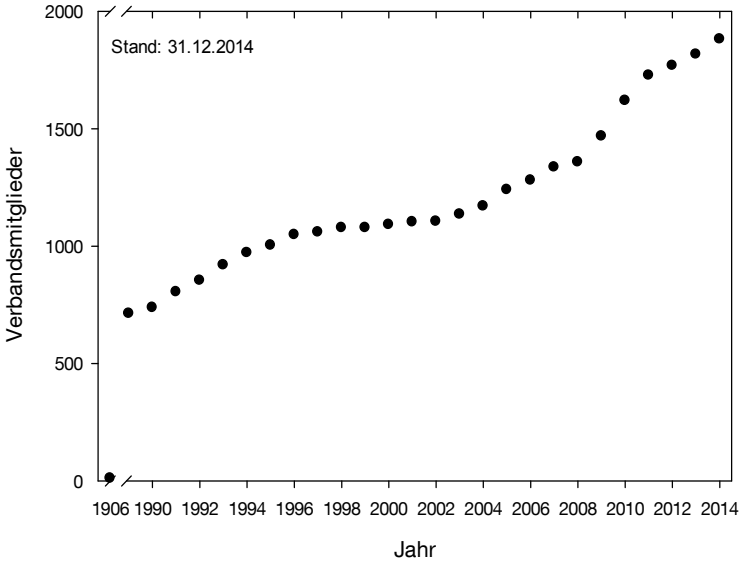
Geschäftsführung:
Melanie Marx, Christian Kleemann
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-2507
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 1881 Mitgliedern (Stand 31.12.2014). Im Geschäftsjahr 2014 ist die Mitgliederzahl des Verbandes um 65 Mitglieder gestiegen.



Entwicklung der Mitgliederzahl des Verbandes in den letzten 25 Jahren (Stand: 31.12.2014)

Der Verband setzt sich im Wesentlichen zur Hälfte aus studentischen Mitgliedern verschiedener Fachrichtungen (Lebensmittel- und Biotechnologie, Bioprozesstechnik, Brauwesen, Ernährungswissenschaft, etc.) und Mitgliedern unterschiedlicher Industriezweige der Nahrungsmittel- und Pharmaindustrie zusammen. Der Mitgliedsbeitrag umfasst € 20,- 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 wissenschaftliche Arbeiten
- a. Bachelor: € 500,-
- b. Master: € 1000,-
- c. Doktorarbeiten: € 2000,-

4. Eine Netzwerk-Plattform
- a. Über 1800 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	19.03.2014
Vorstandssitzung am	08.10.2014
Mitgliederversammlung am	09.10.2014

Lehrstuhlexkursionen:
12.05. – 14.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. Horst-Christian Langowski) der TUM mit 11 WMBL-Studenten zur Messe Interpak

09.06. – 12.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. Horst-Christian Langowski) der TUM mit 12 WMBL-Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben

09.06. – 14.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 (21 WMBL) Studenten (BPT & MBT) zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Allgäu und Rhein-Main-Gebiet.

09.06. – 13.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 37 (25 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Österreich

10.06. – 13.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Systemverfahrenstechnik (Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen) der TUM mit 19 (2 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Deutschland

02.07. – 05.07. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 81 (29 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Hochschule Weihenstephan Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Bayern, Baden-Württemberg und Sachsen.

01.09. – 03.09. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 15 (9 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in der Schweiz

22.09. – 25.09. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 16 (1 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Hochschule Weihenstephan Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Norddeutschland

Privatexkursionen:
Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurde im Jahr 2014 auch 1 eigeninitiativ organisierte Exkursion studentischer Mitglieder zu Fachmessen und –Tagungen bezuschusst. Informationen zur Förderung sowie der Förderantrag finden sich auf der Homepage des Verbandes.

Ehrungen anlässlich des Hochschultages und der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung

Preise für herausragende wissenschaftliche Arbeiten
Zum siebten Mal in Folge wurden in diesem Jahr zusätzlich zum Preis für „herausragende Diplom- und 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 Katharina Rötzer, B.Sc.** aus Oberviechtach für ihre mit der Note 1,0 bewertete Bachelorarbeit zum Thema *„Kalibrierung eines optischen Sensorspots zur in-situ Sauerstoffmessung unter Hochdruck“* verliehen.
Der zum 19. 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 09. Oktober 2014 an **Frau Sonja Schrempf**, **M.Sc..** aus Landshut verliehen. In ihrer Arbeit (Note 1,0) beschäftigte sie sich mit der *„Beschreibung des Wärmeübergangs von Fruchtsuspensionen in Rohrströmungen“*.

Der Preis für herausragende Doktorarbeiten (€ 2000,-) wurde in diesem Jahr an zwei Preisträgerinnen verliehen:
Frau Dr. rer. nat. Stefanie Brunner aus Freising schloss ihre Promotion mit dem Titel *„Effect of a dietary intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio in maternal nutrition during pregnancy and lactation on selected maternal and cord blood biomarkers in relation to infant body composition up to 2 years of life“* am Lehrstuhl für Ernährungsmedizin mit magna cum laude ab.

Frau Dr.-Ing. Iris Schmitz-Schug aus München schloss ihre Dissertation mit dem Titel *“Improving the nutritional quality of dairy powders - analyzing and modeling lysine loss dur-ing spray drying as influenced by drying kinetics, thermal stress, physical state and molecular mobility”* 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 Erich Frank, Herrn Werner Hackenschmied, Herrn Helmut Klinger, Herrn Günter Liebert, Herrn August Sauber und Herrn Adolf Wichmann zu ihrer 50-jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden. Herrn Theo Kehm konnte zu seiner 60-jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Den anwesenden Jubilaren wurde ein Milchkrug mit dem Emblem des Verbandes überreicht.

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 1800 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

- 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 HSWT. 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	Dr. Hans Schraml
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Thomas Obersojer
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Timo Winkelmann
Geschäftsführer	Univ.-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 ein hohes Maß an Verantwortung und Engagement in Bezug auf stetige Innovation eines Segments der Lebensmittelindustrie, das seit jeher eine Leitfunktion in der gesamten Lebensmittelbranche innehat.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Produktions- und Ressourcenökonomie

- *Diversifizierung versus Spezialisierung – Organisationelle Herausforderungen für die deutsche Milchwirtschaft*

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik

- *Einfluss neuartiger Handelsbeleuchtung auf die Produktqualität von Kondensmilch und Kaffeesahne*

Abteilung Mikrobiologie

- *Einfluss der Hoflagerung auf die Rohmilch-Mikrobiota – Analyse mittels Next-Generation-Sequencing*

Abteilung Physiologie

- *Etablierung einer 3D Zellkultur für primäre bovine Euterepithelzellen zur Erforschung der durch Euterepithelzellen vermittelten Immunantwort und der Einflüsse von Stoffwechselmetaboliten auf die Laktogenese*
- *Milk fat globule membrane proteome*

Abteilung Technologie

- *Antrag auf Förderung zur Verbesserung der analytischen Infrastruktur durch Erwerb eines Texture Analysers*
- *Antrag auf Förderung von Vorarbeiten für ein Forschungsvorhaben zur Milchproteinfraktionierung mittels polymerer Spiralwickelmembranen*

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.

Ferner führt die Fördervereinigung gemeinsam mit dem Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. die „**Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung“** durch, die sich als Branchentreffpunkt mit ca. 200 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.	ALPMA Alpenland Maschinenbau GmbH, Rott am Inn	145
2.	Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	148
3.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	144
4.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	154
5.	Champignon-Hofmeister Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	152
6.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	151
7.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	148
8.	GQM mbH, Landshut	149
9.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	146
10.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	150
11.	Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	147
12.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	153

BMi
Beste Milch Ideen

Milch- und Käse-Spezialitäten
aus Tradition!

BMI – Bayerische Milchindustrie eG
E-Mail: info@bmi-eg.com · Internet: www.bmi-eg.com

ALPMA

Qualität ohne Kompromisse

ALPMA steht für ausgereifte Technik, höchste Qualität und langfristige Zuverlässigkeit – durchdachte und praxisorientierte Lösungen in allen Bereichen.

Prozesstechnik

Käsereitechnik

Schneidetechnik

Verpackungstechnik

www.alpma.de

Der Milchindustrie-Verband e.V. (MIV) ist der Spitzenverband der deutschen Milchindustrie

- Er vertritt rund 100 Unternehmen.
- 95 % der deutschen Milchanlieferung oder 29,6 Mio. t Milch und 100 % des Exportvolumens werden von MIV-Mitgliedern erbracht.
- Mit rund 25 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

Weihenstephan
Ein himmlischer
Genuss
Weihenstephan
Frische
Milch
3,5 % Fett
länger haltbar
Weihenstephan
Haltbare
Milch
1,5 % Fett
Mach den Geschmacks-Test!
Unser einzigartig frischer Geschmack!
Durch 80 % weniger Hitzebelastung
Erleben Sie unseren einzigartig frischen Geschmack!
Machen Sie keine Kompromisse! Denn bei Weihenstephan ist Frischer Geschmack trotz langer Haltbarkeit kein Widerspruch mehr.
Durch unsere besonders qualitätsschonende Erwärmung können wir die Hitzebelastung gegenüber herkömmlichen Verfahren um 80 % reduzieren! Dadurch bleibt bei unverändertem Haltbarkeit der natürliche Geschmack der Milch nahezu erhalten. Ein Unterschied, den man merkt!
Überzeugen Sie sich selbst und machen Sie den Geschmackstest.
www.molkerei-weihenstephan.de

Es ist schwer für eine Familie,
wenn ihr Großer das Haus
verlässt.
Wir erleben das
jeden Tag.
FAMILIENGEFÜHRT
Baues
SEIT 1887
Unser Familienversprechen
✓ tagesfrische Milch
✓ ohne Konservierungsstoffe
✓ ohne Gelatine
Garantiert die Familie Baues
Die Privatmolkerei
Bauer
DER
GROSSE
BAUER®
Erdbeere
250g

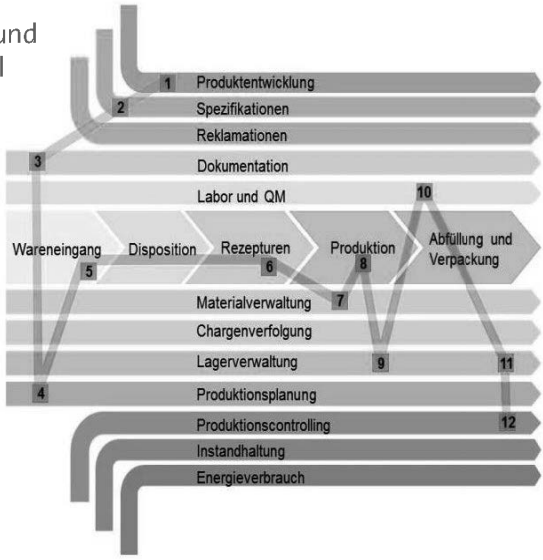
Ohne Gentechnik
GOLDSTEIG
www.goldsteig.de
Käsespezialitäten
aus Bayern
GOLDSTEIG
Mozzarella
Classic
125g
Bambini
Mozzarella
Classic
GOLDSTEIG
Der Milde aus Bayern
Almdammer
hauchdünn
hauchdünne Scheiben
GOLDSTEIG
Der nussig Feine aus Bayern
Emmentaler
hauchdünn
hauchdünne Scheiben
Natürlich aus
Bauernhand

GQM Software Organisation Managementsysteme

Die Welt der Produktionsdatenverarbeitung ist sehr komplex, oftmals komplexer als die Welt der ERP-Systeme. Das resultiert daraus, dass, gerade in der Produktion, jedes Unternehmen spezielle Informationsstrukturen besitzt, die sehr individuell gestaltet sind. Die permanente Aufgabe der GQM ist es seit jeher Standards aus einer Vielzahl von Anwendungen herauszubilden, die zum einen für den Anwender erprobte Grundstrukturen zur Verfügung stellen und zum anderen doch optimale Flexibilität gewährleisten können. Diese Herausforderung für die GQM immer wieder aufs Neue zu bestehen, kann nur unter Anwendung exzellenter Branchenkenntnisse funktionieren. Ziele dabei sind:

■ Permanente Information zur Erschließung von Verbesserungspotentialen ■ Identifikation und Eliminierung von Verschwendungen und Mängeln ■ Aktuellste Informationen zur unmittelbaren Produktionsdurchführung mit Ressourcenverfügbarkeiten incl. Qualitätsanforderungen und Zusatzdokumenten ■ Erfüllung von Kundenanforderungen für Liefertermine incl. Auftragsfortschritts- und Lagerbestandsüberwachung ■ Hohes Maß an Flexibilität für kurze Reaktionszeiten und Beherrschung von Störungen ■ Organisationshilfe für die Planungsdurchführung ■ Voraussetzung für einen hohen Automatisierungs- und damit Rationalisierungsgrad ■ Mehr Sicherheit zur Erfüllung der Produkthaftungsvorschriften

GQM Module und Prozessbeispiel



Auf dieser Grundlage entstanden die in einem Prozessbeispiel oben abgebildeten bewährten *QUALIFAX®* Module, die permanent weiterentwickelt werden. Alle Erkenntnisse fließen auch in die dot.net basierten *GQM MES* Module (MES = Manufacturing Execution System) mit erweiterten Möglichkeiten ein. Diese sind auch in Kombination mit den *QUALIFAX®* Modulen einsetzbar. Daneben sind Migrationen oder komplette *GQM MES* (Modul)Applikationen möglich.

GQM mbH
GQM System und Service GmbH
Innere Münchener Str. 10
84036 Landshut

Tel.: 0871/924 00-0
Fax: 0871/ 924 00-11
info@gqm.de
www.GQM.de

DE BY 77723 EG:
Das markenübergreifende Zeichen
für beste Milchprodukte
Die Molkerei Gropper ist Full-Service-Dienstleister des
Handels und Spezialist für die Herstellung von Eigenmarken.
Erfahren Sie mehr dazu unter www.gropper.de
DE
BY 77723
EG
Molkerei Gropper GmbH & Co.KG
Am Mühlberg 2
86657 Bissingen
www.gropper.de
/molkerei.gropper
GROPPER
QUALITÄT & IDEEN SEIT 1929

Sie wollen Textur und Geschmack verbessern, Ausbeute und Lebensmittelsicherheit erhöhen oder Ihre Prozesswirkungsgrade optimieren? Dank unseres fundierten wissenschaftlichen und anwendungstechnischen Knowhows sind wir in der Lage, eines der umfassendsten Portfolios an Zusatzstoffen für die Milch- und Molkereiindustrie, die derzeit auf dem Markt sind, anzubieten.

In Zusammenarbeit mit Ihnen trägt unser globales Expertenteam dazu bei, die vom Verbraucher gewünschten gesunden, natürlichen und verführerischen Milchprodukte bereitzustellen. Wie unsere innovativen Lösungen für Milchprodukte Ihnen den Weg ebnen können, erfahren Sie bei: **www.dsm.com/food**.

HEALTH · NUTRITION · MATERIALS

DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

ROUGETTE®
Grill-Käse
• Cremig-mild
• Kräuter
• Chili
GRILLSTART
ab April 2015
ROUGETTE -
eröffnet die Grillsaison!
NEU
ROUGETTE
Grill-Käse
Chili
ROUGETTE – mehr kann man aus Käse nicht machen!
Käserei Champignon
KÄSEREI CHAMPIGNON
Hofmeister GmbH & Co. KG • Kemptener Straße 17-24 • D-87493 Lauben / Allgäu
Telefon: +49 / 83 74 / 92-0 • Telefax: +49 / 83 74 / 92-169 • info@champignon.de • www.champignon.de

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

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG

Unser Fach- und Kundenzeitschriften begleiten den gesamteten Weg der Milch: von der Verarbeitung über die Vermarktung, an den POS und direkt bis zum Verbraucher.

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG • Zehnerstr. 22b • 53498 Bad Breisig • Postfach 1363
T: 0 26 33/45 40-0 • F: 0 26 33/45 40 99 • info@moproweb.de • www.moproweb.de

d | m | z
druckmedienzentrum

Druckmedienzentrum Gotha GmbH
Verkaufsbüro Süd – Jürgen Eitner
Am Mühlbachbogen 4 a · 85368 Moosburg · Tel. (0 87 61) 7 29 78 78
www.druckmedienzentrum.de · E-Mail j.eitner@druckmedienzentrum.de