TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München

Jahresbericht 2009

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten
am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2009
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 2009 bis 31. Dezember 2009

52. Band 2009
Weihenstephan, März 2010

Herausgeber und verantwortlich für den Inhalt:

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

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

Bestellungen und Tauschsendungen werden ausschließlich an folgende Adresse erbeten:

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

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

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

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

Inhaltsverzeichnis

Seite

Vorwort 1

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie 2
Personal 2
Ernennungen, Ehrungen 3
Forschung 4
I. Laktationsphysiologie 4
II. Reproduktionsphysiologie 6
III. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt 11
IV. Wachstumsphysiologie, myotrope Therapeutika und Anabolika 15
V. Wildtierbiologie 18
Dissertationen, Diplomarbeiten, Master- und Bachelorarbeiten 19
Vorträge 20
Tagungen des Lehrstuhls 26
Veröffentlichungen 30

Versuchsstation Veitshof 36
Personal 36
Lehre 37
Forschung 37

ZIEL – Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft 39
Personal 39
Forschung 40
Dissertationen, Master Thesis 50
Lehre 51
Vorträge 51
Medienarbeit 52
Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen 53
Veröffentlichungen 53

Seite

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung 55
Personal 55
Forschung 55
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 57
Veröffentlichungen 58

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie 60
Personal 60
Einführung 61
Forschung 62
Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten 62
Arbeitsgruppe: Anpassungen von *Listeria monocytogenes* an abiotische Umweltfaktoren 69
Arbeitsgruppe: Bacillus 72
Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln 79
Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen 85
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 91
Veröffentlichungen 93

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie 94
Personal 94
Vorwort 95
Auszeichnungen 96
Forschung 96
Arbeitsgruppe: Bioprozesstechnik / Aseptik 96
Arbeitsgruppe: Proteintechnologie / Membrantrenntechnik 110
Arbeitsgruppe: Rheologie und Mikrostruktur 123
ZIEL-Nachwuchsforschergruppe „Bioaktive Peptide und Proteintechnologie“ 129
Dissertationen, Diplom- und Masterarbeiten 136
Semesterarbeiten und Bachelorarbeiten 137
Vorträge 138
Posterpräsentationen 143
Veröffentlichungen 148

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung – IVV 150
Personal 150
Forschung 150

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 156
Verbandsinformation 156
Geförderte Exkursionen 156
Ehrungen 157
Verleihungsrichtlinien zum Preis für Diplomarbeiten 158

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 159
Vorstand 159
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 159
Beitragsordnung 161
Informationstransfer – Mitgliederinformation 162

Technischer Teil 164

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.

Sie können als Unternehmen die Forschung in milchwissenschaftlichen Themen unterstützen, indem Sie Mitglieder der „Vereinigung zur Förderung der milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM e.V.“ werden. Diese Fördervereinigung unterstützt und fördert die Forschung in Weihenstephan ohne Zweifel sehr wirkungsvoll und stellt deren Praxisrelevanz sicher. Nähere Informationen finden Sie auf Seite 160 dieses Jahresberichts.

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising-Weihenstephan

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

Personal

Leitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H.D. Meyer	71-3508
Wissenschaftler:	PD Dr. agr. Bajram Berisha	-3510
	Dr. vet. med. Heike Kliem	08161 986 8442
	Dr. rer. nat. Vijay Paul (bis 31.03.2009)	3994
	PD Dr. agr. Michael W. Pfaffl	-3511
	Dr. rer. nat. Irmgard Riedmaier	5520
	Prof. Dr. vet. med. Dieter Schams, a.D.	-3509
	Dr. rer nat. Ales Tichopad	-3508
	Dr. rer. nat. Susanne E. Ulbrich	-4429
	Dr. vet. med. Stefanie Schilffarth	08161 986 8442
	Dr. vet. med. Steffi Wiedemann	08161 986 8470
	Dr. med. Enrique Viturro del Rio	08161 984 9998
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Renate Schöpf	-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Inge Celler, TA	-5559
	Brigitte Dötterböck, TA	-5544
	Stefanie Dommel, TA	-4422
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	-4422
	Angela Sachsenhauser, TA	-5559
	Waltraud Schmid, TA	-5544
	Anett Schröder, TA (bis 13.09.2009)	-4421
Gäste:	Dr. Tsuyoshi Abe, Molecular Genetics Division, Department of Technology, National Livestock Breeding Center (NLBC), Fukushima, Japan: seit 15.10.2009	

Dr. Ajay K. Dang, DCP Division, National Dairy Research Institute, Karnal, Indien: 14.10. - 12.11.2009
Prof. Dr. Anila Hoda, Department of Animal Production, Agricultural University of Tirana, Albanien: 25.05. - 31.05.2009
Prof. Dr. Ragip Kastrati, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Kosovo: 27.05. - 03.06.2009
Madoka Kawamura, Higashi ward, Fukuoka, Japan: 31.07. - 29.09.2009
Dr. Mihir Sarkar, Senior Scientist, Physiology & Climatology Division, Indian Veterinary Institute, Izathagar, Bareilly, Indien: 15.03.-14.09.2009
Prof. Dr. Valdete Vorpsi, Department of Plant Production, Agricultural University of Tirana, Albanien: 25.05.-31.05.2009

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Diplom-Agrar-Ingenieure: Katrin Danowski (seit 01.08.2008); Gregor Schlamberger (seit 1.06.2006); Tanja Sigl (seit 01.10.2008)
M.Sc. Agrarwissenschaft: Diana Sorg (seit 01.04.2009)
Tierärzte: Katy Arz (seit 01.05.2006); Katharina Dolle (seit 01.04.2009); Ursula Köhler (seit 01.05.2008); Stefanie Schilffarth (bis 28.02.2009); Sonja Spiegler (seit 01.09.2007)
Diplom-Biologen: Anna Gröbner (seit 01.08.2007); Helga Gruber (seit 01.02.2008); Patrick Gürtler (bis 30.11.2009); Irmgard Riedmaier (bis 30.07.2009); Jakob Müller (seit 16.01.2008)
Ernährungswissenschaft: Christiane Becker (seit 01.06.2007)
Master Chemie-Ingenieur: Andréa Hammerle-Fickinger (seit 01.09.2006)
M.Sc. Molekular-Biotechnologie: Rainer Fürst (seit 01.06.2007); Sabine Masanetz (seit 01.10.2006); Swanhild Urde Meyer (seit 01.02.2008); Michael Wierer (seit 01.09.2006)

Ehrungen, Ernennungen

Im Rahmen des 9. Hochschultages des Wissenschaftszentrums Weihenstephan wurde Frau Stefanie Schilffarth am 26. Juni 2009 für ihre herausragende Doktorarbeit der Schönleutner-Preis verliehen.

Die Studentin der Molekularen Biotechnologie Frau Angelika Krömer konnte für ihre an unserem Lehrstuhl angefertigte überragende Bachelorarbeit einen Preis der Studienfakultät Brau- und Lebensmitteltechnologie in Empfang nehmen.

Herr Prof. Meyer hat mit Wirkung vom 01. Juli 2009 von der Bayerischen Landestierärztekammer die Berechtigung zur Fortbildung von Fachtierärzten im Gebiet „Physiologie“ erhalten.

Das Bayerische Staatsministerium der Justiz und für Verbraucherschutz hat Herrn Prof. Meyer ab Juli 2009 in die Unabhängige Verbraucherkommission Bayerns berufen.

Herr PD Dr. Bajram Berisha wurde im September 2009 zum Professor und Vize-Rektor an der Universität Prishtina, Kosovo, berufen.

Seminar Tierwissenschaft

Endokrinologisch-molekularbiologisches Kolloquium

Folgende Vorträge wurden von Gastreferenten übernommen:

04.02.2009: „Steigende Laktationsleistungen: ein Problem für Milchqualität und Tiergesundheit?“
Referent: Prof. Dr. Martin Kaske, Klinik für Rinder, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

15.06.2009: „Strategies to optimise reproductive efficiency in Yaks”
Referent: Dr. Mihir Sarkar, Physiology & Climatology Division, Indian Veterinary Research Institute, Bareilly, Uttar Pradesh, Indien

15.07.2009: „Endocrinology of Yak Reproduction”
Referent: Dr. Mihir Sarkar, Physiology & Climatology Division, Indian Veterinary Research Institute, Bareilly, Uttar Pradesh, Indien

26.10.2009: „Biopsychological interactions in autoimmune models of CNS inflammation”
Referent: Dipl.-Psych. Patrick Vollmar, Lehrstuhl für Neurologie, Technische Universität München, Klinikum rechts der Isar, München

30.11.2009: „Untersuchung der Wirkung immunsuppressiver Substanzen auf die Genexpression von beta-Zellen”
Referent: Nikolaus Schantz, Zentralinstitut für Medizintechnik der TUM, IMETUM, Garching

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Cholesterolsynthese in der laktierenden Kuh: Induzierte Expression von Kandidatengenen

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

Viturro, E.; Koenning, M.; Kroemer, A.; Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Kaske, M.; Meyer, H.H.D.: Biochemistry and Molecular Biology 115 (2009) 62-67

Trotz umfangreichen Wissens bei anderen Tierarten sind die Mechanismen vom Cholesterinstoffwechsel im Wiederkäuer noch unklar. Große Unterschiede in der Milch-

cholesterin-Konzentration zwischen Rassen, Management Strategien, Individuen und Zeitpunkt der Laktationzyklus sind bekannt, aber die genetischen Akteure in diesem Prozess wurden nicht identifiziert. Da Wiederkäuer kein Cholesterin mit ihrer Nahrung erhalten, ist das Verständnis der Mechanismen der Syntheseregulation und des Transports in die Milch entscheidend, um die Höhe dieses Metaboliten in Milchprodukten zu reduzieren. Ziel unserer Arbeit ist die Expression von Kandidatengenen für diese Prozesse in der Leber vom *Bos taurus* während des laktierenden Zyklus zu erforschen. Leberbioptate wurden von 16 erwachsenen Brown Swiss Kühen zu verschiedenen Zeitpunkten gewonnen (2 Wochen vor sowie 0, 2, 4 und 8 Wochen nach der Kalbung). Nach RNA-Extraktion und Reverse Transkription wurde die Genexpression von Kandidatengenen mittels quantitativer PCR untersucht. Schlüsselenzyme der Cholesterin-Synthese (3-Hydroxy-methyglutaryl-Coenzym-A (HMG-CoA)-Synthase, HMG-CoA-Reduktase und Farnesyldiphosphat-Farnesyltransferase (FDFT)) und Genexpressionregulatoren (Sterol regulatory element bindende Proteine (SREBP1and 2) SREBP-Spaltung aktivierendes Protein (SCAP)) wurden als Kandidaten-Gene ausgewählt.

Die Expression von HMG-CoA-Reduktase und FDFT war bis Woche 2 nach der Kalbung stark erhöht ($p < 0{,}01$); vermutlich als Reaktion auf die neuen Anforderungen in der Milchdrüse. Ein möglicher Grund für diese Änderungen ist eine Erhöhung der SREBP1- und SCAP-Expression ($p < 0{,}01$ und $p < 0{,}05$). Die ganzen Syntheserouten zeigten eine koordinierte Regulation. Es wurden hoch signifikante positive Korrelationen zwischen der Expression von den oben genannten Enzymen gefunden ($p < 0{,}01$). Der Anstieg des Milch- und Cholesterinspiegels im Blut in *Bos taurus* nach der Geburt könnte das Ergebnis einer koordinierten Induktion der Expression wichtigster Leberenzyme sein.

Analyse der Schlüsselmoleküle des angeborenen Immunsystems in Milchdrüsenepithelzellen isoliert von Markern assistierter und konventionell selektierten Kühen

Analysis of key molecules of the innate immune system in mammary epithelial cells isolated from marker-assisted and conventionally selected cattle

Griesbeck-Zilch, B.; Osman, M.[1]; Kühn, Ch.[2]; Schwerin, M.[2]; Bruckmaier R.H.[3]; Pfaffl, M.W.; Hammerle-Fickinger, A.; Meyer, H.H.D.; Wellnitz, O.[3]: Journal of Dairy Science 92 (2009) 4621-4633

Mastitis ist die häufigste Infektionserkrankung in Milchviehherden, und es wurde mehrfach versucht mit Hilfe von Zuchtprogrammen die Mastitisrate zu reduzieren. In den vergangenen Dekaden basierte die Selektion insbesondere auf phenotypischen Charakteristika, wie die Zahl somatischer Zellzahlen. Seit kurzem wird versucht auf der Basis von Mastitis assoziierten QTL (quantitative trade loci) zu selektieren. In unserer Studie sollte untersucht werden, inwieweit der auf Chromosom 18 des Rindes gefundene QTL die Genetik der Eutergesundheit beeinflusst. Primäre Zellkulturen aus Milchdrüsengewebe von Färsen, die auf hohe und niedrige Mastitissuszeptibilität selektiert worden waren, wurden etabliert. Die Selektion basierte auf einer Zuchtwerteinschätzung auf Basis des QTL.

---

[1] Lehrstuhl für Tierzucht, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

[2] Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf

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

Die mRNA Analyse von 10 Schlüsselmolekülen des angeborenen Immunsystems wurde mit Hilfe der quantitativen RT-PCR nach Pathogenzugabe (*E. coli* und *S. aureus*) untersucht. In der Marker assistierten Selektionsgruppe war die mRNA Expression für den toll-like Rezeptor 2, für RANTES, für 4 weitere Cytokine, sowie für Lactoferrin erhöht.

Diese Ergebnisse geben einen ersten Hinweis auf eine genetische Grundlage bei der Pathogenabwehr in der Milchdrüse. Sie geben Hoffnung, dass der gefundene QTL eine Grundlage für die Züchtung mastitisunanfälliger Kühe ist.

Bestimmung von Oxytocin in der Milch von Kühen nach Oxytocinapplikation
Determination of oxytocin in milk of cows administered oxytocin
Prakash, B.S.[4]; Paul V.; Kliem, H.; Kulozik, U.[5]; Meyer, H.H.D.: Analytica Chimica Acta 636 (2009) 111-115

In der Studie wurde überprüft, ob Oxytocin, das in der Praxis zur Induktion der Milchejektion appliziert wird, in die Milch transferiert wird. Dazu wurde ein hoch sensitiver Enzym-Immuno-Assay (EIA) für die Bestimmung des Oxytocin im ppt-Bereich in Milch entwickelt und nach den aktuell gültigen EU-Kriterien (2002/657/EC) validiert. Von 38 Tieren wurden nach der Gabe von 25 oder 50 IU Oxytocin Milchproben gesammelt. Bei beiden Gruppen wurde kein signifikanter Anstieg des Oxytocin in der Milch aus dem aktuellen und den folgenden Gemelken gefunden. Schlussfolgernd ergibt sich, dass keine relevanten Oxytocinmengen in die Milch transferiert werden.

II. Reproduktionsphysiologie

Differenzierungsvorgänge des Endometriums während des Zyklus ermöglichen die Bereitstellung eines geeigneten Milieus für die Etablierung der Gravidität. Verantwortlich hierfür sind endokrin und parakrin kontrollierte Vorgänge, die das uterine Milieu während der Gelbkörperphase regulieren. Die systematische Erfassung von Wechselwirkungen zwischen frühen Embryonalstadien und ihrer mütterlichen Umgebung zeigen an, dass embryonale Signale selbst eine zeitliche und räumliche Abfolge von Ereignissen im Uterus initiieren und damit zur erfolgreichen Fertilisierung, Embryonalentwicklung und Implantation beitragen. Für die Untersuchungen wurde die Gebärmutter zyklussynchronisierter Tiere vom Zyklus- bzw. Trächtigkeitstag 12, 15 und 18 vor der Eröffnung und der Probenahme des Endometriums gespült, um die uterine Milch zu gewinnen.

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

[5] Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

Hinweise für eine östrogen-abhängige Expression von uterinem Serpin (SERPINA14) während der Brunst im bovinen endometrialen Drüsenepithel und dem Lumen der Gebärmutter

Evidence for estrogen-dependent uterine serpin (SERPINA14) expression during estrus in the bovine endometrial glandular epithelium and lumen

Ulbrich, S.E.; Frohlich, T.[6]; Schulke, K.; Englberger, E.; Waldschmitt, N.; Arnold, G.J.[6]; Reichenbach, H.-D.[7]; Reichenbach, M.[8]; Wolf, E.[6,8]; Meyer, H.H.D.; Bauersachs, S.[6,8]: Biology of Reproduction 81 (2009) 795-805

Das zeitlich und lokal differenzierte Auftreten des uterinen Serpins A14 (uterines Milchprotein) stand im Mittelpunkt der Analyse eines prominenten sekretorischen Proteins des Endometriums, welches bislang bei Wiederkäuern nur im Zusammenhang mit der späten Trächtigkeit beschrieben wurde und in initialen Transkriptomuntersuchungen aufgefallen war. Es konnte auf mRNA und Proteinebene mittels eines eigenen AK überzeugend dargestellt werden, dass SERPINA14 insbesondere Estradiol-17β-abhängig während des Östrus sowohl in den glandulären Drüsen des Endometriums als auch der uterinen Spülflüssigkeit bzw. des Brunstschleims vorkommt. Eine primäre endometriale Zell-Kokultur von glandulären epithelianen und stromalen Zellen wurde zusätzlich erstellt, um den Nachweis der von Steroiden abhängigen SERPINA14 Genexpression zu führen. Damit ist eine Interaktion von SERPINA14 mit den frühen Gameten wahrscheinlich.

Quantitative Charakterisierung der Proastaglandine in der Gebärmutter früh-trächtiger Rinder

Quantitative characterization of prostaglandins in the uterus of early pregnant cattle

Ulbrich, S.E.; Schulke, K.; Groebner, A.E.; Reichenbach, H.D.[7]; Angioni, C.[9]; Geisslinger, G.[9]; Meyer, H.H.D.: Reproduction 138 (2009) 371-382

Prostaglandine werden vom Endometrium bei Ausbleiben einer Trächtigkeit sezerniert, damit der zyklische Gelbkörper abgebaut und ein neuer Zyklus initiiert werden kann. Da luteolytisch wirksam, gilt $PGF_{2\alpha}$ während der frühen Trächtigkeit in diesem Zusammenhang als äußerst bedenklich. Unsere durchgeführte Analyse der uterinen Spülflüssigkeiten mittels LC/MS-MS zeigte, dass nicht nur während des Zyklus das luminale Milieu von 6-keto $PGF_{1\alpha}$ (stabler Metabolit von PGI_2) und $PGF_{2\alpha}$ dominiert wird, sondern dass zwischen den Tagen 12 und 15 während der Trächtigkeit ein besonders großer Anstieg an 6-keto $PGF_{1\alpha} > PGF_{2\alpha} > PGE_2 > PGD_2 \approx TXB_2$ stattfindet. Gleichsam ändert sich das Verhältnis von PGF_{2a} zu PGE_2 im uterinen Lumen während der frühen Trächtigkeit zugunsten von PGE_2 nicht, obgleich man bislang nur PGE2 eine embryotrophe Wirkung zugeschrieben hat. Dies ist deshalb von besonderer Bedeutung, da nun angenommen werden kann, dass PGF_{2a} für den Embryo nicht schädlich, sondern möglicherweise nützlicher ist als bisher geglaubt. Es bleibt zu überprüfen, ob embryonale Prostaglandine nicht auch eine Rolle bei der initialen embryonalen Erkennung durch die Mutter spielen.

---

6 Laboratory for Functional Genome Analysis, Gene Center, Ludwig-Maximilians-Universität München

7 Institut für Tierzucht, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing

8 Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum, Ludwig-Maximilians-Universität München

9 Institut für Klinische Pharmakologie/ZAFES, Johann Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt

Das Endometrium reagiert unterschiedlich auf klonierte gegenüber *in vitro* fertilisierten Embryonen

The endometrium responds differently to cloned versus fertilized embryos

Bauersachs, S.[6,8]; Ulbrich, S.E.; Zakhartchenko, V.[8]; Minten, M.[10]; Reichenbach, M.[8]; Reichenbach, H.-D.[7]; Blum, H.[11]; Spencer, T.E.[10]; Wolf, E.[6,8]: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106 (2009) 5681-5686

Untersuchungen am Tiermodell Rind konnten zeigen, dass eine modifizierte Modulation der Gen- und Proteinexpression des Endometriums bei Anwesenheit eines Embryos erfolgt, wenn anstelle von Embryonen aus *in vitro* Fertilisation somatische Kerntransferembryonen übertragen werden, von denen bekannt ist, dass gehäuft nach der Implantation Plazentationsanomalien mit negativen Auswirkungen auf die spätere Fötusentwicklung auftreten. Bereits in der frühen Gravidität finden also embryo-maternale Interaktionen statt, die sowohl für die frühe embryonale Entwicklung selbst als auch für den späteren Schwangerschaftsverlauf von Bedeutung sein können. Durch seine hohe Adaptionsfähigkeit zeigt das Endometrium bereits vor der Implantation die physiologische bzw. pathologische Entwicklung des Embryos an.

Regulatorische Veränderung von apoptotischen Faktoren im bovinen Corpus Luteum nach induzierter Luteolyse

Regulatory changes of apoptotic factors in the bovine corpus luteum after induced luteolysis

Kliem, H.; Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Molecular Reproduction & Development 76 (2009) 220-230

Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob und wann es bei der Luteolyse des bovinen Corpus Luteum (CL) zur Apoptose der Luteal- und Endothelzellen kommt. Hierfür wurde die mRNA Expression von verschiedenen Faktoren des extrinsischen und intrinsischen apoptotischen Weges sowie der Caspasen-3, -6, -7, Monozyten chemoattraktive Protein-1 (MCP-1) und Interferone gamma (IFNγ) untersucht. Die Luteolyse wurde durch die Gabe von 500µg Cloprostenol während der Midlutealphase induziert. Die CLs wurden 0.5, 2, 4, 12, 24, 48 und 64 h nach PGF2α Gabe durch transvaginale Ovarektomie entnommen. CL am Zyklustag 8-12 vom Schlachthof wurden als Kontrolle genutzt. Die mRNA Expression wurde mittels real-time RT-PCR gemessen. Außerdem wurden mit Western Blot und ELISA die Poly-(ADP-ribose)-Polymerase (PARP-1), IFNγ und Tumor Nekrosis Fraktor alpha (TNFα) untersucht. Es zeigte sich, dass die mRNA Expression von MCP-1, IFNγ und der meisten Faktoren des extrinsischen Weges signifikant zwischen 0.5 und 2 h aufreguliert waren. Die Expressionen der Faktoren des intrinsischen Weges waren erst später zwischen 24 und 48 h signifikant erhöht. Die Caspasen-6 und -3 zeigten einen signifikanten Anstieg nach 2 und 12 h, während die Caspase-7 erst nach 24 h signifikant aufreguliert war. Die Proteinmenge von TNFα erreichte ein signifikantes Maximum nach 12 h. Zu der Zeit konnte auch ein 89kD Fragment von PARP-1 nachgewiesen werden, das spezifisch für apoptotische Vorgänge ist.

---

[10] Department of Animal Science, Texas A & M University, College Station, TX, USA

[11] Laboratorium für molekulare Biologie, Genzentrum, Ludwig-Maximilians-Universität München

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der extrinsische Weg für den Beginn der Luteolyse wichtiger ist als der intrinsische Weg, da es zu einem früheren Zeitpunkt zu einer höheren Aufregulierung der extrinsischen Faktoren kommt.

Expression und Lokalisation der Gap Junction Connexine 26 und 43 in bovinen periovulativen Follikeln und im Corpus luteum während verschiedener funktionaler Stadien während Brunstzyklus und Gravidität

Expression and localization of gap junctional connexins 26 and 43 in bovine periovulatory follicles and in corpus luteum during different functional stages of oestrous cycle and pregnancy

Berisha, B.; Bridger, P.[12]; Toth, A.; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.; Pfarrer, C.[13]: Reproduction in Domestic Animals 44 (2009) 295-302

Das Ziel dieser Arbeit war es die Regulation der Connexine (Cx26 und Cx43) im bovinen Ovar zu charakterisieren. Experiment 1: Ovarien mit präovulatorischen Follikeln oder Corpora lutea (CL) wurden 0, 4, 10, 20, 25 h (Follikel) und 60 h (CL) nach Injektion von GnRH gesammelt. Experiment 2: CL wurden in folgende Stadien eingeteilt: Tage 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-16, >18 (nach Regression) des Brunstzyklus und in frühe und späte Trächtigkeit (<4 and >4 Monate). Experiment 3: induzierte Luteolyse. Den Kühen wurde an den Zyklustagen 8-12 ein PGF2α Analog (Cloprostenol) injiziert und die CL mittels transvaginaler Ovariektomie vor und nach 0,5, 2, 4, 12, 24, 48 und 64 h nach PGF2α entnommen. Um die mRNA Expression zu bestimmen wurde real-time RT-PCR verwendet und um die Proteinlokalisation festzustellen Immunfluoreszenz.

Die erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, dass Cx26 und Cx43 an den lokalen zellulären Mechanismen involviert sind. Sie sind am Gewebeumbau während der kritischen Zeit um die Ovulation sowie an der CL-Bildung (Angiogenese), -Funktion und -Regression beteiligt.

Wachstumsfaktoren in porcinen antralen Follikeln während der Endreifung

Expression and possible role of fibroblast growth factor family members in porcine antral follicles during final maturation

Schams, D; Steinberg, V.; Steffl, M.[14]; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Reproduction 138 (2009) 141-149

Das Ziel dieser Arbeit war die mögliche Beteilung von Mitgliedern der Fibroblasten Wachstumsfaktoren Familie (FGF1, FGF2 and FGF7 und ihre Rezeptoren) in porcinen Follikeln unter besonderer Berücksichtigung von FGF2 während des finalen Wachstums zu untersuchen. Die Klassifizierung der Follikel erfolgte anhand Größe und Gehalt an Östradiol-17β, Progesteron und PGF2α in der Follikelflüssigkeit. Die mRNA Expression wurde mittels RT-PCR, die Hormonkonzentrationen mittels ELISA und die Proteincharakterisierung und -Lokalisierung mittels Western Blot und Immunhistochemie ermittelt. Follikelgewebe, aufgeteilt in Theka interna und Granulosazellen, wurde extrahiert und auf die mRNA von FGF1, FGF2, FGF7 und die Rezeptoren FGFR1IIIc, FGFRIIIb and FGFR2IIIc hin untersucht. Zusätzlich wurde die Expression von FSHR, LHR und Aromatase Cytochrome P450 analysiert, um die Follikel weiter zu charakterisieren.

---

12 Institut für Hygiene and Infektionskrankheiten der Tiere, Justus-Liebig-Universität Giessen

13 Department of Anatomy, Veterinary University Hannover

14 Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie, Universität Hohenheim, Stuttgart

Zusammenfassend deuten die Ergebnisse darauf hin, dass FGF2 im porcinen Ovar aufgrund seiner Lokalisation und Konzentration im Stroma für die Angiogense weiterer Follikel wichtig sein könnte (polyovulatorische Spezies) und nicht für die eines einzelnen Follikels wie bei Kühen.

Biochemie des Ovars unter besonderer Berücksichtigung der Angiogenese
Biochemistry of the ovary under special consideration of angiogenesis
Schams D.; Berisha, B.: Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology (Sonderheft 1) 6 (2009) 32-34

Der ovarielle Zyklus ist charakterisiert durch sich wiederholende regulatorische Vorgänge der Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Transformation während der Follikelendreifung, Ovulation, Gelbkörper-Anbildung, -Funktion und -Regression. Die Angiogenese (Entwicklung von neuen Kapillaren aus bereits bestehenden durch Endothelzellen-Proliferation und -Migration) spielt hierbei eine zentrale Rolle. Die Angiogenese bedarf der integrierten komplexen Regulation von proteolytischen Enzymen (Auflösung von Basalmembranen), extrazellulären Matrixkomponeten (Fibronectin, Laminin u. a.) sowie der Regulation von angiogenen Stimulatoren (Wachstumsfaktoren) und Inhibitoren. Für die Regulation sind der Vasoendothel Wachstumsfaktor (VEGF A) sowie der Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2 besonders wichtig. Angiopoietin 1 und 2 stabilisieren bzw. destabilisieren die Kapillaren. Die genaue Kenntnis der physiologischen Angiogeneseregulation ist essenzielle Voraussetzung für die Behandlung ovarieller Dysfunktionen und Tumorentwicklungen.

Die Expression von Apelin und seines Rezeptors APJ während verschiedener physiologischer Stadien des bovinen Ovars
The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary
Schilffarth, S.; Antoni, B.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: International Journal of Biological Sciences 5 (2009) 344-350

Neueste Studien deuten darauf hin, dass Apelin und sein Rezeptor APJ eine wichtige Rolle bei der Modulation der Angiogenese spielen könnten. Das Ziel dieser Arbeit war es daher die Regulation des Apelin/APJ Systems im bovinen Ovar näher zu charakterisieren. Experiment 1: Corpora lutea (CL) wurden in folgende Stadien eingeteilt: Tage 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-16, >18 (nach Regression) des Brunstzyklus und Monate <3, 3-5, 6-7 und >8 der Trächtigkeit. Experiment 2: Follikel während der Endreifung wurden in Granulosazellen (GC) und Theka interna (TI) aufgeteilt und getrennt von einander untersucht. Ihre Klassifizierung erfolgte nach Follikelgröße und Gehalt an Östradiol-17β (E2) in der Follikelflüssigkeit (FF) (<0,5 ng/ml, 0,5-5 ng/ml; 5-40 ng/ml; 40-180 ng/ml; >180 ng/ml). Es wurde die qRT-PCR angewendet, um die mRNA Expression der untersuchten Faktoren zu bestimmen.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass das Apelin/APJ System in die Mechanismen, die die Angiogenese während der Follikelendreifung und der CL-Anbildung und -Funktion beim Rind erzeugt, involviert sein könnte.

III. Lebensmittel, Ernährung, Umwelt

Futtermittelzusätze

Die immun-modulatorische Wirkung von Lactulose und *Enterococcus faecium* auf die Darmgesundheit in Kälbern

The immunomodulatory effect of lactulose on Enterococcus faecium fed preruminant calves

Fleige, S.; Preißinger, W.[15]; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: Journal of Animal Science 87 (2009) 1731-1738

Durch die Fütterung kann die Kompetenz des Immunsystems beeinflusst und somit auch die Pathogenese von Erkrankungen erheblich moduliert werden. Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen die synbiotische und darmstabilisierende Wirkung von Lactulose und *Enterococcus faecium* in verschiedenen immunrelevanten Geweben im Kälberdarm.

Die Verabreichung von Lactulose hat als vorrangiges Ziel die Wachstumsförderung der probiotischen Bakterien und somit die Herstellung einer gesunden Eubiose im Darm, während deren Stoffwechselprodukte den pH-Wert reduzieren und die Milieubedingungen für die proteolytische Flora negativ beeinflussen. Zahlreiche Befunde lassen vermuten, dass die durch Prebiotika geförderten Bifidobakterien die Bildung von spezifischen und unspezifischen Antikörpern sowie Zytokinen, zellulär vermittelten Immunitätsexpressionen und die Erhöhung der unspezifischen Abwehr massiv fördern. Auch Verbesserung der Leistungsparameter können durch die Fütterung von Pre- und Probiotika erzielt werden.

Um die Wirkung von Lactulose auf die genannten Parameter zu untersuchen, wurden in einem Fütterungsversuch 42 Kälber in drei homogene Gruppen zu je 14 Tiere eingeteilt. Die Kontrollgruppe (L0) wurde mit einem Milchaustauscher gefüttert, der 10^9 KBE *Enterococcus faecium* enthielt. Den Behandlungsgruppen L1 und L3 wurden zusätzlich 1% bzw. 3% TS Lactulose im Austausch gegen Milchpulver verabreicht. Es wurden das große Blutbild sowie die Populationen der Blutkörperchen untersucht. Als einziger Befund konnten signifikant mehr Lymphozyten in der L3 Gruppe gefunden werden. Im Weiteren wurden Genexpressionsanalysen der wichtigsten pro- und anti-inflammatorischen Zytokine sowie Oberflächenmarker (CD 4, CD 8, CD 25, CD 69 und CD 89) in den zirkulierenden Blutzellen mittels real-time qRT-PCR quantifiziert.

Anti-inflammatorische Zytokine wie IL-10 und TGF-β1 wurden in unterschiedlichen Darmkompartimenten erhöht exprimiert. Weiterhin wurde durch Expressionsanalysen ein Anstieg der IgA Rezeptorexpression (IgA FcR, CD 89) und die Abnahme der IFNγ Expression im Ileum männlicher Kälber der Behandlungsgruppe L3 festgestellt. Bei weiblichen Kälbern wurden die $CD4^+$ Lymphozyten im Ileum und im mesenterialen Lymphknoten runterreguliert, währenddessen die $CD8^+$ Lymphozyten im Blut aufreguliert wurden.

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

Durch diese Ergebnisse wird deutlich, dass Lactulose das Potenzial zur Immunmodulation hat. Pro- und anti-inflammatorischen Zytokine, wie IL-1β, Il-8, TNFα und TGF-β1, sowie die Lymphozyten Aktivierungsmarker CD 25 und CD 69 zeigten keine signifikanten Veränderungen zwischen den Behandlungsgruppen.

Lactulose konnte das Immunsystem modulieren und hat positive Wirkungen auf das Darmschleimhautimmunsystems. Somit kann man behaupten, Laktulose hat die Kompetenz die Darmgesundheit zu fördern. Die Wirkung wird im wesentlichen der Verschiebung der T-Zell Subpopulationen und dem transzellulären Transport von IgA mittels dem IgA FcR Rezeptor (CD 89), und weniger den Veränderungen der pro und anti-inflammatorischen Zytokinen zugeschrieben.

Auswirkung von Pinienpollenextrakten auf Ausbreitung und mRNA Expression auf ileale Zellkulturen

Effects of pine pollen extracts on the proliferation and mRNA expression of porcine ileal cell cultures

Masanetz, S.; Kaufmann, C.; Letzel, T.[16]; Pfaffl, M.W.: Journal of Applied Botany and Food Quality 83 (2009) 14-18

Pollen von *Pinus massoniana*, der chinesischen Gelbkiefer, werden in der traditionellen chinesischen Medizin schon seit Jahrhunderten zur Erhaltung der Gesundheit eingesetzt. Auch zur direkten Behandlung von Krankheiten, wie etwa chronischer Obstipation, Leberleiden oder Hauterkrankungen werden diese Pollen verwendet. Bislang existierten hauptsächlich empirische Erfahrungen über die Wirksamkeit dieses Heilmittels der chinesischen Medizin. Erst seit relativ kurzer Zeit wird auch versucht, dieser Heilwirkung in wissenschaftlichen Studien auf den Grund zu gehen. So fand man z.B., dass Pinienpollen nur wenig metabolisierbare Energie enthalten, dafür aber sehr viele unverdauliche Zellwandbestandteile. Zusätzlich wurde auch ein breites Spektrum sekundärer Pflanzenmetaboliten, wie etwa polyphenolische Substanzen, entdeckt. In Fütterungsstudien wurden typischerweise von Präbiotika bekannte Wirkungsweisen gefunden. So führten Pinienpollen z.B. zu einer vermehrten Fäzesbildung mit höherem Feuchtigkeitsanteil bei Ratten oder hatten Auswirkungen auf die täglichen Zunahmen, den pH-Wert des Darminhaltes und den Aufbau der Darmmucosa beim Ferkel. Außerdem wurden im Ferkel auch Änderungen der Expression verschiedener Gene im Zusammenhang mit Proliferation, Inflammation und der Apoptose gefunden. In Versuchen mit Pollenextrakten der zu *P. massoniana* verwandten *P. densiflora* wurden bei Ratten mildernde Auswirkungen auf das Entzündungsgeschehen nach verschiedenen Reizen gefunden. Im Zellkulturexperiment entdeckte man dabei auch starke anti-oxidative Wirkungen der Extrakte, die auf den Gehalt an Flavonoiden zurückgeführt wurden.

Diese Fakten wurden zum Anlass genommen, eigene Zellkulturexperimente mit *P. massoniana*-Pollenextrakten und einer porcinen ilealen Epithelzelllinie (IPI-21) durchzuführen, um eine mögliche Wirkung, die über die bereits beschriebene präbiotische Wirkung hinausgeht, aufzuklären. Dabei wurde eine deutliche Verringerung der Zellproliferation nach der Gabe bestimmter Pollenextrakte (Wasser-, 50% Ethanol- und 100% Ethanolextrakt) gefunden. Die Menge an Polleninhaltsstoffen entsprach dabei dem Zusatz von

[16] Lehrstuhl für Chemie der Biopolymere, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan

1% nativen Pollen zum Zellkulturmedium. Während der Genexpressionsanalyse stellte sich zudem heraus, dass die Inhaltsstoffe des 50% Ethanol-Pollenextrakts einen signifikant steigernden Einfluss auf die Expression der pro-inflammatorischen Cytokine IL6 und IL8 hatte, sowie eine senkende Wirkung auf die Expression des Proliferationsmediators Cyclin A. Extrakte, die über Hexan oder 80% Methanol gewonnen wurden, hatten keine erkennbare biologische Wirkung. Eine genauere Untersuchung der Inhaltsstoffe der einzelnen Extrakte lieferte Massensignale, die für wirksame Pollenextrakte spezifisch waren, und in den unwirksamen fehlten. Eine Identifizierung dieser Substanzen ist mit den momentan verfügbaren Mitteln jedoch leider noch nicht möglich.

Abschließend steht nun fest, dass *P. massoniana*-Pollen einen Einfluss auf das Zellwachstum und die Genexpression von intestinalen Epithelzellen haben können, die von einem präbiotischen Effekt unabhängig sind. Die genauen Ursachen dieser Wirkungen sowie die Relevanz *in vivo* müssen allerdings noch geklärt werden.

Gentechnisch veränderte Futtermittel

Entwicklung einer sensitiven und hochspezifischen quantitativen real-time PCR und eines ELISA für die Detektion eines potentiellen Transfers von rekombinanter DNA und des Cry1Ab Proteins aus dem Futter in die Milch

Sensitive and highly specific quantitative real-time PCR and ELISA for recording a potential transfer of novel DNA and Cry1Ab protein from feed into bovine milk

Guertler, P.; Paul, V.; Albrecht, C.[17]; Meyer, H.H.D.: Analytical and Bioanalytical Chemistry 393 (2009) 1629-1638

Eine hochspezifische und sensitive quantitative real-time PCR (qPCR) und ein ELISA wurden für die Kontrolle eines möglichen Übergangs von rekombinanter DNA und rekombinantem Protein in die Milch von Kühen, die mit gentechnisch verändertem Mais (MON810) gefüttert wurden, entwickelt, um den öffentlichen Bedenken bezüglich der Lebensmittelsicherheit Rechnung zu tragen. Die entwickelten Assays wurden entsprechend der EU-Richtlinie 2002/675/EC validiert. Das Detektionslimit und das Detektionsvermögen der qPCR und des ELISA lagen bei 100 Kopien der cry1Ab DNA pro µL Milch bzw. 0.4 ng Cry1Ab Protein pro mL Milch. Die Wiederfindungraten lagen bei 84,9 % (DNA) und 97% (Protein) und geringe Abweichungen (<15%) verdeutlichen die Verlässlichkeit und Genauigkeit der Messungen. Eine spezische qPCR Amplifikation und die Verwendung spezifischer Antikörper im ELISA gewährleisten eine hohe Spezifität der Assays. In 90 Milchproben von Kühen, die sechs Monate mit gentechnisch verändertem Mais (N=8) und mit nicht-gentechnisch verändertem Mais (N=7) gefüttert wurden, konnte unter Verwendung dieser Methoden weder *cry1Ab* DNA noch das Cry1Ab Protein innerhalb des Detektionsbereichs detektiert werden.

[17] Institute of Biochemistry and Molecular Medicine, University of Bern, Schweiz

Abbau der Cry1Ab Proteins aus gentechnisch verändertem Mais (MON810) im Verhältnis zum Gesamtfutterprotein in der Verdauung der Milchkuh

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

Paul, V.; Gurtler, P.; Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.: Transgenic Research, in press

Um die relative Degradierung und das Abbaumuster des rekombinanten Cry1Ab Proteins aus gentechnisch verändertem Mais (gv-Mais, MON810) innerhalb des Magen-Darm-Trakts der Milchkuh zu untersuchen, wurde eine 3-monatige Fütterungsstudie mit 36 laktierenden Fleckvieh-Kühen durchgeführt, die in zwei Gruppen à 18 Tiere eingeteilt wurden und entweder Futter mit gv-Mais oder mit konventionellem Mais erhielten. Alle Kühe erhielten eine partielle totale Mischration (pTMR). Während dieses Fütterungsversuchs wurden 8 Futterproben (vier pTMR-Proben mit gv-Mais (T) und vier pTMR-Proben mit konventionellem Mais (NT)) und 42 Kotproben (26 T und 18 NT) gezogen. Am Ende des Versuchs wurden sechs Rinder pro Gruppe geschlachtet und acht Proben des Panseninhaltes, des Labmageninhaltes, des Dünndarminhaltes, des Dickdarminhaltes und des Blinddarminhaltes genommen. Diese wurden durch die Anwendung eines spezifischen ELISA bzw. des Bicinchoninic Acid (BCA) Assay bezüglich des Cry1Ab Proteins bzw. des Gesamtproteins hin untersucht. Western Blot Analysen wurden durchgeführt, um die Unversehrtheit des Cry1Ab Proteins im Futter, im Kot und in den Inhalten des Verdauungstrakts zu untersuchen. Eine relative Abnahme von über 44% des Cry1Ab Proteins konnte in den Kotproben gegenüber den T pTMR-Proben beobachtet werden. Die Konzentrationen in den Inhalten des Magen-Darm-Trakts variierten zwischen 0,38 µg/g Gesamtprotein im Labmagen bis zu 3,84 µg/g Gesamtprotein im Pansen. Die Western Blot Analysen zeigten eine starke Degradierung des rekombinanten Cry1Ab Proteins in kleinere Fragmente von etwa 34 kDa im Gastrointestinaltrakt. Die Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass das Cry1Ab Protein aus MON810 während der Verdauung in der Milchkuh schnell in kleine Fragmente abgebaut wird.

Was passiert mit gentechnisch verändertem Mais und konventionellem Raps nach der Aufnahme durch Wildschweine?

Fate of genetically modified maize and conventional rapeseed, and endozoochory in wild boar (Sus scrofa)?

Wiedemann, S.; Lutz, B.; Albrecht, C.[17]; Kuehn, R.[18]; Killermann, B.[19]; Einspanier, R.[20]; Meyer, H.H.D.: Mammalian Biology 74 (2009) 191-197

Der in den letzten Jahren zunehmende Anbau von Mais in Deutschland stellt für Wildschweine (*Sus scrofa*) eine energiereiche Nahrungsquelle dar. Zusätzlich werden erhebliche Mengen Mais im Rahmen der Winterfütterung, der Kirrung oder der Ablenkfütterung aufgenommen. Weltweit nimmt die Anbaufläche von gentechnisch verändertem (gv) Mais und Raps stetig zu, und auch in Deutschland wurde seit 2005 bis zunächst April 2009 gv Mais landwirtschaftlich genutzt. Die gv Mais Linien produzieren das Cry1ab Protein, ein Toxin, das gegen die Maiszünsler-Larve gerichtet ist. Dies hat zu einer

---

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

[19] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

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

heftigen Diskussion über den Verbleib von gv Bestandteilen nach der Aufnahme durch Wildtiere geführt (z.B. im Fleisch), und Fragen zur möglichen Verdauungsausbreitung von keimfähigem transgenem Saatgut (Endozoochorie) aufgeworfen.

In einer Studie mit gentechnisch verändertem Mais und der nicht gentechnisch veränderten Vergleichssorte erhielten 8 Wildschweine transgenen Häcksel- und Körnermais und 6 Wildschweine isogenen Häcksel- und Körnermais. Weiterhin wurden die Tiere mit konventionellem Raps gefüttert, so dass die gruppenweise gesammelten Kotproben auf intakte und keimfähige Mais- bzw. Rapskörner untersucht werden konnten. Von allen Tieren wurden nach Beendigung des Versuchs Proben aus dem Verdauungstrakt und aus sämtlichen inneren Organen, wie Blut und Geweben, und auch aus Muskelgewebe gewonnen, und die genomische DNA und Proteine isoliert. Mittels PCR konnten kurze bis mittlere Fragmente des pflanzlichen Chloroplasten Gens *rubisco* in den Inhalten des Magen-Darm-Traktes insbesondere des Magens nachgewiesen werden. Das transgene *cry1Ab* Gen wurde nur als kleines Fragment im Verdauungstrakt gefunden, war aber in keinen Proben außerhalb des Darmtrakts nachweisbar. Die Proteinanalytik mittels ELISA ergab Signale für immunoaktives Toxin in Inhalten verschiedener Magen-Darm-Trakt Abschnitte, wohingegen der Immunoblot keine spezifischen Banden zeigte. In Geweben außerhalb des GIT war das Cry1Ab Protein nicht nachweisbar.

Die Untersuchungen zur Verbreitung von keimfähigem Saatgut durch das Wildschwein ergaben, dass ca. 0,015% der isogenen und 0,009% der transgenen Maiskörner die Kau- bzw. Schluckphase sowie die Passage im Magen-Darm-Trakt unbeschädigt überstanden. Nur eine Pflanze (0,00013%) konnte unter standardisierten Laborbedingungen wachsen, ein weiterer Keimling zeigte ein abnormes Wachstum.

Zusammenfassend belegen die Ergebnisse, dass im Monogastrier Wildschwein die aufgenommene pflanzliche DNA und aufgenommenes Cry1Ab Protein während der Magen-Darm-Trakt Passage sehr effektiv abgebaut wird. Die Untersuchungen zur unkontrollierten Verbreitung von Saatgut zeigten, dass Wildschweine in seltenen Fällen intakte keimfähige Maiskörner ausscheiden.

IV. Wachstumsphysiologie, myotrope Therapeutika und Anabolika

Die leistungssteigernden Eigenschaften anaboler Substanzen werden vor allem in der Tiermast und im Humansport genutzt. In der Tiermast führen diese zu Gewichtszunahme und zu einer verbesserten Futterverwertung, womit die Produktivität erhöht und Kosten gesenkt werden.

In einigen Ländern, wie den USA, Kanada, Australien, Mexiko und Südafrika ist der Gebrauch von Wachstumsförderern in der Tiermast zugelassen. Aufgrund erwiesener Nebenwirkungen für den Konsumenten ist der Gebrauch anaboler Substanzen in der EU verboten, wo die Einhaltung dieser Richtlinie (88/146/EEC) streng überwacht wird.

Um den Missbrauch anaboler Substanzen in der Tiermast oder im Sport zu kontrollieren, werden Hormonrückstände mittels Immunoassays oder chromatographischer Methoden in Kombination mit Massenspektrometrie detektiert. Mit Hilfe dieser Methoden können nur

bekannte Substanzen nachgewiesen werden. Neu entwickelte Substanzen oder Kombinationen aus mehreren Substanzen können mit diesen Methoden oft nicht detektiert werden. Um eine effiziente Kontrolle des Missbrauchs anaboler Stoffe zu gewährleisten, ist es nötig neue Technologien zu entwickeln, mit denen man den Gebrauch einer breiten Masse an illegalen Medikamenten inklusive neu entwickelter Xenobiotika nachweisen kann.

Der Nutzen von „Omik“ Technologien für die Entwicklung von Biomarkern für die Aufdeckung des Missbrauchs anaboler Substanzen

The use of omic technologies for biomarker development to trace functions of anabolic agents

Riedmaier, I.; Becker, C.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Journal of Chromatography A 1216 (2009) 8192-8199

In diesem Übersichtsartikel wurde das Potential des Nachweises physiologischer Veränderungen mit Hilfe sogenannter „Omik“ Technologien, wie Transkriptomik, Proteomik und Metabolomik für die Entwicklung eines solchen neuen Testsystems beleuchtet. Hierbei wurden verschiedene Kandidatengene, -proteine und -metaboliten gefunden, welche als potentielle Biomarker dienen könnten. In Kombination mit biostatistischen Methoden stellen diese „Omik“ Technologien potentielle Werkzeuge für die Entwicklung neuer Nachweismethoden dar.

Identifizierung potentieller Genexpressions Biomarker für den Nachweis anaboler Substanzen in bovinen Blutzellen

Identification of potential gene expression biomarkers for the surveillance of anabolic agents in bovine blood cells

Riedmaier, I.; Tichopad, A.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Analytica Chimica Acta 638 (2009) 106-113

In einem Versuch mit Nguni Färsen wurde der Einfluss von einer Kombination aus den anabolen Steroiden Trenbolon Acetat plus Estradiol auf die Genexpression in bovinen Blutzellen untersucht. Hierfür wurden 9 Tiere über 39 Tage mit dieser Kombination behandelt. 9 weitere Tiere dienten als unbehandelte Kontrolltiere. Blutproben wurden an verschiedenen Tagen der Behandlung gezogen (vor Behandlungsbeginn, Tag 2, 16 und 39 der Behandlung). Unterschiede in der Genexpression verschiedener Kandidatengenen zwischen den beiden Behandlungsgruppen wurden mit Hilfe von RT-qPCR bestimmt. Unterschiede wurden dabei in der Expression der Steroidrezeptoren ERα und ERβ, des Apoptoseregulators Fas, der proinflammatorischen Interleukine IL-1α, IL-1β, und IL-6 und von MHCII, CK, MTPN, RBM5 und Actinβ gefunden. Mit Hilfe der Principal Components Analyse (PCA) konnte unter Einbeziehung der signifikant regulierten Gene eine Trennung der beiden Behandlungsgruppen beobachtet werden.

Der Einfluss von Testosteron und einem neuen SARM auf die Genexpression in Vollblut bei *Macaca fascicularis*

Influence of testosterone and a novel SARM on gene expression in whole blood of Macaca fascicularis

Riedmaier, I.; Tichopad, A.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 114 (2009) 167-173

Ein Anwendungsgebiet anaboler Steroidhormone in der Therapie ist die Behandlung altersbedingter Krankheiten wie Osteoporose oder Sarkopenie, welche durch eine Abnahme der endogenen Produktion von Östradiol und Testosteron bei rückläufiger Gonadenfunktion verursacht werden. Für die Behandlung dieser altersbedingten Krankheiten wurden sogenannte selektive Androgen Rezeptor Modulatoren (SARM) entwickelt. Darunter versteht man synthetische Moleküle, welche die nützlichen zentralen und peripheren Eigenschaften von Testosteron besitzen, jedoch kaum Nebenwirkungen aufweisen.

In Kooperation mit TAP Pharmaceuticals Inc., Lake Forest, USA, und Covance, Münster, wurde ein Versuch an *macaca fascicularis* durchgeführt, bei welchem der Einfluss eines neuen SARM auf die Genexpression im Vollblut mit dem natürlichen Testosteron verglichen wurde. Dabei wurden signifikant regulierte Gene aus den Gruppen der Apoptoseregulatoren (Fas, TNFR1, TNFR2, CD30L) und der Interleukine (IL-12B, IL-15) identifiziert. Mit Hilfe der Principal Components Analyse (PCA) konnte unter Einbeziehung der signifikant regulierten Gene eine Trennung der einzelnen Behandlungsgruppen beobachtet werden.

Genexpression in Papillazellen aus dem Haarfollikel nach Behandlung mit Stanozolol

Gene Expression in hair follicle dermal papilla cells after treatment with Stanozolol

Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Schönfelder, M.[21]; Meyer, H.H.D.: Biomarkers Insight 4 (2009) 1-8

Es ist bekannt, dass anabole Substanzen über längere Zeit in Haaren nachzuweisen sind, weshalb zu Rückstandsanalysen innerhalb der Dopingkontrollen im Sport neben Urin und Blut auch Haare hinzugezogen werden. In dieser Pilotstudie sollte getestet werden, ob es durch anabole Substanzen zu Veränderungen im Genexpressionsmuster in Haarfollikelzellen kommt, die als potentielle Biomarker in der Dopinganalyse dienen könnten.

Hierfür wurde eine Zellkultur aus Papillazellen des Haarfollikels eines männlichen und eines weiblichen Spenders mit Stanozolol – einem anabolen Androgen, das oft als Dopingmittel verwendet wird – in verschiedenen Konzentrationen behandelt. Diese Zellen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung entnommen, und die Expression verschiedener Kandidatengene wurde mittels der RT-qPCR bestimmt.

In den Zellen des weiblichen Spenders konnte eine signifikante Regulation des Androgen Rezeptors, des Fas Rezeptors und von FGF2 festgestellt werden. In den Zellen des männlichen Spenders waren der Androgen Rezeptor, der Fas Rezeptor und SRD5A2 signifikant reguliert.

Diese Pilotstudie zeigt, dass es möglich ist Genexpressionsunterschiede, verursacht durch Stanozolol in Haarfollikelzellen, zu identifizieren, die als mögliche Biomarker für die Dopinganalyse in Frage kommen.

---

[21] Lehrstuhl für Sport und Gesundheitsförderung, Technische Universität München

Nachweisbarkeit von Testosteron Estern und Estradiol Benzoat nach pour-on Behandlung in bovinen Haaren und Plasma

Detectability of testosterone esters and estradiol benzoate in bovine hair and plasma following pour-on treatment

Stolker, A.A.M.[22]; Groot, M.J.[22]; Lasaroms, J.J.P.[22]; Nijrolder, A.W.J.M.[22]; Blokland, M.H.[23]; Riedmaier, I.; Becker, C.; Meyer, H.H.D.; Nielen, M.W.F.[24]: Analytical and Bioanalytical Chemistry 395 (2009) 1075-1087

In Kooperation mit dem RIKILT Institute of Food Safety, Wageningen, Niederlande, wurde am Veitshof in Freising eine Kälberstudie durchgeführt, bei der den Tieren ein Hormoncocktail aus Testosteron-Cypionat, Testosteron-Decanoat und Estradiol-Benzoat via pour on (über die Haut) appliziert wurde. Dabei sollte die Nachweisbarkeit der Hormonester in Blut und Haaren in Abhängigkeit vom Trägermaterial, der wiederholten Applikation und dem Zeitabstand zwischen der letzten Applikation und der Probennahme getestet werden.

Die Hormonester konnten in den Haaren nach einmaliger Behandlung noch 5-7 Wochen nach der Behandlung nachgewiesen werden. Nach dreimalig wiederholter Behandlung im wöchentlichen Abstand konnten die Hormonester noch 9-11 Wochen nach der letzten Applikation in den Haaren detektiert werden. Im Blut konnten hingegen keine Rückstände der applizierten Hormonester nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass die Hormonester bei pour on Behandlung schon vor dem Eintritt in den Blutkreislauf hydrolisiert und epimerisiert werden.

V. Wildtierbiologie

Testosteron, aber nicht IGF-1, LH, Prolaktin oder Cortisol, scheint das wichtigste Geweihwachstum stimulierende Hormon bei Rothirschen zu sein (*Cervus elaphus*)

Testosterone, but not IGF-1, prolactin or cortisol, may serve as antler-stimulating hormone in red deer stags (Cervus elaphus)

Bartos, L.[25]; Schams, D.; Bubenik, G.A.[26]: Bone 44 (2009) 691-698

Für die Stimulierung des Geweihwachstums bei Rothirschen werden vor allem Androgene und Insulin ähnlicher Wachstumsfaktor 1 (IGF-1) diskutiert. In einem Versuch mit 8 zwei Jahre alten sowie 12 erwachsenen Rothirschen wurden Blutproben über den gesamten Zeitraum des Geweihwachstums gesammelt und auf die Hormone Testosteron, Cortisol, IGF-1, Luteinisierungshormon und Prolaktin untersucht. Das Geweihwachstum pro Tag zeigte die beste Korrelation mit den Bluttestosteronkonzentrationen in beiden Gruppen. Nur bei den zwei Jahre alten Hirschen konnte eine gewisse Korrelation mit IGF-1 nachgewiesen werden.

---

22 RIKILT Institute of Food Safety, Wageningen, Niederlande

23 RIVM National Institute for Public Health and Environment, Bilthoven, Niederlande

24 Laboratory of Organic Chemistry, Wageningen University, Niederlande

25 Department of Ethology, Institute of Animal Science, Prag, Tschechische Republik

26 University of Guelph, Ontario, Canada

Trotzdem war nur ein Zusammenhang mit Testosteron ersichtlich. Bezüglich der Gesamtdauer des Geweihwachstums bei erwachsenen Hirschen im Vergleich zu den zweijährigen war nur die Konzentration von Testosteron und LH signifikant höher. Aufgrund der Ergebnisse wird geschlossen, dass nicht IGF-1 sondern Testosteron verantwortlich für die Intensität des Geweihwachstums bei jüngeren und älteren Hirschen ist.

Habilitationen, Dissertationen und Diplomarbeiten und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Patrick Gürtler, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 11.12.2009: „Long-term feeding of genetically modified maize (MON810) – metabolism of recombinant DNA and the novel protein in the dairy cow"

Simone Kessel, Dr. med. vet., Vetsuisse-Faculty University Bern, Schweiz, 27.04.2009: „Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions"

Irmgard Riedmaier, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 30.07.2009: „Development of mRNA patterns for screening of anabolic steroids in bovine and primate tissues"

Stefanie Schilffarth, Dr. med. vet., Ludwig-Maximilians Universität München, 06.02.2009: „Regulation und Bedeutung von angiogenen, anti-angiogenen und lymphangiogenen Faktoren während verschiedener Stadien der Ovarfunktion beim Rind"

Kerstin Steinke, Dr. agr., Technische Universität München, 22.12.2009: „Langfristiger Einsatz von gentechnisch verändertem Mais (MON810) in der Milchviehfütterung im Hinblick auf Leistungs- und Stoffwechselparameter, Fruchtbarkeit und Tiergesundheit"

Diplom- /Masterarbeiten

Katharina Kolland, Molekulare Biotechnologie: „Establishment of a real-time PCR for quantitative detection of modified vaccina virus ankara (MVA) genes and transcripts"

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

Veronika Pistek, Ernährungswissenschaft: „Genetic markers of fertility and their epigenetic regulation in piglets"

Straubinger Kathrin, Ernährungswissenschaft: „The impact of human milk oligosaccharides on intestinal epithelial glycocalix assembly"

Bachelorarbeiten

Christina Brandl, Biologin: „Feeding genetically modified maize (MON810) – effects on apoptotic and inflammatory gene expression profiles in dairy cows"

Regina Fischer, Ernährungswissenschaft: „Impact of the flavanoid myricetin on gene expression of selected signal cascades in *C. elegans* using qPCR"

Michaela Johanna Grandek, Biologie: „Establishment of different cytokine-ELISA for the detection of cytokines in a bovine cell culture model for mastitis"

Janina Karpf, Molekulare Biotechnologie: „Einsatz von immunchemischen Methoden zur Beobachtung des Abbauverhaltens von Cry1Ab-Protein in Pflanzenmaterial, Gülle und Bodenproben"

Marcella Lechner, Landnutzung: „Analyse von Milchleistungsdaten ökologisch wirtschaftender Betriebe"

Julia Seibert, Molekulare Biotechnologie: „Optimierung der qPCR-Messung von Kandidatengenen des bovinen Fett- und Cholesterinstoffwechsels"

Kristina Steimle, Ernährungswissenschaft: „Cholesterinmetabolismus in Milchkühen ohne Trockenphase: Expression wichtiger Gene während des Laktationszyklus"

Sandra Unterseer, Biologin: „Expressionsanalyse des epidermalen Wachstumsfaktor-rezeptors und seiner Liganden im bovinen Endometrium im Verlauf des Zyklus und der frühen Trächtigkeit sowie in bovinen präimplantierten Embryonen"

Corina Zörgiebel, Molekulare Biotechnologie: „Evaluation of an extraction method for total RNA and mRNA from somatic milk cells for gene expression analysis"

Vorträge

Berisha, B.:

„Introduction to biotechnology"
Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, University of Prishtina, Kosovo, 08.04.2009

„Aspects of animal biotechnology"
Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, University of Prishtina, Kosovo, 15.05.2009

„The expression of angiogenic and anti-angiogenic factors during different stages of bovine ovary function"
4th Annual Meeting of Institute Alb-shkenca IASH, Tetova, Mazedonien, 31.08-03.09.2009

„Angiogenesis – mechanisms of regulation"
4th Annual Meeting of Institute Alb-shkenca IASH, Tetova, Mazedonien, 31.08-03.09.2009

„Wissenschaftszentrum Weihenstephan – Center of University Education and Scientific Research"
Faculty of Food Technology, University of Tetova, Tetova, Mazedonien, 02.09.2009

„Biotechnology and food production"
Faculty of Food Technology, University of Tetova, Tetova, Mazedonien, 02.09.2009

Gröbner, A.:

„Effects of FasL expression by the trophoblast on apoptotis events in the bovine endometrium"
42. DVG-Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 34. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Universität Leipzig, Leipzig, 26.-27.02.2009

Gruber, H.:

„Zum Eintrag von Cry1Ab-Protein aus Bt-Mais-Ernterückständen und Gülle Bt-Mais gefütterter Rinder in den Boden"
Kolloquienreihe der LfL-Institute, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising, 27.01.2009

„Eintragspfade und Degradation von Bt-Protein in landwirtschaftlich genutzten Böden"
Fortbildungsveranstaltung ‚3. Fachtagung Gentechnik', Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) und Akademie für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (AGL), LGL Oberschleißheim, 02.12.2009

Gürtler, P.:

„Investigations on the potential transfer of recombinant DNA and Cry1Ab protein from feed into milk, blood, feces and urine of cows fed genetically modified maize"
63. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Göttingen, 10.-12.03.2009

„Analytik und Abbau der transgenen DNA und des Bt-Toxin"
Fachsymposium ‚Langfristiger Einsatz von GMO-Mais MON810 bei Milchkühen' des Wissenschaftszentrum Weihenstephan und der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Grub, 21.04.2009

„25-month feeding study with genetically modified maize (MON810) – metabolism of recombinant DNA and protein in the dairy cow"
Milchkonferenz 2009, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich 17.-18.09.2009

Kliem, H.:

„Regulatory changes of chemokines in the bovine corpus luteum during the oestrous cycle"
XI International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand, Frankreich, 06.-09.09.2009

„Analyse gentechnischer Unterschiede der Pathogenabwehr in der Milchdrüse von Kühen"
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2009, Freising-Weihenstephan, 01.-02.10.2009

„Hormone und ihre Wirkungen"
"Einführung in die Eigenbestandsbesamung" der Niederbayerischen Besamungsgenossenschaft, Rotthalmünster, 23.11.2009

Masanetz, S.:

„Effects of various Pine Pollen. Extracts on cell proliferation and gene expression in porcine ileal IPI-21 cells"
1st ECIS Research Meeting, Regensburg , 31.07.2009

„Effekte von Pinienpollenextrakten auf das Wachstum von ilealen Schweinezellkulturen"
6. BOKU-Symposium Tierernährung, Wien, Österreich, 15.11.2009

Meyer, H.H.D.:

„Expectations on milk composition and production in a changing world – the duties of research in functional genomics of dairy animals"
18th Annual Conference of Society of Animal Physiology of India and the National Symposium of Physiogenomic Prospects in Augmenting Livestock Production, National Institute of Animal Nutrition and Physiology, Bangalore, Indien, 27.02.2009

„Sicherheit von GMO-Mais MON810 nach langfristigem Einsatz bei Milchkühen"
Deutsches Maiskomitee ‚Optimierung des Futterwertes von Mais und Maisprodukten – Wissensstand und Perspektiven', Johann Heinrich von Thünen-Institut, Braunschweig, 18.03.2009

„Fazit zur Sicherheit von GMO-Mais MON810"
Fachsymposium ‚Langfristiger Einsatz von GMO-Mais MON810 bei Milchkühen' des Wissenschaftszentrum Weihenstephan und der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Grub, 21.04.2009

„Die Produktion von Milch und Fleisch in einer sich ändernden Welt – Aufgaben der molekularen Tierwissenschaft"
Seminarveranstaltung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, 05.05.2009

„Mehr Protein in der Rohmilch"
Konferenz der Erzeugergemeinschaft Milchquelle Chemnitz, Groitzsch, 26.05.2009

„Funktionale Charakterisierung alter Rinderrassen"
Sitzung des Wissenschaftlichen Beirat Arche Warder, Warder, 24.07.2009

„Milkproduction in a changing world – duties of research in molecular physiology"
BIOREC Workshop (Biological Responses to Environmental Challenges), Veterinär-Medizinische Universität Wien, Österreich, 03.11.2009

„Langfristiger Einsatz von GMO-Mais bei der Fütterung von Milchkühen"
39. Wissenschaftlicher Beirat des Milchindustrieverband, Hamburg, 13.11.2009

„Ist die Mensch-Tier-Beziehung wissenschaftstauglich?"
‚Die Mensch-Tier-Beziehung im interdisziplinären Dialog' Veranstaltung der Stiftung Bündnis Mensch & Tier, München, 14.11.2009

„Einsatz von transgenem Mais bei Milchkühen"
Fortbildungsveranstaltung ‚3. Fachtagung Gentechnik', Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) und Akademie für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (AGL), LGL Oberschleißheim, 02.12.2009

Pfaffl, M.W.:

„mRNA & microRNA integrity – the key to success"
4th international qPCR Symposium & Industrial Exhibition & Application Workshop, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009

„Effects of secondary plant metabolites on gut morphology and on the immune system in the gastro intestinal tract"
DGQ – 44. Vortragstagung ‚Pflanzenphenole für die Gesundheit von Pflanzen, Mensch und Tier', Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 16.-17.03.2009

„Absolute und relative Quantifizierung – ein Überblick"
REMMDI – Zweites Regensburger Meeting für angewandte Molekulare Diagnostik. INSTAND Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. und StAG ‚Diagnostische Verfahren' sowie Qualitätssicherungskommission der DGHM, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universität Regensburg, 03.-04.04.2009

„QC of RNA quality – effect on qPCR data analysis"
EMBO Practical Course on microRNA profiling: from in-situ Hybridisation to New-Generation Sequencing, EMBL Heidelberg, 18.-24.04.2009

„qRT-PCR normalisation strategies and new concepts in microRNA normalisation"
EMBO Practical Course on microRNA profiling: from in-situ Hybridisation to New-Generation Sequencing, EMBL Heidelberg, 18.-24.04.2009

„RNA quality assessment"
Biotechnology and Biological Science Research Council (BBSCR) Workshop – Advanced methods in RNA quantification, School of Medicine & Densitry, London, Vereinigtes Königreich, 20.-22.05.2009

„mRNA & microRNA integrity – the key to success in real-time RT-PCR"
qPCR Expression Symposium, Roche Applied Science, Biblioteque Nationale de France, Paris, Frankreich, 30.06.2009

„mRNA & microRNA integrity – the key to success in real-time RT-PCR"
2nd Annual Advances of qPCR, Berlin, 17.-18.09.2009

„Genexpressionsstudien mittels quantitativer real-time PCR – advances of gene expression studies in quantitative real-time PCR"
Biotechnica Forum, Hannover, 06.10.2009

„Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments – MIQE guidelines in qPCR"
Life Science Research Unternehmen im Verband der Diagnostica Industrie VDGH, Biotechnica Forum, Hannover, 06.10.2009

„Meet the expert – qPCR problems and solutions"
Bio-Rad Laboratories, Biotechnica, Hannover, 07.10.2009

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen Nordic Tour, Institute of Public Health, Oslo, Norwegen, 13.10.2009

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen Nordic Tour, Karolinska Center, Stockholm Schweden, 14.10.2009

„Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR"
Qiagen Nordic Tour, Department of Bioscience, University of Helsinki, Finnland, 15.10.2009

„Impact of following the MIQE guidelines for best practice gene expression workflow"
Bio-Rad German qPCR Application Meetiing, München 20.10.2009

„mRNA & MicroRNA integrity – the key to success in real time RT-PCR"
qPCR Symposion, San Francisco Airport, Millbrae, CA, USA, 09.-10.11.2009

Riedmaier, I.:

„The use of transcriptomics for biomarker development to trace anabolic hormone functions"
4th International qPCR Symposium & Industrial Exhibition & Application Workshop, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009

Schams, D.:

„Biochemie des Ovars unter besonderer Berücksichtigung der Angiogenese"
FERRING Forum ‚Innovation – Vision – Fortschritt', Hotel Intercontinental, Hamburg, 28.02.2009

Schilffarth, S.:

„Expression of VEGF-A isoforms in bovine antral follicles during final follicle maturation"
42. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 34. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Universität Leipzig, Leipzig, 26.-27.02.2009

„Expression of VEGF-B isoforms in bovine ovary during final follicle maturation and corpus luetum (CL) function"
42. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 34. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Universität Leipzig, Leipzig, 26.-27.02.2009

Schlamberger, G.:

„Zero days dry – an option for high yielding dairy cows?"
International Symposium on Sustainable Improvement of Animal Production and Health, Wien, Österreich, 08.-11.06.2009

„The effects of different milking regimes on health and productivity of dairy cows"
Milchkonferenz 2009, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich, 17.-18.09.2009

„Einflüsse unterschiedlicher Melkregime auf Stoffwechsel und Produktivität"
Gemeinsames Seminar Tierwissenschaft, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 28.10.2009

Sigl, T.:

„CLA supplementation of dairy cows in early lactation: effects on milk composition and on gene expression in liver tissue"
Milchkonferenz 2009, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich, 17.-18.09.2009

Tichopad, A.:

„Adequate experiment design as the first important step in obtaining valid biological interference with qPCR technique"
4th international qPCR Symposium & Industrial Exhibition & Application Workshop, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009

Ulbrich, S. E.:

„Increased fibroblast growth factor 2 protein in the bovine endometrium coincides with beginning trophoblast elongation during preimplantation development"
42. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 34. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Universität Leipzig, Leipzig, 26.-27.02.2009

„The use of oviduct vesicle culture to study embryo-maternal interaction"
COST-Gemini Conference ‚Maternal Interactions with Gametes and Embryos', Lansk, Polen, 07.-08.05.2009

„Modulation des uterinen Milieus während der frühen Gravidität"
1. Treffen der Arbeitsgemeinschaft Interdisziplinäre Biotechnologie der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin e.V., Landshut, 18.06.2009

„Endometrial receptivity"
2nd Joint Workshop Obihiro-Workshop ‚Animal Health and Reproduction 2009', Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Rinder, Hannover, 16.09.2009

Viturro, E.:

„qPCR monitoring of cholesterol synthesis regulation"
4th international qPCR Symposium & Industrial Exhibition & Application Workshop, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009

„Cholesterin: Bedeutung in der Ernährung des Menschen und Regulation des Transfers in die Milch"
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2009, Freising-Weihenstephan, 01.-02.10.2009

Wiedemann, S.:

„Correlations between milk yield and milk composition – analysis of data of 5 saxon dairy farms"
Milchkonferenz 2009, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich, 17.-18.09.2009

Tagungen des Lehrstuhls

Nobelpreisträger gibt sich die Ehre in Weihenstephan (Quelle: Münchner Merkur 16.03.2009)

Freising – Vor 16 Jahren erhielt der Amerikaner Kary Mullis den Nobelpreis für Chemie. Am 09. März 2009 hielt er einen Vortrag am Campus Weihenstephan.

Im Rahmen der „qPCR-Tagung 2009", die vom Lehrstuhl für Physiologie ausgerichtet wurde, hielt Kary Mullis einen Vortrag über die „Polymerase-Ketten-Reaktion" für deren Erforschung er 1993 den Nobelpreis erhielt. Mit Hilfe der von ihm entwickelten Technologie ist es möglich, genetische Proben präziser als zuvor zu bestimmen. Besonders in der Bioanalytik und der Biomedizin spielen die Neuerungen eine entscheidende Rolle, da sie weitere Möglichkeiten im Bereich der Medikamentenentwicklung und Krankheitsbehandlung bieten.

Trafen sich auf der „qPCR-Tagung 2009" in Weihenstephan: Prof. Heinrich Meyer, Nobelpreisträger Dr. Kary Mullis, Prof. Wolfgang Herrmann und Dr. Michael Pfaffl.

Der qPCR 2009 Event wurde vom Lehrstuhl für Physiologie der Technischen Universität München, Freising, durchgeführt und von der BioEPS GmbH, Freising, organisiert.

Tagungsschwerpunkte: Molekulare Diagnostik & Molekulare Marker

Der Lehrstuhl für Physiologie an der Technischen Universität München (TUM) hat mit Unterstützung führender Biotechnologieunternehmen zum vierten Mal die Initiative ergriffen, weltweit agierende Wissenschaftler auf dem Feld der quantitativen real-time PCR (qPCR) in Weihenstephan zusammenzubringen. Während der fünf Konferenztage vom 9. bis 13. März 2009 in Freising-Weihenstephan tauschten internationale Wissenschaftler aus über 40 Ländern ihre Ideen und Erfahrungen aus und diskutierten die faszinierende Zukunft dieser innovativen Technik.

Neben den beiden Tagungsschwerpunkten Molekulare Diagnostik sowie Molekulare Marker in der real-time RT-PCR wurden 70 Vorträge und diverse Posterbeiträge in den folgenden Themenfeldern präsentiert: Einzell-qPCR, RNAi-/microRNA-/siRNA Applikationen, Immuno-qPCR, qPCR Biostatistik & Bioinformatik, Hochdurchsatzapplikationen, sowie neue Strategien der Normalisierung, Standardisierung, und Optimierung der quantitativen PCR-Methode (MIQE).

Eine besondere Ehre für das Symposium ist der Vortrag von Herrn Kary Mullis zum Thema: ***„25th Anniversary of PCR".*** Die quantitative Polymerase-Ketten-Reaktion (qPCR) ist eine weiterentwickelte Technologie basierend auf der PCR, die 1993 mit dem Nobelpreis für Chemie an Kary Mullis ausgezeichnet wurde. Mit Hilfe der qPCR können Nukleinsäuren in komplexen Proben mit höchster Präzision und hervorragender Spezifität bestimmt werden. Diese außergewöhnliche Sensitivität erlaubt die Erfassung von nur einem einzigen DNA-Molekül, so dass diese Technik die Molekulare Diagnostik grundlegend verändert hat. Tests in klinischen Laboratorien, die früher Tage und Wochen benötigten und die Handhabung gefährlicher Chemikalien erforderten, können heutzutage in einer Stunde in vollständig automatisierten Systemen durchgeführt werden.

Die Messung der Genexpression mittels qRT-PCR eröffnet völlig neue Möglichkeiten für die Bioanalytik und Biomedizin. Die Präsentationen auf der Konferenz zeigten, wie die mRNA und microRNA Expression von Schlüsselgenen in einzelnen Zellen (single-cell qPCR) erfasst werden können. Dies ermöglicht entwicklungsbiologische Prozesse im Detail zu untersuchen, und die Differenzierung von Stammzellen zu spezialisiertem Gewebe zu verstehen. Die Reaktion von Patienten auf Medikamente lassen sich über Markergene und deren Expressionsmuster erfassen, die für den Entwicklungs- und Gesundheitsstatus charakteristisch exprimiert werden. Dies eröffnet völlig neue Horizonte bei der individuellen Behandlung von Erkrankungen.

Identifizierung und Quantifizierung von Pathogenen bei Erkrankungen von Pflanze, Tier und Mensch – es gibt fast keinen Arbeitsbereich in den Lebenswissenschaften, für die die qPCR nicht neue Möglichkeiten der Nukleinsäureanalytik eröffnet hat. Die weiteren Entwicklungen der qPCR konzentrieren sich auf die Miniaturisierung, hohen Probendurchsatz, Genauigkeit, Optimierung der Kosten-Nutzen-Effizienz sowie deren Zuverlässigkeit.

Quantitative real-time PCR in Kombination mit der reversen Transkription (RT) ermöglicht die exakte Bestimmung von mRNA und führt zu den „Transkriptomics" – dem ersten Schritt der Genexpression und der funktionalen Genomanalyse – „Functional Genomics". Die Kenntnislücke zwischen dem kodierenden Gen und dem finalen Genprodukt kann nun mit Hilfe der qRT-PCR angegangen werden.

Industrieausstellung:
Parallel zum Symposium fand im Zentralen Hörsaalgebäude der TUM in Weihenstephan eine Industrieausstellung mit 35 weltweit führenden Life Science und Biotechnologiefirmen statt. Der Tagungsteilnehmer konnte sich über die neuesten Innovationen auf dem Gerätemarkt und über die Dienstleistungen der teilnehmenden Firmen informieren.

qPCR Applikationsworkshops:
Im Anschluss an den Kongress wurden vier qPCR Anwender Workshops angeboten. Unter der Leitung des TATAA Biocenter wurden die zweitägigen Workshops parallel am 12. und 13. März 2009 abgehalten. Die vier Workshops konzentrierten sich im Einzelnen auf (1) klassische qPCR Applikationen; (2) qPCR Biostatistik & mRNA Expression Profiling (3) Probenaufbereitung & Nukleinsäuerextraktion; (4) die Anwendung Hochauflösender Schmelzkurvenanalytik & Immuno-qPCR.

Langfrist-Studie der TUM beweist:

Fütterung von Kühen mit gentechnisch modifiziertem Mais MON810 verändert ihre Milch nicht

Der Fachausschuss für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Bayerischen Landtags wurde am 25. März 2009 über die wissenschaftlichen Ergebnisse informiert. Am 21. April 2009 hielten TUM und LfL ein gemeinsames Fachsymposium ab, bei dem das Thema vertieft behandelt wurde.

Kann gentechnisch veränderter Mais bedenkenlos an Tiere verfüttert werden, die uns Lebensmittel liefern? Viele Verbraucher sind hier skeptisch. Nach einem mehr als zweijährigen Langzeit-Fütterungsversuch können Molekularbiologen der Technischen Universität München (TUM) diese Frage jetzt zumindest für Milchkühe beantworten: Der gentechnisch modifizierte Mais MON810 wird demnach von Milchkühen genauso verdaut wie herkömmlicher Mais, es existieren keinerlei Hinweise auf einen Transfer transgener Komponenten in das Lebensmittel Milch.

MON810, dieses Kürzel steht für transgenen Mais: In das Erbgut einer Sorte wurde ein Gen des Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* eingeschleust, das sog. cry1Ab-Gen. Dieses ursprünglich artfremde Gen lässt die Maispflanze ein Protein produzieren, das ihren ärgsten Feind tötet – den auch in Bayern verbreiteten Maiszünsler. Befürworter halten diesen GM-

Mais (GM = genetically modified) für eine elegante Art, auf klassische Insektizide zu verzichten. Doch die Gegner sind skeptisch: Sie befürchten, dass das für den Maiszünsler giftige Cry1Ab-Protein auch Mensch und Säugetier schadet. Ein Team um Prof. Heinrich H.D. Meyer vom TUM-Lehrstuhl für Physiologie hat dieses Unbehagen gemeinsam mit Kollegen von der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) ab Mai 2005 zur leitenden Forschungsfrage einer Fütterungsstudie gemacht: Wie wird das Cry1Ab-Protein und die cry1Ab-DNA aus transgenem Mais von Milchkühen abgebaut?

Um das Futter für die Studie vergleichbar zu halten, baute die LfL herkömmlichen und transgenen Mais speziell an – gesondert, doch unter gleichen Bedingungen. Anschließend wurden auf der LfL-Versuchsstation Grub große Mengen des GM-Mais nach einem festgelegten Plan an 18 Milchkühe verfüttert, 25 Monate lang. Parallel dazu bekam eine Kontrollgruppe von weiteren 18 Kühen konventionelles Maisfutter in gleicher Menge. Während der über zweijährigen Fütterungsperiode nahmen die Forscher monatlich Proben von Blut, Milch, Exkrementen sowie wöchentlich vom jeweiligen Futter. Zur Analyse entwickelten sie spezielle DNA-Extraktionsverfahren und eine besonders empfindliche Methode zum Aufspüren des Cry1Ab-Proteins. „Aufgrund dieser Verbesserungen der Methodik konnten wir die Nachweisgrenzen viel niedriger ansetzen als alle Wissenschaftler bisher“ betont Prof. Meyer.

Insgesamt haben die Forscher von TUM und LfL über 38.000 Datensätze von 36 Milchkühen ausgewertet. Dabei zeigte sich zunächst: Die verfütterte Maissorte macht in der körperlichen Entwicklung der Tiere keinen Unterschied. Egal, was die Tiere im Langzeit-Experiment fraßen, Milchleistung, Kondition und Gewicht waren bei allen 36 Tieren vergleichbar. Auch bei näherem Hinsehen scheinen Gesundheit und Fruchtbarkeit – getestet anhand diverser Stoffwechselparameter und dem Gehalt von Schwangerschaftshormonen - stabil: Trotz der relativ hohen Aufnahme an Cry1Ab-Protein von rund 5,3 mg pro Tag zeigten die mit GM-Mais gefütterten Kühe weder in der Organfunktion noch in der Fruchtbarkeit Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Doch kann das Cry1Ab-Protein oder die cry1Ab-DNA aus dem gentechnisch veränderten Mais vielleicht in den Organismus der Kuh übertreten – und damit auch in das Lebensmittel Milch? Nein, so die Datenlage: Das Protein ist nicht „stabiler“ im Tier als andere Eiweiße, sondern sogar eher leichter verdaulich. Keine der insgesamt 450 Blutproben ergaben Hinweise auf einen Transfer der fremden cry1Ab-DNA oder des Cry1Ab-Proteins vom GM-Mais zum Tier. Insgesamt 900 Milchproben beider Versuchsgruppen bestätigen den Befund: Die Milch der Kühe war zu keinem Zeitpunkt unterscheidbar, auch nicht mit der derzeit besten Technologie. „Ein Gefährdungspotential von gentechnisch verändertem Mais MON810 in der Verfütterung an Milchkühe ist aus unseren Studienergebnissen nicht ersichtlich“ – davon ist Prof. Meyer überzeugt.

Hintergrund:
Das Forschungsvorhaben „Einsatz von transgenem Mais (MON810) bei Milchkühen: Abbau, Transfer sowie potentielle Interaktionen von DNA und Bt-Protein im Rind“ wurde durch das Bayerische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten gefördert und vom Wissenschaftszentrum Weihenstephan der TU München gemeinsam mit der LfL durchgeführt.

Exkursionen

Frau Dr. Wiedemann unternahm mit Studenten der Laktationsphysiologie je eine Exkursion zur Molkerei Weihenstephan sowie zum Milchprüfring in Wolnzach.
Herr PD Dr. Berisha organisierte am 09. Juli 2009 eine Exkursion zur Besamungsstation Landshut.

Veröffentlichungen

34 Experimentelle Originalarbeiten

Bartos, L.; Schams, D.; Bubenik, G.A.: Testosterone, but not IGF-1, prolactin or cortisol, may serve as antler-stimulating hormone in red deer stags (*Cervus elaphus*). Bone 44 (2009) 691-698

Bauersachs, S.; Ulbrich, S.E.; Zakhartchenko, V.; Minten, M.; Reichenbach, M.; Reichenbach, H.D.; Blum, H.; Spencer, T.E.; Wolf, E.: The endometrium responds differently to cloned versus fertilized embryos. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106 (2009) 5681-5686

Beindorff, N.; Honnens, A.; Penno, Y.; Paul, V.; Bollwein, H.: Effects of human chorionic gonadotropin on luteal blood flow and progesterone secretion in cows and in vitro-microdialyzed corpora lutea. Theriogenology 72 (2009) 528-534

Berisha, B.; Bridger, P.; Toth, A.; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.; Pfarrer, C.: Expression and localization of Gap Junctional Connexins 26 and 43 in bovine periovulatory follicles and in corpus luteum during different functional stages of oestrous cycle and pregnancy. Reproduction in Domestic Animals 44 (2009) 295-302

Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.; Vandesompele, J.; Wittwer, C.T.: The MIQE Guidelines: Minimum information for publications of quantitative real-time PCR Experiments. Clinical Chemistry 55 (2009) 611-622

Bustin, S.A.; Vandesompele, J.; Pfaffl, M.W.: Standardization of qPCR & RT-qPCR. Genetic Engineering & Biotechnology News 29 (2009) 40-43

Fleige, S.; Preißinger W.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: The immunomodulatory effect of lactulose on *Enterococcus faecium* fed preruminant calves. Journal of Animal Science 87 (2009) 1731-1738

Garson, J.A.; Huggett, J.F.; Bustin, S.A.; Pfaffl, M.W.; Benes, V.; Vandesompele, J.; Shipley, G.L.: Letter to the Editor: Unreliable real-time PCR analysis of human endogenous retrovirus-W (HERV-W) RNA expression and DNA copy number in multiple sclerosis. Aids Research and Human Retroviruses 25 (2009) 377-378

Griesbeck-Zilch, B.; Osman, M.; Kühn, Ch.; Schwerin, M.; Bruckmaier R.H.; Pfaffl, M.W.; Hammerle-Fickinger, A.; Meyer, H.H.D.; Wellnitz, O.: Analysis of key molecules of the innate immune system in mammary epithelial cells isolated from marker-assisted and conventionally selected cattle. Journal of Dairy Science 92 (2009) 4621-4633

Gruber, H.; Paul, V.; Meyer, H.H.D.; Müller, M.: Validation of an enzyme immunoassay for monitoring Cry1Ab toxin in soils planted with Bt-maize (MON810) in a long-term field trial on four South German sites. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Suppl. 2, 3 (2008) 22-25

Guertler, P.; Paul, V.; Albrecht, C.; Meyer, H.H.D.: Sensitive and highly specific quantitative real-time PCR and ELISA for recording a potential transfer of novel DNA and Cry1Ab protein from fed into bovine milk. Analytical and Bioanalytical Chemistry 393 (2009) 1629-1638

Honnens, A.; Niemann, H.; Herzog, K.; Paul, V.; Meyer, H.H.D.; Bollwein, H.: Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. Animal Reproduction Science 113 (2009) 1-10

Jordan A.; Herzog, K.; Ulbrich, S.E.; Beindorff, N.; Honnens, Ä.; Krüger, L.; Miyamoto, A.; Bollwein, H.: Genital blood flow and endometrial gene expression during the preovulatory period after prostaglandin $F_{2\alpha}$-induced luteolysis in different luteal phases in cows. Journal of Reproduction and Development 55 (2009) 309-315

Kaczmarek, M.M.; Kiewisz, J.; Schams, D.; Ziecik, A.J.: Expression of VEGF-receptor system in conceptus during peri-implantation period and endometrial and luteal expression of soluble VEGFR-1 in the pig. Theriogenology 71 (2009) 1298-1306

Kliem, H.; Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Regulatory changes of apoptotic factors in the bovine corpus luteum after induced luteolysis. Molecular Reproduction & Development 76 (2009) 220-230

Klipper, E.; Tatz, E.; Kisliouk, T.; Vlodavsky, I.; Moallem, U.; Schams, D.; Lavon, Y.; Wolfenson, D.; Meidan, R.: Induction of heparanase in bovine granulosa cells by luteinizing hormone: Possible role during the ovulatory process. Endocrinology 150 (2009) 413-421

Masanetz, S.; Kaufmann, C.; Letzel, T.; Pfaffl, M.W.: Effects of pine pollen extracts on the proliferation and mRNA expression of porcine ileal cell cultures. Journal of Applied Botany and Food Quality 83 (2009) 14-18

Prakash, B.S.; Paul V.; Kliem, H.; Kulozik, U.; Meyer, H.H.D.: Determination of oxytocin in milk of cows administered oxytocin. Analytica Chimica Acta 636 (2009) 111-115

Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Schönfelder, M.; Meyer, H.H.D.: Gene expression in hair follicle dermal papilla cells after treatment with stanozolol. Biomarker Insights 4 (2009) 1-8

Riedmaier, I.; Becker, C.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: The use of *omic* technologies for biomarker development to trace functions of anabolic agents. Journal of Chromatography A 1216 (2009) 8192-8199

Riedmaier, I.; Tichopad, A.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Identification of potential gene expression biomarkers for the surveillance of anabolic agents in bovine blood cells. Analytica Chimica Acta 638 (2009) 106-113

Riedmaier, I.; Tichopad, A.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Influence of testosterone and a novel SARM on gene expression in whole blood of *Macaca fascicularis*. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 114 (2009) 167-173

Saez-Rodriguez, J.; Hammerle-Fickinger, A.; Dalal, O.; Klamt, S.; Gilles, E.D.; Conradi, C.: Multistability of signal transduction motifs. IET Systems Biolology 2 (2008) 80-93

Sarkar, M.; Dutta Borah, B.K.; Bandopadhayay, S.; Meyer, H.H.D.; Prakash, B.S.: Season of the year influences semen output and concentrations of testosterone in circulation of yaks (*Poephagus grunniens* L.). Animal Reproduction Science 115 (2009) 300-305

Schams, D.; Berisha, B.: Biochemie des Ovars unter besonderer Berücksichtigung der Angiogenese. Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie (Sonderheft 1) 6 (2009) 32-34

Schams, D.; Steinberg, V.; Steffl, M.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Expression and possible role of fibroblast growth factor family members in porcine antral follicles during final maturation. Reproduction 138 (2009) 141-149

Schilffarth, S.; Antoni, B.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. International Journal of Biological Sciences 5 (2009) 344-350

Sudgen, K.; Tichopad, A.; Khan, N.; Craig, I.W.; d'Souza, U.: Genes within the serotonergic system are differentially expressed in human brain. BMC Neuroscience 10 (2090) 1-11

Stolker, A.A.M.; Groot, M.J.; Lasaroms, J.J.P.; Nijrolder A.W.J.M.; Blokland, M.H.; Riedmaier, I.; Becker, C.; Meyer, H.H.D.; Nielen, M.W.F.: Detectability of testosterone esters and estradiol benzoate in bovine hair and plasma following pour-on treatment. Analytical and Bioanalytical Chemistry 395 (2009) 1075-1087

Tichopad, A.; Kitchen, R.; Riedmaier, I.; Becker, C.; Stahlberg, A.; Kubista, M.: Design and optimization of reverse-transcription quantitative PCR experiments. Clinical Chemistry 55 (2009) 1816-1823

Ulbrich, S.E.; Frohlich, T.; Schulke, K.; Englberger, E.; Waldschmitt, N.; Arnold, G.J.; Reichenbach, H.-D.; Reichenbach, M.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Bauersachs, S.: Evidence for estrogen-dependent uterine serpin (SERPINA14) expression during estrus in the bovine endometrial glandular epithelium and lumen. Biology of Reproduction 81 (2009) 795-805

Ulbrich, S.E.; Schulke, K.; Groebner, A.E.; Reichenbach, H.D.; Angioni, C.; Geisslinger, G.: Quantitative characterization of prostaglandins in the uterus of early pregnant cattle. Reproduction 138 (2009) 371-382

Viturro, E.; Koenning, M.; Kroemer, A.; Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Kaske, M.; Meyer, H.H.D.: Cholesterol synthesis in the lactating cow: Induced expression of candidate genes. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 115 (2009) 62-67

Wiedemann, S.; Lutz, B.; Albrecht, C.; Kuehn, R.; Killermann, B.; Einspanier, R.; Meyer, H.H.D.: Fate of genetically modified maize and conventional rapeseed, and endozoochory in wild boar (*Sus scrofa*). Mammalian Biology 74 (2009) 191-197

9 Mitteilungen für die Praxis

Bauersachs, S.; Zakhartchenko, V.; Ulbrich, S.E.; Reichenbach H.-D.; Reichenbach, M.; Blum, H.; Wolf, E.: Gestörte embryo-maternale Kommunikation nach Übertragung von Klonembryonen. GENOMXPRESS 2.09 (2009) 9-10

Becker C.; Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: RNA-Qualitätskontrolle in der Genexpressionsanalytik. BIOspektrum 15 (2009) 512-514

Gürtler, P.; Meyer, H.H.D.: Nach langfristigem Einsatz kein Nachweis in der Milch - GMO-Mais MON810 bei der Fütterung von Milchkühen. mais 36 (2009) 116-117

Gürtler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Wiedemann, S.; Preißinger, W.; Albrecht, C.; Spiekers, H.; Schwarz, F.J.; Meyer, H.H.D.: Sicherheit von GMO Mais MON810 nach langfristigem Einsatz bei Milchkühen. – In: Optimierung des Futterwertes von Mais und Maisprodukten (F.J. Schwarz, U. Meyer, Hrsg.) Veröffentlichungsreihe „Landbauforschung“, Sonderheft 331 (2009) 63-74, ISBN 978-3-86576-057-9

Meyer, H.H.D.: Fütterung von Kühen mit MON810 – Gentechnisch modifizierter Mais im Futter verändert die Milch nicht. GENOMXPRESS 2.09 (2009) 7

Meyer, H.H.D.: Was passiert, wenn Wildtiere GV-Mais fressen? Bauernzeitung 50 (2009) 12

Wiedemann, S.: Kassenschlager Eiweiß. Milchproteingehalt senkt Produktionskosten – voll im Trend. Landwirtschaftliches Wochenblatt, Organ des Landesbauernverbandes in Baden-Württemberg, 176 (2009) 20-21

Wiedemann, S.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.: Eiweiß – Inhaltsstoff für zukunftsfähige Märkte. Milchpur 3 (2009) 40-42

Wiedemann, S.; Kaske, M.; Meyer, H.H.D.: Protein – der Milchinhaltsstoff der Zukunft? BDM aktuell 2 (2009) 18-19

3 Reviews, Buchkapitel

Pfaffl, M.W.: The road from qualitative to quantitative assay: What is next? – In: The PCR revolution (Bustin, St.A. ed.) Cambridge University Press (2009) 110-128, ISBN: 9780521882316

Pfaffl, M.M.; Vandesompele, J.; Kubista, M.: Data Analysis Software. – In: Real-time PCT. current technology and applications (Logan J., Edwards K., Saunders, N. eds.), Caister Academic Press, Norfolk, UK, (2009) 65-83, ISBN: 978-1-904455-39-4

Vandesompele, J.; Kubista, M.; Pfaffl, M.W.: Reference gene validation software for improved normalization. – In: Real-time PCT. Current Technology and Applications (Logan J., Edwards K., Saunders, N. eds.), Caister Academic Press, Norfolk, UK, (2009) 47-64, ISBN: 978-1-904455-39-4

24 Abstracts und Sonstiges

Bauersachs, S.; Gross, K.; Zakharchenko, V.; Ulbrich, S.E.; Sinowatz, F.; Reichenbach, H.D.; Blum, H.; Wolf, E.: Abnormal messenger RNA expression profiles in endometrium derived from day 18 pregnant animals after transfer of SCNT embryos. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 44 (2009) 3, Abstr. No. 3

Berisha, B.; Schilffarth, S.; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Expression of some angiogenic factors in bovine follicles before and after LH surge. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 57-58, Abstr. No. P077

Berisha, B.; Schilffarth, S.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Expression of VEGF-B isoforms in bovine ovary during final follicle maturation and corpus luteum (CL) function. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 44 (2009) S. 5, Abstr. No. 8

Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.; Vandesompele, J.; Wittwer, C.T.: MIQE- guidelines for publications of qPCR data. Proceedings of the 4$^{th.}$ Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 35

Fürst, R.W.; Kliem, H.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Differential expression of estrogen receptor alpha in testis, epididymis and prostate associated with distinct endogenous estradiol-17β concentrations in male growing piglets. Abstractband 52. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Kongresshalle Gießen, 04.-07.03.2009, Abstr. No. PS1-01-6

Groebner, A.E.; Schulke, K.; Reichenbach, H.-D.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Differential expression of apoptotic factors in bovine endometrium and embryos during the preimplantation period. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 60, Abstr. No. P085

Groebner, A.E.; Schulke, K.; Reichenbach, H.-D.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Effects of FasL expression by the trophoblast on apoptosis events in the bovine endometrium. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 44 (2009) 13, Abstr. No. 34

Groebner, A.E.; Schulke, K.; Reichenbach, H.-D.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Studying immunologically relevant genes in the bovine endometrium during the window of implantation using a dynamic gene expression array. Proceedings of the 2nd General Meeting of GEMINI, Sardinien, Italien, 01.-03.10.2009, S. 104, Abstr. No. 58

Groebner, A.E.; Unterseer, S.; Schulke, K.; Reichenbach, H.-D.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Release of IFNτ by the bovine trophoblast stimulates proapoptotic genes without consequences for the activation of apoptotic pathways in the endometrium. Abstractband 52. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Kongresshalle Gießen, 04.-07.03.2009, Abstr. No. PS1-01-9

Gürtler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Preißinger, W.; Wiedemann, S.; Albrecht, C.; Spiekers, H.; Schwarz, F.J.; Meyer, H.H.D.: Investigations on the potential transfer of recombinant DNA and Cry1Ab protein from feed into milk, blood, feces and urine of cows fed genetically modified maize. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology (2009) S. 111, Abstr. No. 18

Guertler, P.; Paul, V.; Steinke, K.; Wiedemann, S.; Preißinger, W.; Albrecht, C.; Spiekers, H.; Schwarz, F.J.; Meyer, H.H.D.: 25-month feeding study with genetically modified maize (MON810) – Metabolism of recombinant DNA and protein in the dairy cow. Abstractband der „Milchkonferenz 2009“ der Gesellschaft für Milchwissenschaft e.V., Wien, Österreich, 17.-18.09.2009, (2009) S. 42, Abstr. No. H11

Kliem, H.; Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Suppression of eosinophiles after ovulation alters the progesterone values of the bovine corpus luteum – Evaluation of FGF and VEGF gene expression via qPCR. Proceedings of the 4th.Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 59, Abstr. No. P081

Kliem, H.; Djurkovic, M.; Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Regulatory changes of chemokines in the bovine corpus luteum during the oestrous cycle. Proceedings of the XIth International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand, Frankreich, 06.-09.09.2009, (2009) 748-749

Meyer, S.; Wagner, C.; Pfaffl, M.W.; Thirion, C.: An inflammatory microRNA signature in muscle cells – a comparative study of cellular models and technological platforms. Proceedings of the 4th. Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 26

Pfaffl, M.W.; Becker, C.; Hammerle-Fickinger, A.; Riedmaier, I.: mRNA & microRNA integrity – the key to success. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 26

Riedmaier, I.; Becker, C.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: The use of transcriptomics for biomarker development to trace anabolic hormone functions. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 22

Schams, D.; Schilffarth, S.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Expression of lymphangiogenic factors in bovine corpus luteum during estrous cycle, pregnancy, and induced Luteolysis. Biology of Reproduction 81 (2009) Abstr. No. 514

Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Expression of VEGF-A isoforms in bovine antral follicles during final follicle maturation. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 44 (2009) 31, Abstr. No. 90

Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: Expression of VEGF-B isoforms and neuropilin-1 in bovine ovary during different physiological stages. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S.55, No. P069

Schlamberger, G.; Wiedemann, S.; Viturro, E.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.: The effects of different milking regimes on health and productivity of dairy cows. Abstractband der „Milchkonferenz 2009“ der Gesellschaft für Milchwissenschaft e.V., Wien, Österreich, 17.-18.09.2009, (2009) S. 32, Abstr. No. H2

Schönfelder, M.; Reiter, M.; Pfaffl, M.; Meyer, H.H.D.; Kwiatkowska, D.; Müller, R.K.; Oberhoffer, R.: Genexpressionsscreening als unterstützende Methode in der klassischen Doping-Analytik. Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin 60 (2009) 196, Abstr. No. 109

Schulke, K.; Groebner, A.E.; Waldschmitt, N.; Weppert, M.; Reichenbach, H.D.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Increased fibroblast growth factor 2 protein in the bovine endometrium coincides with beginning trophoblast elongation during preimplantation development. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 1, 44 (2009) 33, Abstr. No. 95

Sigl, T.; Wiedemann, S.; Schlamberger, G.; Meyer, H.H.D.: CLA supplementation of dairy cows in early lactation: effects on milk composition and on gene expression in liver tissue. Abstractband der ‚Milchkonferenz 2009’ der Gesellschaft für Milchwissenschaft e.V., Wien, Österreich, 17.-18.09.2009, (2009) S. 40, Abstr. No. H9

Steinke, K.; Paul, V.; Gürtler, P.; Preißinger, W.; Wiedemann, S.; Albrecht, C.; Spiekers, H.; Meyer, H.H.D.; Schwarz, F.J.: Effects of long-term feeding of genetically modified maize (Bt-maize; MON810) on dairy cows. Book of Abstracts of the 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (EAAP), Barcelona, Spanien, 24.-27.08.2009 (2009) S. 349

Steinke, K.; Paul, V.; Gürtler, P.; Preißinger, W.; Wiedemann, S.; Albrecht, C.; Spiekers, H.; Meyer, H.H.D.; Schwarz, F.J.: Effects of long-term feeding of genetically modified maize (Bt-maize; MON810) to dairy cows on performance and metabolic parameters. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology (2009) S. 110, Abstr. No. 18

Tichopad, A.: Adequate experiment design as the first important step in obtaining valid biological interference with qPCR technique. Proceedings of the 4th Int. qPCR Event 2009, Symposium & Exhibition & Workshops, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 09.-13.03.2009, S. 33

Ulbrich, S.E.; Schulke, K.; Groebner, A.E.; Reichenbach, H.-D.; Angioni, C.; Geisslinger, G.; Meyer, H.H.D.: Prostaglandins in the bovine uterine lumen during the preimlantation period: Principal actors, temporal sequential role and direction of action. Abstractband 52. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Kongresshalle Gießen, 04.-07.03.2009, No. PS1-01-5

Wiedemann, S.; Schmautz, C.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.: Correlations between milk yield and milk composition – analysis of data of 5 saxon dairy farms. Abstractband der ‚Milchkonferenz 2009’ der Gesellschaft für Milchwissenschaft e.V., Wien, Österreich, 17.-18.09.2009, (2009) S. 44, Abstr. No. H13

Versuchsstation Veitshof

Adresse

Veitsmüllerweg 4
D-85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-984 9999
Telefax: 08161-984 9997

Personal

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

Allgemeines

a) Bodennutzung

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

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2008		60 Kühe
		10 Kalbinnen
		49 Jungrinder
		22 Kälber
		---
		141 Rinder
		==========
	und	4 Ziegen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:

8818 kg Milch, 307,9 kg Eiweiß, 3,49 % Eiweiß, 397,9 kg Fett, 4,31 % Fett.

Lehr- und Forschungstätigkeit an der Versuchsstation Veitshof

Lehre

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

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

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

Forschung

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

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

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

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

Gewinnung von Muskelproben zur Untersuchung der Glucoseaufnahme im peripheren Gewebe

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

Gewinnung von Milchproben zur Etablierung von HPLC-Methoden zur Bestimmung einzelner Proteinfraktionen und des Laktoferrins in der Milch

Gewinnung von Milchproben zur Etablierung einer Methode zur Extraktion von Alveolarepithelzellen direkt aus der Milch

Gewinnung von Milch- und Eutergewebsproben zur Etablierung einer Methode zur Kultivierung von Alveolarepithelzellen

Gewinnung von Milch- und Blutproben zur Untersuchung von Faktoren zur Frühbestimmung einer bestehenden Trächtigkeit

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

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

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

Gewinnung von Milch- und Blutproben und Untersuchung der inter- und intraindividuellen Schwankungen der Cholesterinkonzentrationen

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

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

Gewinnung von Antikörpern gegen Interferon tau, Interleukin 8, Cry1Ab Protein, Clenbuterol, Salbutamol, Ractopamin und DES in Kaninchen zur Entwicklung von Enzymtests zur quantitativen Analyse

Gewinnung von Antikörpern gegen Kaninchen in der Ziege zur Entwicklung von Enzymtests

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

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

Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
D- 85354 Freising-Weihenstephan

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

Personal

Leiter der Arbeitsgruppe:	Univ.-Prof. Dr. oec. Hannes Weindlmaier	08161-713540
Mitarbeiter:	Josef Betz, TA (bis 31.12.2008) Dr. Alois Huber (bis 30.04.2009)	
Mitarbeiter auf Drittmittelstellen bzw. Doktoranden	Dipl.-Ing.agr. Hendrik Buschendorf (bis 31.12.2007) Dipl.-Ing. agr. Thomas Obersojer (bis 31.12.2007) Dipl.-Kfr. Corinna Ruderer (bis 31.12.2007)	

Einrichtung und Ziele der Arbeitsgruppe Milch- und Ernährungswirtschaft am ZIEL

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

Forschung

Internationalisierung als strategische Herausforderung der deutschen Molkereiwirtschaft

Internationalization as strategic challenge of the German dairy economy

Weindlmaier, H.

1. Bedeutung der Internationalisierung für die deutsche Molkereiwirtschaft

Internationales Marketing stellt erheblich größere Anforderungen an das Management einer Molkerei als die Bearbeitung regionaler und nationaler Märkte. Dennoch gibt es eine Reihe sehr triftiger Gründe, warum eine verstärkte Internationalisierung für die deutsche Molkereiwirtschaft insgesamt, aber auch für einzelne Unternehmen, eine wichtige strategische Option darstellt (vgl. Übersicht 1).

Übersicht 1: Triebkräfte für die Internationalisierung der deutschen Molkereiwirtschaft

(1) Zunehmende Internationalisierung / Globalisierung der Märkte für Milchprodukte

(2) Internationalisierung ist entscheidend für die quantitative Absatzsicherung bei stagnierenden Inlandsmärkten

(3) Die starke Konzentration und Internationalisierung des Lebensmittelhandels führt zur Internationalisierung in der Beschaffung und im Absatz

(4) Die Realisierung betrieblicher Wachstumschancen ist häufig nur durch Internationalisierung möglich

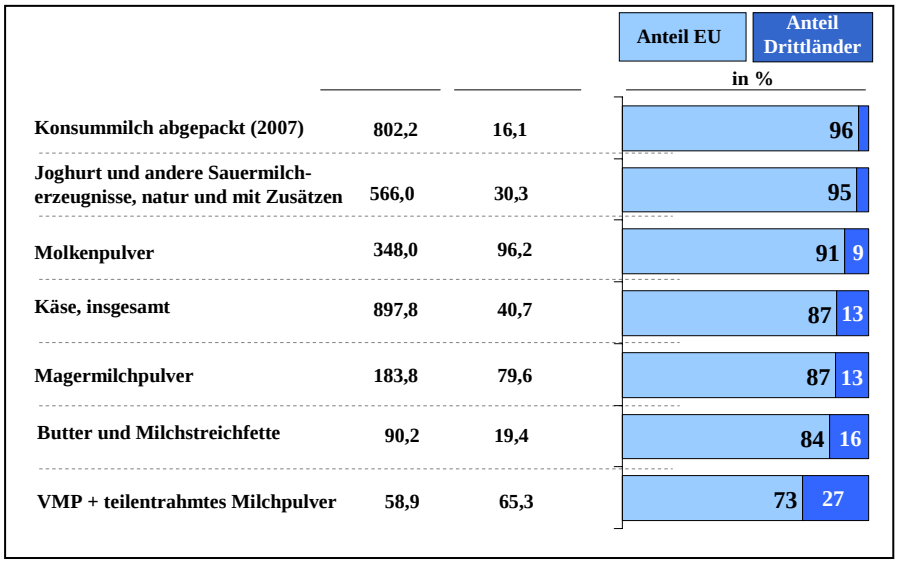
(5) Internationalisierung ermöglicht Risikostreuung

(6) Direktinvestitionen in den Zielländern sind eine Voraussetzung für die Wettbewerbsfähigkeit auf Drittlandsmärkten

(1) Ein erster wichtiger Grund ist die **zunehmende Internationalisierung bzw. Globalisierung der Milchproduktmärkte**. Der bayerische Butterproduzent konkurriert heute nicht nur mit jenem aus Niedersachsen, sondern auch mit jenem aus Irland und den Niederlanden. Dem Eindringen von Wettbewerbern in die bisherigen Absatzgebiete der eigenen Molkerei kann häufig nur dadurch begegnet werden, dass im Gegenzug auch die Märkte der nationalen und internationalen Konkurrenten sowie wachsende Zukunftsmärkte in das eigene Absatzgebiet einbezogen werden. Dieser Trend zur Internationalisierung und Globalisierung wird entscheidend unterstützt durch die zu beobachtenden Konsum- und Einkaufstrends der Konsumenten, die Vielfalt und Abwechslung wünschen.

(2) Ein zweites wichtiges Argument für die weitere Internationalisierung der Molkereiwirtschaft sind die **Milchproduktüberschüsse,** sowohl in Deutschland als auch in anderen EU-Ländern. Im Jahr 2009 betrug der Selbstversorgungsgrad in der EU-27 109 %, in Deutschland 107 % (Wert für 2007). Der deutsche Milchmarkt ist für die Hersteller von Milchprodukten weltweit – insbesondere für die Molkereiwirtschaft der EU-Länder – aufgrund seiner Größe, Kaufkraft und Infrastruktur ein besonders attraktiver Mark. Dies führt naturgemäß zu hohen Importen: Beispielsweise wurden im Jahr 2008 33 % des Inlandsverbrauchs von Käse und 29 % des Inlandsverbrauchs von Butter importiert.

Aufgrund dieser hohen Importe in Verbindung mit den Überschüssen im eigenen Land ist die deutsche Molkereiwirtschaft im Gegenzug gezwungen, erhebliche Mengen zu exportieren. Abb. 1 zeigt, dass die Exportmenge bei einzelnen Produktgruppen bis zu 96 % der deutschen Produktionsmenge im Jahr 2008 erreicht. Gemessen in Milchäquivalenten gingen 2007 etwa 44 % der an die Molkereien angelieferten Milch als Milchprodukte in den Export. Abb. 1 zeigt ferner, dass z.B. die Exporte von Konsummilch, Joghurt und Sauermilcherzeugnissen größtenteils in die Mitgliedsstaaten der EU gehen. Bei Käse werden jedoch 13 % in Drittländer exportiert, bei Butter und Milchstreichfetten sind es 16 % und bei Vollmilchpulver sogar 27 %.



Quelle: Eigene Darstellung auf der Basis von ZMP Marktbilanz Milch 2008, S. 54-80 und MIV (2008): Deutscher Außenhandel mit Milchprodukten.

Abb. 1: Milchproduktexporte Deutschlands im Jahr 2008

In Abb. 2 sind die wichtigsten Zielländer deutscher Käseexporte in den Jahren 2005 und 2008 aufgeführt. Die Exportmengen sind in diesem Zeitraum um etwa 27 % gestiegen. Starke Zunahmen sind vor allem bei den Exporten in die wichtigen Zielländer in der EU, wie etwa nach Spanien, Griechenland, Italien, Österreich und in das Vereinigte Königreich zu verzeichnen.

Die Exporte in einige Drittländer wie etwa nach Japan und in die USA sind in diesem Zeitraum erheblich zurückgegangen. Maßgeblich dafür dürfte erstens der starke Preisanstieg der deutschen Milchprodukte im Jahr 2007 sein, der die Wettbewerbsfähigkeit auf den internationalen Märkten stark beeinträchtigte. Dieses Problem wurde durch den Wegfall der Exporterstattungen im Juni 2007 in seiner Wirkung noch verstärkt. Vor allem der Export von Standardware wurde dadurch negativ beeinflusst.

Land	Exporte im Jahr 2005 in 1.000 t	Exporte im Jahr 2008 in 1.000 t	Veränderung in %
Italien	207,7	253,5	22,1
Niederlande	74,7	88,0	17,8
Frankreich	70,2	74,3	5,8
Spanien	40,9	60,6	48,2
Vereinigtes Königreich	39,9	53,6	34,3
Österreich	38,6	53,4	38,3
Belgien	38,1	40,0	5,0
Griechenland	21,8	31,7	45,4
EU insgesamt	**605,2**	**779,9**	**28,9**
Russische Föderation	52,9	62,6	18,3
Japan	11,0	8,2	-25,5
Kroatien	3,3	5,3	60,6
Bosnien-Herzegoviana	4,3	2,4	-44,2
USA	5,8	2,2	-62,1
Drittländer insgesamt	**99,8**	**117,8**	**18,0**
Käseexporte insgesamt	**705,0**	**897,8**	**27,3**

Quelle: Eigene Zusammenstellung basierend auf MIV: Deutscher Außenhandel, 26.02.2007 und 04.03.2009.

Abb. 2: Wichtigste Zielländer deutscher Käseexporte 2005 und 2008

(3) Die **Konzentrations- und Internationalisierungstendenzen im europäischen Lebensmittelhandel** sind ein drittes wichtiges Argument für die Internationalisierung der Molkereiwirtschaft. Übersicht 3 zeigt, dass die großen Gruppen des deutschen Lebensmittelhandels in bis zu 36 verschiedenen Ländern vertreten sind.

Diese Entwicklung beinhaltet für die Molkereiwirtschaft sowohl Chancen als auch Gefahren: Chancen beinhaltet die Internationalisierung des Lebensmittelhandels insofern, als die international tätigen Handelsriesen auch für mittelständische Anbieter von Innovationen und Spezialitäten eine Möglichkeit eröffnen, ohne der Notwendigkeit des Aufbaues eigener Vertriebssysteme große Mengen überregional bzw. international zu vermarkten. Gefahren ergeben sich aufgrund dieser Entwicklung dadurch, dass zumindest bei den leicht transportfähigen Milchprodukten wie H-Milch, Butter und den Standardkäsesorten zunehmend von einer internationalen Beschaffung auszugehen ist. Als Lieferanten werden vom Lebensmittelhandel zunehmend nur noch jene Molkereien verschiedener Länder als Partner akzeptiert, die große Mengen einheitlicher Qualitäten zu niedrigen Preisen liefern können.

Übersicht 3: Die 15 größten Lebensmittel-Einzelhändler weltweit im Jahr 2008

	Firma	Firmensitz	Nettoumsatz 2008 (Mio. Euro)	Anzahl Länderpräsenzen im Jahr 2006
1	**Wal-Mart**	USA	297.190	14
2	**Carrefour**	Frankreich	109.358	36
3	**Metro Group**	Deutschland	79.235	31
4	**Tesco**	Großbritannien	74.530	13
5	**Schwarz-Gruppe**	Deutschland	58.984	23
6	**Aeon**	Japan	58.004	11
7	**Seven & Holdings**	Japan	57.997	20
8	**Rewe-Gruppe**	Deutschland	54.451	13
9	**Costco Wholesale**	USA	53.819	8
10	**Kroger**	USA	52.856	1
11	**Aldi- Gruppe**	Deutschland	50.253	15
12	**Groupe Auchan**	Frankreich	49.999	13
13	**Sears Holdings**	USA	46.372	*
14	**Target**	USA	46.253	*
15	**Casino Guichard**	Frankreich	46.206	29

* nicht verfügbar

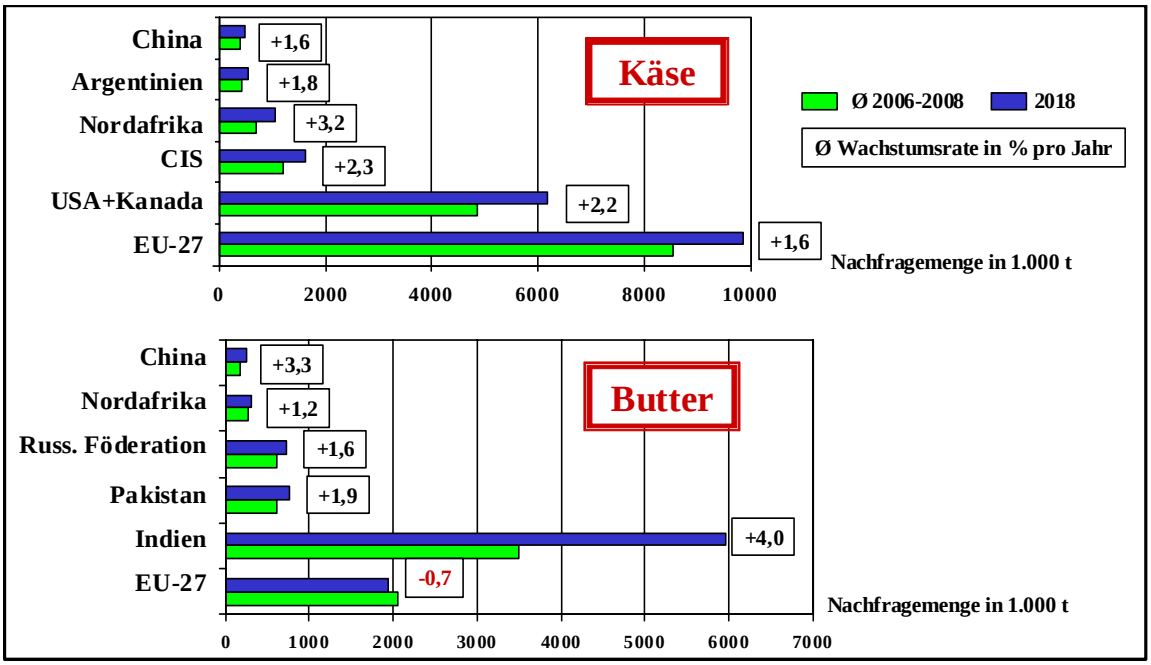
Quelle: Eigene Darstellung basierende auf www.lz-net.de/crankings/handelwelt (28.10.09); Europäischen Handelsinstitut EHI (2009).

(4) Die **Realisierung betrieblicher Wachstumschancen** ist häufig nur durch Internationalisierung möglich. Die Entwicklungen in der Molkereitechnik haben dazu geführt, dass die kostenmäßig kritische Mindestgröße der verschiedenen Abteilungen eines Milch verarbeitenden Unternehmens immer weiter zugenommen hat. In Modellrechnungen zur Ermittlung der optimalen Betriebstättenstruktur in Deutschland haben wir z.B. festgestellt, dass unter Kostengesichtpunkten eine durchschnittliche Betriebstättengröße in der Butterherstellung von 40.000 t pro Jahr statt gegenwärtig gut 4.500 t angestrebt werden sollte, in der Schnittkäseherstellung sind es fast 70.000 t gegenüber knapp 9.000 t zur Zeit.[1]

Dem sich daraus ergebenden Zwang zur weiteren Erhöhung des Outputs kann das einzelne Unternehmen zum einen durch den Versuch von Marktanteilsgewinnen am Inlandsmarkt begegnen. Das ist jedoch häufig nur durch Preiskampf und die Verdrängung von Wettbewerbern möglich. Anders als die weitgehend gesättigten Märkte in Deutschland und Westeuropa weisen die Märkte z.B. in Osteuropa, in Ost- und Südostasien, in den arabischen Ländern und in Nordafrika oftmals noch attraktive Wachstumsraten auf.

Die Nachfrageprognosen von OECD und FAO von 2009 zeigen beispielsweise für die EU-27 mit 1,6 % pro Jahr lediglich am Käsemarkt eine beachtliche positive Wachstumsrate für den Zeitraum bis 2018 (vgl. Abb. 3). Das Nachfragewachstum in anderen Regionen ist allerdings wesentlich stärker, etwa in Nordafrika und in den CIS-Staaten, den Ländern der ehemaligen Sowjetunion. Bezüglich der Butternachfrage wird für die EU-27 ein Negativwachstum prognostiziert, während in Indien der Markt mit einer jährlichen Wachstumsrate von 4 % und in China von 3,3 % wachsen soll. Eine ähnliche Situation liegt bei Voll- und Magermilchpulver vor. Während für die EU-27 negative Wachstumsraten prognostiziert werden, soll der Markt in anderen Weltregionen, etwa in China und Nordafrika, stark wachsen.

[1] Vgl. BUSCHENDORF, H.; WEINDLMAIER, H. (2007): Kosteneinsparungen durch optimierte Strukturen in der Molkereiwirtschaft. In: Deutsche Milchwirtschaft, 58. Jg., Nr. 2, S. 63-67.



Quelle: Eigene Darstellung auf der Basis von OECD-FAO (2009): Agricultural Outlook 2009-2018.

Abb. 3: Prognosen für die Entwicklung der Nachfrage nach Käse und Butter bis 2018

Haupttriebfedern für das Nachfragewachstum in diesen Ländern sind das Bevölkerungswachstum, die steigenden Einkommen und das prognostizierte starke Wirtschaftswachstum. Auch eine Verbesserung des Verteilungssystems der Produkte und eine Veränderung der Ernährungsgewohnheiten spielen eine wichtige Rolle.

Im Vergleich zum Heimatmarkt verspricht der Auslandsmarkt häufig jedoch nicht nur größere Wachstumschancen, sondern auch bessere Gewinnchancen. Das Preisniveau der Produkte ist überwiegend erheblich höher ist als in Deutschland.

(5) Durch die Bearbeitung verschiedener Märkte **vermindert sich das unternehmerische Absatzrisiko**. Für *Franck Riboud*, Chef des großen französischen Unternehmens *Groupe Danone,* ist die Risikoverminderung durch weitere Internationalisierung eine der zentralen zukünftigen Stoßrichtungen für das Unternehmen. Seine Aussage: „Durch eine Ausdehnung der Auslandsaktivitäten auf 100 Länder soll die Abhängigkeit vom europäischen Markt vermindert werden“.

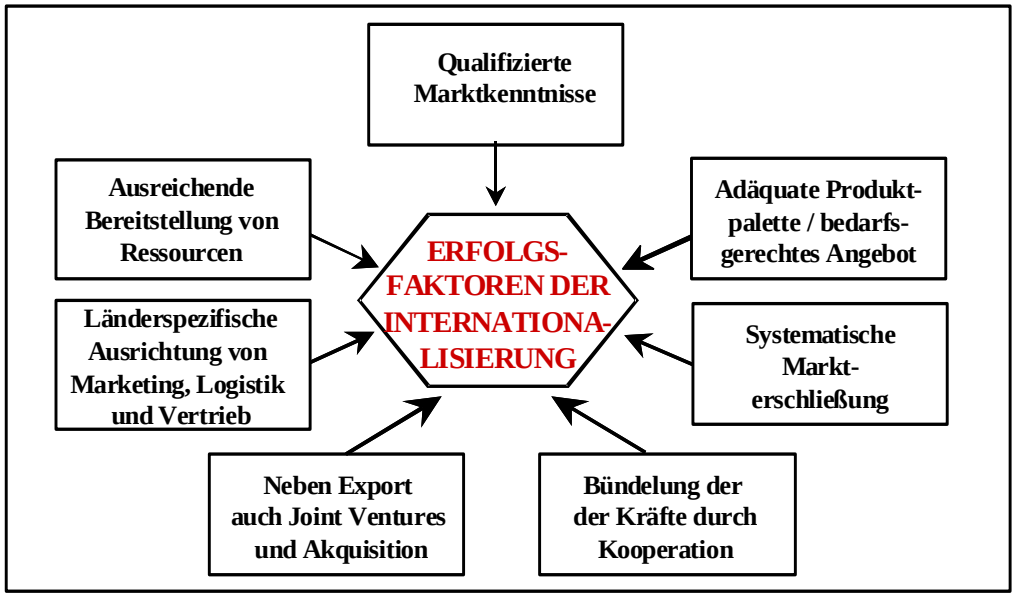
In den letzten Jahren waren es vor allem die Währungsschwankungen, die exportorientierten Molkereiunternehmen erhebliche Probleme bereiteten. Beispielweise hat in den Jahren 2008 und 2009 der Wochenwechselkurs des US-Dollar zum Euro zwischen 1,23 US-Dollar und 1,60 US-Dollar, d.h. um 30,1 %, geschwankt. Auch der russische Rubel, der für deutsche Drittlandexporte von Milchprodukten sehr bedeutsam ist, hat von Oktober 2008 bis Sept. 2009 etwa 25 % an Wert verloren. Aufgrund dieser Wechselkursschwankungen weisen auch die Erlöse bei Exporten in diese Länder große Fluktuationen auf. Durch eine breite Streuung der Absatzgebiete lässt sich dieses Risiko zumindest vermindern.

(6) Als letzter wichtiger Treiber der Internationalisierung ist die Tatsache zu erwähnen, dass **Direktinvestitionen in den Zielländern** oftmals eine **Voraussetzung für die kostenmäßige Wettbewerbsfähigkeit auf Drittlandsmärkten** darstellen. Deutschland liegt im internationalen Vergleich im Hinblick auf die Kosten des Rohstoffs, von Arbeit und Energie, sowie von Abgaben und Ertragssteuern im oberen Bereich. Milchprodukte, die auf dieser Kostenbasis kalkuliert werden, haben im Export zwar dann Chancen, wenn es sich um Spezialitäten und Premiumprodukte handelt bzw. wenn Drittlandexporte unter Inanspruchnahme von Exporterstattungen möglich sind. Der Export von Standardprodukten aus Deutschland scheitert hingegen oftmals an den zu hohen Kosten des Rohstoffs und der Verarbeitung in Deutschland.

Darüber hinaus ist darauf zu verweisen, dass eine inländische Produktion auch aus politischen Gründen und aufgrund protektionistischer Tendenzen in verschiedenen Ländern („buy national“) eine Voraussetzung für einen erfolgreichen Aufbau von Absatzmärkten sein kann. Besonders stark hat es in den letzten Jahren z.B. *Arla foods* in den Ländern des Nahen Ostens getroffen, da aufgrund der Mohammed-Karikaturen in dänischen Medien Importe aus Dänemark verpönt waren. Allein für 2006 wurde der dadurch entstandene Verlust von *Arla foods* auf 60 Mio. € geschätzt.

2. Erfolgsfaktoren der Internationalisierung milchverarbeitender Unternehmen

In Abb. 4 sind die Haupterfolgsfaktoren der Internationalisierung von Molkereiunternehmen zusammengestellt. Einige dieser Voraussetzungen für wirtschaftlich erfolgreiche Internationalisierung werden im Folgenden näher erläutert.



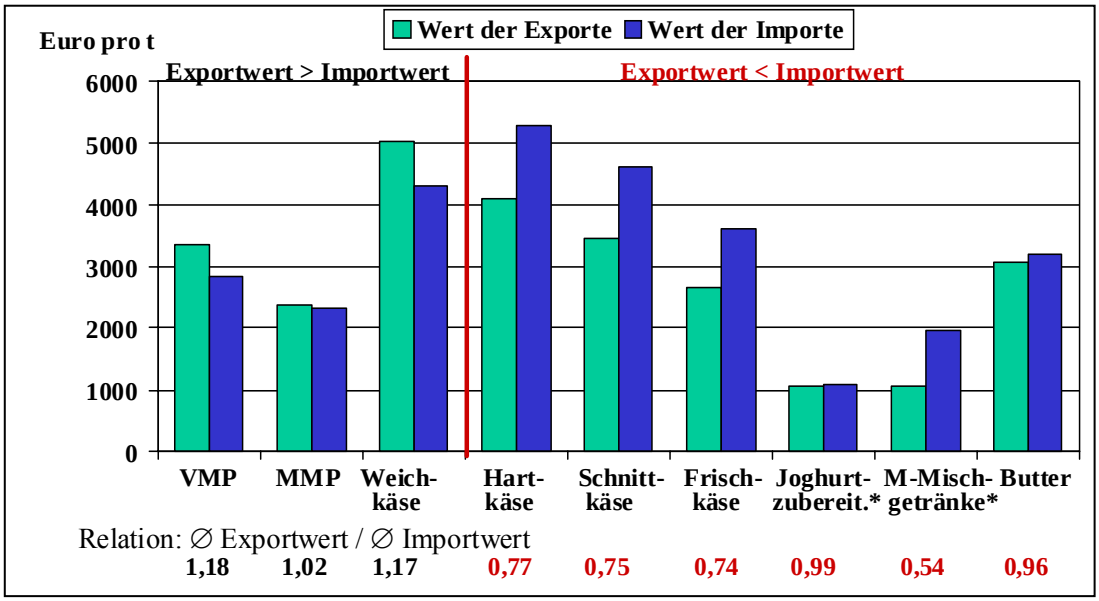
Quelle: Eigene Zusammenstellung

Abb. 4: Haupterfolgsfaktoren der Internationalisierung

Erfolgsfaktor 1: Adäquate Produktpalette / bedarfsgerechtes Angebot

Von zentraler Bedeutung für den Erfolg der Internationalisierung ist eine auf die Bedürfnisse der Zielländer zugeschnittene Produktpalette. Internationalisierung ist von vornherein zum Scheitern verurteilt, wenn sie primär dazu dienen soll, Überschussmengen zu vermarkten, die am Inlandsmarkt nicht absetzbar sind.

Deutsche Erzeugnisse haben im Prinzip im Ausland ein gutes Qualitätsimage, sie gelten allerdings als nicht besonders innovativ. Dieses Imageproblem wird untermauert durch die Tatsache, dass der deutsche Export von Molkereiprodukten einen eindeutigen Schwerpunkt beim Export von wenig veredelten Basisprodukten hat. Eine Analyse der für die Beurteilung der internationalen Wettbewerbsfähigkeit wichtigen Relation der durchschnittlichen Export- und Importwerte der Produkte unterstreicht dieses Defizit. Abb. 5 zeigt, dass nur bei Voll- und Magermilchpulver sowie bei Weichkäse der durchschnittliche Wert der deutschen Exporte pro Tonne höher ist als jener der Importe. Offensichtlich ist es deutschen Herstellern von Voll- und Magermilchpulver mittlerweile gelungen, im wichtigen Zukunftsmarkt von Spezialpulver entsprechende Angebote im Ausland zu platzieren. Für den deutschen Milchproduktexport stellt jedoch Käse mit einem Anteil von etwa 39 % im Jahr 2007 die mit Abstand wichtigste Produktgruppe dar. Hier ist der verhältnismäßig hohe positive Wert bei Weichkäse hervorzuheben. Allerdings sind die Exportmengen bei Weichkäse relativ gering. Bei den mengenmäßig dominierenden Gruppen Hart-, Schnitt- und Frischkäse betragen die Exportwerte allerdings jeweils nur etwa dreiviertel der Importwerte.



Quelle: Eigene Berechnungen und Darstellung basierend auf ZMP Marktbilanz 2008, S. 59 und MIV (2009): Zahlen – Daten – Fakten.

Abb. 5: Durchschnittlicher Wert der Exporte und Importe in Deutschland 2008

Dieses relativ schlechte Ergebnis bestätigt sich auch bei einer Detailanalyse der Relationen für Schnittkäse und Frischkäse gegenüber den wichtigen Außenhandelspartnern Frankreich, Niederlande, Italien und Österreich. Beispielsweise resultiert im Vergleich zu Frankreich bei Schnittkäse nur eine Relation von 0,59 und bei Frischkäse von 0,54. In Beziehung zu Italien betragen die entsprechenden Werte nur 0,57 und 0,66.

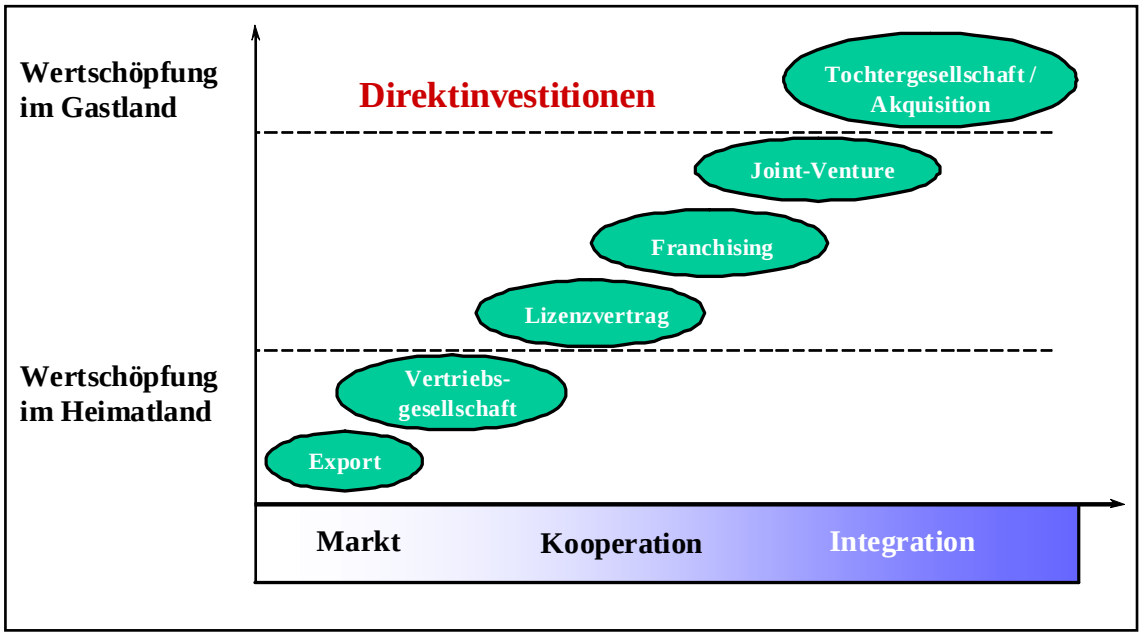
Welche Konsequenzen ergeben sich aus diesen niedrigen Exportwerten? In den letzten Jahren wurde von politischer Seite immer wieder die große Bedeutung der Milchproduktexporte für die deutsche Milchwirtschaft betont und auch auf deren potentiellen Beitrag für die Erzielung höherer Milchpreise in Deutschland hingewiesen. Dass Exporte für den Absatz der deutschen Milchwirtschaft unbedingt notwendig sind, wird auch aus dem ersten Teil der Ausführungen in diesem Beitrag deutlich.

Falls es sich beim Export allerdings primär um bulk-Ware handelt, kann davon kein wesentlicher Beitrag zur Verbesserung der Verwertung der in Deutschland verarbeiteten Milch erwartet werden.

Insbesondere im großen und wichtigen Sektor Käse hat es die deutsche Molkereiwirtschaft bisher offensichtlich nur sehr begrenzt geschafft, durch Spezialitäten, d.h. Produkte mit hoher Wertschöpfung, im Ausland Absatzmärkte aufzubauen. Hier ist die Branche und insbesondere der genossenschaftliche Molkereisektor gefordert, in wesentlich stärkerem Maße in den Bereichen Produktentwicklung und Markenaufbau zu investieren. **Langfristiger Erfolg auf den Exportmärkten ist nur durch Produkte mit hoher Wertschöpfung, nicht aber mit austauschbarer, niedrigpreisiger Massenware gewährleistet.**

Erfolgsfaktor 2: Markteintritt nicht nur durch Export, sondern auch durch Direktinvestitionen in Zielländern

Eine zukunftsorientierte Internationalisierung erfordert einen Markteintritt in ausländischen Zielländern, der neben dem Export auch Direktinvestitionen, d.h. Joint Ventures, die Akquisition bestehender Unternehmen und die Gründung von Tochtergesellschaften in den Zielländern beinhaltet (vgl. Abb. 6).



Quelle: WEINDLMAIER, H.; SCHMITZ, S. (1998), in Schriften der GEWISOLA Band 34, S. 171.

Abb. 6: Das Spektrum der Markteintrittsformen in Abhängigkeit vom Internalisierungsgrad und dem Standort

Eine Auswertung der internationalen Exportstatistiken macht deutlich, dass der Exportanteil der EU am Weltmarkt mit Milchprodukten in den letzten Jahren in fast allen Produktbereichen deutlich abgenommen hat. Nach den verschiedenen Prognosen der OECD/FAO und des amerikanischen Marktforschungsunternehmens FAPRI wird sich dieser Prozess weiter fortsetzen. Große europäische Konkurrenten der deutschen Molkereiwirtschaft haben auf diese Herausforderung reagiert, indem sie in den letzten Jahrzehnten umfangreiche Direktinvestitionen in Wachstumsmärkten, den so genannten emerging markets, getätigt haben.

Beispielsweise hat das holländische Unternehmen *Royal FrieslangCampina* 100 Produktionsstandorte in 24 verschiedenen Ländern, *Arlal foods amba* aus Dänemark hat Produktionsbetriebe in 12 verschiedenen Ländern. Auch die beiden französischen Unternehmen Bongrain und Lactalis haben umfangreiche Auslandsaktivitäten und sind in allen Weltteilen mit eigenen Standorten vertreten.

Die Auslandsaktivitäten der deutschen Molkereiwirtschaft waren demgegenüber bislang eindeutig durch Exporte in EU-Staaten und durch – in der Vergangenheit häufig durch Exporterstattungen gestützte – Drittlandexporte bestimmt. Die Zusammenstellung in Abb. 7 zeigt, dass Direktinvestitionen in Form eines Joint Ventures, durch die Akquisition bestehender Unternehmen oder die Neugründung eines Tochterunternehmens bislang nur von wenigen deutschen Molkereiunternehmen erfolgten. Dabei handelt es sich primär um süddeutsche Privatmolkereien**.** Regional sind diese Aktivitäten weitestgehend auf Osteuropa begrenzt. Die großen genossenschaftlichen Molkereien sind – im Gegensatz zu den Genossenschaftsmolkereien in den Niederlanden und in Dänemark – hier kaum vertreten. Dieses Defizit lässt sich auf verschiedene Ursachen zurückführen. Im Vordergrund steht die Tatsache, dass in Deutschland die Vertreter der Milcherzeuger in den Entscheidungsgremien der Molkereigenossenschaften häufig den Fokus alleine auf den kurzfristigen Milchauszahlungspreis richten, während strategische Entwicklungspotentiale des Unternehmens hintan gestellt werden.

Name des deutschen Unternehmens	Tochterunternehmen / Beteiligung	Zielland	Art des FDI[1)]
Ehrmann AG	Raos bei Moskau Stribo bei Pilsen	Russland Tschechien	T T
Hochland AG	Fromagerie Henri Hutin Sarl Hochland Española S.A. Hochland Plska Sp (3 Betriebe) Hochland Romania Srl (2 Betriebe) Hochland Russland 000 Fromalp AG Hochland Persien Amoi	Frankreich Spanien Polen Rumänien Russland Schweiz Iran	T T T T T B B
Meggle AG[2)]	Meggle Osijek d. d. Rajo a.s., Bratislava Alpenmilch Salzburg GmbH Alpi GmbH, Ried Meggle Mlekara d.o.o, Bihac Meggle MJ ood, Sofia	Kroatien Slowakei Österreich Österreich Bosnien-Herzog. Bulgarien	T T B B B B
Molkerei Alois Müller GmbH & Co	Müller U.K., Market Drayton Alimpex, Prag	England Tschechien	T B
Onken GmbH	Onken Marków 000 Onken, Prochorawka	Polen Russland	T T
Zott GmbH & Co	Zott Polska SP z.o.o., Opole	Polen	T
Allgäuland Käsereien GmbH	Martin Sengele SA, Muhlbach-sur-Munster	Frankreich	B
Bayerische Milchindustrie eG	Lacrum s.r.o Velke Mezirici	Tschechien	T
Hochwald Nahrungsmittelwerke GmbH	Hochwald Niederland B.V. Bolsward	Niederlande	T

1) T = Tochterunternehmen; B = Beteiligung / Joint Venture
2) Zusätzlich hat Meggle Verkaufsbüros in 12 Ländern

Quelle: Eigene Zusammenstellung

Abb. 7: Direktinvestitionen der deutschen Milchindustrie im Ausland, Stand 2009

Hier wird im Interesse der langfristigen, internationalen Wettbewerbsfähigkeit ein Umdenkungsprozess für dringend erforderlich gehalten. Es erscheint notwendig, ein **neues Gleichgewicht zwischen dem Ziel kurzfristig hoher Milchauszahlungspreise und der langfristigen strategischen Sicherung der Wettbewerbsfähigkeit des Unternehmens** zu etablieren. Der bei ausländischen und zunehmend auch bei großen deutschen Genossenschaften begangene Weg, das operative Geschäft in Holding-Strukturen auszugliedern, ist hier ein möglicher Schritt für mehr Flexibilität in den Unternehmensentscheidungen.

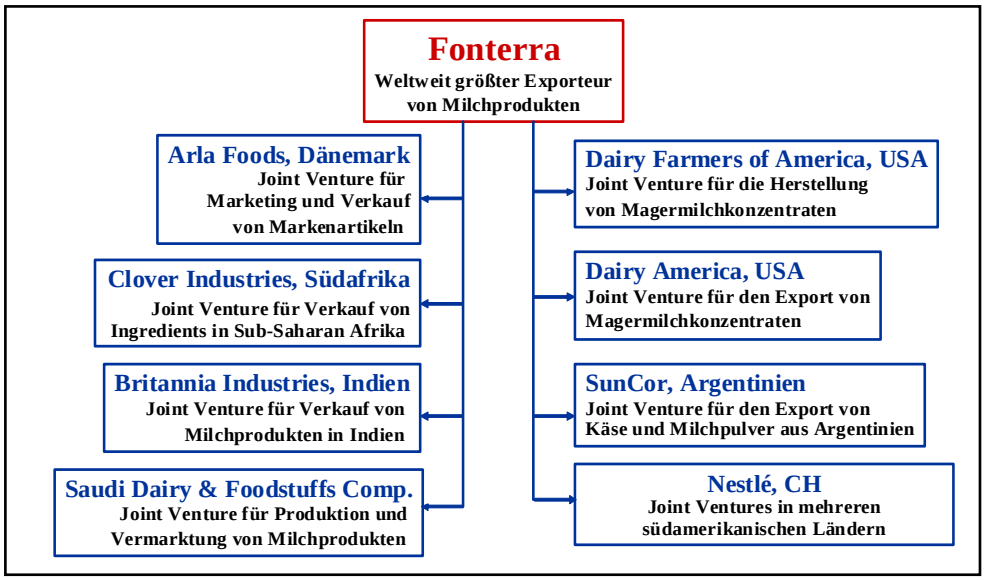
Erfolgsfaktor 3: Ausreichende Bereitstellung von Ressourcen

Internationalisierung setzt eine ausreichende und umfangreiche Bereitstellung von Ressourcen voraus. Hier geht es jedoch nicht nur um Finanzmittel, sondern es geht z.B. auch um fachlich kompetentes Personal mit entsprechender Länder- und Sprachkenntnissen und um die Bereitstellung einer leistungsfähigen Logistik.

Wer ausländische Märkte in sein Absatzgebiet aufnimmt oder gar Direktinvestitionen tätigt, kann dabei nicht mit schnell einsetzenden Returns rechnen. Herr *Maucher*, der frühere Chef von *Nestlé*, ging sogar soweit zu sagen, dass einer der entscheidenden Vorteile von Großunternehmen wie *Nestlé* darin besteht, dass sie in der Lage sind, Verluste, die z.B. bei der Entwicklung und dem Aufbau von Auslandsmärkten entstehen, über einen längeren Zeitraum durch Gewinne aus anderen Unternehmensteilen zu kompensieren.

Erfolgsfaktor 4: Bündelung der Kräfte durch Kooperation und Joint Ventures

Eine Bündelung der Kräfte, des Know-hows und der Ressourcen kann gerade für die mittelständische Molkereiwirtschaft den Prozess der Internationalisierung erheblich erleichtern. Ein prototypisches Beispiel für umfangreiche, internationale, strategische Allianzen bietet die neuseeländische Molkerei *Fonterra*: *Fonterra* ging strategische Allianzen in Südostasien, im Nahen Osten, in Nord- und Südamerika und in Europa ein (vgl. Abb. 8).



Quelle: Eigene Darstellung basierend auf BLAYNEY, D. et al. (2006): U.S. Dairy at a Global Crossroad, USDA/ERS, No. 28

Abb. 8: Strategische Allianzen / Joint Ventures (Beispiele) des neuseeländischen Unternehmens Fonterra

Das Ziel von *Fonterra* ist es, bei Standardprodukten eine aktive Marktsteuerung zu betreiben, um auf diese Weise das Ausmaß der Marktschwankungen zu begrenzen.

Erfolgreiche internationale Joint Ventures im Molkereibereich hat z.B. auch das Schweizer Unternehmen *Emmi* für die Vermarktung von Emmi Caffé Latte mit einem USA-Partner sowie mit einem spanischen Partner für den spanischen und südamerikanischen Markt etabliert.

Durch die Zwangsauflösung der CMA ist für kooperatives Auslandsmarketing der deutschen Molkereiwirtschaft eine Lücke entstanden. Es ist zu hoffen, dass die verschiedenen neu entstandenen Aktivitäten bald wieder zu einer schlagkräftigen Auslandsmarketinggesellschaft gebündelt werden. Nach wie vor bieten aber z.B. die milchwirtschaftlichen Landesvereinigungen sowie die Industrie- und Handelskammern umfangreiche Hilfen beim Auslandsmarketing an. Für Unternehmen der Molkereiwirtschaft, die international tätig sind bzw. werden wollen, ist dies eine kostengünstige Möglichkeit, Kontakte zu Auslandsmärkten zu knüpfen.

3. Fazit

Für eine verstärkte Internationalisierung der deutschen Molkereiwirtschaft gibt es eine Vielzahl wichtiger Gründe. Bereits in der Vergangenheit spielten Exporte für den Absatz deutscher Molkereiprodukte eine herausragende Rolle. Die Analyse der Erfolgsfaktoren der Internationalisierung zeigt vor allem zwei Defizite. Diese liegen zum einen beim relativ niedrigen Exportanteil von Produkten mit hoher Wertschöpfung. Zum anderen sollten neben dem Export Direktinvestitionen in Ländern mit hohem Wachstum einen wesentlich höheren Stellenwert bekommen als bisher. Insbesondere in der genossenschaftlichen Molkereiwirtschaft wird es für erforderlich gehalten, dem Aufbau strategischer Erfolgspotentiale – und dazu zählt auch die Internationalisierung – ein wesentlich größeres Gewicht beizumessen als bisher.

Dissertationen, Master Thesis

Dissertationen

Buschendorf, Hendrik, Dr. oec.; Technische Universität München, 29.01.2009: “Optimierung der Betriebsstättenstruktur als Ausgangspunkt unternehmerischer Optionen der Molkereiwirtschaft Deutschlands“.

Uffelmann, Wilhelm, Dr. oec.; Technische Universität München, 28.05.2009: " Evaluierung verschiedener Intensitätsgrade der Erfüllung der Kriterien Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit im Fleischverarbeitungssektor - eine empirische Analyse.

Lehre, Vorträge

Lehre

Im Jahr 2009 wurden von Prof. Dr. H. Weindlmaier folgende Lehrveranstaltungen am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München abgehalten:

Bezeichnung	Wintersemester		Sommersemester	
	V	Ü	V	Ü
Studiengang Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel (Diplom und Master)				
Produktions- und Absatzwirtschaft der Ernährungsindustrie	2			
Grundlagen der Betriebswirtschaftslehre Milch verarbeitender Unternehmen	2			
Marketingmanagement Milch verarbeitender Unternehmen			2	1

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

Vorträge

Weindlmaier, Hannes

„Perspektiven und Handlungsbedarf der deutschen Milch- und Molkereiwirtschaft vor dem Hintergrund sich ändernder Rahmenbedingungen“
Branchenseminar Milch der Gewerkschaft NGG Nord, Lüneburg, 28. Januar 2009.

„Herausforderung Milchquotenausstieg: Die Marktsituation und -entwicklung“
Tagung der evangelischen Akademie Loccum, 07. Februar 2009.

„Auswirkungen der globalen Entwicklungen am Milchmarkt für die österreichische Milch- und Molkereiwirtschaft“
15. Österreichische Wintertagung für Grünland- und Viehwirtschaft, Aigen im Ennstal, 12. Februar 2009.

„Perspektiven und Handlungsbedarf der deutschen Milch- und Molkereiwirtschaft vor dem Hintergrund sich ändernder Rahmenbedingungen“
Mitgliederversammlung der Milcherzeugergemeinschaft Milchvermarktung Freising wV, Pfaffenhofen, 5. März 2009.

„Aufgrund der aktuellen Milchpreisentwicklung: Droht den bayerischen Milcherzeugern das Aus?“
Vertreterversammlung der Milcherzeugergemeinschaft Wasserburg – Ebersberg w.V. Eiselfing, 16. April 2009.

„Handlungsbedarf der österreichische Milch- und Molkereiwirtschaft aufgrund der globalen Entwicklungen am Milchmarkt“
Generalversammlung des Milchhofes Salzburg, St Leonhard bei Salzburg, 06. Juni 2009.

„Entwicklungstendenzen in der Milcherfassung: Situation und Ansatzpunkte für Kosteneinsparungen“
4. Fachtagung Milchsammel-Logistik von Optitool, Regensburg, 18. Juni 2009.

„Anpassungsmöglichkeiten und -erfordernisse in den Strukturen und Strategien der deutschen Molkereiwirtschaft“
Hauptseminar der Agrarökonomie der Universität Hohenheim, 25. Juni 2009.

„Strukturwandel in der Deutschen Milchindustrie – Entwicklungen, Perspektiven, Bestimmungsgründe“
International Dairy Federation: World Dairy Summit, Berlin, 22. September 2009.

„Entwicklungen am Milchmarkt – Perspektiven und Strategien der Mich- und Molkereiwirtschaft“
Abteilungsleiterseminar der Frischli Milchwerke, Rehburg, 12. September 2009.

„Optionen für die einzelbetriebliche Mengensteuerung am Milchmarkt nach dem Ende der Quotenregelung 2015 - Ansatzpunkte und Problembereiche -“
Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2009, Freising-Weihenstephan, 01. Oktober 2009.

„Optionen für die einzelbetriebliche Mengensteuerung am Milchmarkt nach dem Ende der Quotenregelung 2015 - Ansatzpunkte und Problembereiche -“
Agrarpolitisches Seminar des VDL Landesverbandes Bayern e.V., Wolnzach, 16. Oktober 2009.

„Perspektiven und Strategien der Milch- und Molkereiwirtschaft“
Generalversammlung der Milchliefergenossenschaft Fallingbostel, Hünzingen/Walsrode, 19. November 2009.

„Entwicklungen am Milchmarkt: Anpassungsbedarf für die Milch- und Molkereiwirtschaft“
Nordschwäbischer Milchviehtag, Bissingen, 25. November 2009.

„Internationalisierung als strategische Herausforderung der deutschen Molkereiwirtschaft“
Agrarmarketingtage 2009, Berlin; 07. Dezember 2009.

Beratung, Medienarbeit

Medienarbeit

Auch im Jahr 2009 gab es Anfragen verschiedener Medien an Prof. Weindlmaier zu Interviews zur aktuellen Situation am Milchmarkt und in der Milch- und Molkereiwirtschaft. Die wichtigsten sind im Folgenden aufgeführt:

Datum	Art des Medienbeitrages	Medium
26.01.2009	Experte im Studio des Bayerischen Rundfunks zum Thema “Aktuelle Milchpolitik“	Sendung „Notizbuch BR2“ am 27.01.2009
15.03.2009	Interview mit Tageszeitung	Stuttgarter Nachrichten vom 18.03.2009. Beitrag: „Milch-Streik zum falschen Zeitpunkt“
21.04.2009	Interview im Studio des Bayerischen Rundfunks in München	Sendung von „SWR2 Kontext“ am 22.04.2008 zum Thema: „Bauern in der Preisfalle“
27.04.2009	Interview mit Tageszeitung	Süddeutsche Zeitung vom 28.04.2009. Beitrag: „Wir sind es doch, die in der Krise stecken“.
05.05.2009	Interview mit holländischer Fachzeitung	Molkereimagazin ZuivelZicht über deutsche und bayerische Molkereiwirtschaft
13.05.2009	Interview mit Tageszeitung	Stuttgarter Nachrichten
14.05.2009	Fernsehinterview	RTL für Nachrichtensendung um 18:45 Uhr

21.07.2009	Telefoninterview mit Tagesschau.de	Veröffentlichung auf der Homepage der Tagesschau am 22.07.2009 unter dem Titel „Es gibt einfach zu viel Milch“.
06.10.2009	Radio Life-Interview	Life-Interview mit Radio Bremen 1 in der Sendung „Der Morgen“.
19.10.2009	Telefoninterview mit Deutscher Welle, Bonn	Interview aus Anlass des Ministerrats in Luxemburg: „280 Mio. für Milchbauern“
19.10.2009	Telefoninterview mit Südwestfunk 2	Interview aus Anlass des Ministerrats in Luxemburg: „280 Mio. für Milchbauern“.

Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen

Weindlmaier, H.

Vorsitzender im Arbeitskreis Ökonomie der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft. In dieser Funktion Organisation und Moderation des betriebswirtschaftlichen Teils der Tagung der Milchwissenschaftlichen Gesellschaft, 17.09.-18.09.2009 in Wien.

Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes, Berlin.

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

Auf Einladung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz Teilnahme an einem Gesprächskreis zur Wettbewerbsfähigkeit der Wertschöpfungskette Milch, 26.06.2009 und 17.07.2009 in Berlin.

Veröffentlichungen

Buschendorf, H. (2009): "Optimierung der Betriebsstättenstruktur als Ausgangspunkt unternehmensstrategischer Optionen der Molkereiwirtschaft Deutschlands". Online im Internet: http://mediatum2.ub.tum.de/doc/657079/657079.pdf.

Obersojer, T. (2009): Efficient Consumer Response. Supply Chain Management für die Ernährungswirtschaft. Wiesbaden: Betriebswirtschaftlicher Verlag Gabler, Edition Wissenschaft.

Ruderer, C.J.M.-A. (2009): Unternehmensweites Risikomanagement in verarbeitenden Unternehmen. Schriftenreihe Strategisches Management, Band 73, Hamburg: Verlag Dr. Kovač.

Weindlmaier. H. (2009): Anpassungserfordernisse. Zukunftswege für die bayerische Molkereiwirtschaft. In: molkerei-industrie, Teil 2: 01/09, S. 22-25.

Weindlmaier, H. (2009): Bayern: 10 starke Molkereien würden genügen. In: top agar 3/2009, S. R12-R18.

Weindlmaier, H. (2009): Struktur und Strategie in der Milchbranche verbessern. Interview mit Landwirtschaftliches Wochenblatt Baden-Württemberg, 176. Jg., Nr. 12, S. 6.

Weindlmaier, H. (2009): Herausforderung Milchquotenausstieg und die Zukunft der Molkereien. In: Meine Milchwelt. Das Magazin für die Milchlieferanten der Nordmilch. April 2009, S. 4-5.

Weindlmaier, H.. (2009): Milch-Mengensteuerung – Ansatzpunkte, Probleme, Alternativen. In: molkerei-industrie, Teil 1: 05/2009, S. 19-21, Teil 2: 06/2009, S. 24-26.

Weindlmaier, H. (2009): Die Sicherung des Rohstoffs Milch in volatilen Märkten: Entwicklungen und Implikationen. In: Jahresbericht 2008 über Milchwissenschaftliche Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL), Technische Universität München, S. 36-42.

Weindlmaier, H. (2009): Landwirte auf lange Sicht vertraglich binden. Gastkommentar in Ernährungswirtschaft Agrarzeitung. Nr. 51/52, S. 3.

Weindlmaier, H; Betz. J. (2009): Zur aktuellen Situation der Milcherfassung in Deutschland und Österreich im Jahr 2007. In: Deutsche Milchwirtschaft, 60. Jg., S. 12-17.

Weindlmaier, H.; Huber, A. (2009): Zur Einführung einer Warenterminbörse für Milch und Milchprodukte in Deutschland. Unveröffentlichter Arbeitsbericht für das Bayerische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten, 17 S.

Weindlmaier, H.; Huber, A. (2009): Kostensenkungspotentiale in der bayerischen Molkereiwirtschaft. Unveröffentlichter Arbeitsbericht für das Bayerische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten, 26 S.

Weindlmaier, H.; Dustmann, H. (2009): Marktentwicklungen und Marktpotentiale von Health Food. Unveröffentlichter Arbeitsbericht für das Bayerische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten, 29 S.

Weindlmaier, H.; Obersojer, Th. (2009): Optionen für die einzelbetriebliche Mengensteuerung am Milchmarkt. In: AGRA-EUROPE 46/09, Dokumentation 1-11.

Weindlmaier, H.; Uffelmann, W. (2009): Die Kette erfolgreicher gestalten. Wertschöpfungskette Fleisch unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit. In: Fleischwirtschaft. Teil 1: Nr. 10/2009, S. 24-28; Teil 2: Nr. 11/2009, S. 31-35; Teil 3: Nr. 12/2009, S. 27-30.

Lehrstuhl für BWL – 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: mcr@tum.de

Personal

Leitung:	Prof. Dr. Jutta Roosen	-3318
Sekretariat:	Flax Renate	-3316
	Brandstetter Helga	-3316
Wissenschaftler:	PD Dr. Gedrich Kurt	-3985
	Dr. oec.troph Drescher Larissa	-3974
	Dr. oec.troph Zängler Thomas	-5086
	Dipl.-Ökotroph. Dittrich Juliane	-5087
Doktoranden:	Aue Katja M.Sc.	-3297
	Bieberstein Andrea M.Sc.	-3577
	Köttl Barbara M.Sc.	-3949
	Dipl.-Ökotroph. Lax Jutta	-3869
	Mecking Rebecca M.Sc.	-3577
	Olearius Götz M.A.	-3972
	Dipl.-Ökotroph.(FH) Richter Almut	-3316
	Schmitz Brigitte M.Sc.	-4360
	Dipl.-Ökotroph. Wagner Kornelius	-4215

Forschung

Risk, Uncertainty and Regulation: Consumer acceptance of food nanotechnology in Germany and France and the importance of consumer information
Prof. Dr. Jutta Roosen, Andrea Bieberstein, M. Sc.

The diffusion of food and food-packaging produced by means of nanotechnology is likely to rise over the next few years and it is expected to improve food quality e.g. with regard to the preservation and functionality of foods. On the other hand, nanotechnology in the food domain is surrounded by high levels of uncertainty with regard to risks for health, environment and society as a complete calculation of risk, probabilities or damage is missing or not possible. This project broaches consumers' decisions in the context of this uncertainty.

By means of laboratory experiments and web surveys in Germany and France this project aimed to:

- evaluate the impact of different types of information on risk and benefits of nanotechnology on consumer willingness to pay for nanotechnology food applications

- determine the economic value of nanotechnology product introduction and additional information about health consequences of nanotechnology applications

- to examine whether consumer acceptance or rejection of food nanotechnology differs between France and Germany and depends on the type of application

Results show that consumers in both countries are reluctant regarding nanotechnology food innovations and the profit variations suggest that the emergence of these new products is unlikely. Moreover, for both countries, health information is of priority for consumers and giving people information about health impacts while introducing nanotechnology products into the market is necessary for guaranteeing a welfare improvement. Consumer acceptance of food nanotechnology seem to further depend on the type of application, however application specific reactions differ between France and Germany.

Thank: This projected was funded by the German Research Foundation (DFG) and the French Research Foundation (ANR).

Handelskettenloyalität im deutschen Lebensmitteleinzelhandel beim Kauf von Molkereiprodukten

Götz Olearius, M.A.; Prof. Dr. Jutta Roosen

Im Rahmen des DFG-Verbundprojekts ‚Preisbildung und Einkaufsverhalten im Lebensmitteleinzelhandel: Eine Analyse unter Berücksichtigung dynamischer Prozesse' wird von einem Teilprojekt die Handelskettenwahl und Handelskettenloyalität der Konsumenten beim Kauf von Produkten der Weißen Linie (Molkereiprodukte) untersucht. Als Datengrundlage wird ein Panel-Datensatz der Gesellschaft für Konsumforschung (GfK) mit mehr als 13.000 Haushalten aus dem Jahr 2002 verwendet. Die Warengruppe der Molkereiprodukte (u. a. Trinkmilch, Joghurt, Quark) eignet sich besonders für eine Analyse des Einkaufsverhaltens, da dieser Warengruppe eine Ankerfunktion (z. B. bei der Preiswahrnehmung) zugesprochen wird.

Mit Hilfe von multivariaten Analysemethoden wird herausgefunden, dass die Kunden der 10 größten Lebensmitteleinzelhandelsketten eine hohe Loyalität zeigen. Das kann u. a. mit dem hohen Anteil der Haushalte von mehr als 80 % belegt werden, die in ihrer Haupteinkaufsstätte mehr als die Hälfte ihrer Ausgaben für Molkereiprodukte tätigen. Somit überwiegt die Gruppe der loyalen Käufer deutlich und dementsprechend machen die neutralen und nicht-loyalen Käufer ('Shopper') nur einen kleinen Teil bei der Segmentierung des Panels aus. Auf der Formatebene konnten keine eindeutigen Unterschiede zwischen den einzelnen Betriebstypen (Discounter, SB-Warenhäuser und Supermärkte) nachgewiesen werden. Hinsichtlich der soziodemographischen Eigenschaften von loyalen und nicht-loyalen Käufern zeigt sich loyales Verhalten besonders bei jungen Singles und alleinstehenden Senioren. Nur wenig loyal sind junge Familien mit Kleinkind. Eine weitere wichtige Kennziffer der Handelskettenloyalität ist die Wechselhäufigkeit. Hierbei hat sich herausgestellt, dass häufig Sonderangebote anderer Ketten die Ursache eines Handelskettenwechsels sind.

Danksagung: Das Projekt wird durch die DFG gefördert.

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Frau Dipl. oec. troph. Cornelia Rauscher: „Entwicklung eines Zertifizierungssystems in der Gemeinschaftsverpflegung“, November 2009

Diplomarbeiten

Emmerlich Nadine: „Kundenbindung durch Kundenkartenprogramme - eine empirische Studie im Lebensmitteleinzelhandel“

Jörg Thomas: „Kundenzufriedenheitsanalyse im Merchandising am Beispiel der FC Bayern München AG“

Knappe Cornelius: „Marketing-Management im deutschen Profifußball - Der Kids Club als Plattform für Mitglieder im Kindes- und Jugendalter, dargestellt am Beispiel von 1860 GmbH & Co. KGaA“

Landstorfer Michael: „Marketing with digital media - using the example of Mvescount.com“

Masterarbeiten (Master Thesis)

Bellonias Loukas N.: „Consumption and Savings of private Households in Germany regarding their position in the Life Cycle“

Bialkowski Alexander: „Die Anwendung eines modifizierten Kano-Modells zur Entwicklung des optimalen Smoothies“

Elsner Caroline: „Erfolg Dorfladen - Beurteilung der Kundenbindungsfaktoren anhand einer Verbraucherumfrage“

Eraydin Gülin: „Globalisation of the European Food Retail“

Jiptner Katharina: „Der Markt für innovative Konsummilch“

Mesch Christina: „School lunch as a potential market for the company Dr. August Oetker Nahrungsmittel KG - A customer segment analysis“

Pfundtner Thomas Maximilian: „Neukonzipierung der Fendt After-Sales-Betreuung von Endkunden durch Fahrertrainings“

Reichert Irmingard: „Markt und Wettbewerb für funktionelle Milchprodukte“

Ruf Judith: „Kartenbasierte Kundenbindungsprogramme: Versuch einer Erfolgsanalyse“

Schaub Julia Anna: „Verbraucherakzeptanz funktioneller Lebensmittel unter besonderer Berücksichtigung von Aspekten der personalisierten Ernährung“

Schöps Johanna: „Analyse der aktuellen Verpflegungssituation an bayerischen Schulen auf der Grundlage einer onlinebasierten Vollerhebung“

Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Zeitschriften / Scientific Journals

Drescher, L., Thiele, S., Roosen, J., Mensink, G.B. (2009): Consumer demand for healthy eating considering diversity - an economic approach for German individuals. International Journal of Consumer Studies, Forthcoming. Published online August 19, 2009.

Drescher, L.S., Grebitus, C., Herzfeld, T. (2009):Spread of retailer food quality standards: A transition countries perspective. Outlook on Agriculture, 38, 1, 15-21.

Goldberg, I., Roosen, J., Nayga, R.M. (2009): Parental Response to Health Risk Information: A. Lab Experiment on Evaluating Willingness-toPay for Safer Infant Milk Formula. Health Economics, 18, 503-518.

Köttl B., Dittrich J., Dokoupil J., Matuskova A., Roosen J. (2009): Verbraucherschutz im Grenzgebiet: Eine Befragung deutscher und tschechischer Konsumenten. Vierteljahrshefte zur Wirtschaftsforschung 78 (3), 160-174.

Marette S., Roosen J., Bieberstein A., Blanchemanche S. And Vandermoere F. (2009): Impact of Environmental, Societal and Health Information on Consumers' Choises for Nanofood.. Journal of Agricultural & Food Industrial Organization: Vol. 7: Iss. 2, Article 11.

Naska A, Berg Ma, Cuadrado C, Freisling H, Gedrich K, Gregoric M, Kelleher C, Leskova E, Nelson M, Pace L, Remaut Am, Rodrigues S, Sekula W, Sjöstrom M, Trygg K, Turrini A, Volatier Jl, Zajkas G, Trichopoulou A; Dafne Participants (Incl. Wagner K, Karg G) (2009): Food balance sheet and household budget survey dietary data and mortality patterns in Europe. Br J Nutr 102, 166-71.

Roosen J., Bruhn M., Mecking R.-A., Drescher L.S. (2009): Consumer Demand for Personalized Nutrition and Functional Food. International Journal of Vitamin Nutrition Research, 78, 6, 269-274.

Roosen, J., Marette, S., Blanchemanche S., Verger P. (2009): Does Health Risk Information Matter for Modifying Consumption? A Field Meassuring the Impact of Risk Information on Fish Consumption. Review of Agricultural Economics, 31(1), 2-20.

Stiegler P, Sausenthaler S, Buyken Ae, Rzehak P, Czech D, Linseisen J, Kroke A, Gedrich K, Robertson C, Heinrich J (2009): A new FFQ designed to measure the intake of fatty acids and antioxidants in children. Public Health Nutr 28, 1-9.

Verbeke, W., Roosen, J. (2009): Market Differentiation Potential of Country-of-origin, Quality and Traceability Labeling. Estey Center Journal of International Law and Trade Policy 10 (1), 20-35.

Abstracts

Diekhans J, Wagner Kr, Gedrich K (2009):

School lunch in Bavaria/Germany varies substantially with respect to nutritional quality and organisation. Ann Nutr Metab 55 (Suppl 1), 212 [Remark: The editors misspelled DJ's surname as Dierkes.]

Tagungsbeiträge / Conference Proceedings

Bieberstein A., Roosen J., Marette S., Blanchemanche S. And Vandermoere F. (2009):

Impacts of Information and Information Choise on Consumer Willigness-to-Pay for Nanotechnologies in Food. Paper prepared for presentation at the "CARR Graduate Colloquium 2009, at the London School of Economics and Political Science, September 18, London

Bieberstein A., Vandermoere F., Roosen J., Blanchemanche S. And Marette S. (2009):

Food-risk perception and gender - What are the driving forces behind the gender gap?. Paper prepared for presentation at the 2009 EAAE PhD Workshop, September 10-11, Giessen

Drescher, L.S. (2009):

Food labelling in Europe: nutrition, health claims and signposting.. Präsentiert auf dem "Workshop on Challenges of Consumer Research and Food in a Chinging Environment", 16.02.2009, TU München, Freising-Weihenstephan

Drescher, L.S., Goddard, E. (2009):

Diet quality in Canada: comparing healthy food diversity in 1984, 1996 and 2001. Selected Paper. Präsentiert auf der Statistics Canada Socio-economic Conference 2009, 4.-5. Mai, Palais des congrès de Gatineau, Ottawa, Kanada

Drescher, L.S., Goddard, E. (2009):

Does Canadian sonsumers' trust in the food industry influences processed and unprocessed meat expenditures.. Consumer and Market Demand Research Network Conference "Consumer demand for calue-added food attributes: understanding reactions to food production and health characteristics", 6.-7. Mai , Ottawa, Kanada

Schriftenreihen, Sonstige Berichte / Scientific Series, Working Paper

Mecking R.-A., Bruhn M., Drescher L., Krabbenhöft N., Roosen J. (2009):

Marktpotenzial funktioneller Lebensmittel für eine personalisierte Ernährung. Diskussionsbeitrag Nr. 09/1, Diskussionsbeitragsreihe Consumer Affairs, Freising

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie

Adresse:

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

Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Scherer	-3516
Sekretariat:	Brigitte Stable	-3516
	Maria Thole	-3516
Wissenschaftler:	PD Dr. Thilo Fuchs	-3859
	Dr. Stefanie Goerges (bis 28.02.2009)	-5570
	Dr. Genia Lücking	-5091
	Dr. Stefanie Müller (seit 01.02.2009)	-3945
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Herbert Seiler	-2257
	Dr. Henriette Ullrich (bis 30.06.2009)	-3518
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Tobias Bauer	-5091
	Dipl.Biol. Anne Bleicher	-3945
	Dipl.Biol. Nicole Büchl	-5570
	Dipl.Biol. Elrike Frenzel	-3518
	Dipl.Ing. (FH) Meike Gabert (bis 30.04.2009)	-3945
	Dipl.Bio. Daniela Kaspar (seit 01.01.2009)	- 3851
	Dipl.Biol. Carsten Kröger	-3859
	Dipl.oec.troph. Evi Lang Halter	-3518
	Mag.rer.nat. Gernot Rieser	-5570
	Dipl.Biol. Roman Rösemann (bis 30.06.2009)	-3859
	Dipl.oec.troph. Verena Schmidt	-5570
	Dipl.Biol. Samir Velagic	-5091
Technische Mitarbeiter:	Michaela Bauer	-3504
	Andreas Bischof (bis 31.08.2009)	-5098
	Daniela Eder (seit 01.03.2009)	-3520
	Angela Felsl	-5357
	Rita Festl	-5566
	Petra Hartberger	-5566
	Gertrud Huith	-3946
	Angela Kempe	-5566
	Hildegard Maier	-5564
	Romy Renner	-3520
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-3517
	Laura Tschernek (Azubi)	-3520

Einführung

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

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

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

Deutscher Akkreditierungs Rat

DAR

DGA-PL-6503.07

In unserem Auftragslabor für Pathogendiagnostik werden Lebensmittelproben im Auftrag der Industrie nach amtlichen Untersuchungsmethoden auf Krankheitserreger untersucht. Fundierte Kenntnisse und langjährige Erfahrung im Umgang mit pathogenen Keimen zeichnen unsere Mitarbeiter aus. Unser Dienstleistungslabor ist nach DIN EN ISO / IEC 17025 akkreditiert (DGA-PL-6503.07).

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

Forschung

Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten

Gruppenleiterin: Mareike Wenning

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

Seit nunmehr 13 Jahren arbeitet die Abteilung Mikrobiologie des Z I E L an der Entwicklung der Fourier-transform Infrarot (FTIR)-Spektroskopie, einer Technik, die für den Routineeinsatz prädestiniert und eine viel versprechende Alternative zur Lösung dieses Problems zu sein scheint. Die FTIR-Spektroskopie ist eine einfache, kostengünstige und universell einsetzbare Technik für die Identifizierung von Mikroorganismen und gewinnt seit Jahren zunehmend Akzeptanz in der Lebensmittelanalytik. Sie nutzt die Eigenschaft von Molekülen, infrarotes Licht spezifisch zu absorbieren und in einem Spektrum die Information über die komplette biochemische Zusammensetzung eines Mikroorganismus zu vereinen. Infrarotspektren von Mikroorganismen sind so charakteristisch, dass die Technik auch als ‚fingerprinting technique' bezeichnet wird. Steht eine Datenbank mit Referenzspektren bekannter Organismen zur Verfügung, kann diese zur Identifizierung von Spektren unbekannter Organismen genutzt werden. Die Methode hat einige wesentliche Vorteile gegenüber anderen Methoden. Sie verursacht erstens fast keine laufenden Kosten, da keine Reagenzien und kaum Verbrauchsmaterialien benötigt werden. Zudem ist sie für Laborpersonal sehr leicht zu erlernen und einfach anzuwenden. Die zur Identifizierung genutzten Datenbanken können über eine Erweiterung mit neuen Referenzspektren spezifisch an bestimmte Keimfloren, z.B. betriebsinterne Floren, angepasst werden, und schließlich ist die Technik so sensitiv, dass teilweise auch auf Stammebene eine Differenzierung möglich ist. Dies schafft neue Möglichkeiten zur Aufdeckung von Kontaminationsrouten und der Kontrolle von Starterkulturen. Auch in der Forschung eröffnet die FTIR-Spektroskopie neue Möglichkeiten, da nun durch die Eignung zur Hochdurchsatzanalyse von Mikroorganismen aufgrund einer starken Automatisierung die detaillierte Analyse mikrobieller Populationen mit vertretbarem Aufwand durchführbar ist.

Differenzierung probiotischer Milchsäurebakterien mit FTIR-Spektroskopie

Differentiation of probiotic lactic acid bacteria by FT-IR spectroscopy

Mareike Wenning

Die mikrobiologische Qualität von Futtermitteln wird im Wesentlichen über die Bestimmung der Gesamtkeimzahl ermittelt, die jedoch bei Erzeugnissen, denen probiotisch wirkende Mikroorganismen wie Hefen, Bazillen oder Milchsäurebakterien zugesetzt wurden, nicht aussagekräftig ist. Problematisch ist dies v.a. bei Produkten, die laut Deklaration keinen probiotischen Zusatz haben, da hohe Keimzahlen hier schlechte mikrobiologische Qualität bedeuten. Dennoch können auch solche Produkte über Kreuzkontamination oder eine unterlassene Deklaration probiotische Organismen enthalten, deren Identität jedoch nur über eine exakte Bestimmung der Spezies und des Stamms ermittelt werden kann. Allerdings gibt es bis heute keine einfache, kostengünstige und dennoch verlässliche Methode für die Stammtypisierung, da diese Analysen bislang mit molekularbiologischen Verfahren wie randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)-PCR oder Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) durchgeführt werden. Die FTIR-Spektroskopie könnte hier eine vielversprechende Alternative sein, da sie sowohl für die Artidentifizierung als auch die Typisierung von Organismen unterhalb des Speziesniveaus geeignet ist. Im vorliegenden Projekt wurde die Eignung der FTIR-Spektroskopie zur Differenzierung probiotischer und ubiquitärer Milchsäurebakterien der Arten *Enterococcus faecium* und *Lactobacillus rhamnosus* getestet.
Für *Ec. faecium* standen fünf unterschiedliche probiotische Stämme (CECT 4515, DSM 3530, DSM 7134, NCIMB 10415 NCIMB 11181) sowie 15 ubiquitäre Isolate zur Verfügung; für *Lb. rhamnosus* nur ein Probiotikum (DSM 7133) und fünf ubiquitäre Stämme. Für alle Isolate wurden FTIR-Spektren aufgenommen und die Daten für die Entwicklung eines Differenzierungssystems mit künstlichen neuronalen Netzen (KNN) verarbeitet. Hier werden die Referenzdaten in Klassen eingeteilt und die Differenzierung dieser Klassen dem KNN antrainiert. Für *Lb. rhamnosus* wurden die zwei Klassen ‚probiotisch' und ‚ubiquitär' definiert und das resultierende KNN erreichte eine optimale Zuverlässigkeit von 100 % korrekten Zuordnungen. Die Problemstellung für die *Ec. faecium*-Isolate war etwas komplizierter, da hier nicht nur eine Trennung von probiotisch und ubiquitär, sondern auch die Differenzierung der fünf einzelnen Probiotika erzielt werden sollte. Dazu wurde die Problemlösung in mehrere Stufen unterteilt, für die jeweils ein eigenes KNN trainiert wurde und die dann zu einem großen Netz zusammengesetzt wurden (Abb. 1).

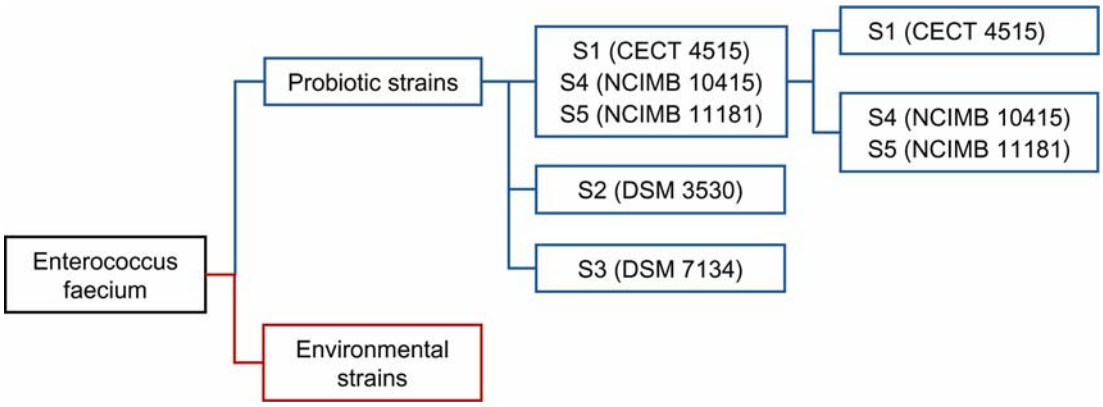


Abb. 1: Hierarchische Struktur des entwickelten KNN zur Differenzierung von probiotischen und ubiquitären Ec. faecium-Stämmen sowie zur Identifizierung einzelner probiotischer Stämme.

So erfolgte auf Ebene 1 die Trennung von probiotischen und ubiquitären Isolaten und auf den zwei folgenden Ebenen die Differenzierung der Probiotika voneinander. Da zwei Stämme (NCIMB 10415 und 11181), die unter unterschiedlichen Sammlungsnummern als Futtermittelzusätze zugelassen sind, weder mit FTIR-Spektroskopie noch mit molekularbiologischen Methoden zu unterscheiden waren, wurden diese in einer Klasse zusammengefasst. Eine Validierung des entwickelten KNN mit unbekannten Isolaten erreichte eine Quote von 97,1 % korrekten Zuordnungen, wobei auf der ersten Ebene 98,3 % erzielt wurden. Somit ist nicht nur die Trennung von probiotischen Futtermittelzusätzen und ubiquitären Kontaminationskeimen mit hoher Zuverlässigkeit möglich, sondern auch eine Differenzierung der einzelnen probiotischen Stämme.
FTIR-Spektroskopie stellt demnach eine exzellente und sehr zuverlässige Alternative für die Stammtypisierung im Routinelabor dar und kann zudem auch für die Artidentifizierung genutzt werden. Sie ist damit eine der ganz wenigen Techniken, die eine simultane Identifizierung und Subtypisierung von Mikroorganismen ermöglichen.

Mikroflora von mikrofiltrierter und pasteurisierter ESL Milch und ihr Einfluss auf die Haltbarkeit

Microflora of microfiltrated and pasteurized ESL-milk and its impact on shelf life

Verena Schmidt

Extended shelf life (ESL) Milch, d.h. Milch mit einer Mindesthaltbarkeit von mehr als 20 Tagen bei Kühllagerung (≤ 8°C), verzeichnete während der letzten Jahre stetig steigende Marktanteile am Konsummilchsektor. Für die Herstellung von ESL Milch wird neben der Hocherhitzung auch ein kombiniertes Verfahren aus Mikrofiltration und Pasteurisation (MF+PAST) angewandt. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen jedoch weder detaillierte Daten über die Wirkung dieser beiden Prozessschritte auf die mikrobielle Flora von MF+PAST Milch vor, noch gibt es weitreichende Erkenntnisse über die verderbsauslösenden Mikroorganismen in dieser Art von Milch. Im Gegensatz zu hocherhitzter Milch, bei deren Herstellung nahezu alle Keime abgetötet werden und lediglich wenige Sporenbildner den Prozess überstehen, führt bei MF+PAST Milch die geringere Hitzeeinwirkung in Form der Pasteurisierung zu einer Erweiterung der für einen Verderb in Frage kommenden Arten. Im Rahmen eines FEI-Projektes wurden die Mikrofloren drei verschiedener Chargen mikrofiltrierter und pasteurisierter ESL Milch eines Herstellers mittels FTIR-Spektroskopie analysiert. Neben Floraanalysen der Rohmagermilch, der mikrofiltrierten Milch (MF) sowie der mikrofiltrierten und pasteurisierten Milch (MF+PAST) direkt nach der Herstellung wurden Packungen von MF+PAST Milch bis zum MHD Ende nach 22 Tagen bei 4°C, 8°C bzw. 10°C gelagert und an definierten Zeitpunkten während und am Ende der Lagerung untersucht.
Durch die Mikrofiltration der Rohmagermilch wurden Keimzahlreduktionen von 4-6 log-Einheiten erzielt (Rohmagermilch: $7x10^4$ KbE/ml - $2x10^6$ KbE/ml vs. MF-Milch: 0.5-1 KbE/ml). Daneben führte die Mikrofiltration zu einer Verringerung der Biodiversität; so nahm in einer Milchcharge die Anzahl der detektierten Arten von 30 Spezies in der Rohmilch auf 16 Spezies in der mikrofiltrierten Milch ab. In den mikrofiltrierten Milchen aller drei Milchchargen wurden neben den dominierenden High GC Grampositiven (*Microbacterium* spp.) auch gramnegative Bakterien (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Brevundimonas diminuta*, *Rhizobium radiobacter*) detektiert.

Durch die anschließende Pasteurisation wurden letztere vollständig eliminiert, so dass die resultierenden Floren ausschließlich aus hitzetoleranten grampositiven Bakterien, d.h. v.a. *Microbacterium* spp. und geringen Anteilen Sporenbildnern zusammengesetzt waren (in allen drei Chargen *Bacillus licheniformis* und *Bacillus subtilis* sowie in jeweils einer Milchcharge *Brevibacillus agri*, *Paenibacillus amylolyticus*, *Bacillus pumilus* und *Bacillus cereus*). Die Keimzahlen der MF+PAST Milchproben direkt nach der Herstellung lagen zwischen 2 und 79 KbE/ml.
Im Verlauf der Lagerung zeigte sich erwartungsgemäß ein deutlicher Einfluss der Temperatur auf die Keimzahlentwicklung der Milchproben.

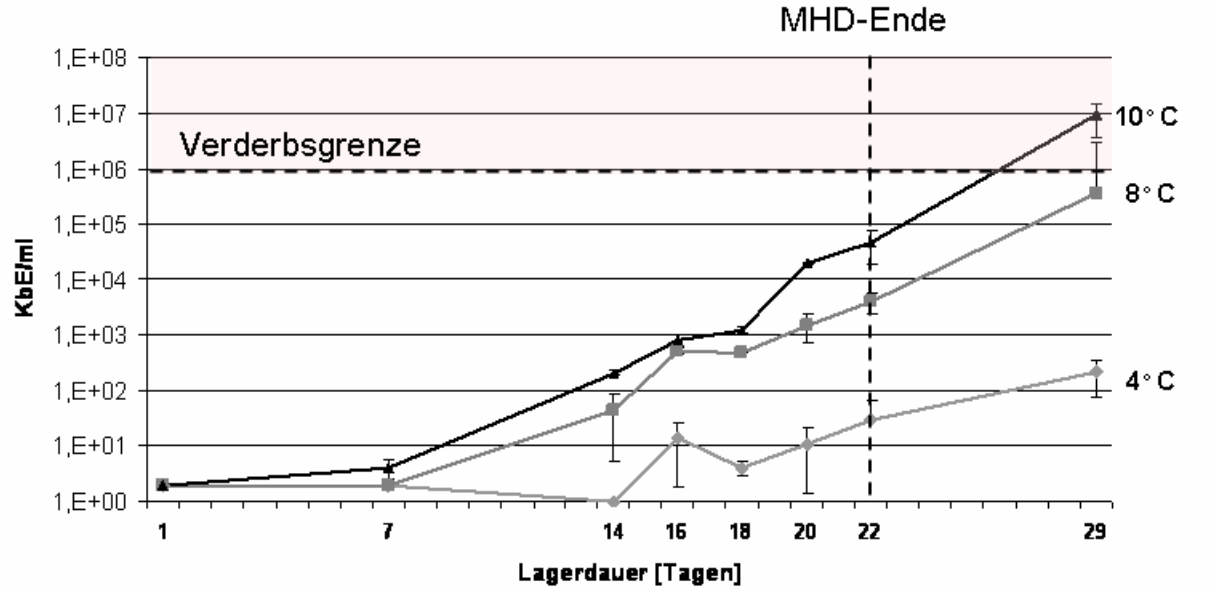


Abb. 2: Keimzahlverlauf von MF+PAST Milch während der Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen (4°C, 8°, 10°C). Je Datenpunkt wurden jeweils zwei Packungen bzw. am MHD-Ende fünf Packungen untersucht.

Bei einer der drei untersuchten Chargen betrugen die Keimzahlen der 22 Tage gelagerten Milchproben zwischen $5x10^4$ KbE/ml (10°C Lagerung) und 29 KbE/ml (4°C Lagerung) (Abb. 2), wobei die mikrobiellen Floren aller drei Lagertemperaturen fast ausschließlich aus *Microbacterium* spp. bestanden und nur sehr vereinzelt Sporenbildner detektiert wurden. Bei einer anderen Milchcharge setzten sich jedoch im Verlauf der Lagerdauer in sämtlichen Proben sporenbildende Bakterien (*Paenibacillus* sp. bei 4°C, 8°C und 10°C und *Bacillus cereus* bei 8 bzw. 10°C Lagertemperatur) durch und verdrängten die unmittelbar nach der Herstellung dominierenden Mikrobakterien. Am MHD-Ende waren alle untersuchten Milchpackungen dieser Charge unabhängig von der Lagertemperatur mit Keimzahlen von $1x10^7$- $4x10^7$ KbE/ml verdorben. In einer weiteren Milchcharge war der Großteil der analysierten Milchpackungen von *Microbacterium* spp. dominiert und am MHD-Ende betrugen die Keimzahlen dieser Proben zwischen $3x10^2$ KbE/ml (4°C Lagerung) – $4x10^5$ KbE/ml (10°C Lagerung). Lediglich in vereinzelten Packungen dieser Charge trat bei allen drei Lagertemperaturen ein vorzeitiger Verderb durch *Paenibacillus* sp. ein (Abb. 3).

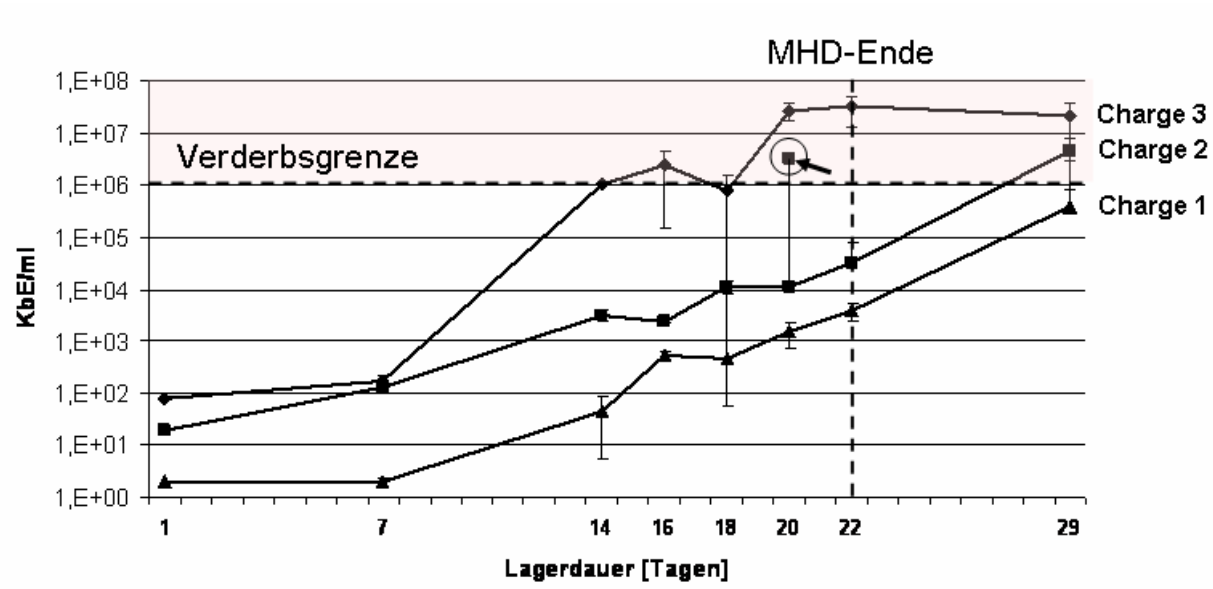


Abb. 3: Keimzahlverlauf drei unterschiedlicher Chargen von MF+PAST Milch während der Lagerung bei 8°C. Je Datenpunkt wurden jeweils zwei Packungen bzw. am MHD-Ende fünf Packungen untersucht. Nach 20-tägiger Lagerung war bei Charge 2 eine der zwei untersuchten Packungen durch Paenibacillus spp. (Pfeil) vorzeitig verdorben. Bei Charge 3 waren nach 14-tägiger Lagerung alle untersuchten Proben durch Bacillus cereus und Paenibacillus spp. verdorben.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Florazusammensetzung der MF+PAST Milch direkt nach der Herstellung keine Vorhersage der Florazusammensetzung am MHD-Ende zuließ, da potentielle Verderbsorganismen direkt nach der Herstellung meist unterhalb der Detektionsgrenze vorlagen und sich erst im Verlauf der Lagerung durchsetzten. Hier scheint die Fitness und Durchsetzungsfähigkeit einzelner Organismen gegenüber der übrigen Flora von starker Relevanz zu sein, da viele direkt nach der Produktion detektierte Arten für den Verderb irrelevant waren, verderbsrelevante Arten hingegen häufig erst zu späteren Zeitpunkten während der Lagerung festgestellt wurden. Allgemein lässt sich jedoch sagen, dass Milchchargen mit einer geringeren Keimbelastung direkt nach der Herstellung in einer besseren Milchqualität am MHD-Ende resultierten. Milchproben, deren Keimzahlen am MHD-Ende die Verderbsgrenze von 10^6 KbE/ml unterschritten, waren stets von *Microbacterium* spp. dominiert, d.h. psychrotolerante und verderbsauslösende Sporenbildner der Gattungen *Bacillus* und *Paenibacillus* konnten sich nicht durchsetzen. Hingegen waren die Floren verdorbener Milchproben beinahe ausschließlich aus diesen Sporenbildnern zusammengesetzt.

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

Identifizierung von Bakterien aus dem pharmazeutischen Umfeld mit FTIR-Spektroskopie

Identification of bacteria isolated from a pharmaceutical environment by FT-IR spectroscopy

Gernot Rieser

Um Kontaminationen zu vermeiden, findet die Produktion steriler Produkte in der pharmazeutischen Industrie in Reinräumen statt. Diese Reinräume werden, abhängig von der maximal zulässigen mikrobiellen Kontamination, in vier Gruppen eingeteilt. Die Einhaltung der Kontaminationslimits wird durch ein kontinuierliches Monitoring überprüft, welches neben der quantitativen Bestimmung der Koloniebildenden Einheiten auch eine Identifizierung der Isolate beinhaltet. Eine häufig verwendete Methode zur Identifizierung dieser Isolate ist das API-Testsystem (BioMérieux), das jedoch teuer und für Umweltkeime nur eingeschränkt zuverlässig ist. Fourier-transform Infrarot (FTIR)-Spektroskopie könnte hier eine gute Alternative sein, da sie schnell und einfach anzuwenden ist, nur sehr geringe Kosten verursacht und die Referenzdatenbanken als offene Systeme an die jeweiligen Erfordernisse angepasst werden können. In dieser Arbeit wurde die FTIR-Spektroskopie zur Identifizierung von Isolaten aus pharmazeutischen Reinräumen eingesetzt und ihre Zuverlässigkeit sowie die des API-Testsystems im Vergleich zur DNA-Sequenzierung überprüft.

Die Untersuchung beschränkte sich auf Bazillen und grampositive Kokken, da deren Vertreter am häufigsten aus pharmazeutischen Reinräumen isoliert werden. 241 Isolate (170 grampositive Kokken und 71 Bazillen), aus einem laufenden Reinraum-Monitoring wurden mittels FTIR-Spektroskopie und API-Testsystem (API 50CHB und API 20E für Bazillen, ID 32STAPH für grampositive Kokken) identifiziert. Die Sequenzanalyse (*rpoB*-Gen für Staphylokokken und 16S rDNA für alle übrigen Bakterien) diente als Referenzmethode zur eindeutigen Identifizierung der Isolate.

Mittels FTIR-Spektroskopie konnten auf Speziesebene 83 % der grampositiven Kokken und 78 % der Bazillen korrekt identifiziert werden (Abb. 4), beim API-System lag der Anteil an korrekt identifizierten Isolaten mit 44 % für die grampositiven Kokken und 52 % für die Bazillen hingegen deutlich niedriger. Selbst auf Gattungsebene konnten nur 76 % der Bazillen und 68 % der grampositiven Kokken durch das API-Testsystem korrekt identifiziert werden; bei der FTIR-Spektroskopie lag dieser Anteil in beiden Gruppen bei 99 %.

14 % der grampositiven Kokken konnten durch die FTIR-Spektroskopie auf Speziesebene nicht identifiziert werden, da sie sich nicht eindeutig einer einzigen Art zuordnen ließen. Problematisch waren hier die Spezies um *Staphylococcus epidermidis* (*Sta. capitis, Sta. caprae, Sta. epidermidis, Sta. haemolyticus, Sta. hominis, Sta. saccharolyticus, Sta. warneri*), die sich durch eine sehr hohe Ähnlichkeit zueinander auszeichnen und aufgrund dessen auch durch molekularbiologische Methoden schwierig zu identifizieren sind. Hier stößt auch die FTIR-Spektroskopie an ihre Grenzen und es kommt somit für diese Arten immer wieder zu nicht eindeutigen Identifizierungen, was in der vorliegenden Studie für 40 % der nicht identifizierten Isolate zutraf. Einzelne Isolate konnten mittels FTIR-Spektroskopie bzw. API-Testsystem nicht identifiziert werden, da für diese keine Referenzen in den Datenbanken hinterlegt waren. Ein Vorteil der FTIR-Spektroskopie ist jedoch die Möglichkeit zur Erweiterung der Datenbanken durch Aufnahme von Spektren der entsprechenden Spezies.

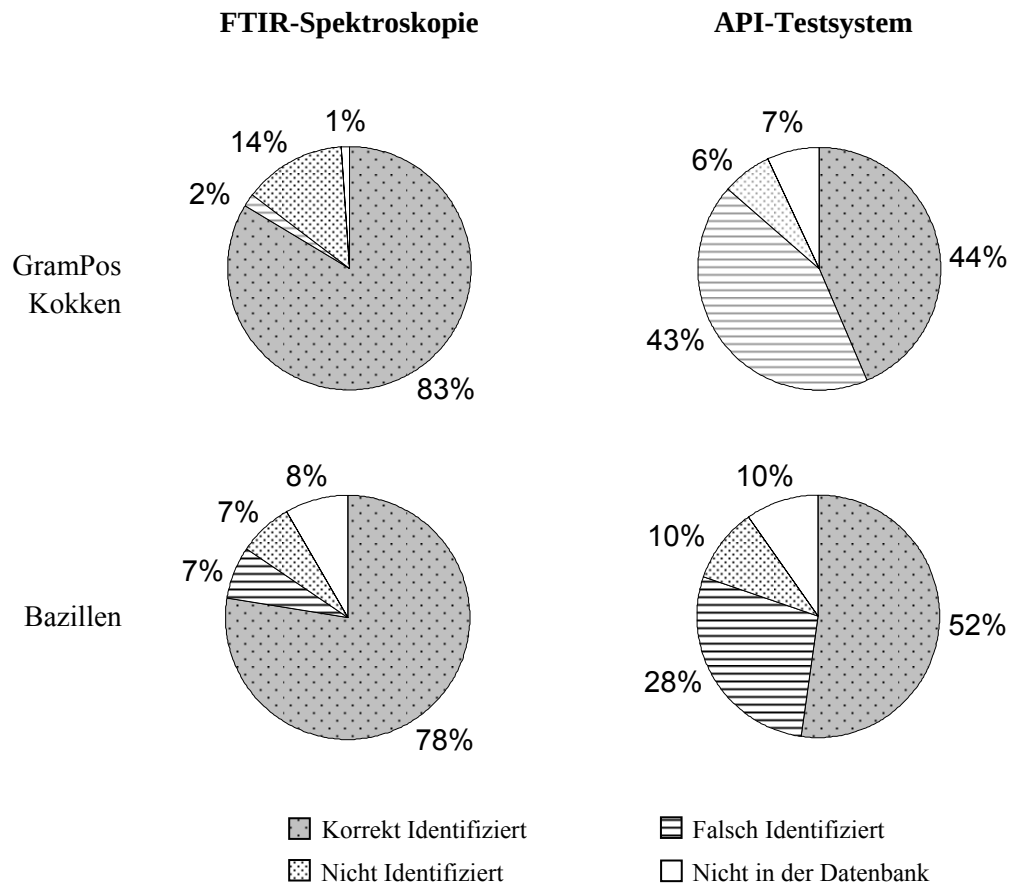


Abb. 4 Identifizierung von Isolaten aus pharmazeutischen Reinräumen (Speziesebene). Vergleich der Ergebnisse von FTIR-Spektroskopie und API-Testsystem.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen das Potenzial der FTIR-Spektroskopie als eine alternative Identifizierungsmethode für Isolate aus dem pharmazeutischen Umfeld. Durch die Erweiterungsfähigkeit der FTIR-Datenbanken kann die Anpassung diese Methode, an die mikrobielle Flora von pharmazeutischen Reinräumen, kontinuierlich fortgesetzt und dadurch eine weitere Verbesserung der Identifizierungsergebnisse erreicht werden.

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

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

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

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

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

Die Entscheidung von Weinproduzenten zur Spontangärung birgt daher immer ein erhebliches Risiko, Weine mit Fehltönen zu produzieren, die sich nur unter wirtschaftlichen Einbußen vermarkten lassen. Über die Zusammensetzung und die langfristige Dynamik von Hefepopulationen in Weinbergen sind in den letzten Jahren in erster Linie auf spezielle Fragestellungen wie Pflanzenschutz fokussierte Publikationen erschienen. Zwar wurde die Entwicklung einiger Hefefloren während der Spontangärung verfolgt, allerdings zumeist ohne eine anschließende systematische sensorische Bewertung der Weine, was Rückschlüsse auf den Einfluss der Flora auf die Weinqualität nicht zulässt.
Im Rahmen eines FEI-Projektes werden daher Daten erarbeitet, die die natürlichen Hefepopulationen ausgewählter Standorte möglichst detailliert beschreiben und Auskunft darüber geben, welcher Teil der Flora den Verarbeitungsprozess übersteht und sich während der Gärung entwickelt. Untersucht werden sechs Standorte für die Produktion von Riesling im Rheingau und an der Mosel, wobei insgesamt drei unterschiedliche Bodentypen (Tonschieferverwitterungsboden, Lössboden, Tonboden) berücksichtigt werden. Über Populationsanalysen werden während der Traubenreifung bis zur Ernte die Hefefloren im Weinberg erfasst, sowie deren Entwicklung von der Verarbeitung der Trauben und der Mostbehandlung über das erste Gärdrittel verfolgt. Neben der Identifizierung der Hefen auf Artebene mittels FTIR-Spektroskopie und DNA-Sequenzierung erfolgt eine molekularbiologische Stammtypisierung der gärungsrelevanten Arten. Die Moste werden über den Verlauf der Gärung hinsichtlich wichtiger Gärungsparameter und wertbestimmender Inhaltsstoffe mittels HPLC, GC-MS, GC in Kopplung mit verschiedenen Detektoren (S und N) und enzymatischer Methoden analysiert. Diese umfassenden Bestimmungen flüchtiger und nichtflüchtiger, aromawirksamer Substanzen ergänzen die im Vordergrund stehenden sensorischen Untersuchungen mit einem geschulten Verkostergremium.
Über die Verknüpfung von Sensorik und Zusammensetzung der Hefepopulationen mittels statistischer Methoden sollen Korrelationen zwischen Spontanhefeflora und Aromaentwicklung der Weine aufgezeigt werden. Auf diese Weise sollen Leithefen oder Populationskonstellationen, die mit positiver oder negativer Aromaentwicklung einhergehen, detektiert werden.

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

Arbeitsgruppe: Anpassungen von *Listeria monocytogenes* an abiotische Umweltfaktoren

Gruppenleiterin: Stefanie Müller

Listeria monocytogenes ist ein Gram-positives, stäbchenförmiges, fakultativ anaerobes Bakterium. Dieser Keim ist ubiquitär verbreitet, er kommt neben dem Menschen in verschiedenen weiteren Säugetieren, in Schalentieren, in Fischen, in Gewässern, im Boden und auf Pflanzen vor. Ein Grund für die ubiquitäre Verbreitung ist vermutlich die große Anpassungsfähigkeit dieses Mikroorganismus.

Diese Anpassungsfähigkeit spiegelt sich auch in der Genomsequenz wieder, 7 % aller *Listerien*-Gene codieren für regulatorische Proteine, die eine Anpassung der Expression an bestimmte Umweltbedingungen erlauben. *L. monocytogenes* kann sich in einem Temperaturbereich von 0 - 45 ºC, bei pH-Werten von 4,1 – 9,6 und bei Salzkonzentrationen von bis zu 10 % vermehren. Dies führt auch dazu, dass es sich bei *L. monocytogenes* um ein Lebensmittelpathogen handelt, welches über kontaminierte Nahrung vom Menschen aufgenommen wird.

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

Forschungsarbeiten zum Thema *L. monocytogenes* lassen sich grob in zwei Gruppen unterteilen. Eine Gruppe umfasst den angewandten Bereich, das Vorkommen von *L. monocytogenes* in Lebensmitteln, den Zusammenhang zwischen bestimmten Lebensmitteln und Listeriose-Ausbrüchen und erarbeitet Lösungswege, auf welche Weise Lebensmittelprodukte im Hinblick auf eine Kontamination mit *L. monocytogenes* sicherer gemacht werden können. Die andere Gruppe umfasst Erkenntnisse der Grundlagenforschung, wobei hier häufig die Pathogenität von *L. monocytogenes* im Mittelpunkt steht. Gut erforscht sind z. B. der Virulenzzyklus, die beteiligten Virulenzgene und deren Expressionsregulation.

In unserer Arbeitsgruppe beschäftigen wir uns mit *L. monocytogenes* zum einen aus dem angewandten Gesichtspunkt in dem vom AiF geförderten Projekt „Wirkung von Nitrit auf Gram-positive Infektionserreger in Rohwursterzeugnissen“ (AiF_15835 N) und zum anderen in der Grundlagenforschung unter dem Thema „Anaerober Stoffwechsel in *Listeria monocytogenes*“.

Wirkung von Nitrat und Nitrit auf *Listeria monocytogenes*

Effects of nitrate and nitrite on Listeria monocytogenes

Daniela Kaspar, Daniela Eder

Zur Konservierung von manchen Lebensmitteln wird Nitrat oder Nitrit zugegeben. Neben den positiven Effekten der Umrötung und der Aromabildung bei durch Starterkulturen gereifter Rohwurst wurde postuliert, dass die Zugabe von Nitrat oder Nitrit auch einen negativen Einfluss auf das Wachstum von unerwünschten pathogenen Bakterien hat. Tatsächlich konnte am Max-Rubner-Insitut in Kulmbach gezeigt werden, dass die Zugabe von Nitrit einen negativen Einfluss auf das Wachstum von *L. monocytogenes* in Rohwursterzeugnissen hat.

Es soll analysiert werden, auf welche Weise Nitrit in *L. monocytogenes* auf molekularer Ebene wirkt. *L. monocytogenes* ist laut Annotation des Genoms nicht in der Lage, Nitrat oder Nitrit zu verstoffwechseln, und besitzt vermutlich auch keine Regulatoren, die in Abhängigkeit von Nitrat- oder Nitrit die Genexpression regulieren. Interessanterweise hemmt die Zugabe von Nitrit (200 mg/l) das Wachstum von *L. monocytogenes* in BHI-Medium. Globale Transkriptionsstudien ergaben, dass die Zugabe von Nitrit zum Wachstumsmedium nicht nur in einer Hemmung des Wachstums, sondern auch in einer Änderung des Transkriptionsprofils resultiert. In Gegenwart von Nitrit ist die Transkription von 12 Genen aktiviert und von 24 Genen reprimiert.

Unter den Genen, die eine Repression der Transkription in Gegenwart von Nitrit aufweisen, sind die Gene des *pyr*-Operons am stärksten reprimiert (Faktor 7 bis 22) und werden in Gegenwart von Nitrit kaum exprimiert. Diese Gene codieren für Proteine, die eine Funktion bei der Pyrimidin-Biosynthese und somit bei der Nukleinsäure-Biosynthese haben. Die Veränderung der Transkription wurde anhand des Gens lmo1835 (*pyrAB*) mittels qRT-PCR bestätigt (Abb. 5). Auf welche Weise Nitrit die Transkription der *pyr*-Gene hemmt, ob durch einen direkten Effekt durch Interaktion mit einem Transkriptionsregulator oder einen indirekten Effekt, z. B. durch Interaktion mit einem Enzym und anschließende Feedback-Hemmung ist noch unklar, soll aber im Weiteren erforscht werden.

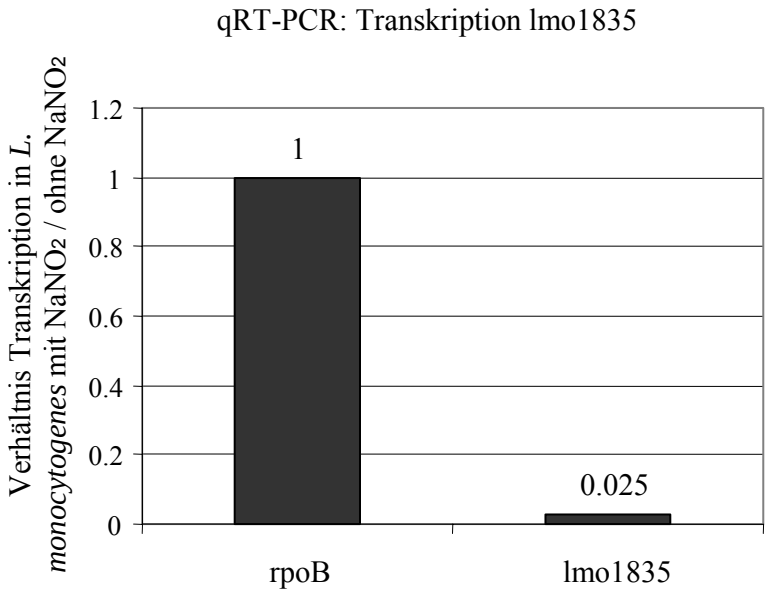


Abb. 5: Analyse der Transkription des Gens lmo1835 in L. monocytogenes EGDe in An- bzw. Abwesenheit von Natriumnitrit (200 mg/l) mittels qRT-PCR. Aufgetragen ist das Verhältnis der Transkription des Gens lmo1835 aus Nitrit-induzierten Kulturen zu nicht Nitrit-induzierten Kulturen. Als „House-Keeping“-Gen, dessen Transkription nicht durch Nitritzugabe beeinflusst wird, wurde rpoB gewählt. Das Verhältnis Transkription von rpoB aus Nitrit-induzierten Kulturen/Transkription von rpoB aus Kontrollkulturen wurde auf 1 gesetzt.

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

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

Anaerober Stoffwechsel in *Listeria monocytogenes*

Anaerobic metabolism in Listeria monocytogenes

Stefanie Wüstner

L. monocytogenes als ubiquitär vorkommender Keim besiedelt häufig ökologische Nischen, in denen ein mikroaerophiles oder anaerobes Milieu herrscht, wie z. B. sauerstoffarme Bereiche im Boden, vakuumverpackte Lebensmittel oder den Magendarmtrakt des Wirtes. Überraschenderweise ist der anaerobe Stoffwechsel von *L. monocytogenes* jedoch kaum erforscht. Das Transkriptom von *Listeria monocytogenes* - Kulturen, die unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen inkubiert wurden, wurde mittels Microarray-Studien verglichen. Diese Studien ergaben, dass die Transkription von 173 Genen (entspricht ca. 6 % des kompletten Genoms) in Abhängigkeit von der Sauerstoffverfügbarkeit differentiell reguliert wurde. Weitere Ziele dieses Projektes sind die Identifizierung von Genen, welche essentiell für das Wachstum unter anaeroben Bedingungen sind, die Ermittlung von Regulatoren, welche den Übergang von aerobem zu anaerobem Stoffwechsel auf Transkriptionsebenen vermitteln, sowie die Charakterisierung der entsprechenden Regulons.

Arbeitsgruppe: Bacillus

Die Forschungsprojekte über aerobe Sporenbildner werden in enger Kooperation mit Prof. Dr. Monika Ehling-Schulz, Abt. Lebensmittelmikrobiologie – WDK, Veterinärmedizinische Universität Wien, durchgeführt.

Endosporenbildende Bazillen sind in der Milchindustrie und weiteren Zweigen der Lebensmittelindustrie ernstzunehmende Kontaminationsquellen. Da einige Bazillen Toxine produzieren, die gastrointestinale Erkrankungen hervorrufen, stellen diese bakteriellen Kontaminanten für den Konsumenten eine potentielle Gefahr dar. Darüber hinaus spielen Bazillen und deren Sporen eine wichtige Rolle bei bakteriell bedingtem Lebensmittelverderb, insbesondere bei dem vorzeitigen Verderb von Milch und Milchprodukten.

Die meisten Sporen überstehen die Kurzzeitpasteurisation, aber auch in hoch erhitzten Produkten werden immer wieder Sporenbildner nachgewiesen. Das Toxizitätspotential der Bacillus-Stämme ist jedoch sehr unterschiedlich; so reicht das Spektrum von Stämmen, die als Probiotika Futtermitteln zugesetzt werden, bis zu stark toxischen Stämmen, die bereits für Todesfälle verantwortlich waren. Der wohl bekannteste toxinbildende Vertreter ist B*acillus cereus,* aber neuere Studien deuten darauf hin, dass auch andere *Bacillus* sp. in der Lage sind toxinogene Substanzen zu bilden, die jedoch im Einzelnen noch nicht erforscht sind. Im Fokus der AG Bacillus stehen daher, neben dem als Lebensmittelvergifter bekannten *B. cereus*, hochhitzeresistente Bazillen.

B. cereus kann prinzipiell zwei Formen von Lebensmittelvergiftungen hervorrufen: Emesis und Diarrhöe. Das hitzestabile emetische Toxin Cereulid löst Erbrechen aus, während hitzelabile Enterotoxine Diarrhöe zur Folge haben. In der Regel sind die Beschwerden nach einem Tag abgeklungen, aber es gibt auch schwerwiegende Fälle, die einer klinischen Behandlung bedürfen und in einzelnen Fällen tödlich enden können.

Die genaue Erfassung von Daten bezüglich Lebensmittelvergiftungen, die durch *B. cereus* verursacht wurden, ist sehr schwierig, weil Verwechslungen mit anderen Lebensmittelpathogenen möglich sind. Der emetische Typ der Erkrankung weist die gleichen Inkubationszeiten und Symptome wie *Staphylococcus aureus* Intoxikationen auf, der diarrhöische Typ spiegelt die Symptome einer *Clostridium perfringens* Infektion wider. Erschwerend kommt hinzu, dass gerade starke Toxinproduzenten häufig einen *B. cereus* untypischen Phänotyp aufweisen und mit den herkömmlichen §64 LFGB Methoden nicht immer eindeutig identifiziert werden können. Zum Nachweis der Diarrhöe verursachenden Enterotoxine gibt es kommerziell erhältliche immunologische Assays, wohingegen entsprechende Systeme zum routinemäßigen quantitativen Nachweis des emetischen Toxins Cereulid noch nicht verfügbar sind. Kürzlich gelang es uns jedoch die Gene, die für die biochemische Synthese des emetischen Toxins verantwortlich sind, zu identifizieren. Diese genetische Information bildet die Grundlage für eine detaillierte Untersuchung der Toxinsynthese und ermöglichen es uns die genauen regulatorischen Parameter der Toxinproduktion zu untersuchen. Die molekularen Tools und Bio-Assays, im Rahmen unserer Studien zu *B. cereus* etablierten wurden, stehen nun auch für weiterführende Arbeiten an hitzeresistenten Bazillen zur Verfügung.

Identifizierung des Hauptpromotors des Cereulidsynthetase-Operons und Echtzeit-Beobachtung der Cereulidtoxin-Biosynthese von emetischen *Bacillus cereus* in Lebensmitteln

Identification of the cereulide synthetase main promoter and real-time monitoring of cereulide toxin biosynthesis by emetic Bacillus cereus in food

Elrike Frenzel, Monica Dommel und Monika Ehling-Schulz

Cereulid, ein Lebensmittelintoxikationen verursachendes Peptidtoxin, wird von emetischen *Bacillus cereus*-Stämmen über einen nicht-ribosomalen Peptidsynthese (NRPS)-Mechanismus mittels eines Enzymkomplexes produziert.

In vorangegangenen Studien konnte der genetische Lokus der für die Toxinsynthese verantwortlichen Cereulidsynthetase (*ces*) identifiziert und biochemisch charakterisiert werden (Ehling-Schulz et al., 2005, 2006; Magarvey et al., 2006). Eine detaillierte Analyse der transkriptionellen Organisation der *ces*-Gene wurde bislang noch nicht durchgeführt, obwohl dieses für das allgemeine Verständnis von NRPS-Synthesewegen von hoher Bedeutung ist. Transkriptionsstudien mittels RT-PCR haben gezeigt, dass das gesamte Gencluster als ein großes polycystronisches Operon transkribiert wird. Entsprechende Transkriptionsinitiationspunkte wurden durch Primer-Extension-Analysen und RACE-Experimente („rapid amplification of cDNA ends") bestimmt. Mittels ergänzender Deletionsanalysen der Promotorregion des *cesP*-Gens konnte der Hauptpromotors (P_1) des *ces*-Operons identifiziert werden (Abb. 6). Darüber hinaus wurde eine weitere Promotorsequenz vor dem eigenständig transkribierten *cesH*-Gen sowie intracistronische Promotorregionen stromaufwärts von *cesB* und *cesT* identifiziert (Abb. 6), die unter den gewählten Versuchsbedingungen allerdings kaum aktiv waren.

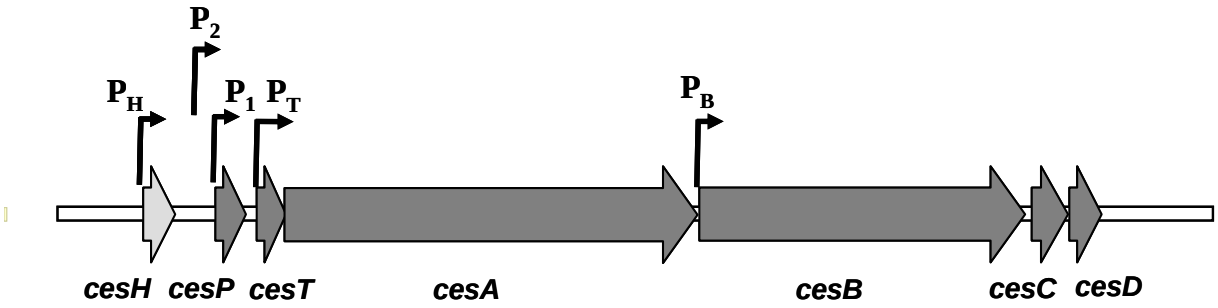


Abb. 6: Strukturelle Organisation des Cereulidsynthetase-Genclusters in emetischen Bacillus cereus. Promotor-Deletionsanalysen, RT-PCR und RACE führten zur Identifizierung des P1-Hauptpromotors sowie vier weiterer Promotorelemente.

Der identifizierte Hauptpromotor wurde nachfolgend aus dem emetischen Referenzstamm *B. cereus* F4810/72 amplifiziert und mit Luciferase-Reportergenen (*luxABCDE*) fusioniert. Das erhaltene Konstrukt wurde wiederum in *B. cereus* F4810/72 eingebracht um ein Biomonitoring-System zu etablieren, welches eine Echtzeit-Beobachtung der Promotor-aktivität des Cereulidsynthetase-Operons in verschiedenen Lebensmitteln ermöglicht. Die promotoraktivitätsabhängige Lumineszenzintensität wurde mittels eines ICCD-Kamera-systems (IVIS) gemessen und durch „region of interest"-(ROI)-Analysen quantifiziert (Abb. 7).

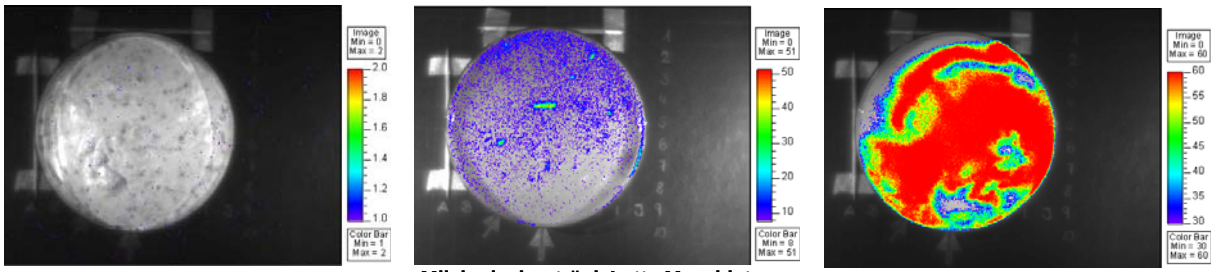


Abb. 7: Korrelation zwischen Aktivität des Cereulidsynthetase-Hauptpromotors (P1) und Cereulidbildung in ausgewählten Lebensmittelmodellen. Die Lebensmittel wurden mit dem biolumineszenten emetischen Bacillus cereus-Reporterstamm F4810/72 [P1/luxABCDE] inokuliert und die ces-P1-Promotoraktivität mittels eines ICCD-Kamerasystems quantifiziert (Daten nicht gezeigt). Die Intensität der Biolumineszenz spiegelt wieder, in welchem Maße eine Cereulidproduktion im entsprechenden Lebensmittel möglich ist.

Hierbei konnte eine starke Anhängigkeit der *ces*-P1-Promotoraktivität von der jeweilig angebotenen Lebensmittelmatrix festgestellt werden. Gleichzeitig wurde aus den artifiziell inokulierten Lebensmitteln das Cereulidtoxin extrahiert und mittels Zytotoxizitäts-Assays quantifiziert. Die Analysen ergaben eine eindeutige Korrelation zwischen der Lumineszenzintensität und der Menge an produziertem Cereulid, so dass der biolumineszenter Reporterstamm *B. cereus* F4810/71 (P_1/*luxABCDE*) ein probates Werkzeug darstellt, das Risiko einer Cereulidproduktion in verschiedenen Lebensmitteln basal einzuschätzen.

Unsere Untersuchungen zeigen eine Möglichkeit auf, Parameter in komplex zusammengesetzten Matrizes zu analysieren, die sich fördernd oder hemmend auf die Toxinsynthese durch emetische *B. cereus* auswirken. Weitere Datenerhebungen könnten zukünftig zur Verminderung des Risikos und der Inzidenz von Lebensmittelvergiftungen sowie zur Erarbeitung von Präventionsstrategien beitragen.

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

Entwicklung eines quantitativen Detektionssystem für das emetische Toxin Cereulid von *Bacillus cereus*

Development of a quantitative detection system for cereulide, the emetic toxin of Bacillus cereus

Tobias Bauer, Timo Stark[1], Thomas Hofmann[1] und Monika Ehling-Schulz

[1)]Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik, WZW, TU München

Die emetische Form der durch *Bacillus cereus* verursachten Lebensmittelvergiftungen ist auf das Peptidtoxin Cereulid zurückzuführen. Dieses zyklische Dodecadepsipeptid weist eine hohe Stabilität auf. Es kann weder durch extreme Hitze, noch durch basische sowie saure Bedingungen oder von proteolytischen Enzymen gespalten werden.

Aufgrund dieser Eigenschaften kann es, einmal im Lebensmittel, gebildet weder beim Wiedererhitzen der Nahrung noch bei der Passage durch den Gastro-Intestinaltrakt zerstört werden. Wegen seiner lipophilen Eigenschaften wird es relativ einfach im Magen absorbiert.

In der Literatur finden sich verschiedene Methoden zum Nachweis von Cereulid, wie LC/MS basierte Nachweissysteme oder auch verschiedene Bioassays; z.B. ein Zellkultur baiserter Zytotoxizitäts-Assay und ein Eberspermienmotilitäts-Assay. Da alle vorgenannten Nachweisverfahren das Antibiotikum Valinomycin als Referenz verwenden, war bisher keine exakte Quantifizierung der Cereulidkonzentration in unterschiedlichen Matrices möglich. Für die Etablierung eines quantitativen Detektionssystems wurden daher zunächst Cereulid und ^{13}C- markiertes Cereulid *in vivo* produziert und mittels HPLC gereinigt. Die Struktur beider Substanzen wurden mit Hilfe von LC/MS sowie 1D/2D NMR Spektroskopie überprüft. Ebenso konnte die Reinheit des Cereulids mit über 98 % ermittelt werden. Das $^{13}C_6$-markierte Cereulid wurde zur Entwicklung einer hoch sensitiven sowie sehr präzisen Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIDA) für eine quantitative Ermittlung von Cereulid in Lebensmitteln mittels LC/MS-MS genutzt.

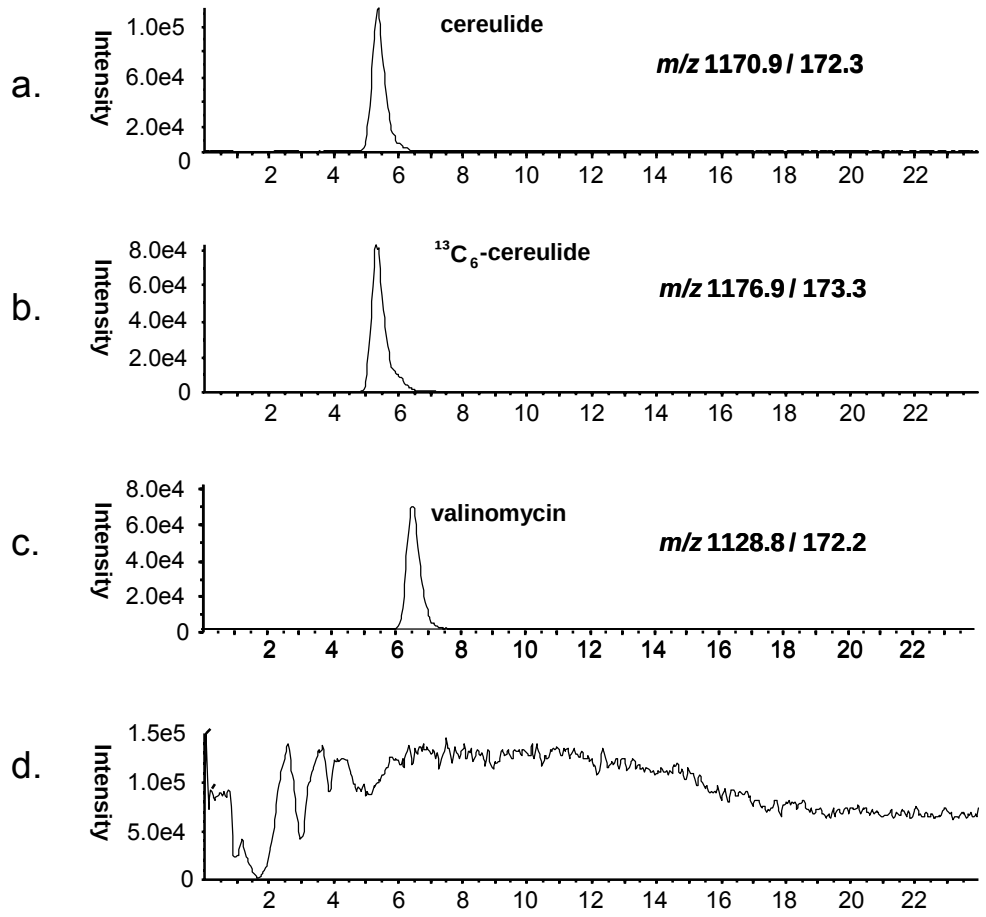


Abb.8: HPLC-MS/MS (ESI+) Analyse einer mit B. cereus inkubierten Reisprobe und MRM Chromatogramme von Cereulide (a) und der internen Referenzen 13C6-Cereulid (b) und Valinomycin (c). d.:.HPLC-MS/MS MRM Chromatogramm einer mit Öl versetzten Reisprobe während ein kontinuierlicher Fluss von Valinomycin in das LC-MS/MS System mit Hilfe einer Syringpumpe eingeleitet wurde.

Bei einer massenspektroskopischen Analyse via LC-MS/MS konnte für Cereulid und Valinomycin als meist predominantes pseudomolekulares Ion das $[M+NH_4]^+$ Ion detektiert werden. Die Massenchromatogramme (Abb.8) zeigen die intensivsten Massenübergänge für Cereulid (a), den internen Standards $^{13}C_6$-Cereulid (b) sowie Valinomycin (c). Man kann deutlich erkennen, dass sowohl Cereulid als auch der isotopenmarkierte Standard $^{13}C_6$-Cereulid zum identischen Zeitpunkt eluieren, daher ist auch der gleiche Einfluss durch die Matrix zu erwarten. Dagegen eluiert Valinomycin später im Chromatogramm. Um den Einfluss der Matrix auf die Ionisierung von Valinomycin zu überprüfen, wurde ein konstanter Fluss von Valinomycin mit Hilfe einer Syringpumpe während der Analyse des mit Sonnenblumenöl versetzten Reisextraktes eingeleitet. Wie in Abb. 8d zu beobachten ist, konnte ein starker Einfluss auf die Ionisierung von Valinomycin durch aus der Matrix eluierende Komponenten abhängig von der Retentionszeit nachgewiesen werden. Dies zeigt, dass Valinomycin eher ungeeignet ist um Matrixeffekte während der LC-MS auszugleichen. Ein Vergleich beider internen Standards in Bezug auf deren Quantifizierungseigenschaften in zwei verschiedene Matrices (Reis sowie mit Sonnenblumenöl versetzter Reis) demonstrierte dies ebenso: Das System mit Valinomycin wies niedrigere Wiederfindungsraten von 91% in Reis sowie 80% in Reis mit 10% Öl versetzt auf.

Dagegen konnte mit dem ^{13}C- markierten Cereulid 100%tige Wiederfindungsraten in beiden Matrices erreicht werden. Dies zeigt den klaren Vorteil von der Verwendung von ^{13}C-Cereulid als internen Standard für die quantitative Analyse von Cereulid und demonstriert, dass die entwickelte SIDA ein verlässliches Verfahren für eine schnelle und präzise Quantifizierung von Cereulid in nahezu allen Matrices darstellt.

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

Isolierung und Charakterisierung hitzeresistenter Sporenbildner aus Lebensmittel

Isolation and characterization of heat resistant spore formers in food

Genia Lücking, Romy Renner, Zeynep Atamer[1], Jörg Hinrichs[1] and Monika Ehling-Schulz

[1)] Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Universität Hohenheim

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

Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungprojektes (AiF 16012N) mit dem Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie (LTH) der Universität Hohenheim ist es vorgesehen, aus Rohstoffen und Schadensfällen, die im Zusammenhang mit Sterilprozessen stehen, Sporenbildner zu isolieren. Bislang wurden knapp 60 Lebensmittelproben auf hitzeresistente Sporenbildner hin untersucht, indem die Proben zunächst bei 100°C für 20 min erhitzt wurden und anschließend mit BHI Medium angereichert wurden. In ca. 50% der untersuchten Proben konnten Sporenbildner detektiert werden, dabei waren vor allem Milch- und Kakaopulver stark belastet. Insgesamt wurden in den Produkten 58 verschiedene Isolate gefunden bei denen es sich vorwiegend um *Bacillus licheniformis* und thermophile Bazillen (z.B. *Geobacillus spp.*) handelte. Alle Isolate wurden mittels FTIR Spektroskopie und (falls erforderlich) 16S-rDNA Sequenzierung identifiziert und die thermische Stabilität der hergestellten Sporensuspensionen getestet. Bei hoher Hitzeresistenz wird als nächstes die Inaktivierungskinetik bestimmt und dabei zwei Erhitzungssysteme (Batch System und kontinuierliches System) miteinander verglichen (Abb.9). Bei Sporen, die die Sterilisation unter bestimmten Bedingungen überstehen konnten, wird zusätzlich untersucht, welche Lebensmittelinhaltsstoffe die Hitzeresistenz steigern können.

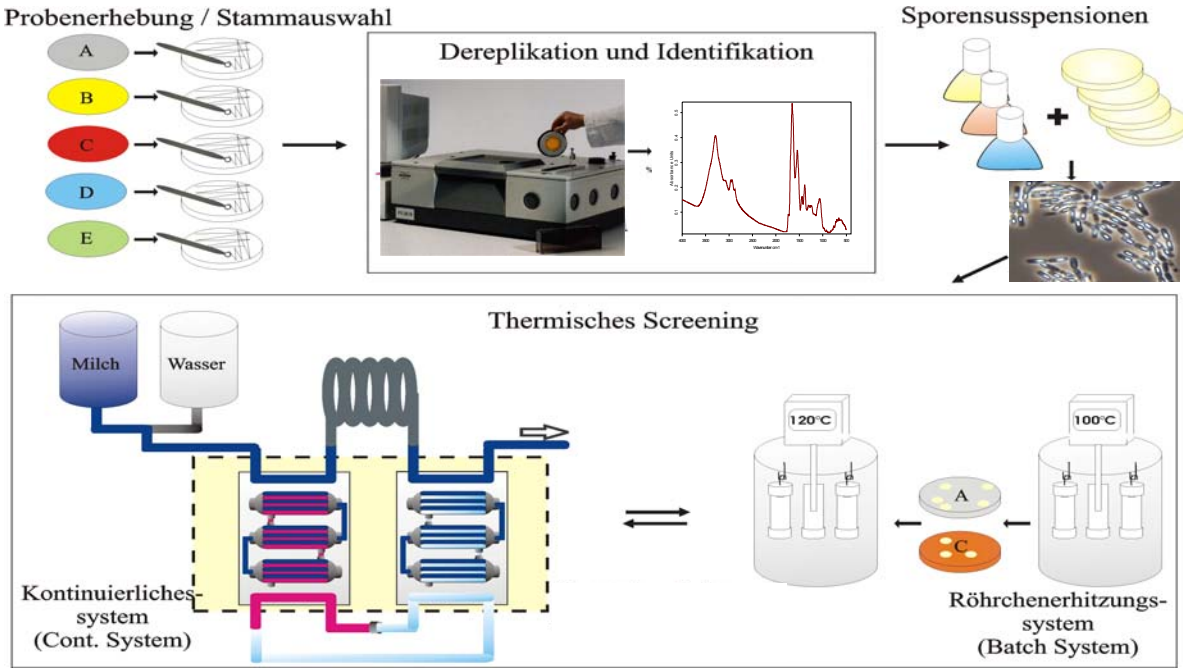


Abb. 9: Übersicht zur Identifizierung und thermischen Charakterisierung der aus Lebensmittel isolierten Sporenbildner.

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

Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

Die wenigsten krankheitserregenden Bakterien sind strikt auf den Menschen angewiesen. In den meisten Fällen besteht ein *Infektionszyklus*, bei dem der Wirt „Mensch“ lediglich eine Zwischen- oder gar Endstation darstellt. Durch kontaminierte Lebensmittel werden solche Keime „versehentlich“ mit der Nahrung aufgenommen. Es ist zu vermuten, dass einige der krankheitsauslösenden Eigenschaften von Bakterien mehr im Sinne einer Verteidigung gegen häufige Fraßfeinde der Bakterien zu verstehen sind. Hier sind beispielsweise Fadenwürmer zu nennen, deren Hauptnahrung Bakterien darstellen. Daher werden Nematoden mittlerweile für einige bakterielle Krankheiten als einfach zu handhabendes Tiermodell verwendet, da sich bestimmte Aspekte einer (menschlichen) Krankheit gut an ihnen untersuchen lässt. Ein weiterer großer Bereich von Lebewesen in der Umwelt stellen die Pflanzen dar. Damit pathogene Bakterien ihren Infektionszyklus vollenden können müssen sie auch hier – fernab von jeglichen tierischen Wirten – überleben. Eine pflanzliche Übertragung von Lebensmittel-Infektionen ist in den letzten Jahren immer mehr in den Brennpunkt des Interesses gerückt. In einigen Industrieländern gibt es mittlerweile mehr bakterielle Darminfektionen die durch Pflanzen als Übertragungsweg verursacht wurden, als durch tierischen Produkte, wie Eier und Fleisch.

Es ist daher wichtig, sich nicht nur auf die klassischen Übertragungswege wie Fleisch und Milchprodukte zu konzentrieren, sondern die gesamte Ökologie der entsprechenden Mikroorganismen zu betrachten. In den Arbeiten unserer Gruppe stehen zwei Organismen beispielhaft im Vordergrund:

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

Die enterohämorrhagischen *Escherichia coli´*s (EHEC) verursachen blutigen Durchfall und unter Umständen Nierenversagen mit tödlichem Ausgang. Bei diesen Bakterien weiß man kaum etwas über die Ökologie, d.h. dem Vorkommen und der Lebensweise dieser Bakterien außerhalb eines Wirtes. Kühe können sich mit EHEC auf der Weide infizieren, ohne dass diese Tiere einem bisher bekannten Reservoir ausgesetzt waren. Wie lebt EHEC also in der Umwelt und wie wird der Keim übertragen? Welche Genprodukte ermöglichen diesem Keim die Anpassungen an die Umwelt?

Arabidopsis als Modellpflanze für Interaktionen mit enterischen Erregern

***Arabidopsis* as model plant for interactions with enteric pathogens**

Tiara Putri, Dominik Frey

EHEC besiedeln den Darm und können einen blutigen Durchfall auslösen. Die Bakterien adhärieren an das Darmepithel und über eine Typ 3 Sekretion vermittelte Umprogrammierung der Wirtszelle, kommt es zu einem innigen Kontakt der Bakterien mit den Wirtszellen und der sogenannten "Podest"-Bildung. Hierdurch entgehen die Bakterien vermutlich der körpereigenen Abwehr. Es konnte eine spezifische Modulation der Typ 3 Sekretion in Verbindung mit alternativen Wirtsorganismen wie *Arabidopsis*-Pflanzen und Fadenwürmern (s. u.) bei EHEC-Bakterien beobachtet werden, die gezielt mit einem *lux*-Reporter für Biolumineszenz ausgestattet waren. Für breiter angelegte Untersuchungen wurde nun eine Transposon-Mutantenbank mit über 10.000 Mutanten erstellt, in der die Bakterien gleichzeitig auch durch eine Biolumineszenz-Kassette markiert sind. Diese Mutantenbank wurde auf Pflanzen getestet und die spezifisch hoch regulierten Gene (sichtbar an der verstärkten Biolumineszenz bei Pflanzenkontakt) werden über inverse PCR und ähnliche Verfahren ermittelt. Interessanterweise konnte bereits ein Faktor identifiziert werden, der für die Magenpassage der Bakterien in tierischen Wirtsorganismen von Bedeutung ist. Dieser Faktor ist in den Bakterien, die auf Pflanzen vorkommen offenbar um ein vielfaches stärker induziert, als bei Bakterien, die auf normalem Nährmedium wachsen. Solche Voranpassungen durch den Kontakt mit Pflanzen sollten das Virulenzpotential der Krankheitserreger erhöhen, d. h. wird kontaminiertes rohes Pflanzenmaterial (z. B. Salat) aufgenommen, so erfolgt mit höherer Wahrscheinlichkeit eine Infektion. Dazu kommt, dass die Bakterien dem Pflanzenmaterial nicht nur als "Verschmutzung" anhaften, sondern sie proliferieren in der Gegenwart von Pflanzen.

Unsere Versuche zeigten, dass selbst bei einer gezielten Wurzelhals-Infektion die *Arabidopsis*-Pflanzen insgesamt, d. h. auch die Blätter und der Blütenstiel, mehr oder weniger stark von EHEC besiedelt werden. Um den Einfluss verschiedener Regulatoren und Virulenzfaktoren auf diesen Prozess zu untersuchen wurden gezielte Knockout-Mutanten von Regulatoren und diversen Virulenzfaktoren erstellt. Diese Regulatormutanten wurden in Einzelassays oder in Kompetitionsversuchen mit dem Wildtyp der EHEC getestet.

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

Nematodes als model host for enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)

Jan Blohberger, Catherine Dold

In den letzten Jahren nimmt die Bedeutung von enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) bei Ausbrüchen von pflanzlichen Lebensmittel-assoziierten enterischen Infektionen immer weiter zu. Zum natürlichen Habitat der Pflanzen gehören Fadenwürmer, die enterische Erreger als Vektor verbreiten können und damit auch ein interessanter Modellorganismus für enterische Infektionen sind. Füttert man Fadenwürmer mit EHEC, so sterben sie viel früher als das bei harmlosen Futterbakterien der Fall ist.

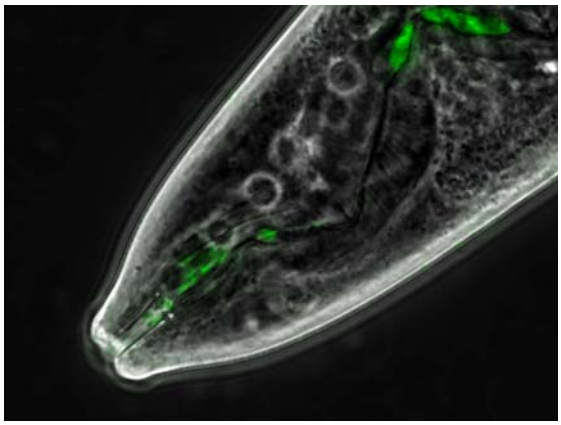


Abb. 10: Die Kopfregion des Fadenwurms C. elegans bei der Aufnahme von GEP-markierten Bakterien.

Eine wichtige Rolle bei der Infektion kommt möglicherweise dem Typ 3 Sekretionssystem zu. Mit diesem können die Bakterien gezielt, ähnlich wie mit einer Spritze, Proteine in Wirtzellen übertragen. Diese Proteine (Virulenzfaktoren) sorgen dann für eine Umprogrammierung der Wirtszellen. Aufgrund einer beobachteten Modulation des Typ 3 Sekretionssytems nach Kontakt der Bakterien mit Würmern durch Biolumineszenz-Reporter, wurden gezielt verschiedene Gene dieses Sekretionssystems ausgeschaltet. Normalerweise sterben Fadenwürden auch dann verfrüht ab, wenn man sie nur für kurze Zeit den pathogenen EHEC aussetzt und dann weiter auf harmlosen Futterbakterien hält. Jedoch zeigte eine der EHEC-Mutanten, ein Knockout eines Regulators, eine verringerte Letalität der Würmer. Offensichtlich beeinflußt dieser Regulator mehr Gene als nur die des Typ 3 Sekretions-systems. Trotz der großen Distanz zwischen Wirbellosen, wie den Fadenwürmern, auf der einen Seite und Wirbeltieren, wie dem Menschen, auf der anderen Seite, scheinen die Infektionsmechanismen der Bakterien bei den verschiedensten Wirtsorganismen sehr ähnlich zu sein, doch bleiben noch viele Fragen nach dem Vorkommen von EHEC und der Kontamination des Lebensmittels durch EHEC aus der Umwelt offen.

Antagonistische Aktivitäten von Gram-positiven Bakterien aus Rotschmierekäse gegen *Listeria monocytogenes*

Antagonistic activities of Gram positive bacteria against L. monocytogenes

Anne Bleicher

Rotschmierekäse, wie sie in Deutschland, Frankreich, der Schweiz und Italien produziert werden, stellen ein ökonomisch wichtiges Segment hochqualitativer Lebensmittel dar. Aufgrund ihrer Herstellung sind sie für Kontaminationen mit dem Lebensmittelpathogen *Listeria monocytogenes* besonders anfällig. Die Listeriose ist für prädisponierte Personen (Kleinkinder, alte oder immungeschwächte Menschen, Schwangere) eine ernstzunehmende Erkrankung mit einer Mortalitätsrate von 25-35%.

Obwohl die meisten Weichkäse ein ausgezeichnetes Habitat für *L. monocytogenes* darstellen, wurden verschiedene Reifungskonsortien beschrieben, die die Vermehrung des Pathogens einschränkten oder eine signifikante Zellreduktion bewirkten. In manchen Fällen enthielten diese komplexen Populationen einzelne Bakterienstämme, die ein Bakteriozin (inhibitorisches Peptid) produzierten, in anderen konnte der genaue Mechanismus der Hemmung nicht aufgeklärt werden. Am Anfang unserer Untersuchungen gab es kein „Standardverfahren", die antagonistische Wirkung eines Konsortiums festzustellen. Im Rahmen eines EU-Projektes zur Verbesserung der mikrobiologischen Sicherheit traditionell hergestellter Lebensmittel (TRUEFOOD) wurden zunächst natürlich vorkommende inhibitorische Rotschmierkonsortien gesucht und ihre Hemmwirkung mit verschiedenen Methoden quantifiziert. Die Zusammensetzung einzelner bakterieller Gemeinschaften, sowohl antilisteriell als auch nicht inhibitorisch wirksam, wurde mit einem spektroskopischen Verfahren aufgeklärt. Die Daten belegen die einzigartige Zusammensetzung jedes Konsortiums; eine Kombination bakterieller Stämme zur Ausprägung des antagonistischen Effektes abzuleiten war nicht möglich. Bakterien verschiedener physiologischer Gruppen wurden auf Fest- und in Flüssigmedium auf die Produktion von Hemmstoffen untersucht. Der antilisterielle Effekt von Reinkulturen trat nicht in derselben Intensität auf wie im gesamten Konsortium und war in den meisten Fällen nur transient. Die Wirkung eines solchen Konsortiums auf molekularer Ebene aufzuklären, trägt weiter dazu bei, die mikrobielle Sicherheit von geschmierten Käsen zu verbessern. Eine natürliche Kontrolle von *L. monocytogenes* in der Käseherstellung kommt dem wachsenden Verbraucherinteresse an Lebensmitteln ohne künstliche Zusätze entgegen.

Vorkommen von *Listeria monocytogenes* und *Listeria spezies* in Fließgewässern

Prevalenz of Listeria monocytogenes and Listeria spezies in natural flowing waters

Evi Lang Halter

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

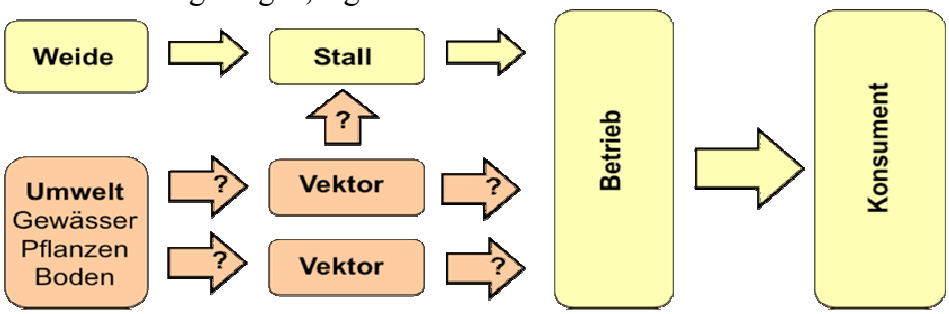


Abb. 11: Offene Fragen bezüglich der Kontaminationsrouten von Listeria.

Insbesondere weiß man nur wenig über das Vorkommen von jenen Pathotypen in der Umwelt, die häufig in Zusammenhang mit Listerioseausbrüchen stehen und deshalb besonders gefährlich für den Menschen sind. Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung von Umweltproben verschiedener Habitate auf das Vorkommen von Listerien sowie die Spezifizierung und Subtypisierung gewonnener Isolate.

Zu dieser Thematik haben wir eine Pilotstudie durchgeführt, wobei der Focus der Untersuchungen auf das Vorkommen von Listerien in einem Oberflächengewässer lag. Probenahmeort war der Mühlenangergraben am Veitshof, ein Seitenlauf der Moosach. Über den Zeitraum von einem Jahr wurden an dem Standort monatlich zwei unter-schiedliche Matrices beprobt, von den Proben die Listerienkeimzahl bestimmt und von einem Teil der detektierten Isolate Speziesidentifizierungen durchgeführt. Ausgewählte Isolate wurden anhand von RAPD-Analysen unter Verwendung von drei Oligonucleotid-primern subtypisiert.

Über den beobachteten Zeitraum wurden jeweils 12 Sediment- und *Ranunculus fluitans*-Proben entnommen und untersucht. Die Proben wurden jeweils im 3fachen MPN-Verfahren in den Verdünnungen 10g, 1g und 0,1g angesetzt.

Die Listerienkeimzahlen der unterschiedlichen Matrices über den beobachteten Jahres-verlauf sind in Abb. 12 dargestellt. Insgesamt konnten 11 der untersuchten Sediment-proben und 10 der untersuchten *Ranunculus*-Proben positiv auf Listerien getestet werden. Bei einer Probe waren alle angesetzten Verdünnungen *Listeria*-positiv, sodass die wahrscheinlichste Keimzahl nicht ermittelbar war. Diese Auswertungen wurden mit >110cfu/g beziffert (in Abb. 12 mit Balken bei 110 cfu/g dargestellt).

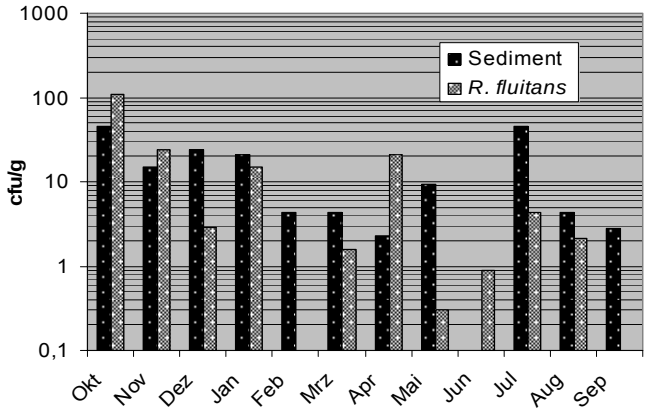


Abb. 12: Listeria-Keimzahlen in den untersuchten Habitaten

Von den positiv getesteten Sedimentproben wurden 246 und von den *Ranunculus* Proben 223 Isolate differenziert. Es konnten die bereits bekannten Spezies *Listeria innocua, Listeria monocyto-genes, Listeria seeligeri* sowie eine bislang unbekannte Listerienspezies identifiziert werden. In Abb. 13 sind die Spezies-Indentifizierungen der Isolate getrennt nach der jeweiligen Matrix dargestellt.

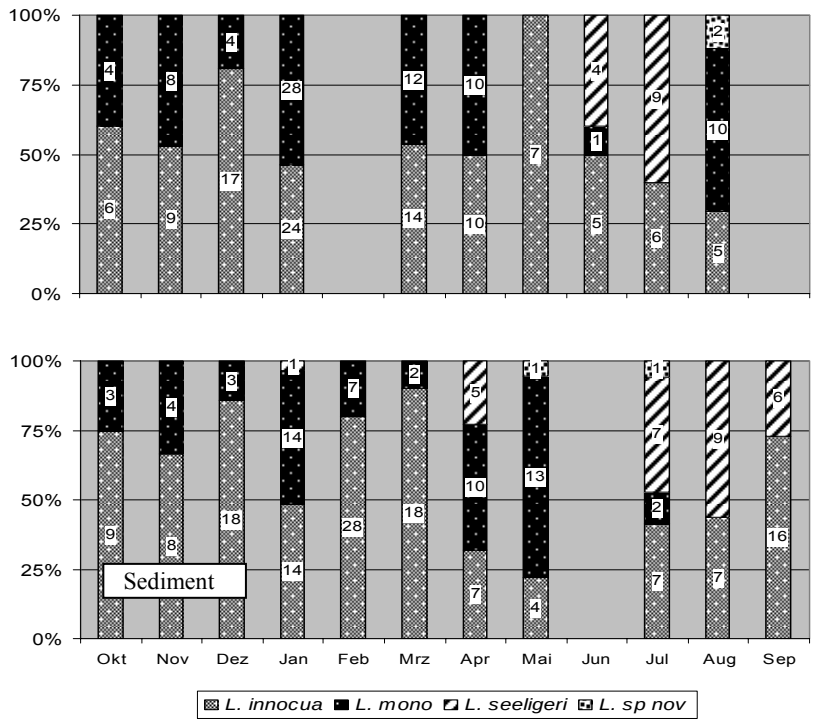


Abb. 13: **Moosach/Mühlenangergraben.** Prozentuale Anteile der identifizierten *Listeria*-Spezies in den untersuchten Matrices. Die Werte in den Balken geben die absolute Anzahl der identifizierten Isolate wider. In den Monaten Februar und September konnten in *Ranunculus* keine Listerien nachgewiesen werden; im Monat Juni war die Sedimentprobe negativ auf Listerien getestet worden.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Prävalenz von Listeriaspecies in den untersuchten Lebensräumen sehr hoch war, wobei die Keimzahlen sich als niedrig erwiesen haben. Über den beobachteten Zeitraum konnte weder hinsichtlich der Keimzahlen noch in Bezug auf die detektierten Spezies ein signifikanter Trend in Bezug auf den jahreszeitlichen Verlauf festgestellt werden. Bei der Interpretation der ermittelten Keimzahlen muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Anwendung der MPN-Methodik mit 3fachem Ansatz laut ISO 7218 „von so geringer Präzision ist, dass ihre Ergebnisse kaum mehr sind, als Hinweise auf die Größenordnung der Keimkonzentration“. Die ermittelten Keimzahlen dürfen also lediglich als Näherungswerte angesehen werden.

Die aus diesem Projekt resultierende Stammsammlung von ca. 3000 Stämmen wird eine Basis dafür bieten, die Art der in einem Umwelthabitat vorkommenden Listerien mit denen zu vergleichen, die aus Milchprodukten und milchverarbeitenden Betrieben isoliert wurden.

Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Pathogenität von *Yersinia* spp. gegenüber Invertebraten

Pathogenicity of* Yersinia enterocolitica *towards invertebrates

Mandy Starke

Die Gruppe der Yersinien umfasst 13 verschiedene Arten, darunter die drei humanpathogenen Arten *Yersinia pestis*, den Erreger der Pest, sowie *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica*, zwei Keime, die gastrointestinale Erkrankungen in Säugetieren hervorrufen können.

Bis auf *Y. pestis*, ein Bakterium, das auf einen komplexen Lebenszyklus mit Nagetieren als Reservoir und Flöhen als Überträger angewiesen ist, sind die Vertreter der Gattung *Yersinia* in der Natur weit verbreitet (Abb. 14). Die Übertragung dieser Bakterien, insbesondere der humanpathogenen, kann somit auch von der Umwelt auf den Menschen erfolgen. Während die für den Menschen krankheitsauslösenden Faktoren von Yersinien mittlerweile gut untersucht sind, ist über die Molekularbiologie ihrer Vermehrung außerhalb des Menschen noch wenig bekannt. Zwar wurde kürzlich gezeigt, dass *Y. pestis* sowie *Y. pseudotuberculosis* auch den Nematoden *Caenorhabditis elegans* infizieren können, die Assoziation von *Y. enterocolitica* mit Invertebraten hingegen war bislang unerforscht.

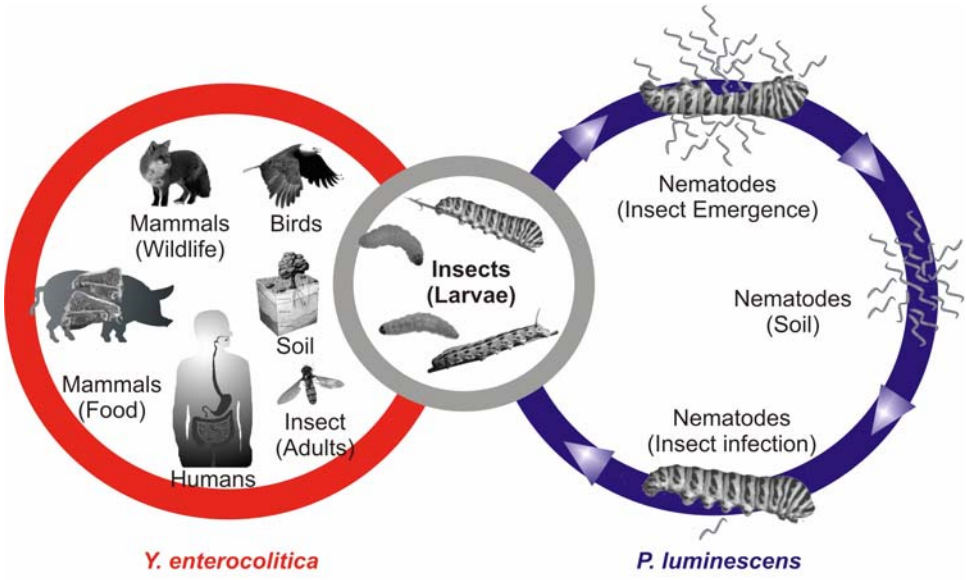


Abb. 14: Lebenszyklen von Y. enterocolitica und Photorhabdus luminescens (Heermann and Fuchs, BMC Genomics 2008, 9:40).

Der Stamm *Y. enterocolitica* Stamm W22703 trägt eine temperaturregulierte Pathogenitätsinsel, die so genannte *tc*-PAI^{Ye} (*toxin complex pathogenicity island of Y. enterocolitica*), deren Gene für die insektiziden Toxinkomplexe (Tc) kodieren. Diese kommen auch in dem mit Nematoden assoziierte, gegenüber Insektenlarven hochpathogenen Bakterium *Photorhabdus luminescens* vor. Wir führten daher einen qualitativen Vergleich der Genome von *P. luminescens* und *Y. enterocolitica*, die sich in ihren Lebenszyklen erheblich voneinander unterscheiden, durch und konnten zeigen, dass beiden Pathogenen eine Vielzahl von potentiellen Faktoren gemeinsam ist, die möglicherweise an ihrer Interaktion mit Invertebraten beteiligt sind. Andererseits weisen mögliche Pathogenitätsfaktoren, die nur in Yersinien vorkommen, auf eine noch unbekannte Rolle im humanen Wirt hin. Der Genomvergleich erbrachte darüber hinaus interessante Einblicke in die Evolution bakterieller Pathogenität (Heermann and Fuchs, 2008). Da bislang erst ein *Y. enterocolitica*-Genom sequenziert worden war, wurde von uns die Gesamtsequenz des Stammes W22703 erstellt, die sich in vielen Bereichen von der Vergleichssequenz unterscheidet. Ein Beispiel hierfür ist das Vorhandensein eines zusätzlichen Flagellen-Genclusters, dass innerhalb eines hoch-variablen Genom-Abschnittes (*plasticity zone*) lokalisiert ist (Abb. 15).

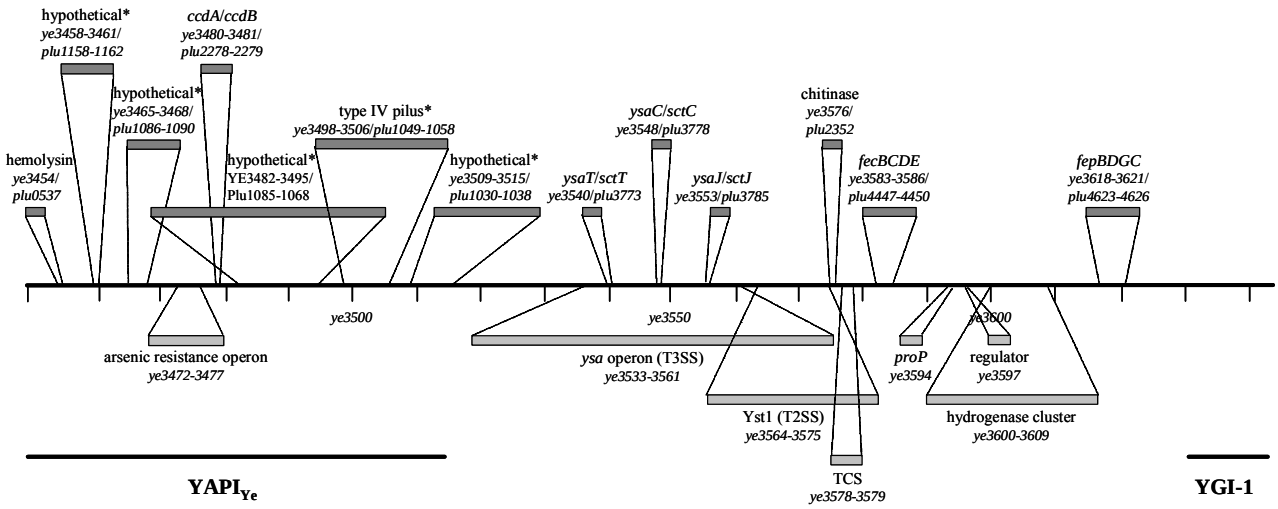


Abb. 15: Hochvariable Region im Genom von Y. enterocolitica, dessen Stamm W22703 unmittelbar vor dem fepBDGC-Operon ein zusätzliches Flagellen-Operon besitzt. Teile dieser plasticity zone finden sich auch im Genom von P. luminescens (Heermann and Fuchs, 2008).

Obwohl von *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* bereits länger die *in silico* Daten vorlagen, gelang es unserer Arbeitsgruppe erstmals, am Beispiel von *Y. enterocolitica*, das Vorkommen der *tc*-Gene in Yersinien mit der Aktivität gegenüber Insekten in einen kausalen Zusammenhang zu bringen. Diese insektizide Aktivität wurde in einem Bioassay mit Larven der Wachsmotte getestet, die mit Verdünnungen von *Yersinia* spp.-kulturen infiziert wurden.

Überraschenderweise weisen die *Yersinia*-Arten und –Stämme eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential auf. Es konnten zwei Arten identifiziert werden, deren insektizides Potential demjenigen von *P. luminescens* gleichkommt. Die dafür verantwortlichen genetischen Determinanten werden von uns in Kürze identifiziert.

Außerdem untersuchen wir derzeit die Regulation der *tc*-Gene sowie die Freisetzung bzw. den Transport der Tc-Proteine aus der Zelle. Um einen tieferen Einblick in die Interaktion von *Yersinia* spp. mit Invertebraten zu gewinnen, wurde zusätzlich der Modellorganismus *C. elegans* herangezogen.

Neben der möglichen Anwendung der Toxinkomplexe in der Landwirtschaft, welche als Alternative zum *Bacillus thuringiensis* Toxin diskutiert werden, liefern die erhobenen Resultate 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.

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

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

Kristina Schauer

Vier der sechs bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, die beiden anderen, *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii*, können eitrige Entzündungen von Hirnhaut und Gehirn (Enzephalomeningitis) hervorrufen oder Totgeburten auslösen. Obwohl *Listeria*-Infektionen relativ selten vorkommen, sind die Bakterien vor allem in der Lebensmittelindustrie gefürchtet, weil sie sich in Obst, Gemüse, Fisch, vor allem aber in der Milch- und Fleischprodukten vermehren. Mit der verunreinigten Nahrung gelangen die Keime in den Darm und von dort aus in zahlreiche Organe des Körpers. *Listeria monocytogenes* ist ein fakultativ intrazelluläres Bakterium und kann sich sowohl extrazellulär als auch intrazellulär in Wirtszellen vermehren. Als Wirtszellen können entweder professionell phagocytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagocytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Cytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* jedoch von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intracytoplasmatische Lebensweise ist aber die Folge von einer Reihe besonderer Anpassungen des Pathogens, worüber nur wenig bekannt ist.

Um Gene zu identifizieren, die für die intrazelluläre Lebensphase für *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind, wurde eine *L. monocytogenes* EGD Insertion-Mutantenbank bereits vollständig im Zellkultursystem auf Mutanten selektioniert, die zwar im Vollmedium wildtypisches Verhalten zeigen, intrazellulär in Caco2-Epithelzellen in ihrer Replikationsfähigkeit jedoch deutlich vermindert sind.

Die anschließende Identifizierung der in den entsprechenden Insertionsmutanten inaktivierten Gene ergab erste Aufschlüsse über die Genfunktion und ihre Bedeutung für das intrazelluläre Überleben an. Beispielhaft wurden Mutanten näher charakterisiert, die in am Thiamin-Metabolismus beteiligten Genen mutiert sind. So konnte gezeigt werden, dass während der intrazellulären Replikation von Listerien sowohl die Thiamin-Aufnahme wie auch die *de novo*-Biosynthese von Thiamin wichtig sind. In Zusammenarbeit mit Jürgen Stolz (ZIEL, Abteilung Biochemie) konnte darüber hinaus das erste Mal ein für den Thiamin-Transport verantwortliches Protein bei einem Gram-negativen Bakterium charakterisiert werden. Es handelt sich hierbei um ein Thiamin-bindendes Protein, dessen zugeordnete Transportfunktion noch nicht identifiziert werden konnte (Schauer *et al*., J. Bacteriol. 2009, 171: 2218).

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

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

In Zusammenarbeit mit Prof. Goebel vom Max von Pettenkofer-Institut der Ludwig Maximilians-Universität München wurde die Rolle der Pyruvat-Decarboxylase (PycA) während des *in vitro* und *in vivo*-Wachstums von *L. monocytogenes* untersucht (Schär *et al*., J. Bacteriol. 2010, in press). DieseBakterien produzieren Oxalacetate primär durch Carboxylierung von Pyruvat, wie wir mittels Knockout-Mutanten und ^{13}C-Isotopologen-Analyse zeigen konnten. Eine *pycA*-Insertionsmutante ist außerdem nicht in der Lage, innerhalb von Darmepithelzellen zu proliferieren und zeigt eine hohe Virulenzattenuation im Sepsismodell der Maus (Abb. 16).

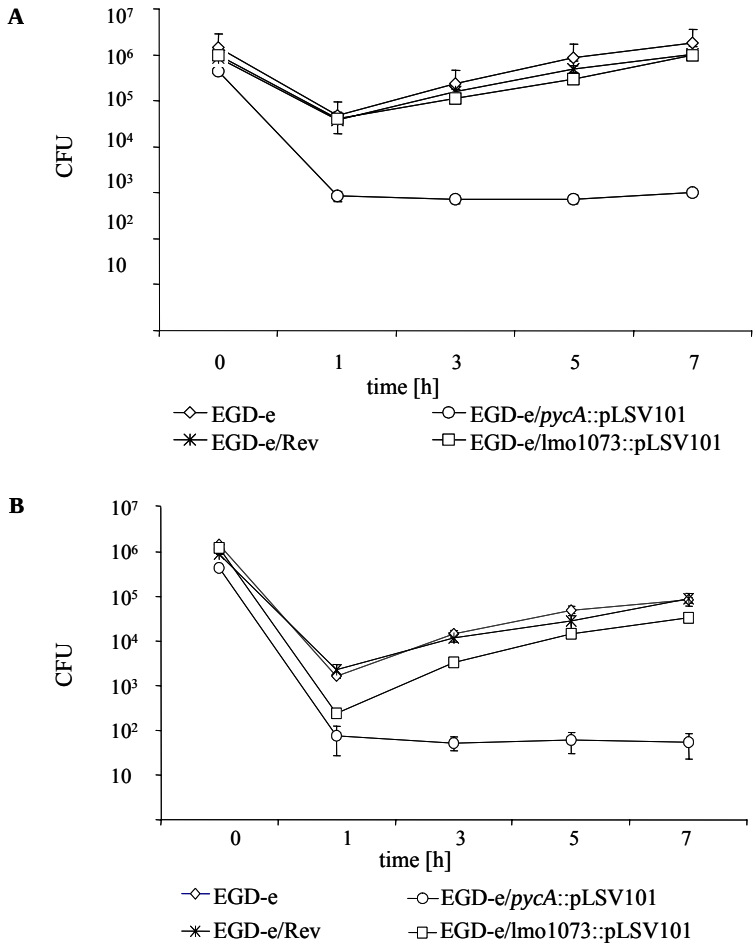


Abb. 16: Makrophagenzellen der Maus (A) und menschliche Darmepithelzellen (B) wurden mit dem L. monocytogenes Wildtyp, der pycA-Insertionsmutante und dessen Revertante infiziert (Schaer et al., J. Bacteriol. 2010, in press).

Die bisherigen Ergebnisse aus dem Screening der intrazellulären Replikation sowie den biochemischen Analysen bestätigen eindeutig, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Cytosol auf die Fähigkeit des Pathogens, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen, indem z.B. alternative Stoffwechselwege und Aufnahmesysteme für verschiedene Substrate entwickelt werden, zurückzuführen ist. Im Moment stehen Untersuchungen zum Glycerolmetabolismus intrazellulärer Listerien im Vordergrund.

Molekularbiologische Charakterisierung neuer metabolischer Eigenschaften von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Analysis of novel metabolic properties of* Salmonella enterica *serovar Typhimurium

Carsten Kröger/Shabarinath Srikumar

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

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

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

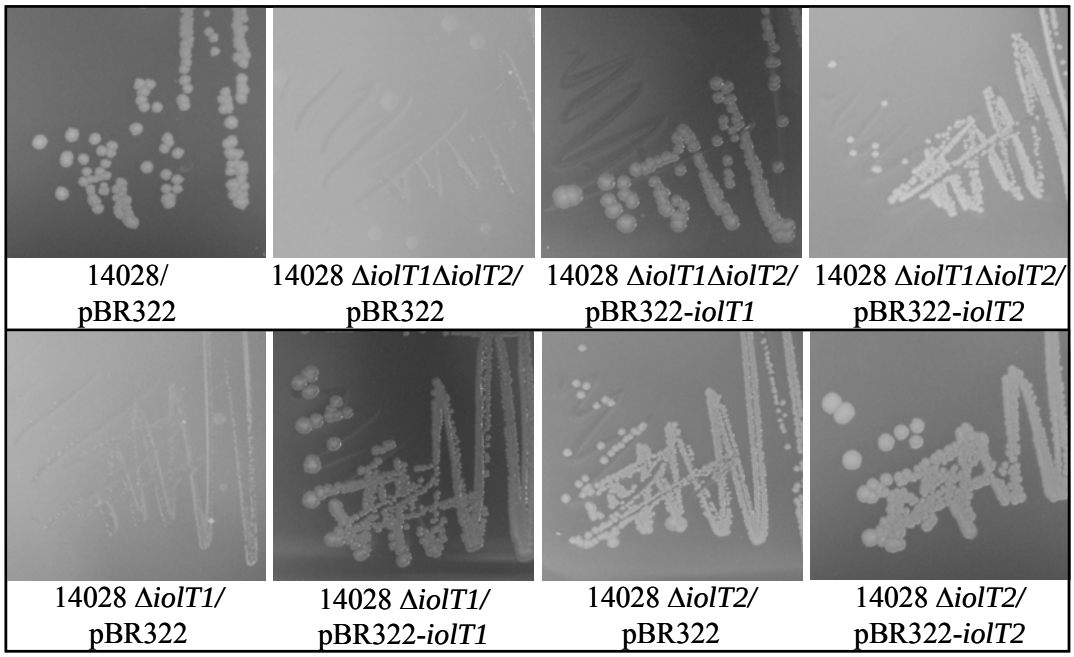


Abb. 17: IolT1 wurde als hauptsächlicher Salmonellen-Transporter für myo-Inositol identifiziert (Kröger et al., Microbiology 2010, 156: 128).

In einem genomweiten „Screening“-Ansatz wurden eine große Anzahl von Genen identifiziert, die bei der intrazellulären Replikation von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) beteiligt und in genomischen Inseln lokalisiert sind. Ein Beispiel ist die „metabolische Insel“ GEI4417/4436, die die für den Abbau von *myo*-Inositol benötigten *iol* Gene trägt, wie durch Deletionsanalyse bestätigt werden konnte. Darüberhinaus wurde die komplexe Regulation der *iol*-Gene entschlüsselt, indem die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisiert wurde. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnte zudem der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, charakterisiert werden (Kröger and Fuchs, J. Bacteriol. 2009, 171: 545).

Zuletzt gelang noch die Identifizierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol, dessen Regulation, Expression und Aktivität detailliert bestimmt wurden (Abb. 17; Kröger *et al*., Microbiology 2010, 156: 128). Zur Zeit untersuchen wir die positive Regulation dieses Abbauweges, den dabei beobachtete Bistabilitäts-Phänotyp, sowie die *in vivo*-Relevanz der *myo*-Inositol-Nutzung durch Salmonellen.

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

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Lücking, Genia, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 03.04.2009: „ Molecular characterization of cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus*“

Büchl, Nicole, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 27.05.2009: „Identifizierung von Hefen durch Fourier-transform Infrarotspektroskopie und künstliche neuronale Netze“

Cirl, Christine, Dr.rer.nat., Technische Universität München, 15.07.2009: „Modulation der TLR- und Inflammasom-Signaltransduktion durch bakterielle TIR-Proteine“

Diplomarbeiten

Burgmayr, Stefanie: „Biodiversität von Listeria-Spezies in Oberflächengewässern“

Reuter, Sandra: „Immunisierung gegen *H.* pylori mit γ-Glutamyltranspeptidase Immunreaktion bei Immunisierung und Infektion“

Masterarbeiten

Breitenwieser, Franziska: „Identifizierung und Differenzierung von lebensmittel-relevanten Bakterien: ein Vergleich zwischen FT-IR Spektroskopie und MALDI-TOF Massenspektroskopie“

Mai, Galina: „Typisierung und Biodiversität von Listeria spp in Oberflächengewässern“

Wüstner, Stefanie: „Global transcription analysis of *Listeria monocytogenes* under anaerobic conditions“

Bachelorarbeiten

Berger, Sebastian: „Untersuchung zur Regulation insektizider Toxingne in *Yersinia enterocolitica*“

Blohberger, Jan: „Wechselwirkung von EHEC mit *C.elegans*“

Coscia, Fabian: „Untersuchung des Pathogenitätsfaktors CagA des Bakteriums Helicobacter pylori im Kontext phänotypischer Veränderungen epithelialer Wirtszellen“

Dickgießer, Stephan: „Pilotstudie eines IVET-Sreenings von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* in ihrer Interaktion mit *Caenorhabditis elegans*“

Ernst, Luise: „Insektizide Virulenz von *Yersinia spp.*im *Galleria mellonella*-Infektionsmodell“

Girschick, Lisa: „Der Einfluss des Einfrierens auf die Mutationsrate der D-Cycloserin-Resistenz von *Eschcherichia coli*“

Heuchel, Matthias: „Charakterisierung eins Endolysins aus *Yersinia enterocolitica*“

Kantzow, Christina: „Der Wirkungsbereich von Cereulid, dem emetischen Toxin von Bacillus cereus“

Kern, Tanja: „Generierung rekombinanter YscM1 und YscM2 aus *Yersinia enterocolitica* mit Strep-Tag zur Identifizierung neuer Interaktionspartner mittels SPINE"

Nowald, Constantin: „Untersuchung der Hemmwirkung der Hefe *Pichia norvegensis* WSYC 592 auf verschiedene Vertreter grampositiver Bakterien“

Pauthner, Matthias: „ Impact of the transcriptional regulator CodY on cereulide synthesis regulation in emetic *Bacillus cereus*”

Seel, Sabrina: „Entwicklung einer Methode zum Nachweis gebundener Microcystine in Fischmatrix durch Fluoreszenzmarkierung“

Gastwissenschaftler:

Prof. Dr. Osvaldo Yantorno, Argentinien
Laura Arnal, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentinien.
Dr. Shabarinath Srikumar, Indien
Devegowda Devananda, Indien

Veröffentlichungen

Bauer T., T. Stark, T. Hofmann, and M. Ehling-Schulz. (2009). Development of a Stable Isotope Dilution Analysis (SIDA) for the Quantification of the *Bacillus cereus* Toxin Cereulide in Foods. J. Agric. Food Chem., in press

Bleicher A, Neuhaus K, Scherer S (2009). Vibrio casei sp.nov., isolated from the surface of two French red smear soft cheeses. Int J Syst Evol Microbiol. 2009 Sep. 11 (Epub ahead of print)

Clavel T, Charrier C, Braune A, Wenning M, Blaut M and Haller D (2009). Isolation of bacteria from the ileal mucosa of TNFdaltaARE mice and description of Enterorhabdus mucosicola gen. nov., sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 59:1805-1812

Dommel M., E. Frenzel, B. Straßer, C. Blöchinger, S. Scherer, and M. Ehling-Schulz. (2009). Identification of the main promoter directing cereulide biosynthesis in emetic *Bacillus cereus* and its application for real-time monitoring of *ces* gene expression in foods. Appl. Environ. Microbiol., in press

Dorscht J, Klumpp J, Bielmann R, Schmelcher M, Born, Y, Zimmer M, Calendar R, Loessner M (2009). Comparative Genome Analysis of Listeria Bacteriophages Reveals Extensive Mosaicism, Programmed Translational Frameshifting, and a Novel Prophage Insertion Site. Journal of Bacteriology. 23: 7206-7215

Kröger C and Fuchs TM (2009). Characterization of the *myo*-inositol utilization island of *Salmonella typhimurium*. J. Bacteriol. 171, 545-554

Lücking G, Dommel M, Scherer S, Fouet A, Ehling-Schulz M (2009). Cereulide synthesis in emetic Bacillus cereus is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR. Microbiology 155:922-931

Lücking G. M. Dommel, S. Scherer, A. Fouet and M. Ehling-Schulz. (2009). Cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus* is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR. Microbiology, 155, 922-931

Schauer K, Stolz J, Scherer S and Fuchs TM (2009). Both thiamine uptake and biosynthesis of thiamine precursors are required for intracellular replication of *Listeria monocytogenes*. J. Bacteriol. 171, 2218-2227

Scherer, S (2009). Makroevolution molekularer Maschinen: Konsequenzen aus den Wissenslücken evolutionsbiologischer Naturforschung. In: Hahn HJ, McClary R, Thim-Mabrey C (Hrsg) Atheistischer und jüdisch-christlicher Glaube: Wie wird Naturwissenschaft geprägt? Forschungssymposium vom 02.- 04.04.2008 an der Universität Regensburg. Noderstedt, Seite 95-149

Schmidt VS, Mayr R, Wenning M, Glöckner J, Busse HJ, Scherer S (2009). Bavariicoccus seileri gen.nov., sp.nov., isolated from the surface and smear water of German red smear soft cheese. Int J Syst Evol Microbiol. 59:2437-2443

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie

Adresse

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

Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-4205
Mitarbeiter:	Christian Albustin (bis 30.06.2009)	-3481
	Dipl.-Ing. Mathias Aschenbrenner	-5056
	Dipl.-Ing. (FH) Simon Bauer	-5031
	Dipl.-Ing. Michael Betz	-3855
	Annette Brümmer-Rolf	-3939
	Dipl.-Ing. (FH) Evelyn Dachmann (ab 01.01.2009)	-5317
	Dipl.-Ing. Katharina Daimer (bis 31.05.2009)	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dr.-Ing. Petra Först	-3536
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dr. Ronald Gebhardt (ab 01.12.2009)	-3536
	Carina Gerhard (ab 15.07.2009)	-5056
	Cornelia Glashauser (ab 01.05.2009)	-3856
	Dipl.-Ing. (FH) Sabine Grabbe (ab 01.06.2009)	-3534
	Dipl.-Ing. Christopher Guyot	-5317
	Brigitte Härter	-3941
	Dipl.-Ing. Thomas Heidebach	-5317
	Dipl.-Ing. Martin Heinrich	-3856
	Marianne Holzmann	-3937
	Karin Karasch	-3940
	Dipl.-Ing. Sebastian Karasch (bis 31.12.2009)	-3534
	Dipl.oec.troph. Veronika Kaufmann	-5032
	Anne Keller	-3941
	Dipl.-Ing. Markus Kreuß (bis 30.11.2009)	-5032
	Karl Kroiss	-3942
	Dipl.-Ing. Wolfgang Kühnl	-3536
	Dipl.-Ing. (FH) Jeanette Kupfer	-5031
	Mag.-Ing. Malgorzata Kuropatwa (bis 31.01.2009)	-3939
	Dr.-Ing. Sabine Lauber (bis 30.09.2009)	-3855

Maria Muranyi	-3937
Dipl. LM-Ing. (Univ.) Alexander Piry (bis 31.05.2009)	-3534
Dipl.-Ing. Katherina Pruß	-3939
Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Dr. rer. nat. Chalat Santivarangkna	-3856
Dipl.-Ing.(FH) Rita Schaupp (ab 01.04.2009)	-3481
Dipl.-Ing. Iris Schmitz	-3481
Erich Schneider	-3537
Dipl.oec.troph. Nadja Siegert	-3534
Dipl.-Ing. (FH) Sonja Stirtzel	-3939
Dipl.-Ing. Thomas Strixner (ab 01.01.2009)	-2507
Dr.-Ing. Alexander Tolkach (bis 30.09.2009)	-3536
Dipl.-Ing. (FH) José Toro	-3481
Günther Unterbuchberger	-3942

Nachwuchsforschergruppe:

PhD Seronei Cheison	-5056
Dipl.-Ing. Elena Leeb	-3855
Ilona Hager	-5031

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

Gäste: Irena Jelicic (01.06.2009 – 30.11.2009)
Rommy Zuniga Pardo (01.10.2008 – 28.02.2009)
Rima Albesharat (01.06.2009 – 31.10.2009)

Vorwort

Die Verfahrenstechnik spielt in der Lebensmitteltechnologie ebenso wie in anderen Bereichen der Prozesstechnik eine entscheidende Rolle. Aus diesem Grunde hat die TU München im Jahr 2009 eine Initiative begonnen, disen Bereich einer Strukturevaluierung zu unterziehen, die am 1. Februar 2010 einen Schluss in Form eines Workshops fand, bei dem die betroffenen Fakultäten Chemie, Maschinenwesen und das Wissenschaftszentrum Weihenstephan ihre Arbeitsschwerpunkte im Bereich Verfahrenstechnik sowie deren Einbindung in die Fakultät darlegten. Begleitet und bewertet wurde diese Initiative von einer Reihe externer Gutachter, die der Hochschulleitung anschließend Vorschläge zur zukünftigen Aufstellung der Verfahrenstechnik an der TU München gemacht haben. Noch ist dieser Prozess insgesamt nicht abgeschlossen, aber es kann soviel gesagt werden, dass die Gutachter und die Hochschulleitung die Vorstellung des Departments für Ingenieurwissenschaften der Lebensmittel und Nachwachsenden Rohstoffe sehr positiv aufgenommen haben und als Rollenmodell für die Weiterentwicklung der Verfahrenstechnik an der TU insgesamt eingestuft haben.

Weihenstephan wird demnach mit seinen Lehrstühlen in diesem Bereich in einer führenden Position gesehen. Dies dürfte in der zukünftigen Entwicklung der Forschung und der Lehre in den Bereichen Lebensmitteltechnologie, Bioprozesstechnik und Pharmazeutische Bioprozesstechnik sowie Brauwesen und Getränketechnologie mit ihren insgesamt ca. 1300 Studenten zugute kommen.

Auszeichnungen 2009

Dr.-Ing. Chalat Santivarangkna - Herausragende Doktorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, ausgezeichnet am 01.10.2009 in Weihenstephan

Dipl.-Ing. Katherina Pruß, Preis des Oberbürgermeisters der Stadt Freising, ausgezeichnet wurde die beste Diplomarbeit anlässlich des Hochschultages am 25.06.2009.

Dipl.-Ing. Thomas Strixner, Krones Preis für hervorragende Studienleistungen, ausgezeichnet anlässlich des Hochschultages am 25.06.2009

Forschung

Arbeitsgruppe Bioprozesstechnik/Aseptik

Workgroup Bioprocess Engineering / Aseptic and Sterile Technology

Leitung: Dr.-Ing. Petra Först

Impact of Drying Conditions on the Protective Effects of Sugar against Dehydration-Inactivation during Vacuum Drying of Starter Cultures

Einfluss der Prozessbedingungen auf den Schutzeffekt von Zucker gegen trocknungsinduzierte Inaktivierung bei der Vakuumtrocknung von Starterkulturen

Chalat Santivarangkna, Petra Foerst

The improvement of the viability of vacuum dried starter cultures can be obtained by the addition of protectants. Sugars compare favourably with other protectants because of their relatively low prices, chemically innocuous nature, and common use in food industries. The protection of sugars seems to depend on the drying conditions, and the protective effects are more pronounced when cells are dried in a non-optimal condition (Först and Kulozik, 2009). From Figure 1, it could be seen that the viability of *L. paracasei* ssp. *casei* without the addition of sorbitol was reduced sharply at the water content of ca. 20%. The degree of the reduction depends on the drying condition used. The highest viability was obtained when cells were dried at 15ºC, 1500 Pa. In comparison, viability of cells was clearly increased when they were dried in the presence of sorbitol, especially under the non-optimal conditions (figure 1c). For instance, given the water content of 7%, the viability of cells dried in the absence and in the presence of sorbitol was 1 and 20%.

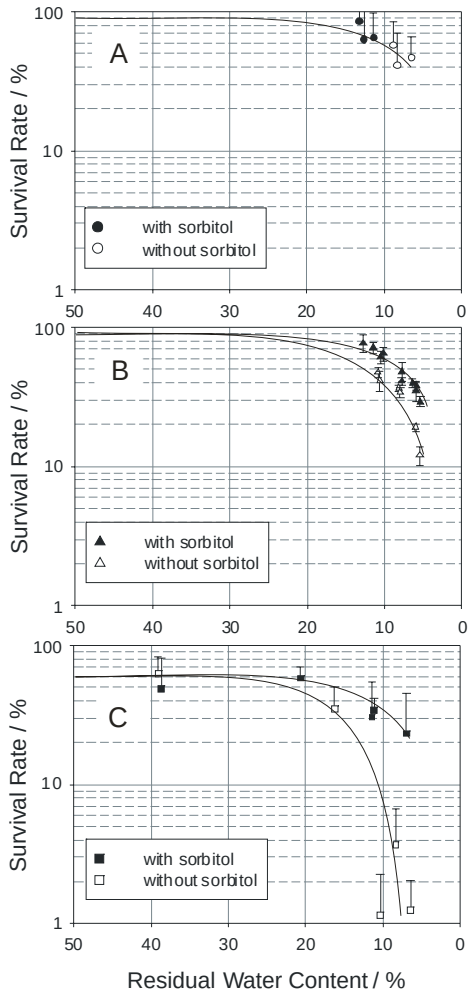


Figure 1:

Survival rate of L. paracasei ssp. paracasei after vacuum drying with and without sorbitol for different process conditions. A: (15°C, 1500 Pa); B: (30°C, 2500 Pa); C: (25ºC, 2500 Pa for 3 h and then 40ºC, 1000 Pa)

Nevertheless, very little is known so far about the influence of vacuum drying conditions on the protective mechanism of sugars, although it is the key insight necessary for optimization of the process systematically. We therefore aim to investigate the effect of key vacuum drying parameters (pressure, temperature) on the drying kinetics and the behaviour of the starter culture dried either in the absence or in the presence of sugars. The mechanisms of protection can be analysed by FTIR techniques, which allow the assessment of changes in cell components of intact cells, without an extraction step that may cause modification of the components. In our previous study, the mechanism behind the protective effects of sorbitol against dehydrated cells was studied in detail by using FTIR spectroscopy equipped with a sample temperature controlling system. We found that the protective effect of sorbitol is due to its ability to interact with membrane phospholipids. The incorporated sorbitol, which displaced water, depresses the membrane phase transition temperatures of cells by hydrogen-bonding to the phosphate groups of the phospholipids, as could be seen from the downward shift in the position of FTIR bands corresponding to (P=O) functional groups to a lower frequency.

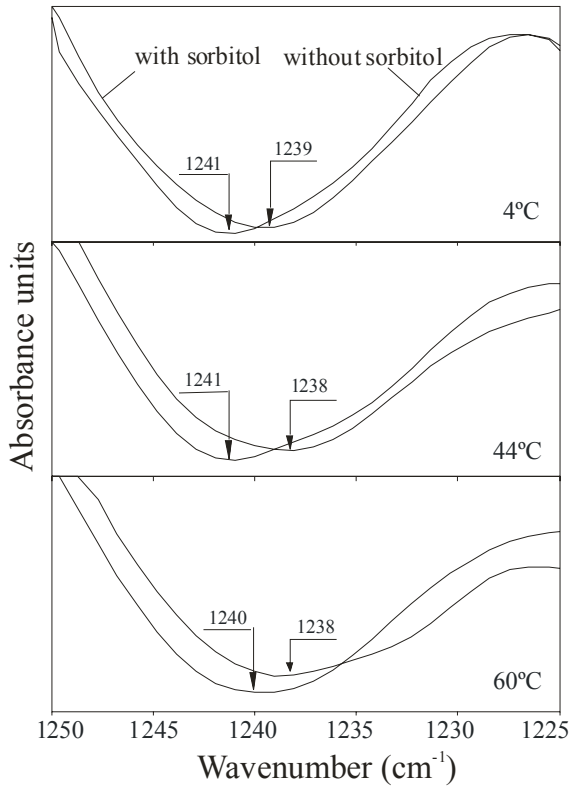


Figure 2:

Normalized second derivative FT IR spectra in the P=O asymmetric stretching band region of L. helveticus cells dried in the absence (solid line) and presence of sorbitol (dashed line). The spectra of each sample were recorded from 4ºC to 60ºC with 2ºC stepwise increase in the temperature.

The influence of the drying conditions on the inactivation of cells and on the effectiveness of the protectant during vacuum drying depends also on the water content of dried cells. Therefore, the next step of our works is to investigate protection mechanisms of the sugar at different drying stage/end water content of the samples, e.g. 50, 20, and 5%. These water contents correspond approximately to the water content of dried samples with free water, without free water, and end water content which is optimal for the storage of the dried powder. Although conventional FT IR sampling method is applicable for the analysis of dehydrated samples as shown above, it is not appropriate for samples with different water contents. This is due to the fact that water absorbs very strongly in the mid-IR range, a region in which many biological molecules have strong resonance vibrations. For instance, water absorption in the region centred at 3300 cm^{-1} and 1640 cm^{-1} can disturb bands related to membrane and proteins (Lewis and McElhaney, 2007). Although for the fully hydrated cell (control sample before drying), the substitution of water with heavy water (D_2O) can avoid the obstruction at these regions, D_2O will give bands at other regions which can similarly disturb bands of the samples. For example, the band centred at 1215 cm^{-1} from D_2O may conceal IR bands related to phospholipids (Lewis and McElhaney, 2007).

To overcome these drawbacks, an alternative FTIR sampling unit, the so called “attenuated total reflectance (ATR)” will be employed. ATR-FTIR is used for the analysis of material surfaces and also suitable for the characterization of materials, which are either too thick or too strongly absorbing to be analyzed by transmission spectroscopy. A schematic diagram describing the principle of ATR-FTIR is shown in Figure 3.

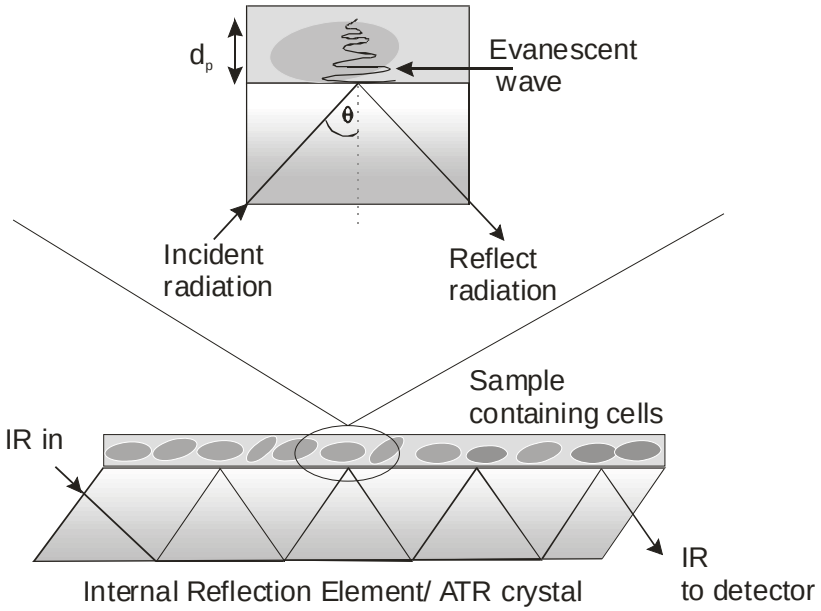


Figure 3: Graphical presentation of a multiple reflection in ATR system

The insight obtained from this project will provide a rational basis for developing vacuum drying processes that lead to a high viability. Considering that a certain drying condition used in the drying process is often kept the same for the whole drying course, the insight may lead to a dynamic drying process where drying conditions are depending on the drying stages, water content of the samples, and effectiveness of protectants. Moreover, since cells are dried at non-freezing low temperature, vacuum inactivation of cells is therefore limited to the dehydration inactivation, without thermal- or cryo-injuries that occur in other drying processes such as freeze or spray drying. The knowledge from this study will also support a deeper understanding of the dehydration inactivation of cells in general.

Reference

Först, P.; Kulozik, U.: A low resolution ^{1}H NMR study to investigate the protective mechanism of sorbitol during vacuum drying of a probiotic microorganism. In Magnetic Resonance in Food Science: Challenges in a Changing World, Guðjónsdóttir, M., Belton, P. S., Webb, G. A. (Eds). Royal Society of Chemistry, 2009, pp 73-81.

Lewis, R. N. A. H.; McElhaney, R. N.: Fourier transform infrared spectroscopy in the study of lipid phase transitions in model and biological membranes: practical considerations. Methods Mol. Biol. 2007, 400, 207-226

In-situ Detektion des Glaszustandes probiotischer Präparate während der Gefriertrocknung

In-situ detection of the glassy state of probiotic preparations during freeze-drying

Mathias Aschenbrenner

Die Gefriertrocknung ist ein gängiges Verfahren zur Konservierung von sensiblen und hochwertigen Lebensmitteln, Pharmazeutika und Starterkulturen. Der Entzug des Wassers ist grundsätzlich notwendig, um eine hohe Lagerstabilität zu erzielen, führt aber gleichzeitig zu Produktschäden beim Gefrieren und Trocknen. Ein optimierter Trocknungsprozess sollte somit eine hohe Lagerstabilität gewährleisten, ohne dabei das wertgebende Produkt durch Übertrocknung zu schädigen.

Neben dem Wassergehalt an sich spielt insbesondere der physikalische Zustand der Probe eine entscheidende Rolle für deren physikalische und chemische Stabilität.

So wurde bis dato von verschiedensten Autoren gezeigt, dass durch Einbetten von Biomolekülen wie Proteine, Enzyme, Liposome, Mikroorganismen und Pharmazeutische Wirkstoffe in eine amorphe Zuckermatrix eine erhöhte Lagerstabilität erzielt werden kann. Dieser amorphe Zustand der Zuckermatrix, oberhalb einer bestimmten Viskosität auch Glaszustand genannt, wird durch schnelles Einfrieren und anschließende Trocknung erreicht. Der schützende Effekt der Glasmatrix beruht auf seiner hohen Viskosität (>12Pa.s), aufgrund welcher physikalische und chemische Reaktionen stark verlangsamt ablaufen. Eine charakteristische Größe eines amorphen Materials ist seine Glasübergangstemperatur T_g. Nur bei Temperaturen unterhalb von T_g ist eine Langzeitstabilität gewährleistet. Die Glasübergangstemperatur eines Produktes kann mittels Differential Scanning Calorimetry (DSC) bestimmt werden. Aufgrund der Wasserlöslichkeit von Zuckergläsern wirkt gebundenes Restwasser als Weichmacher und beeinflusst die Glasübergangstemperatur signifikant. Diesen Zusammenhang von Wassergehalt und T_g stellt die Glasübergangskurve als Bestandteil des Zustandsdiagramms dar (Abbildung 1). Stabilität, und somit auch protektive Wirkung des amorphen Materials, ist nur unterhalb dieser Kurve gewährleistet. Oberhalb der Glasübergangskurve befindet sich die Probe in einem übersättigten Nicht-Glaszustand (Rubber-Zustand), in welchem Kollaps der Struktur und Kristallisation der enthaltenen Zucker auftreten. Ziel jeder Gefriertrocknung ist somit, einen Probenzustand unterhalb dieser Glasübergangskurve zu erreichen.

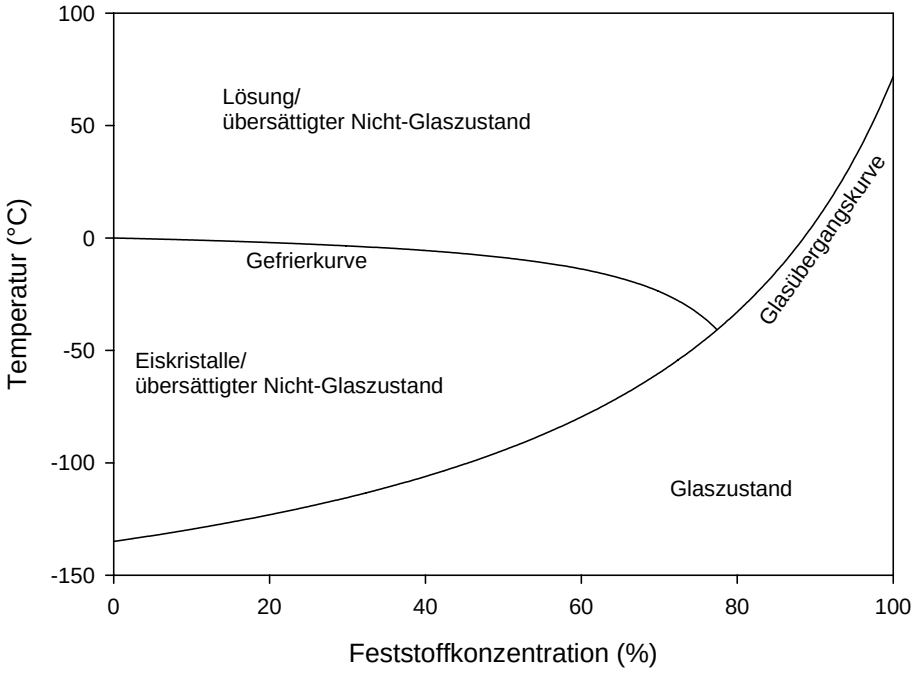


Abb. 1: Phasenzustandsdiagramm für eine Zell-Zucker-Suspension. Die Gefrierkurve zeigt die Gefriertemperatur in Abhängigkeit vom Restwassergehalt der Probe. Die Glasübergangskurve teilt die Diagrammfläche in einen oberen und einen unteren Bereich. Unterhalb der Kurve befinden sich Proben im Glaszustand. Oberhalb der Kurve befinden sich die Proben im übersättigten Nicht-Glaszustand (Rubber-Zustand).

Der oben erwähnte schützende Effekt amorpher Matrizes wurde bis heute jedoch fast ausschließlich im Rahmen von Untersuchungen der Lagerstabilität erörtert. Somit ist bis heute nicht klar, ob der Glaszustand bereits während der Trocknung einen Einfluss auf die finalen Produkteigenschaften hat, ob in diesem Zusammenhang eine Glasmatrix Trocknungsschäden

vermindern kann und ob die Zeit bis zum Eintritt in den Glaszustand eine Rolle spielt. Dieser Aspekt wurde in der Vergangenheit, vermutlich aufgrund fehlender in-situ Messtechniken, nahezu gänzlich vernachlässigt.

Im Fall des klassischen Lagerversuches stellen Probennahme und Probenuntersuchung kein Problem dar, da diese off-line durchgeführt werden können. Hierbei werden die Proben vor Beginn des Lagerversuches in größerer Zahl hergestellt. Im Anschluss erfolgt die Lagerung der Proben in wiederverschließbaren Behältern unter definierten Bedingungen (Luftfeuchtigkeit und Temperatur). In gewünschten Zeitabständen können diesen Behältern Proben für Messungen entnommen werden. Unter anderem kann dabei der Wassergehalt der Proben mittels Karl Fischer Titration erfasst werden.

Anders gestaltet sich die Situation im Fall der vorausgehenden Gefriertrocknung. Eine Probennahme zu einem bestimmten Zeitpunkt nach Trocknungsbeginn ist hier nur durch Beendung des Prozesses möglich. Somit muss für jeden Messpunkt ein kompletter Gefriertrocknungszyklus durchgeführt werden. Aufgrund dieser Tatsache ist die Ermittlung eines Trocknungsverlaufes aus einzelnen off-line Messungen extrem versuchsaufwendig. Des Weiteren birgt der Belüftungsprozess das Risiko des Probenkollapses, welcher wiederum mit erheblichen Problemen bei der Probenüberführung in den anschließenden Messungen verbunden ist. Die in-situ Erfassung des sich kontinuierlich ändernden Wassergehaltes würde hingegen mit bereits einer Messung den kompletten Trocknungsverlauf einer Probe wiedergeben.

Um einen Punkt im Zustandsdiagramm eindeutig zu beschreiben, wird generell ein Temperaturwert und ein Wassergehalt benötigt. Die in-situ Temperaturmessung ist dabei standardmäßig mit jedem Gefriertrockner möglich. Die Erfassung des sich ändernden Probenwassergehaltes hingegen stellt eine Herausforderung dar. Die bis dato verfügbaren in-situ Messmethoden erlauben lediglich die Detektion von Temperatur und Druck.

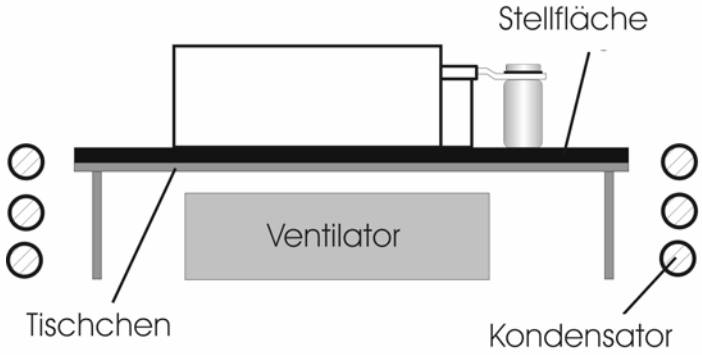


Abb. 2: Seitenansicht des Wägesystems CWS40 mit Probe im Gefriertrockner. Die Waage ist über den Greifarm fest mit dem Probenfläschchen verbunden. Zur Ermittlung des aktuellen Probengewichtes wird die Probe in definierten Zeitabständen durch den Greifarm angehoben. Um die Vibrationen während der Messung zu reduzieren, wurde die Stellfläche nicht direkt auf den Ventilator, sondern auf ein kleines Tischchen gestellt. Im Rahmen der Messungen wurden die Probenvials immer im gleichen Abstand zum Kondensator platziert.

An dieser Stelle knüpft das In-situ Wägesystem CWS40 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz) an. Dieses Wägesystem lässt sich aufgrund seiner geringen Abmessungen auf der Stellfläche des Gefriertrockners platzieren und gewährleistet damit den für eine erfolgreiche Trocknung essentiellen Kontakt zwischen Probe und Stellfläche.

Theoretisch kann bei bekannter Probentrockenmasse aus dem gewonnenen kontinuierlichen Massensignal ohne weiteres ein kontinuierlicher Wassergehaltsverlauf berechnet werden. In der Praxis jedoch konnte man bisher, aufgrund der Messungenauigkeit des Systems, lediglich die Trocknungsrate (Massenänderung über die Zeit), nicht aber den tatsächlichen Wassergehalt der jeweiligen Probe, detektieren. Grund für diese Messungenauigkeit waren die vorliegenden extremen Temperatur- und Druckbedingungen innerhalb des Trockners. Mit Hilfe einer eigens entwickelten Korrekturmethode konnte der Einfluss von Druck und Temperatur auf das System quantifiziert und anschließend minimiert werden. Die Evaluierung dieses Korrekturverfahrens zeigte eine Verbesserung der Messabweichung vom tatsächlichen Restwassergehalt von ursprünglich 20 auf weniger als 5%. Infolgedessen konnte mit dem evaluierten Wägesystem der kontinuierliche Verlauf des Restwassergehaltes während der gesamten Trocknung erfasst werden. Durch Kombination der aufgezeichneten Signale von Temperatur und Restwassergehalt wurde schließlich die Integration des Signals in das Phasenzustandsdiagramm ermöglicht.

Mit Hilfe dieses integrierten Signals lässt sich beurteilen, nach welcher Zeit die Probe in den Glaszustand übergeht (Signal schneidet die Glasübergangskurve). Somit ergibt sich eine neue charakteristische Kenngröße für den Trocknungsprozess t_g, Zeit bis zum Erreichen des Glaszustandes. Des Weiteren wird der jeweilige Weg der Probe durchs Zustandsdiagramm bis zum Glasübergang ersichtlich. Auch dieser charakteristische Weg kann zum Vergleich unterschiedlicher Trocknereinstellungen herangezogen werden. Abbildung 3 zeigt das Beispiel eines integrierten Trocknungsverlaufes für folgende Prozessparameter: Gefriertemperatur -20°C, Kammerdruck 0,37mbar und Stellflächentemperatur 10°C. Das Phasenzustandsdiagramm bezieht sich auf eine Zell-Zucker-Suspension aus *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* und Laktose (0,5 $g/g_{Zelltrockenmasse}$).

Die einzelnen Abschnitte der Gefriertrocknung sind gekennzeichnet: Kühlen (A-B), Gefrierkonzentrierung (B-C), Sublimation (C-D), Desorption bis zur Endkonzentration (D-F) und Desorption bis zum Glasübergang (D-E). Die jeweiligen Verweilzeiten sind aus dem Zustandsdiagramm nicht abzulesen, konnten aber aus den zugehörigen Trocknungskinetiken ermittelt werden. Die Dauer der Sublimationsphase betrug 1,3h. In dieser Zeit erwärmte sich die Probe von -20 auf -8°C. Die Dauer der anschließenden Desorptionsphase bis zur Endkonzentration von 94% betrug 1,2h. Der Glaszustand der Probe wurde bereits nach einer Desorptionsdauer von 0,32h bei einer Probentemperatur von -4,7°C und einer Konzentration von 81,5% erreicht. Somit ergibt sich eine Gesamttrocknungsdauer bis zum Erreichen des Glaszustandes t_g von etwa 1,62h. Die Probe befand sich also während der Trocknung für 1,62h in einem instabilen physikalischen Zustand.

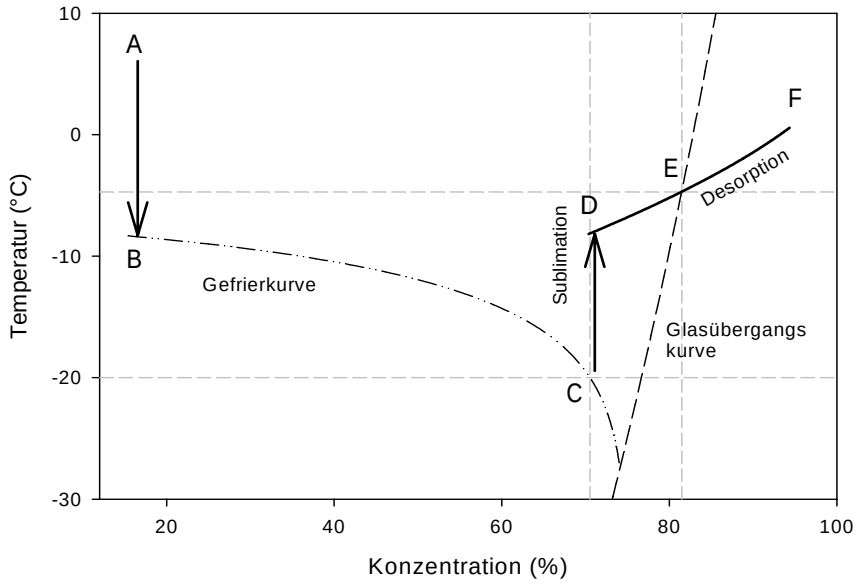


Abb. 3: Phasenzustandsdiagramm für die Zell-Zucker-Suspension. Die einzelnen Abschnitte des Gefriertrocknungsprozesses wurden integriert: Kühlen (A-B), Gefrierkonzentrierung (B-C), Sublimation (C-D), vollständige Desorption bis zur Endkonzentration (D-F) und Teildesorption bis zum Erreichen des Glaszustandes (D-E).

In Zukunft kann mit Hilfe dieses Verfahrens der Einfluss der gewählten Prozessparameter auf die physikalischen Eigenschaften der Probe, während der gesamten Trocknung, direkt beobachtet werden. Hieraus ergibt sich nicht nur eine neue Kenngröße t_g. Grundsätzlich kann auch beurteilt werden, inwiefern sich Veränderung von Prozessparametern und Probenzusammensetzung auf das komplexe Trocknungsverhalten auswirken. Das evaluierte Wägesystem CWS40 liefert somit nicht nur ein nützliches in-situ Signal. Es stellt vielmehr ein neues tool dar, mit welchem der Gefriertrocknungsprozess grundlegend charakterisiert werden kann.

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

Vergleich der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung mit der Gefriertrocknung zur Konservierung von Starter- und probiotischen Kulturen

Low-temperature vacuum drying in comparison with freeze drying based on the preparation of starter and probiotic cultures

Simon A.W. Bauer, Petra Först

Starterkulturen werden zur gezielten Fermentation von Lebensmittelrohstoffen eingesetzt, um Fehlfermentationen zu vermeiden und eine reproduzierbare Produktqualität sicherzustellen. Die Verwendung von definierten Starterkulturen ist in der Milchverarbeitung Stand der Technik und löst auch in der Herstellung fermentierter Fleisch- und Backwaren zunehmend traditionelle Verfahren ab. Entscheidend für deren effektive Produktion und Distribution sind schonende Verfahren, die eine hohe Vitalität und Aktivität der Bakterien gewährleisten. Bei Probiotika steht dagegen das Überleben im Produkt bzw. der Nutzen als Nahrungsergänzungsmittel im Vordergrund. Das Gefrieren bzw. die Gefriertrocknung, als Standardverfahren zur

Konservierung von Starterkulturen, gelten bisher zwar als schonende Verfahren für die Präparation von Starterkulturen, jedoch ist der Energiebedarf bei Produktion bzw. Transport hoch. Zudem kann bereits durch das Gefrieren der Zellen eine Schädigung eintreten. Eine deutliche Reduktion der Energiekosten kann durch Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (NTVT) knapp oberhalb des Tripelpunktes erreicht werden. Gleichzeitig ist es hiermit möglich, sowohl thermische als auch gefrierbedingte Schäden auszuschließen und höhere Vitalität und Aktivität zu erreichen.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Vergleichbarkeit der Gefriertrocknung mit der NTVT herzustellen. Deshalb wurde der Einfluss der Trocknungsprozessbedingungen der NTVT auf das Trocknungsergebnis untersucht.

Hierzu wurden drei verschiedene Bakterienstämme (*L. paracasei* ssp. *paracasei, L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* und *Bifidobacterium lactis)* in Spicher Medium fermentiert, bis die frühstationäre Wachstumsphase erreicht war. Diese Zellsuspension wurde mittels Zentrifugation geerntet, mit destilliertem Wasser gewaschen und auf eine Zelldichte von ca. 10^{10} KbE/mL aufkonzentriert. Für die Gefriertrocknungsversuche wurde anschließend das Zellkonzentrat mit flüssigem Stickstoff innerhalb einer Minute eingefroren. Die darauf folgende Gefriertrocknung wurde bei einem Druck von 0,12 mbar durchgeführt, was einer Sublimationstemperatur von reinem Wasser von -40 °C entspricht. Die Zufuhr von Sublimationswärme erfolgte über eine temperierbare Stellfläche (-20 °C) und die Trocknungszeit betrug 12 Stunden. Für die Untersuchungen der NTVT wurde das Zellkonzentrat bei verschiedenen Prozessbedingungen (siehe Tab. 1) für 24 Stunden getrocknet. Die so gewonnenen Zellpräparationen beider Trocknungsverfahren wurden hinsichtlich Überlebensrate, Restwassergehalt, Wasseraktivität und metabolischen Aktivität untersucht.

Tabelle 1: Untersuchte Prozessbedingungen für die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung mit Kurzbezeichnung der Prozessparameter und minimaler bzw. maximaler Produkttemperatur während der Prozessdauer von 24 Stunden

Stellflächen-temperatur [°C]	**Kammer-Druck [mbar]**	**Bezeichnung [°C/mbar]**	**Maximale Produkt-temperatur [°C]**	**Minimale Produkt-temperatur [°C]**
15	15	15/15	6	-1
25	15	25/15	18	5
35	15	35/15	26	3
15	25	15/25	11	7
25	25	25/25	17	10
35	25	35/25	22	4
15	30	15/30	13	6
25	30	25/30	17	4
35	30	35/30	26	3

Aus den so gewonnenen Daten für die Überlebensraten und Restwassergehalte wurden mittels Response Surface Methodology Diagramme zur Optimierung der NTVT erstellt (Für *L. paracasei* ssp. *paracasei* in Abbildung 1 dargestellt). Diese Diagramme zeigen Linien für Kombinationen von Prozessparametern mit gleicher Überlebensrate bzw. gleichem Restwassergehalt.

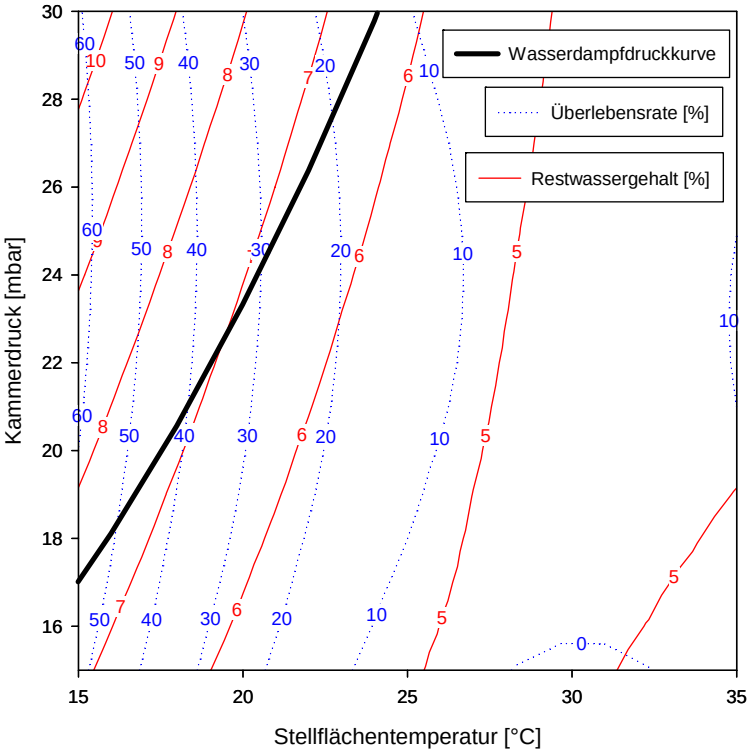


Abb.1: Linien gleicher Überlebensrate (gepunktete Linie) und gleicher Restwassergehalte (durchgezogene Linie) für L. paracasei ssp. paracasei nach der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (24 Stunden) in Abhängigkeit des Kammerdruckes und der Stellflächentemperatur als direkte Prozessstellgrößen

Mit Hilfe dieser Darstellungen ist es möglich, eine zielgerichtete Optimierung nach maximalem Überleben und gewünschtem Restwassergehalt durchzuführen. Diese Erkenntnis ermöglicht nun den Vergleich zwischen dem standardisierten Gefriertrocknungsprozess und der NTVT. Hierfür wurden als Optimierungskriterien 7 % Restwassergehalt und maximales Überleben verwendet. Der Vergleich für alle untersuchten Stämme ist in Abbildung 2 dargestellt.

Die Ergebnisse des Vergleiches zeigen, dass für *L. paracasei* ssp. *paracasei* in der NTVT gleiche Überlebensraten wie in der Gefriertrocknung erreicht werden können. Für *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ist bei der Verwendung der NTVT sogar eine Steigerung der Überlebensrate um das Zehnfache möglich. Dagegen ist offensichtlich, dass *B. lactis* Präparationen aus der NTVT deutlich niedrigere Überlebensraten aufweisen. Der Einsatz kann sich daher für bestimmte Kulturen als vorteilhaft erweisen, muss aber spezifisch dafür untersucht werden.

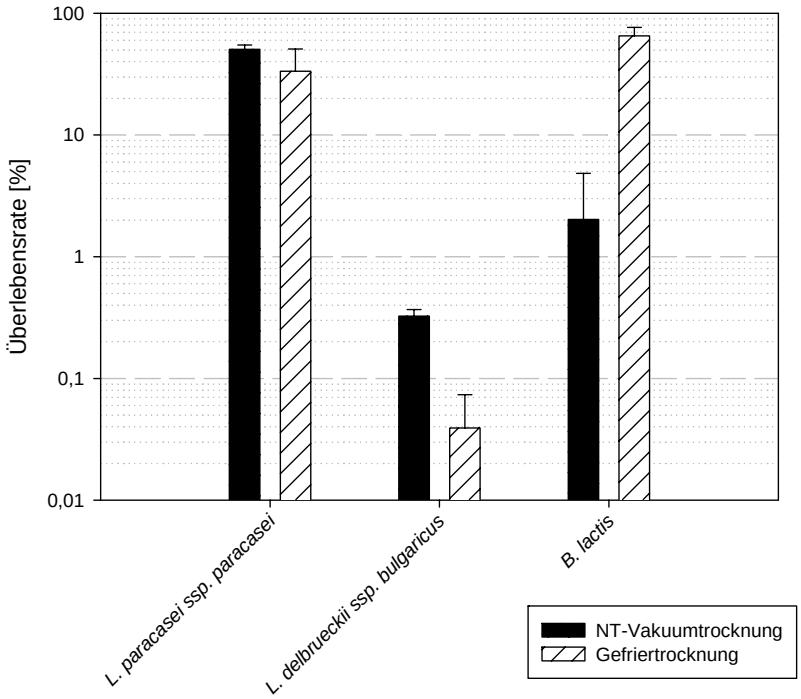


Abb. 2: Vergleich der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (optimiert auf 7 % Restwassergehalt bei maximalem Überleben) mit der Gefriertrocknung für die drei ausgewählten Stämme

Darüber hinaus ist noch nicht bekannt, wie stark sich in den einzelnen Fällen die Zugabe von Schutzstoffen auswirkt und wie sich die Lagerfähigkeit der unterschiedlichen Präparationen darstellt. Allerdings haben erste Untersuchungen gezeigt, dass die Lagerfähigkeit der mittels NTVT präparierten Proben denen aus dem Gefriertrocknungsprozess überlegen zu sein scheint.

Dank: Dieses Projekt wird aus den Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. Projekt-Nr: AIF-FV 15611 N.

Einfluss der Mikroverkapselung auf die Gefriertrocknung und anschließende Lagerung probiotischer Mikroorganismen

Influence of microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic microorganisms

Thomas Heidebach, Petra Först

Im Zusammenhang mit der steigenden Nachfrage nach funktionellen Lebensmitteln haben sich probiotische Mikroorganismen in den letzten Jahren zu einem der wichtigsten gesundheitsfördernden Zusätze entwickelt. Die FAO/WHO empfiehlt eine Definition von Probiotika als „lebende Mikroorganismen, die nach dem Verzehr in ausreichender Menge eine positive Wirkung auf ihren Wirt ausüben“.

Zur Aufrechterhaltung der Bioaktivität kommt dabei seit ca. 10 Jahren auch verstärkt die Mikroverkapselung zum Einsatz. Bei diesem Verfahren werden die Keime in kleine Gelkugeln eingeschlossen. Das Wirkprinzip des Matrixeinschlusses von probiotischen Keimen durch die Mikroverkapselung liegt dabei in einer physiologischen Barrierefunktion sowie in

intrinsischen Schutzfaktoren der Gelmatrix. Neben der Verwendung von Alginat zur Matrixbildung wird dabei in den letzten Jahren immer häufiger auch auf Proteine zurückgegriffen, da diese Vorteile gegenüber den klassischen Polysaccharid-basierenden Kapseln, wie z.B. bessere Verdaulichkeit und höhere Matrixdichte, aufweisen.

Aus verschiedenen prozesstechnischen sowie logistischen Gründen müssen Probiotika-Konzentrate häufig über längere Zeit gelagert werden, bevor sie zur Anreicherung von Lebensmitteln eingesetzt bzw. konsumiert werden können.

Daher ist es auch im Falle von probiotischen Mikrokapseln vielfach erforderlich, diese direkt nach der Herstellung zu trocknen, um so eine höhere Lagerstabilität zu generieren. Ein solcher Schritt ist insbesondere auch beim Einsatz von Probiotika in Trockenprodukten, wie z.B. Babynahrung oder Getränkepulvern, erforderlich.

Während sprühgetrocknete Mikrokapseln auf der Basis von Proteinen in den meisten Fällen wasserlöslich sind, wodurch sie ihren Schutzeffekt nach Aufnahme im Magen sehr schnell verlieren, bleiben gefriergetrocknete Hydrogelkapseln nach Rehydrierung in wässrigen Medien unlöslich und können so weiterhin die geforderte Matrix-Barriere zum Schutz der Probiotika vor ungünstigen Milieubedingungen bieten.

Aus diesem Grund wurde der Einfluss einer Mikroverkapselung mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Caseinkonzentraten auf die Überlebensrate darin verkapselter *Bifidobacterium* Bb12 während der Gefriertrockung und anschließenden Lagerung untersucht.

Dabei konnte gezeigt werden, dass sich die Wasseraktivität sowie der Restwassergehalt von verkapselten und unverkapselten Proben (Protein-Keim-Mischung) nach der Trocknung nicht signifikant unterscheidet.

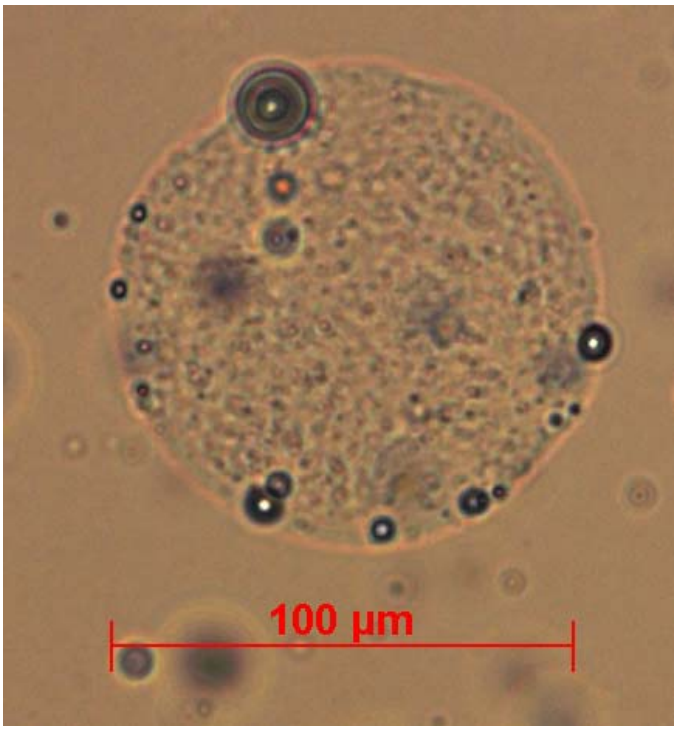


Abb. 1: Mikrokapsel mit probiotischen Mikroorganismen nach Trocknung und anschließender Rehydratisierung in wässrigem Medium.

Der Wasserentzug während der Trocknung wird durch die Einbindung in die Gelmatrix somit nicht wesentlich verzögert und auch bei den Überlebensraten nach der Trocknung von ca. 45% konnte kein Unterschied zwischen den verkapselten Proben und den unverkapselten Referenzproben festgestellt werden. Bei anschließender Rehydratisierung bleiben die Mikrokapseln unlöslich und nehmen ihre ursprüngliche Form wieder ein.

Die Lagerbedingungen wurden hinsichtlich relativer Luftfeuchtigkeit (11%/ 33%), sowie Temperatur (4°C/ 25°C) variiert. Die Ergebnisse konnten zeigen, dass die Überlebensrate von *Bifidobacterium* Bb12 während einer Lagerzeit von bis zu 90 Tagen unter allen getesteten Bedingungen durch eine Verkapselung um bis zu eine Zehnerpotenz erhöht werden kann. Abbildung 2 zeigt die Überlebensraten bei einer Lagerung von 4°C.

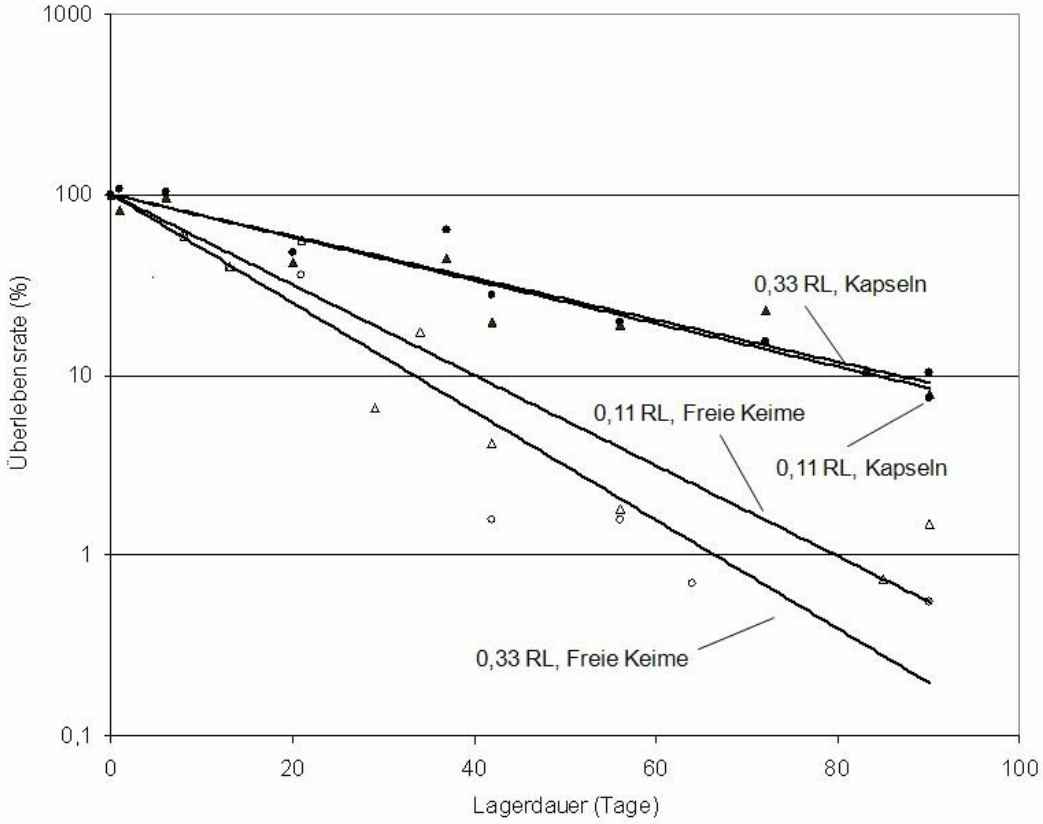


Abb. 2: Überleben von unverkapselten (offene Symbole) und verkapselten (gefüllte Symbole) Bifidobacterium Bb12 im Verlauf der Lagerung unter 11% relativer Luftfeuchte (Dreiecke) und 33% relativer Luftfeuchte (Kreise) bei 4°C.

Aus der Abbildung ist erkennbar, dass unter optimalen Bedingungen (4°C/ 11% relative Luftfeuchte) die probiotische Keimzahl in den Mikrokapseln um etwa eine Zehnerpotenz reduziert wird und das sich eine Lagerung bei höherer Luftfeuchte bei unverkapselten Keimen negativ auf das Überleben auswirkt. Die getrockneten Mikrokapseln enthalten am Ende der Lagerzeit ca. $3.8 \cdot 10^9$ KbE/g. Das erforderliche therapeutische Minimum, welches im Allgemeinen mit ca. 10^6-10^7 KbE/g Produkt angegeben wird, kann somit bei einer realistischen Zugabemenge von 1% Kapseln zu Trockenprodukten erreicht werden.

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

Einflussfaktoren auf die Produktqualität und -stabilität von ESL-Milch

Factors affecting product quality and stability of ESL milk

Veronika Kaufmann

E(xtended) S(helf) L(ife)-Milch, die sich durch eine Haltbarkeit von mehreren Wochen (unter Kühllagerung) und einen frischmilchähnlichen Geschmack auszeichnet, hat sich in den letzten Jahren auf dem Milchsektor immer weiter etabliert. Die Qualität und Stabilität dieser „länger haltbaren Frischmilch“ wird dabei von verschiedenen Faktoren wie der Rohmilchqualität oder den Verpackungs- und Lagerungsbedingungen sowie dem eigentlichen Herstellungsprozess beeinflusst. Als Herstellvarianten stehen dabei unterschiedliche thermische (Hocherhitzung: HE) und/oder damit kombinierte membrantrenntechnische (Mikrofiltration mit nachgeschalteter Pasteurisierung: MF+PAST) Verfahren zur Auswahl. Die Optimierung der bereits bestehenden ESL-Verfahrens- und Produktkonzepte erfolgte bislang meist rein empirisch. Einfluss und Zusammenspiel der prozesstechnischen sowie vor-/nachgelagerten Faktoren auf spezifische, wertgebende Produkteigenschaften oder insbesondere auch haltbarkeitsrelevante und -begrenzende Veränderungen der ESL-Milch waren bislang nur ansatzweise geklärt.

Ziel eines mittlerweile abgeschlossenen Forschungsvorhabens war es daher, Aus- und Zusammenwirkung der verschiedenen (wert- und haltbarkeitslimitierenden) Einflussfaktoren auf herstellungs- und lagerungsbedingte Produktveränderungen wissenschaftlich-systematisch zu eruieren.

Die Untersuchungen hierzu haben gezeigt, dass das ESL-Konzept zwar im Vergleich zum herkömmlich pasteurisierten Produkt entscheidende Vorteile hinsichtlich der Haltbarkeit der Milch mit sich bringt, sich aber kaum oder nur geringfügig auf wertrelevante Produkteigenschaften (Vitamingehalt) auswirkt. So treten größere Vitaminverluste (von max. 20 %) unabhängig von der Herstellvariante bei ESL-Milch erst nach einer längeren Lagerzeit von mehr als 30 Tagen auf.

Verfahrensabhängig ergeben sich jedoch v.a. thermisch induzierte Unterschiede in den sensorischen Eigenschaften der frisch hergestellten MF+PAST- und HE-Produkte (Kochgeschmack), des Weiteren aber auch bezüglich deren Qualität und Stabilität im Lagerungsverlauf, wobei beide ESL-Verfahrenskonzepte bzw. die daraus resultierenden Milchen diesbezüglich spezifische Vor- und Nachteile aufweisen. Die HE geht anfänglich mit einem (leichten) Kochgeschmack der Milch einher, resultiert aber im Vergleich zur MF+PAST in geringeren Keimgehalten (aber keiner vollständigen Sporeninaktivierung) sowie niedrigeren (Rest-)

Aktivitäten der lipolytischen/proteolytischen Enzyme. Lipolyse und Proteolyse sowie deren physiko-chemische Folgereaktionen, die sich beim MF+PAST-Produkt (bei einer Kühltemperatur von 10°C) nach etwa 18-21 Tagen als geschmacks- und haltbarkeitsbeeinträchtigend erweisen, finden somit bei HE-Milch im Lagerungsverlauf kaum statt. Die demzufolge vergleichsweise etwas längere Haltbarkeit der HE-Milch von 26-30 Tagen wird jedoch durch andere biochemische (z.T. in Zusammenwirken mit thermisch induzierten) Reaktionen limitiert. Diese (verfahrens-)spezifischen, enzymatisch verursachten, sensorischen Beeinträchtigungen im Lagerungsverlauf und dadurch letztendlich auch die Produkthaltbarkeit hängen dabei - je nach Herstelloption unterschiedlich stark - von weiteren, sich wechselseitig beeinflussenden Faktoren bzw. der mikrobiologischen/enzymatischen Rohmilchqualität, Enzymaktivität und Keimgehalt/-flora im Endprodukt sowie den (Kühl-) Lagerbedingungen ab.

Demnach resultiert die ESL-Technologie (auch bei standardisierten Herstellprozessen) nicht unmittelbar in Produkten mit gleichen, eindeutig definier- bzw. spezifizierbaren Eigenschaften oder Haltbarkeiten. Erst die Berücksichtigung der im Rahmen dieses Forschungsvorhabens eruierten, komplexen Zusammenhänge zwischen verfahrenstechnischen und vor-/nachgelagerten Faktoren ermöglicht es, eine vorhersagbare Qualität und Stabilität der ESL-Produkte zu erzielen.

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

Arbeitsgruppe Proteintechnologie/Membrantrenntechnik
Workgroup Protein Technology / Separation Techniques
Leitung: Dr.-Ing. Alexander Tolkach / Dr.-Ing. Sabine Lauber

Modellierung des Schereffektes bei der Bildung von Mikropartikeln aus ß-Laktoglobuling (ß-Lg) während der Hitzebehandlung von Molkenproteinlösungen

Modeling the effect of shear stress on the formation of β-Lactoglobulin (β-Lg) microparticles during heat treatment of whey protein solutions

José Toro-Sierra, Alexander Tolkach

The thermal denaturation of whey proteins is a two stage process where the globular native proteins unfold and reactive groups are released. Thereafter, the unfolded molecules aggregate and form aggregate strands. If heating is carried out in a resting system, a compact gel structure will be formed from a solution with a sufficient protein concentration (Aguilera, 1995). On the other hand, if the protein concentrate is heat-treated under shear influence, the shear forces will prevent the formation of a connected gel network so that individual protein aggregates are produced. This process is known as microparticulation. The aggregate properties result from a dynamic state balance between shear-controlled aggregate growth and shear-induced aggregate break-up. The size of the protein particles is affected by both environmental (protein, lactose, minerals content, pH-value) and processing factors (heat treatment temperature and time, shear stress). Shear stress or shear rate are especially important in terms of limiting of the aggregates size and enhancing the functionality of heat treated whey protein concentrates (Spiegel, 1999).

The mechanism of thermal denaturation of β-Lactoglobulin (β-Lg), a major whey protein with a molecular weight of 18.3 $kg \cdot mol^{-1}$ and an average concentration in milk or whey of 3.5 $g \cdot L^{-1}$, has been a subject of considerable attention that led to a number of hypothetical models describing the thermal behaviour of β-Lg heated in solutions without shearing assessed by different analytical techniques (Roefs *et al.*, 1994, Tolkach & Kulozik, 2007). However, there is no mathematical model describing the effect of shear stress or shear rate on the formation of ß-Lg aggregates as well as other phenomena linked to this process in a quantitative form.

The Objective of this study was the development and validation of a novel model delivering a quantitative explanation of following phenomena:

- decrease of particle diameter with increasing shear rate
- growth of ß-Lg aggregates in presence of native proteins independent of shear rate.
- no effect of shear rate on the kinetic parameters of thermal denaturation of ß-Lg
- applicability of kinetic parameters assessed by HPLC or PAGE for modelling of aggregates formation.

For the description of the shear stress effect on the limitation of aggregate growth, two β-Lg particles that have recently aggregated were taken closer into account. Under the assumption that both particles are spherical, the stick force F_H can be seen as the stabilizing component of newly formed aggregate (Fig. 1). At the same time the lift force F_L acts on the aggregates by splitting them due to the hydrodynamic effects. If the value of the lift force F_L is higher than stick force F_H, the new aggregate will be split. Otherwise it remains stable.

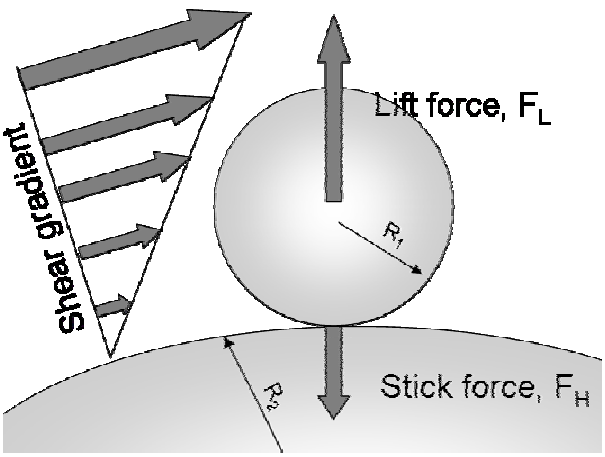


Figure 1: Force balance on recently aggregate particles

The basic theory for description of sticking forces between particles in small scale was proposed by Hamaker (1937). With the condition that one particle is considerably bigger than the other one, we can define F_H as:

$$F_H = \frac{A_H D}{12 a_o^{\,2}} \qquad (1)$$

The lift force is calculated using Rubin's (Dünisch, 2005) approach:

$$F_L = 0.761 \frac{\tau^{1.5} d^3 \rho^{0.5}}{\eta} \qquad (2)$$

By setting the stick force F_H equal to the lift force F_L, a relation between the shear stress τ and the diameter of particles that can agglomerate under such conditions can be obtained:

$$\tau = \left(\frac{A_H \eta}{9.132 a_o^2 \rho^{0.5}} \right)^{1.5} d^{-1.33} \qquad (3)$$

From the equation (3) follows that its graphical representation in a double-logarithmic plot must give a linear correlation between the shear stress and particle diameter with a slope of -1.33. This can be used for the validation of the developed equations.

In order to validate equation (3) a solution of 100 $g \cdot L^{-1}$ of native β-Lg (47 $g \cdot L^{-1}$ lactose, pH 6.5) was treated in a scraped surface heat exchanger, and the particle distribution of the obtained microparticles was measured using DLS, taking the average volumetric size $d_{50,3}$ as a representative size. Since the shear stress could not be directly measured, the calculated representative shear rate was used instead of it. The results are depicted in Fig. 2. The relationship between the variables mentioned above was extrapolated into the area of the native and unfolded monomers. As it can be seen from Fig. 2 a linear correlation between the shear rate and the mean diameter of β-lg particles can be obtained. However, the slope of the straight line was calculated to be -1.06 instead of the theoretical value of -1.33. This is probably due to the fact that the shear stress τ in the equation (2) is related to the value on the surface of the bigger particle (Fig. 1) and it seems to be lower than the used average value due to the rotation of the aggregates.

Anwendung des Emulsionsverfahrens auf molkenproteinbasierte Hydrogele zur Mikroverkapselung von Heidelbeerextrakt

Application of the emulsification process to whey protein based hydrogels for the microencapsulation of bilberry extract

Michael Betz

Ein wichtiges Aufgabengebiet der modernen Lebensmitteltechnologie ist die Entwicklung und Verbesserung von Verkapselungssystemen zur Einbringung bioaktiver Stoffe in Lebensmittelmatrices. Für solche Systeme müssen pharmazeutische Zielsetzungen, wie der Transport und die gezielte Freisetzung des verkapselten Wirkstoffs im menschlichen Körper, umgesetzt werden, ohne dass die nutritiven und sensorischen Aspekte des Trägerlebensmittels beeinträchtigt werden. Aus diesem Grund greift man auf das Verfahren der Mikroverkapselung zurück. So lassen sich Verkapselungssysteme im µm-Größenbereich erzeugen, die die verkapselten Stoffe im Lebensmittel stabilisieren, bei der Nahrungsaufnahme nicht wahrgenommen werden und gleichzeitig Stofftransport und -freisetzung im Körper ermöglichen.

Aufgrund ihrer gesundheitsfördernden Wirkungen sind Pflanzenphenole als bioaktives Kernmaterial für die Mikroverkapselung von Interesse. So weisen phenolische Flavonoide, wie z.B. Anthocyane aus Heidelbeerextrakt (HBE), antinflammatorische und antioxidative Eigenschaften auf. Diese werden mit zahlreichen positiven Gesundheitseffekten wie z.B. der Verminderung des Erkrankungsrisikos für Krebs in Verbindung gebracht. Extrahierte Anthocyane sind außerhalb ihres natürlichen Milieus nur bei stark saurem pH-Wert stabil. Für eine Anwendung in Lebensmitteln und um einem unerwünschten Anthocyanabbau im Köper nach oraler Aufnahme entgegenzuwirken erscheint daher die Einbettung in eine Schutzmatrix sinnvoll.

In vorausgegangenen Versuchen konnte gezeigt werden, dass thermisch induzierte Hydrogele (80°C, 10 min) aus wässrigen, sauren Molkenproteinlösungen geeignete Matrices für eine Verkapselung und Stabilisierung der HBE-Anthocyane darstellen. Die besten Verkapselungseigenschaften wiesen Molkenproteingele mit pH 1,5 und pH 3 und einem Proteingehalt von 20 % auf, in die bis zu 10 % Heidelbeerextrakt eingebettet werden konnten.

Diese für die HBE-Verkapselung am besten geeigneten Molkenproteinsysteme wurden als Matrixmaterial für die Mikroverkapselung eingesetzt.

Zur Herstellung der Mikrokapseln wurde das in Abbildung 1 schematisch dargestellte W/O-Emulsionsverfahren eingesetzt.

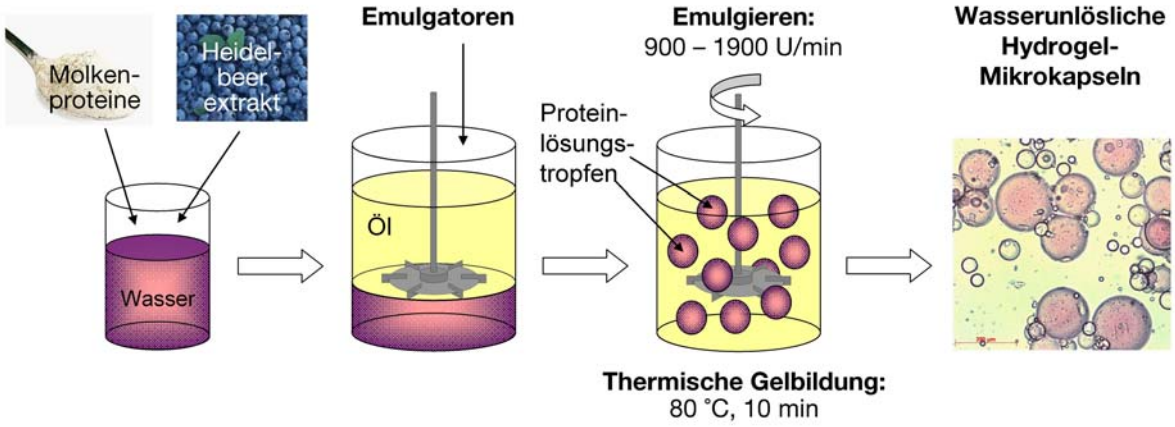


Abb. 1: Schematische Darstellung des W/O-Emulsionsverfahrens zur Herstellung von Mikrokapseln

Dieses Verfahren umfasst die Herstellung einer W/O-Emulsion durch Emulgieren der wässrigen Protein-Heidelbeerextraktlösungen in Pflanzenöl. Bei der anschließenden Erhitzung der Emulsion gelieren die dispergierten Proteinlösungstropfen und können als Hydrogel-Mikrokapseln aus der Ölphase abgetrennt werden. Die Emulsionen wurden in einem Rührkessel mit Strombrechern mittels Scheibenrührer hergestellt.

Der Mikroverkapselungsprozess wurde zunächst an das thermische Gelbildungsverhalten der Molkenproteinlösungen angepasst. Durch Variation der Rührerdrehzahl und Emulgatoreinsatz sollten mittels Emulsionsverfahren Mikrokapseln unterschiedlicher Größenordnungen erzeugt werden.

Eine Erhöhung der Rührerdrehzahl (1000 U/min - 1900 U/min) hatte in Systemen ohne Emulgatorzusatz, entgegen den Erwartungen, nicht kleinere Mikrokapseln mit engeren Verteilungsbreiten zum Ergebnis, sondern führte bei Drehzahlen oberhalb von 1350 U/min vielmehr zu einem scheinbaren Wiederanstieg der mittleren Partikelgröße, wie Abbildung 2 zeigt.

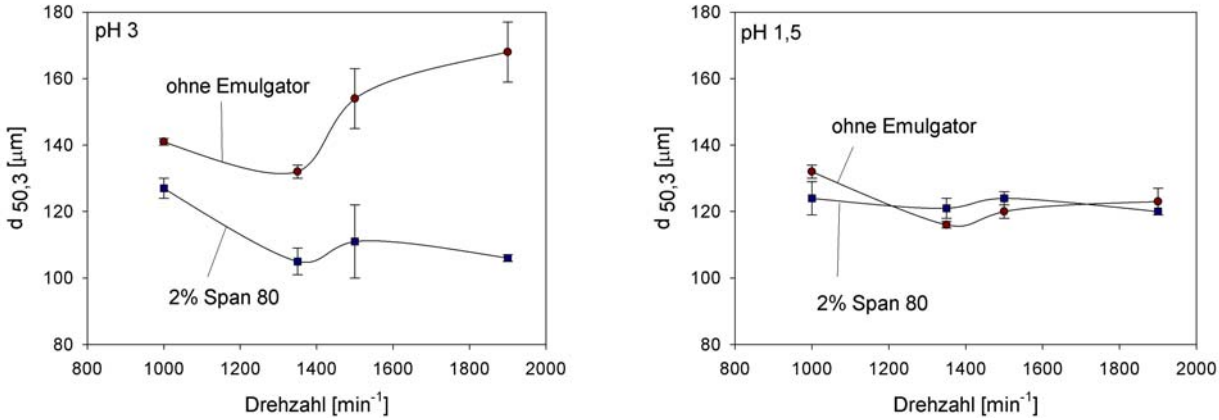


Abb. 2: Einfluss der Rührerdrehzahl und der Zugabe von Span 80 auf den mittleren Durchmesser der erzeugten Mikrokapseln mit pH 3 (li.) und pH 1,5 (re.).

Mit zunehmender Rührerdrehzahl wurden zu Beginn des Emulgierprozesses zwar kleinere Tropfen erzeugt, doch die Emulsion wurde durch die Viskositätsabnahme der Ölphase bei gleichzeitiger Viskositätszunahme der wässrigen Phase (Gelbildung) während der Erhitzung destabilisiert. Je kleiner die erzeugten Tropfen waren, desto höher war die Koaleszenz- und Aggregationsrate während der Erhitzung, weshalb ein Anstieg der mittleren Partikelgröße bei hohen Rührerdrehzahlen (> 1350 U/min) beobachtet wurde.

Die Kapseln mit pH 1,5 neigten aufgrund der stärkeren Ladung und damit höheren elektrostatischen Repulsion der grenzflächenaktiven Molkenproteine generell weniger zur Aggregation und Koaleszenz als solche mit pH 3. Dennoch reichte die Grenzflächenaktivität der Molkenproteine bei beiden pH-Werten nicht aus um bei hohen Rührerdrehzahlen die Emulsionen während der Erhitzung zu stabilisieren. So konnten über den untersuchten Drehzahlbereich keine Mikrokapseln erzeugt werden, die einen mittleren Durchmesser von weniger als 100 µm aufwiesen.

Zur Herstellung kleinerer Mikrokapseln sowie um den destabilisierenden Bedingungen während der Erhitzung entgegenzuwirken wurde der lebensmitteltaugliche Emulgator Span 80 eingesetzt. Beim Emulgieren von Molkenproteinlösungen mit pH 3 konnte durch den Einsatz von 2 % Span 80 eine Abnahme der Partikelgröße im Vergleich zum emulgatorfreien System erreicht werden. Die Koaleszenz- und Aggregationserscheinungen bei höheren Drehzahlen konnten jedoch nicht verhindert werden. Bei pH 1,5 wirkte sich die Zugabe von Span 80 negativ auf das Emulgierergebnis aus. Es kam über den gesamten Drehzahlbereich zu stärkerer Koaleszenz als ohne Emulgatorzusatz, wie mikroskopische Aufnahmen der erzeugten Mikrokapseln zeigten. Gleichzeitig bewirkte die Emulgatorzugabe keine Verkleinerung der Partikelgröße gegenüber der emulgatorfreien Herstellung. Wahrscheinlich wurden die nichtionischen Span 80-Moleküle aufgrund der hohen positiven Ladungsdichte der Proteine bei pH 1,5 von der W/O-Grenzfläche abgehalten.

Als alternativer lebensmitteltauglicher Emulgator wurde Phosphatidylcholin abgereichertes Lecithin (PCDL) eingesetzt. Dessen Verwendung resultierte sowohl bei pH 1,5 als auch bei pH 3 in der erwarteten Abnahme der Partikelgröße mit zunehmender Rührerdrehzahl. Der PCDL-Einsatz ermöglichte die gezielte Herstellung von Mikrokapseln mit mittleren Partikelgrößen zwischen 20 µm und 60 µm. Die gute Wirksamkeit des Emulgators lässt sich auf einen synergistischen Effekt von Molkenproteinen und Lecithinkomponenten zurückführen. Zur Charakterisierung des Einflusses der HBE-Zugabe zur Proteinlösung auf die Mikrokapseleigenschaften wurden Mikrokapseln mit HBE-Konzentrationen von 1-10 % unter Einsatz von 2 % PCDL bei 1350 U/min hergestellt (Abbildung 3).

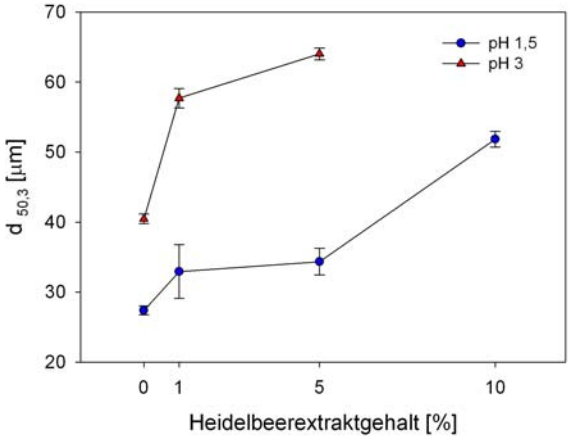


Abb. 3: Einfluss des Heidelbeerextraktgehaltes der Molkenproteinlösungen mit pH 1,5 und pH 3 auf die mittleren Durchmesser der daraus erzeugten Mikrokapseln (2 % PCDL, 1350 U/min)

Bei beiden pH-Werten nahm die Partikelgröße mit steigendem HBE-Gehalt zu, was mit einer dem Tropfenaufbruch entgegenwirkenden Viskositätserhöhung der dispersen Phase erklärbar ist. Bei pH 3 traten Wechselwirkungen zwischen Polyphenolen und Molkenproteinen auf, die zur Bildung von Aggregaten sowie deren Ausfällung führten. Diese Interaktionen wurden wahrscheinlich von elektrostatischen Effekten dominiert, da sie bei pH 1,5 nur in geringem Umfang auftraten, wenn sowohl die phenolischen Verbindungen als auch die Molkenproteine vollständig protoniert vorlagen. Bei pH 3 resultierte daher eine HBE-Zugabe in einem stärkeren Anstieg des mittleren Mikrokapseldurchmessers als bei pH 1,5. Die Wirksamkeit von PCDL wurde aufgrund pH-abhängiger Interaktionen zwischen Polyphenolen und Lecithin ebenfalls durch die HBE-Zugabe beeinträchtigt. Während diese Wechselwirkungen bei pH 1,5 nur in geringem Maß auftraten und auch bei 10 % HBE-Gehalt Mikrokapseln erzeugt werden konnten, war dies bei pH 3 nicht möglich, da mit zunehmender HBE-Konzentration starke Aggregationserscheinungen auftraten.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte die Anwendbarkeit des Emulsionsverfahrens zur Herstellung von HBE-beladenen Mikrokapseln auf der Basis thermisch induzierter Molkenproteinhydrogele bestätigt werden. Es zeigte sich, dass für eine erfolgreiche Mikrokapselherstellung auftretende Wechselwirkungen zwischen den unterschiedlichen im Mikroverkapselungsprozess eingesetzten Komponenten eine wichtige Rolle spielen. Unter Berücksichtigung dieser Interaktionen konnten so, in Abhängigkeit von Rührerdrehzahl, Emulgatortyp, pH-Wert der Proteinlösung sowie Heidelbeerextraktgehalt, Mikrokapseln mit mittleren Durchmessern von 20 µm bis 167 µm erzeugt werden.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. Projekt-Nr.: AiF-FV 15611 N.

Einfluss unterschiedlich Transglutaminase-behandelter Milchproteinpulver auf die Eigenschaften von Magermilchjoghurten

Influence of transglutaminase treated milk protein powders on the properties of skim milk yoghurt

Christopher Guyot

Das Enzym Transglutaminase (TGase) katalysiert die Quervernetzung von Proteinen und beeinflusst somit die Eigenschaften proteinbasierender Lebensmittel auf molekularer Ebene. Die durch das Enzym katalysierte Reaktion führt zur Bildung von intra- und intermolekularen kovalenten Bindungen zwischen den proteingebundenen Aminosäuren Glutamin und Lysin. Diese sogenannten Isopeptidverbindungen beeinflussen die funktionellen Eigenschaften der Proteine. Anhand bisheriger Studien konnten die positiven Auswirkungen der TGase-Behandlung auf die Struktur unterschiedlicher Joghurtprodukte gezeigt werden. So weisen insbesondere Joghurte mit einem geringen Fettgehalt wie Magermilch- und fettreduzierte Joghurte eine deutliche Strukturverbesserung durch den Enzymeinsatz auf. Hierbei führt die Modifizierung der Milchproteine zu einer verbesserten Textur, einem höheren Wasserbindevermögen, einem angenehmeren und cremigeren Mundgefühl und der Möglichkeit, bei gleich bleibenden rheologischen Eigenschaften Trockenmasse einzusparen.

Die direkte Anwendung des Enzyms zeitgleich mit der Starterkultur bewirkt allerdings nicht nur positive Effekte. Mithilfe von Lagerungsversuchen konnte gezeigt werden, dass TGase bei den Bedingungen der Lagerung nicht vollständig in inaktivierter Form vorliegt. Trotz der tiefen Temperaturen und niedrigen pH-Werte bis zu pH 4,2 kommt es noch zu einer zwar geringen, aber dennoch stattfindenden Enzymreaktion, so dass weitere Proteinquervernetzungen erfolgen. Dieses führt zu unerwünschten Änderungen der Joghurteigenschaften während der Lagerungszeit, wie z. B. Anstieg der Viskosität und Bildung von Klumpen.

Um diese TGase-bedingten Änderungen zu vermeiden, erschien daher der Einsatz eines bereits vorher TGase-behandelten Milchproteinpulvers zur Trockenmasseerhöhung bei der Joghurtproduktion sinnvoll. Hierfür wurde pasteurisierte Milch zuvor mit unterschiedlichen Enzymkonzentrationen behandelt und anschließend sprühgetrocknet, so dass verschiedene enzymatisch modifizierte Milchproteinpulver entstanden, die keine aktive TGase mehr enthielten. Abbildung 1 verdeutlicht die Milchpulver-Herstellung unter Verwendung von TGase in einem Fließschema.

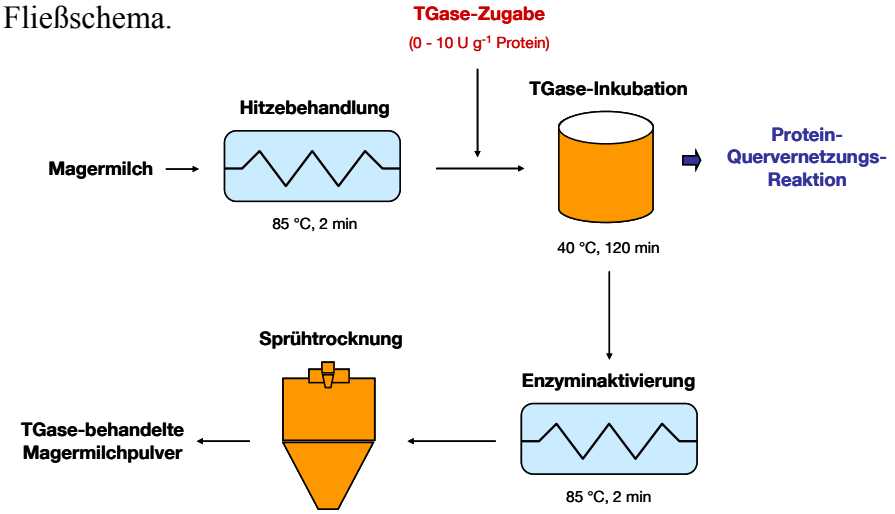


Abb. 1: Herstellung von Transglutaminase-behandelten Milchproteinpulvern mit unterschiedlichen Enzymkonzentrationen

Die gezielt modifizierten Milchpulver weisen abhängig von der verwendeten TGase-Konzentration unterschiedlich starke Vernetzungsgrade auf. Diese Pulver wurden dann anstatt des sonst bei der Joghurtherstellung üblichen Milchpulvers zur Erhöhung des Proteingehalts eingesetzt, so dass der Einfluss des Vernetzungsgrads der Pulver auf die Joghurteigenschaften ermittelt werden konnte. Die Erhöhung des Proteingehalts betrug dabei jeweils +1 % Protein.

Obwohl nur ein geringer Anteil der Proteine in der Joghurtmilch in vernetzter Form vorliegt, lassen sich die Eigenschaften des damit hergestellten Joghurts deutlich verbessern. Es konnte gezeigt werden, dass abhängig vom nach der Sprühtrocknung erreichten Polymerisierungsgrads der Milchproteine bei dem Joghurt mit TGase-behandeltem Magermilchpulver die gleichen positiven Effekte - erhöhte Viskosität, verringerte Serumlässigkeit, verbesserte Cremigkeit - wie bei einer direkten Zugabe des Enzyms vorliegen. Des Weiteren ermöglicht der Einsatz dieses TGase-behandelten Magermilchpulvers ebenfalls eine deutliche Reduzierung des eingesetzten Magermilchpulvers bei vergleichbaren rheologischen Eigenschaften des Endprodukts.

Bei einem Vergleich zwischen simultaner Anwendung von Transglutaminase und dem Einsatz des enzymatisch modifizierten Milchpulvers ließ sich deutlich die positive Wirkung des TGase-behandelten Pulvers auf die Lagerstabilität des Joghurts nachweisen. Hierfür wurden Magermilchjoghurte einerseits durch Proteinerhöhung mit herkömmlichem Magermilchpulver und simultaner Zugabe von TGase und andererseits mittels Proteinerhöhung durch enzymatisch behandeltes Milchpulver, aber ohne direkten Enzymeinsatz hergestellt. Die verwendete Enzymmenge war dabei bezogen auf die erhaltene Joghurtmilch nahezu identisch. Die hergestellten Joghurte wurden hinsichtlich ihrer rheologischen und strukturellen Eigenschaften und des Serumbindevermögens untersucht. Zusätzlich dazu wurde mit einem trainierten Experten-Panel ein sensorisches Profiling durchgeführt. Anhand der Messungen und des sensorischen Profilings konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz des TGase-behandelten Magermilchpulvers die negativen Effekte der Lagerungsveränderung, wie die Bildung von Eiweißstippen und eine höhere Rauigkeit, verhindert werden konnten (siehe Abbildung 2).

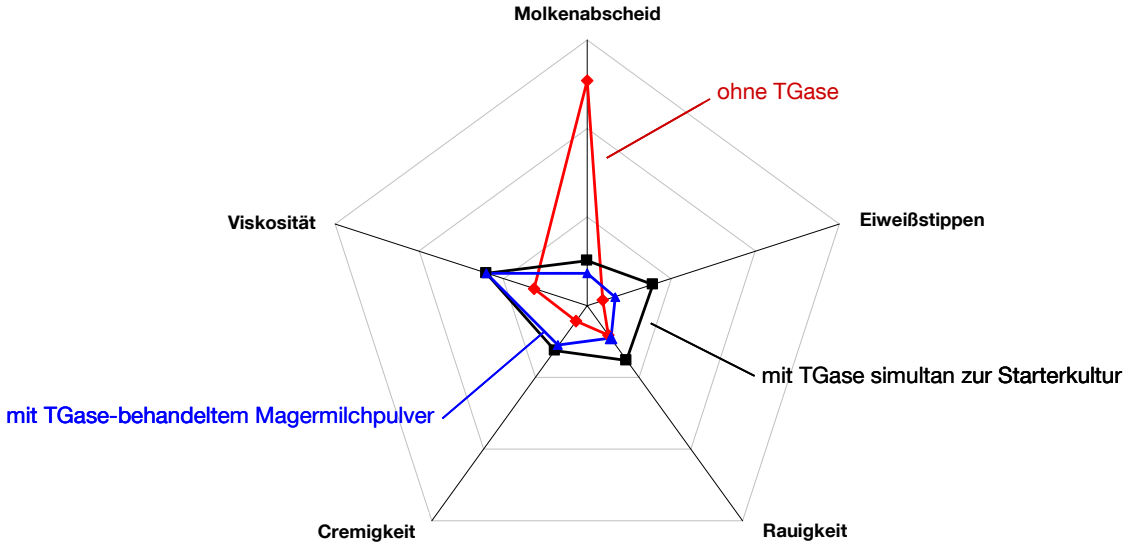


Abb. 2: Sensorische Beurteilung von Magermilchjoghurten, hergestellt ohne Enzym-Behandlung, durch simultane Zugabe von TGase und Starterkultur und durch Proteinerhöhung mit TGase-behandeltem Magermilchpulver

Mithilfe der Proteinerhöhung aufgrund des TGase-behandelten Milchproteinpulvers ist somit eine Verbesserung der Joghurtstruktur durch die enzymatische Proteinquervernetzung und eine hohe Lagerstabilität kombiniert möglich.

Innerhalb dieser Versuche konnte somit gezeigt werden, dass durch einen gezielten Einsatz von Transglutaminase-behandeltem Milchpulver zur Herstellung von Magermilchjoghurt die Produkteigenschaften und letztendlich die Verbraucherakzeptanz gesteigert werden kann.

Einfluss von pH und Ionenstärke auf die Proteinadsorption an Membranoberflächen

Influence of pH and ionic strength on protein adsorption on membrane surfaces

Wolfgang Kühnl

Bei der Fraktionierung und dem Aufkonzentrieren von proteinhaltigen Lösungen wie Milch mittels Membrantrenntechnik haben neben den hydrodynamischen Prozessbedingungen auch kolloidale Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und zwischen Proteinen und der Membranoberfläche einen Einfluss auf das Membranfouling während der Filtration. Die Interaktionen zwischen Proteinen untereinander und mit der Membran setzen sich aus verschiedenen Wechselwirkungskräften zusammen, die von den milieuabhängigen Oberflächeneigenschaften der Interaktionspartner abhängen. Ziel dieser Arbeit war es, die Adsorption von Bovinem Serum Albumin (BSA) an Polyethersulfon (PES) Ultrafiltrationsmembranen (UF) zu untersuchen und den Einfluss der Proteinladung und der Ionenkonzentration auf die Protein-Membran Wechselwirkungen aufzuklären.

Dazu wurden statische Adsorptionsversuche bei pH 6,8 (Protein und Membran sind negativ geladen) und bei pH 4,7 dem Isoelektrischen Punkt (IEP) des BSA (keine Nettoladung des Proteins, Membran leicht negativ geladen) bei niedriger Ionenstärke durchgeführt. Des Weiteren wurde bei pH 6,8 die Ionenstärke durch NaCl Zugabe variiert, sowie ein Teil des NaCls unter Konstanthalten der Ionenstärke durch Kalzium ersetzt. Um den Einfluss von Protein-Membran Wechselwirkungen auf die Adsorption zu erfassen, musste eine Überlagerung der Ergebnisse durch hydroynamische Effekte ausgeschlossen werden. Daher wurden die Membranen nicht über- bzw. durchströmt, sondern nur statisch mit der Proteinlösung in Kontakt gebracht. Die adsorbierte Proteinmenge an der Membranoberfläche wurde mittels SDS-Puffer desorbiert und mittels eines auf der Bindung von Farbstoffen an Proteinen basierenden (BCA)-Tests quantifiziert.

In Abbildung 1 ist die auf die Membranoberfläche bezogene Menge an adsorbiertem BSA als Funktion der Kontaktzeit zwischen Proteinlösung und Membran (Adsorptionsisotherme) bei pH 6,8 und 4,7 und einer niedrigen Ionenstärke aufgetragen.

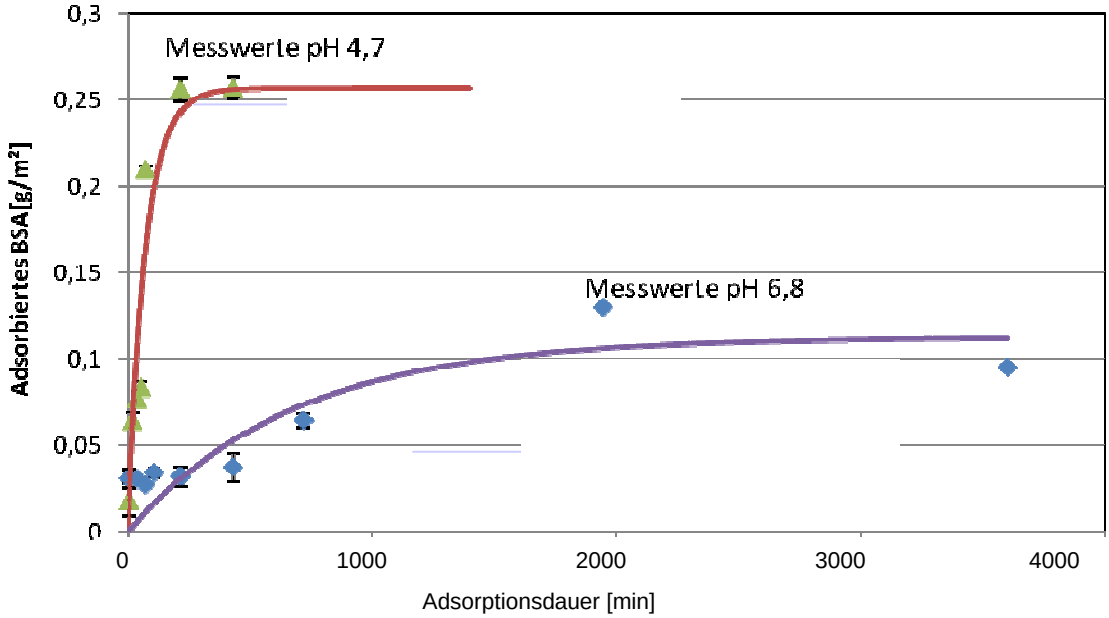


Abb. 1: Adsorptionsisothermen von BSA an PES-UF-Membranen bei pH 6,8 und 4,7 und einer niedrigen Ionenstärke von 1,12 mM.

Auf Grund der niedrigen Ionenstärke wird die Proteinladung nur geringfügig abgeschirmt und dementsprechend sind die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Membran und Protein weitreichend. Bei pH 6,8 kommt es bedingt durch die negative Ladung von Membran und Protein zu einer elektrostatischen Abstoßung der Interaktionspartner, so dass nur eine geringe Proteinmenge auf Grund von Van-der-Waals Anziehung und hydrophoben Wechselwirkungen adsorbieren kann. Bei pH 4,7, dem isoelektrischen Punkt von BSA, ist die elektrostatische Abstoßung gleich null und somit ist eine Adsorption des Proteins erleichtert. Fernerhin entfällt die repulsive Barriere zwischen bereits adsorbierten BSA-Molekülen. Daher ist am IEP des Proteins neben einer verstärkten Adsorptionsneigung auch eine dichtere Packung der Proteine auf der Membran und folglich eine erhöhte Menge an adsorbiertem BSA pro Membranfläche zu beobachten.

In Abbildung 2 fällt auf, dass die Adsorptionsisothermen sowohl bei pH 4,7 als auch bei 6,8 ein Plateau ausbilden. Dies deutet auf eine Belegung der Membran mit einer monomolekularen Proteinschicht hin. Eine Adsorption bei pH 6,8 und einer erhöhten Ionestärke von 80 mM führt hingegen im untersuchten Zeitraum zu einer stetig ansteigenden Isotherme, so dass hier von einer polymolekularen Belegung ausgegangen werden muss.

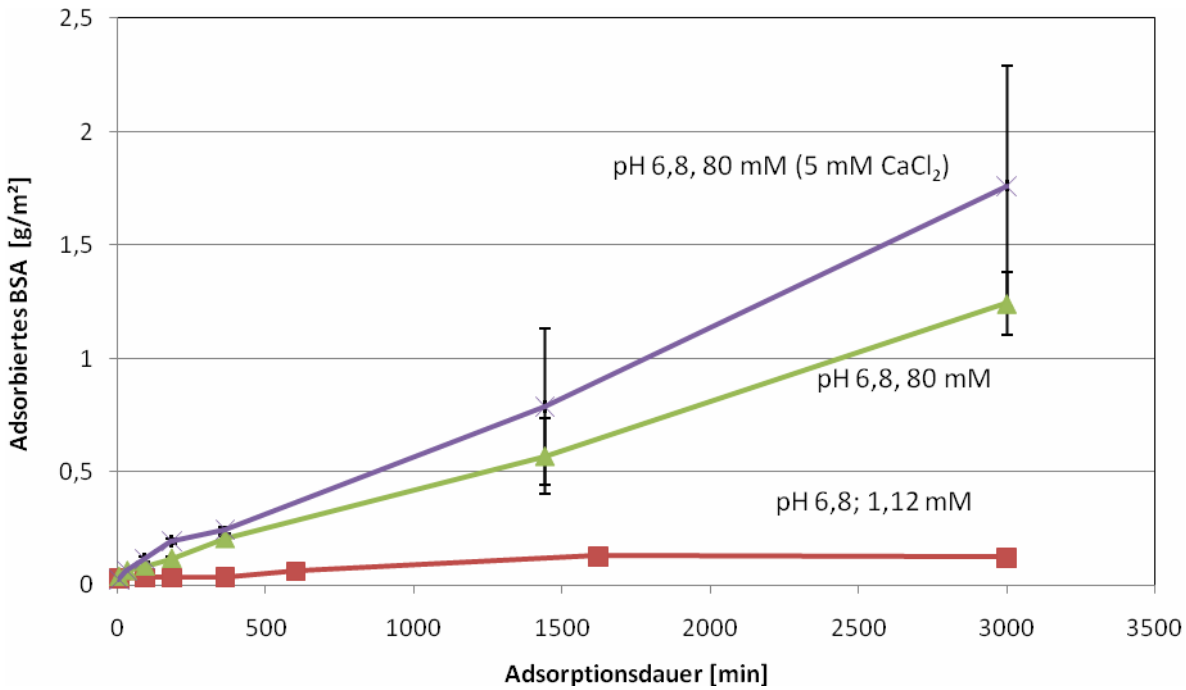


Abb. 2: Adsorptionsisothermen von BSA an PES-UF-Membranen bei pH 6,8 und unterschiedlichen Ionenstärken und Kalziumgehalten.

Durch die hohe Anzahl an Ionen wird die Proteinladung abgeschirmt und somit die elektrostatische Repulsion zwischen Protein und Membran einerseits und zwischen den bereits adsorbierten Proteinen andererseits geschwächt. Die Zugabe von Kalzium unter Konstanthalten der Ionenstärke und somit bei konstanter elektrostatischer Abstoßung führt zu einem weiteren Anstieg der adsorbierten BSA-Menge. Divalente Ionen wie Kalzium sind in der Lage Ionenbrücken zwischen der Membran und BSA und zwischen den Proteinen zu bilden. Dies begünstigt die Ausbildung polymolekularer Adsorptionsschichten.

Für die Filtrationspraxis lässt sich aus den Ergebnissen folgern, dass zur Verringerung der Proteinadsorption an der Membran die Milieubedingungen so eingestellt werden sollten, dass sowohl Protein als auch die Membran das gleiche Ladungsvorzeichen tragen und dass die Reichweite der resultierenden elektrostatischen Abstoßung möglichst nicht durch eine hohe Ionenstärke des Filtrationsfluids begrenzt wird.

Prozessstabilität glykosylierter Proteine der Milchfettkugelmembran

Process stability of glycosylated milk fat globule membrane proteins

Nadja Siegert

Die Fettkugeln der Milch bestehen aus einem Triglyceridkern, der von einer dünnen Membran, der sogenannten Milchfettkugelmembran (MFKM), umgeben ist. Die 10-20 nm dünne Membran dient dabei als Emulgator und schützt die Fettkugeln vor Koaleszenz und enzymatischen Angriffen. Die MFKM ist hoch strukturiert und besteht aus polaren Lipiden und Membran-spezifischen Proteinen, die überwiegend glykosyliert vorliegen. Diesen Bestandteilen werden zahlreiche technologische Eigenschaften, wie Schaumstabilisierung, und emulsionsstabilisierende Wirkung zugeschrieben. Darüber hinaus werden sowohl den Lipiden als auch den Proteinen vermehrt bioaktive Eigenschaften nachgesagt. Dadurch besitzen sowohl die Gesamtmembran als auch ihre Einzelkomponenten ein hohes Potential für neue Produktanwendungen mit einzigartigen ernährungsphysiologischen und technologischen Eigenschaften.

In der Milchindustrie wird die MFKM derzeit hauptsächlich in Form von Buttermilch verarbeitet. Buttermilch entsteht bei der Butterherstellung als Nebenprodukt, dabei werden durch das Schlagen von Butterungsrahm die Membranen der Fetttröpfchen zerrissen und das Fett freigesetzt. Die MFKM geht dabei in die wässrige Phase (Buttermilch) über, wodurch diese in ihrer Funktionalität deutlich durch die MFKM beeinflusst wird.

Durch die zahlreichen Prozessschritte kann es jedoch zu einer Veränderung der originären Bestandteile der Membran kommen und damit auch zu Änderungen der physiologischen und technologischen Eigenschaften. Dies hat insbesondere Bedeutung bei der Gewinnung der MFKM als neuartigen funktionellen Inhaltsstoff als auch Auswirkungen auf das natürlicherweise MFKM-angereicherte Produkt Buttermilch. Speziell im Bereich der Glykoproteine hat sich gezeigt, dass die Glykosylierung einen entscheidenden Einfluss auf die technologischen Eigenschaften besitzt, weiterhin sind viele der bioaktiven Eigenschaften eng mit den gebundenen Kohlenhydratseitenketten verknüpft. Bisher gibt es jedoch keine Erkenntnisse über die Stabilität der Glykoproteine der MFKM hinsichtlich der gebunden Zucker. Niedrige pH-Werte oder Restaktivitäten von Milchsäurebakterien sowie Enzymen können zur Abspaltung von Glykanen vom Protein und damit zum Verlust der biologischen Aktivität führen.

Ziel der vorgestellten Arbeit war es daher, prozessbedingte Veränderungen der Glykoproteine der MFKM quantitativ erfassen und beschreiben zu können. Dazu wurde der Gehalt an freier und proteingebundener Sialinsäure (Neu5Ac), ein endständiger Zucker, als Indikator verwendet. Ein Verlust der nativen Strukturen und damit auch ein möglicher Verlust der natürlichen Funktionalität der Proteine konnte dabei mittels RP-HPLC Analytik quantifiziert werden. Weiterhin wurden die Proteine der MFKM mittels Gelelektrophorese (SDS-PAGE) erfasst.

Untersucht wurde zunächst die thermische Stabilität der Glykoproteine der MFKM bei Standarderhitzungsverfahren. Für die Versuche wurde Buttermilch verwendet, die aus gewaschenem Rahm gewonnen wurde. Die im Rahm noch vorhandenen Magermilchbestandteile wurden dadurch stark abgereichert. In der Buttermilch liegt die MFKM daher in sehr reiner Form vor.

Durch Auftrennung mittels SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfat polyacrylamid Gel Electrophorese) wird das MFKM Material in 6-7 Hauptbanden unterteilt (Abbildung 1). Die Proteine werden dabei im denaturierten, d.h. aufgefalteten Zustand, der Größe nach aufgetrennt. Für die native Buttermilch (Spur: BM) lassen sich dabei die majoren MFKM Proteine Xanthin-dehydrogenase/oxidase (XDH/XO), PAS III (Periodic acid schiff III), CD36 (Cluster of Differentiation 36), Butyrophilin (BTN), Adidophilin (ADPH) und Lactadherin (PAS 6/7) erkennen.

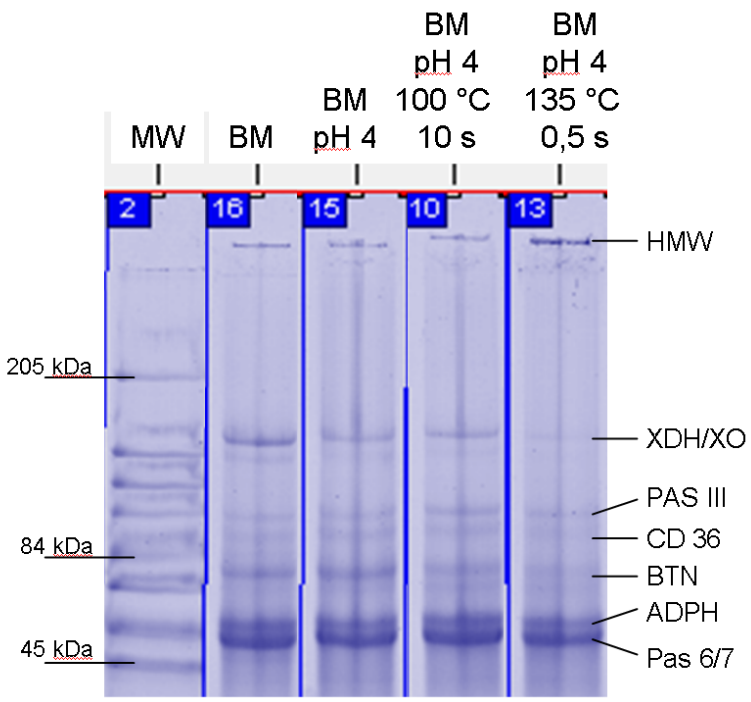


Abb. 1: SDS-PAGE thermisch behandelter Buttermilch (BM) Proben; MW = Molecular weight, HMW = high moleculare weight, XDH/XO = Xanthin-dehydrogenase/oxidase, PAS III = Periodic Acid Schiff III, CD36 = Cluster of Differentiation 36, BTN = Butyrophilin, ADPH = Adidophilin, PAS 6/7 = Lactadherin

Weiterhin aufgetragen wurden unterschiedlich thermisch behandelte Buttermilchproben bei einem pH Wert von 4 (Spur: BM, pH 4; BM, pH 4, 100 °C, 10 s; BM, pH 4, 135 °C, 0.5 s). Dabei ist zu erkennen, dass die Buttermilch im sauren Milieu zunächst kaum Veränderungen der Proteinbanden aufweist. Eine aussagekräftige Abnahme ist nur für die Bande XDH/XO festzustellen. Eine Erhitzung bei pH 4 und 100 °C (10 s) zeigt kaum weitere Veränderungen der Proteinbanden. Wird die Buttermilch dagegen bei 135 °C für 0,5 s erhitzt, ist eine weitere Abnahme der Proteinbande XDH/XO sowie eine Abnahme der Banden für BTN, ADPH und Lactadherin (PAS 6/7) deutlich zu erkennen.

Im Vergleich dazu sind in Abbildung 2 die Sialinsäuregehalte von Buttermilchproben dargestellt, die nach den entsprechenden Temperatur/Zeit Kombinationen von Standarderhitzungsverfahren in der Molkereitechnologie bei pH 4, 7 und 9 erhitzt wurden.

Die untersuchten Bedingungen entsprachen dabei folgenden Erhitzungsverfahren: Unbehandelt, Dauererhitzung, Kurzzeiterhitzung, Hocherhitzung, Hochpasteurisierung (ESL) und UHT. Abbildung 2A stellt den Gesamtsialinsäuregehalt und Abbildung 2B den Gehalt an ungebundener bzw. freigesetzter Sialinsäure dar.

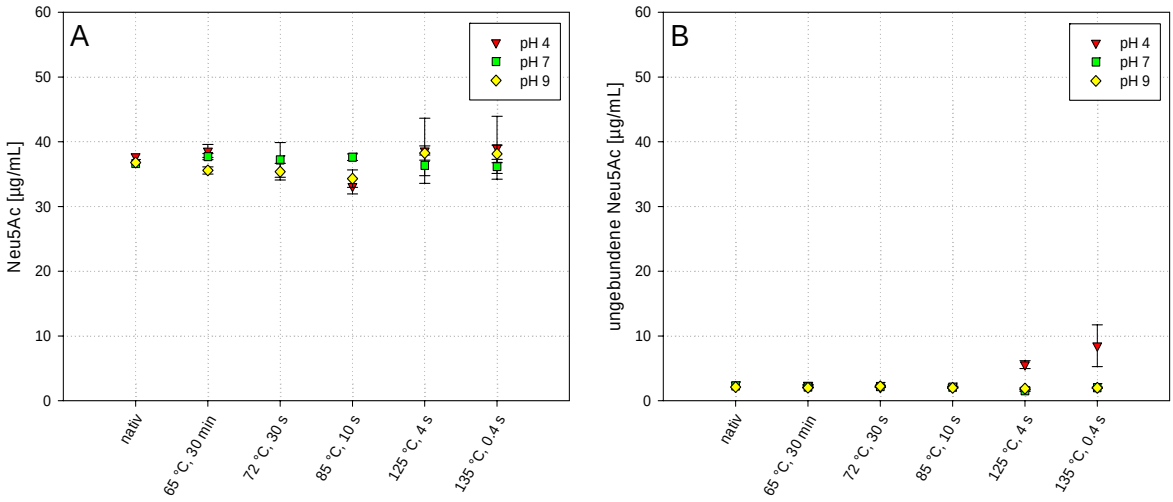


Abb. 2: Sialinsäuregehalt thermisch behandelter Buttermilchproben; A: esamtsialinsäuregehalt, B: Gehalt an ungebundener Sialinsäure; Neu5Ac= N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure)

Dabei ist zu beobachten, dass der Gehalt an Gesamtsialinsäure für alle Proben nahezu unverändert bleibt. D.h. die untersuchten Bedingungen führen nicht zu einem generellen Abbau des Zuckers. Eine Information über den Verbleib der Glycanreste an den Proteinen der MFKM liefert der Gehalt an ungebundener Sialinsäure (Abbildung 2B). Eine Freisetzung vom Protein ist dabei über eine Zunahme des Gehaltes im Vergleich zur nativen Probe nachweisbar. Es ist zu erkennen, dass eine Freisetzung von Sialinsäure nur im sauren pH Milieu erfolgt, hier ist eine leichte Zunahme der ungebundenen Sialinsäure im Bereich der Hochpasteurisation (ESL) und UHT-Behandlung zu erkennen. Damit verliert das Glykoprotein einen Teil seiner Kohlenhydratseitenketten, wodurch auch ein Verlust eines Teils der biologischen Aktivität des Glykoproteins vermutbar ist. Die Ergebnisse decken sich dabei mit der Abnahme, die zuvor bei der Gelelektrophorese gefunden wurde.

Insgesamt kann, insbesondere im basischen und neutralen pH-Bereich, eine hohe Stabilität der Glykoproteine der MFKM verzeichnet werden.

Arbeitsgruppe Rheologie und Mikrostruktur
Workgroup Microstructure Engineering
Leitung: Dipl.-Ing. Katharina Daimer/ Dipl.-Ing. Sebastian Karasch

Structural changes of casein micelles in rennin gradient films
Strukturelle Änderungen von Casein-Mizellen in Rennin-Gradienten Filmen
Ronald Gebhardt

We investigated the effect of rennin on the micelle structure and microstructure of caseins with micro-beam grazing incidence small angle X-ray scattering (µGISAXS) and optical microscopy. The main enzyme of the rennin extract, the protease chymosine, splits the polypeptide chain of κ-casein which induces coagulation of the casein micelles. In order to investigate the enzymatic reaction we followed two approaches.

First, we prepared a casein film consisting of casein micelles and a superimposed rennin gradient. The concentration of rennin varied by four orders of magnitude within the gradient. Using µGISAXS we could determine the sizes of casein micelles and colloidal calcium phosphate particles as a function of rennin concentration within the gradient film (Figure 1).

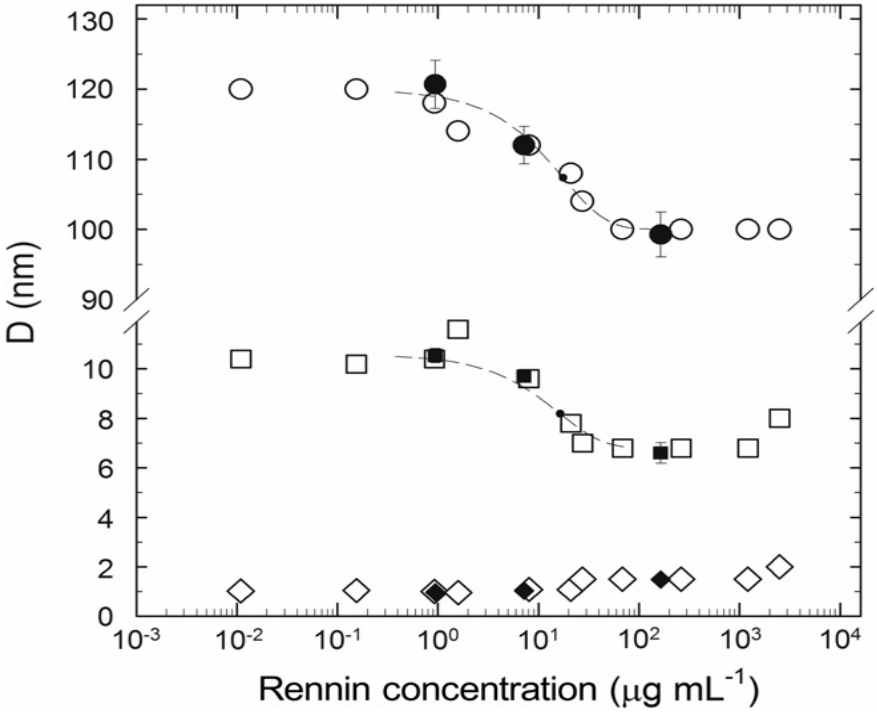


Figure 1: taken from [1]: Mean sizes D for casein micelles (dots), the smaller casein component (rectangles) and colloidal calcium phosphate particles at varying rennin concentration. The dashed lines correspond to exponential fits.

We showed that the size of the casein micelles decreases with increasing rennin concentration while the size of the colloidal calcium phosphate clusters remains constant. In accordance with a first-order enzyme reaction mechanism, we could describe the rennin-induced decay of the micellar sizes by an exponential function. In addition, we observed two distinct film morphologies at high and low rennin concentration using optical microscopy. At intermediate rennin concentration we found a two-phase surface structure in which both film morphologies coexisted.

Second, we performed a µGISAXS scan to investigate changes on the multi-level structure of casein micelles that occur after deposition of a droplet of rennin on a casein film. We found that the diffusion of the droplet into the film led to an increased surface roughness and a formation of islands due to the concentration gradient of rennin. We could quantify the concentration profile of rennin due to the diffusion process since the altered surface morphology resulted in a significant variation of the GISAXS pattern, more precisely in the occurrence of a second Yoneda peak. This second Yoneda peak showed a strong dependence and a compensatory effect with respect to the original one. Thus, we could determine a diffusion constant D for rennin in a casein film by evaluating the variation of the Yoneda peak intensity as a function of the diffusion distance at the observation time t. Compared to the untreated film, no change in mean size of the micelle components (casein micelles, substructure and colloidal calcium phosphate) could be detected within the rennin droplet area. In contrast, a broadening of their corresponding size distributions became evident.

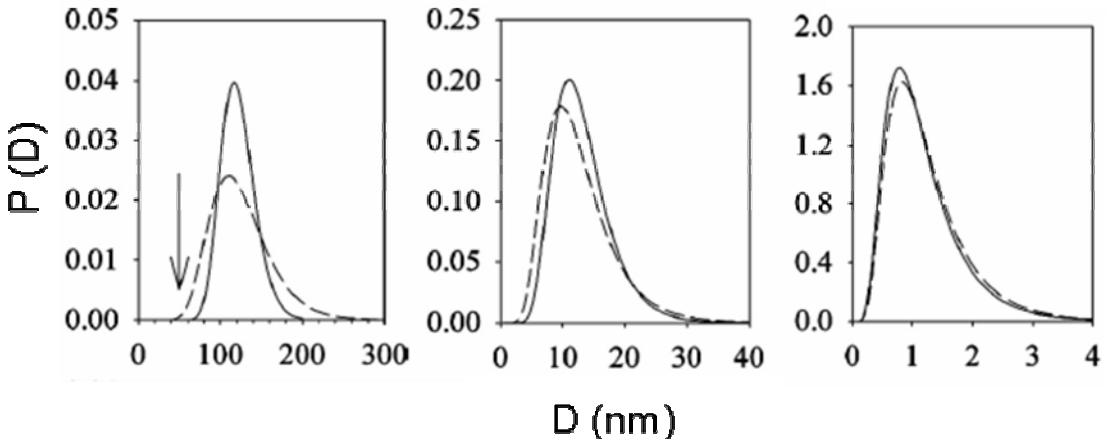


Figure 2: taken from [2]: Calculated size distributions for casein micelles (mean size 120 nm), for the casein micelle substructure (mean size: 12 nm) and for colloidal calcium phosphate particles (mean size: 1 nm) measure in the untreated (solid line) and rennin treated film area (dashed line).

The experimental results can be explained assuming that only surface near casein micelles become solvated and enzymatic treated after rennin droplet deposition. The remaining casein micelles kept their native structure and size within the casein film.

References:

[1] R. Gebhardt, S. V. Roth, M. Burghammer, C. Riekel, A. Tolkach, U. Kulozik, P. Müller-Buschbaum, 2010, International Dairy Journal, 20, 203-211

[2] R. Gebhardt, M. Burghammer, C. Riekel, U. Kulozik, P. Müller-Buschbaum, 2010, Dairy Sci. Technol., 90, 75-86

Enzymatische Hydrolyse von kappa-Casein unter Hochdruck und deren Auswirkung auf das Reassoziatonsverhalten druckdissoziierter Caseinmizellen

Enzymatic hydrolysis of kappa-Casein under high hydrostatic pressure and its effects on the reassociation behaviour of pressure decomposed casein micelles

Martin Heinrich

Casein, die Hauptproteinkomponente in Milch, liegt zu etwa 80 bis 95 % in Form sphärischer Dispersionskolloide vor. Obwohl Gegenstand zahlreicher Untersuchungen ist die genaue Gestalt dieser Caseinmizellen bis jetzt nur in Modellen beschrieben. Das aktuellste und weitgehend anerkannte Modell ist das von Horne im Jahr 1998 ausgearbeitete Dual-binding-Modell. Es beschreibt den Vorgang der Mizellbildung als eine Polymerisierungsreaktion der einzelnen Caseine (α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Casein). Aufgrund der Ladungsverteilung über das Polypeptidrückgrad werden die Caseine als Blockpolymere mit alternierenden z.T. stark geladenen, hydrophilen und hydrophoben Domänen gesehen. Sie interagieren über hydrophobe Wechselwirkungen und Salzbrücken in Form so genannter Ca-Phosphat-Nanocluster. κ-Casein besitzt als einziges der am Mizellaufbau beteiligten Caseine keine Bindestelle für Ca-Phosphat. Darüber hinaus weist es an seinem hydrophilen Molekülbereich stark geladene Seitenketten und z.T. posttranslationelle Modifikationen (Glykosylierungen) auf. Deshalb wird diesem Casein im Modell eine größenlimitierende Rolle bei der Mizellbildung zugewiesen.

Eine Möglichkeit zur Beurteilung dieses Modells von der Organisation der Caseinmizellen könnte über die Hochdrucktechnologie erfolgen. Mit der Applikation hoher Drücke lassen sich strukturrelevante Wechselwirkungen beeinflussen, d.h. lösen oder neu knüpfen. So können in Proteinen und Proteinaggregaten (z.B. Caseinmizellen) Zustände erzeugt werden, wie sie unter atmosphärischen Bedingungen beispielsweise nur durch den Einsatz chaotroper Reagenzien realisierbar sind. Für Caseinmizellen bedeutet das, dass durch die Wahl geeigneter Druck- und Temperatur-Parameter, ohne den Einsatz von Chemikalien, eine reversible oder irreversible Dissoziation erreicht werden kann. Wie Gebhardt, Doster, Friedrich und Kulozik (2006) zeigen konnten, dissoziiert die Caseinmizelle ab einem Druck von etwa 50 MPa. Bis zu einem Druck von 250 MPa ist dies ein reversibler Prozess, die Mizellen kehren wieder in einen mizellaren Zustand ähnlicher Größenordnung zurück. Bei Drücken >250 MPa ist die Mizelldissoziaton irreversibel.

Die Kombination der Hochdrucktechnik mit einer enzymatischen Partialhydrolyse von κ-Casein kann einen tieferen Einblick in die Funktion der so veränderten Proteinkomponente bei der Mizellbildung bzw. -Rückbildung erlauben. Basierend auf dem Modell von Horne sollte durch eine Spaltung von κ-Casein in CMP und para-κ-Casein der amphiphile Charakter und damit auch seine wachstumslimitierende Funktion bei der Mizellbildung bzw. –Rückbildung verloren gehen, was letztendlich zu längerem Partikelwachstum und damit zu größeren Partikeln nach der Druckbehandlung führen sollte.

Nachdem die Reaktionskinetik des Enzyms Chymosin unter Druck ermittelt worden war (siehe Jahresbericht 2008), konnten die Versuchszeiten für unterschiedliche Hydrolysegrade berechnet und umgesetzt werden. Aufgrund der reduzierten Enzymaktivität unter Druck wurden die Versuche bei 20 °C und 150 bzw. 200 MPa durchgeführt. Zur besseren Detektierbarkeit auch kleinerer Verschiebungen in den Partikelgrößenverteilungen wurde die native Caseinmizellsuspension vor der Hochdruck- und Enzymbehandlung zunächst in einer schrittweisen Ultrazentrifugation mit steigenden g-Zahlen in sechs Größenklassen fraktioniert, von denen repräsentativ zwei Klassen für die Versuche ausgewählt wurden.

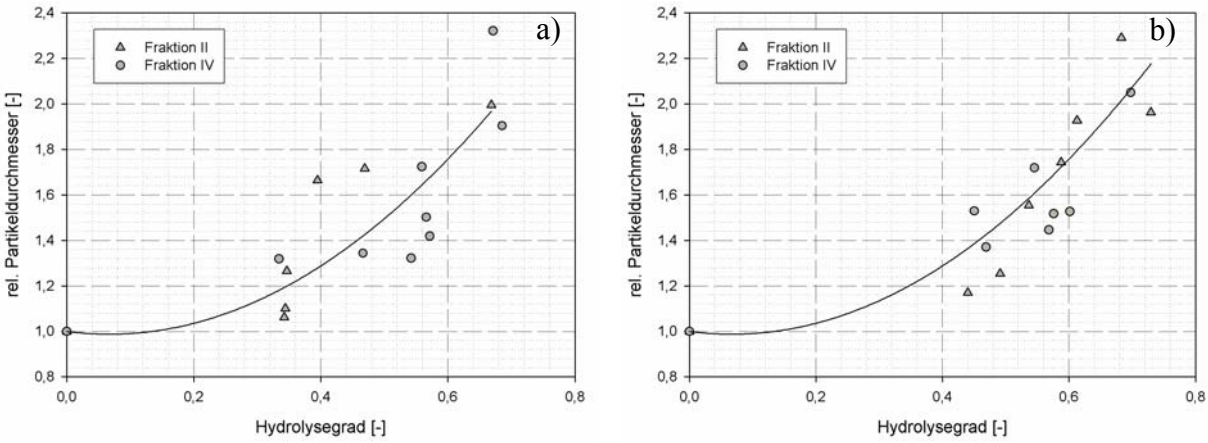


Abb. 1: Veränderung des relativen Partikeldurchmessers nach der Druckbehandlung in Abhängigkeit vom Hydrolysegrad bei 150 MPa (a) und 200 MPa (b)

In Abbildung 1 sind die Veränderungen in den Partikeldurchmessern der beiden Fraktionen in Abhängigkeit des Hydrolysegrades bei 150 MPa (a) und 200 MPa (b) dargestellt. Wie zu erkennen ist, nimmt der relative Partikeldurchmesser ($Median_{HPP+Hydr.}/Median_{HPP}$) mit steigendem Hydrolysegrad zu. Darüber hinaus ist ersichtlich, dass sich die Größenfraktionen in

beiden untersuchten Druckbereichen nicht signifikant unterscheiden ($P < 0,05$). Wie es scheint, haben im betrachteten Druck-Temperatur-Bereich die Druckhöhe und auch die Ausgangspartikelgröße keinen Einfluss auf das Reassoziatonsverhalten der Caseine. Einzig der unter Druck realisierte Hydrolysegrad scheint die Partikelgröße signifikant ($P < 0,05$) zu beeinflussen.

Diese Beobachtungen lassen sich mit dem Dual-binding-Modell im Zusammenhang mit den Ladungsverhältnissen am κ-Casein-Molekül erklären. In Abbildung 2 ist die molekulardynamisch simulierte Struktur des κ-Caseins mit dem zugehörigen elektrostatischen Potential bei neutralem pH und einem Sigma-Wert von 2,05 dargestellt. Deutlich ist der enorm ausgedehnte Bereich negativen Potentials (markiert) zu erkennen, das große Teile des Moleküls abschirmt und so seine wachstumshemmende Wirkung bei der Mizellbildung entfaltet.

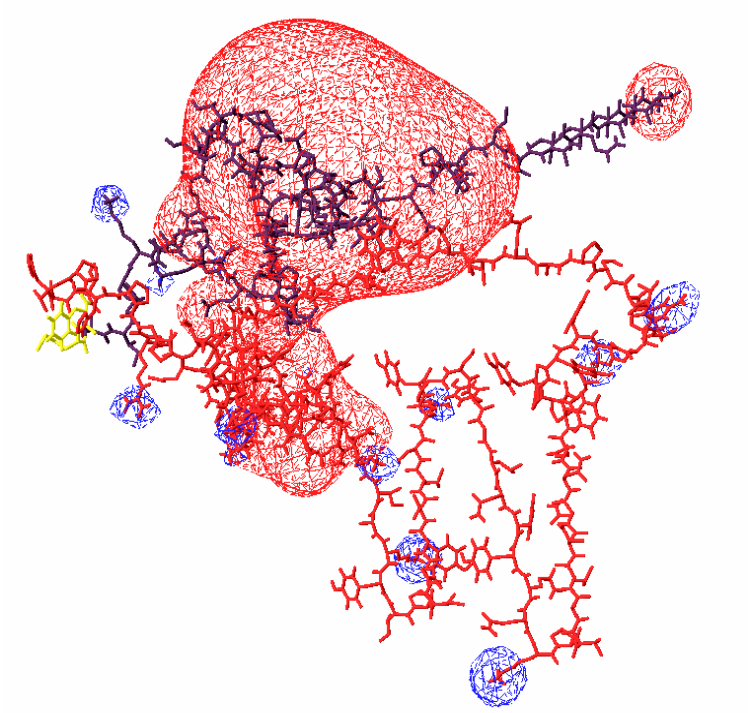


Abb. 2: Molekulardynamisch simulierte Struktur von κ-Casein bei pH 7 mit Equipotentialflächen bei -1/+1 für einen Sigma-Wert von 2,05

Mit der enzymatischen Hydrolyse an der mit dem Pfeil markierten Stelle wird das geladene CMP abgespalten und geht ins Milchserum über. Das verbleibende para-κ-Casein trägt nur noch wenig Ladung und kann nun in das wachsende Partikel inkorporiert werden. Schematisch ist der Vorgang der Casein-polymerisierung bei der Mizellrückbildung nach einer Hochdruckbehandlung ohne (a) und mit (b) partieller κ-Casein-Hydrolyse in Abbildung 3 dargestellt.

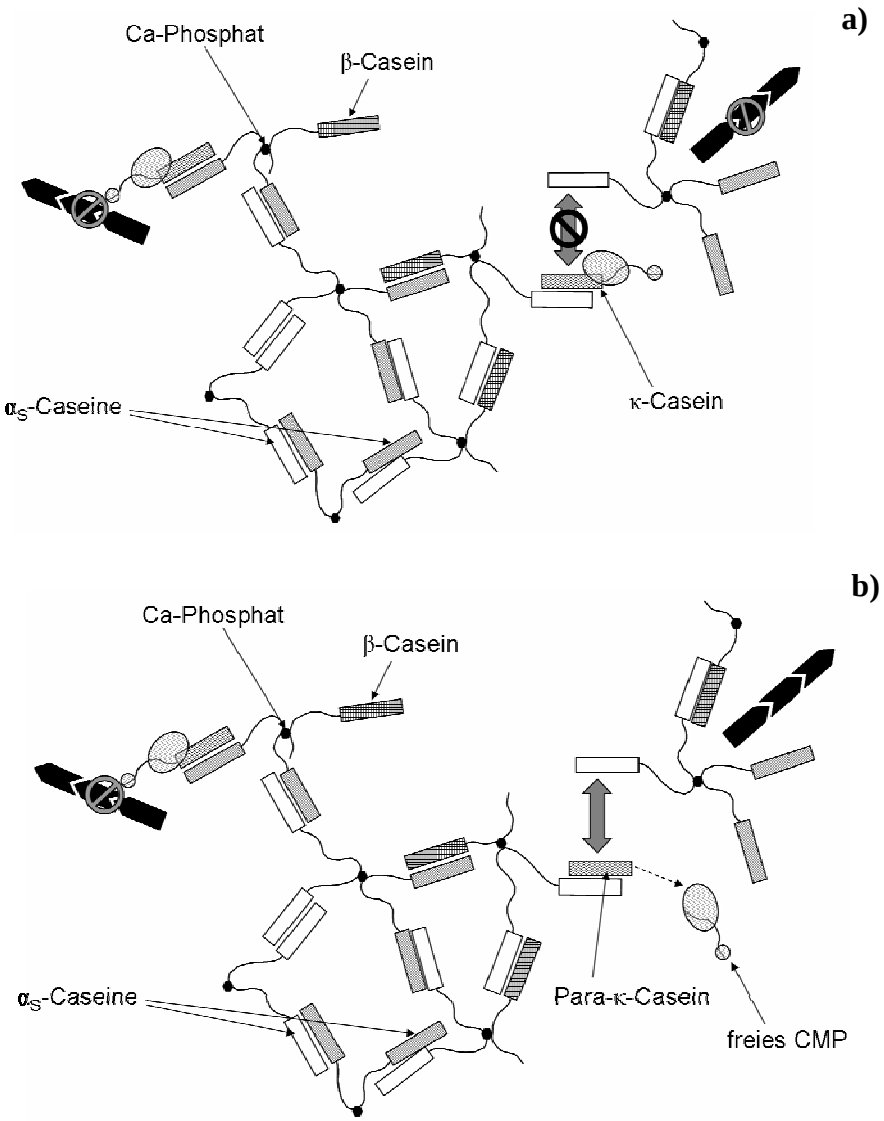


Abb. 3: Schematische Darstellung der Casein-Reassoziation nach der Hochdruckbehandlung mit (a) und ohne (b) Partialhydrolyse von κ-Casein unter Druck

Dockt ein intaktes κ-Casein-Molekül an die wachsende Peptid-Kette an, kann kein weiteres Caseinmolekül anbinden (siehe Modellvorstellung von Horne). Einerseits wird durch das starke negative Potential eine weitere Anbindung über hydrophobe Wechselwirkungen behindert. Andererseits besitzt κ-Casein keine Bindestelle für Ca-Phosphat. Erst durch die Abspaltung von CMP fällt die starke Abschirmung weg und das para-κ-Casein wird in den Caseinverband eingegliedert, ohne dass ein Abbruch des Mizellwachstums erfolgt.

Literatur:
Gebhardt, R.; Doster, W.; Friedrich, J.; Kulozik U. (2006): Size distribution of pressure decomposed casein micelles studied by dynamic light scattering and AFM. Eur. Biophys. J. 35, S. 503 – 509
Horne, D.S. (1998): Casein interactions: casting light on the black boxes, the structure in dairy products. Int. Dairy J., 8: pp. 171-177.

ZIEL-Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnologie Leitung: Seronei Chelulei Cheison, PhD

Sub-optimal is optimal: Influence of temperature and pH on the selective trypsinolysis of whey proteins.

Suboptimal ist optimal: Einfluss von Temperatur und pH auf die selektive Hydrolyse von Trypsin Molkenproteinen

Seronei Chelulei Cheison

Whey proteins are made up mainly of β-Lactoglobulin (β-Lg) and α-Lactalbumin (α-La). At the moment, many processes exist for the manufacture of whey proteins into whey protein concentrates, WPC of different protein contents as well as the relatively pure whey protein isolates, WPI. These include salting-out procedure, selective thermal stability of α-La in acidic conditions and separation by ion-exchange chromatography, gel filtration and ultrafiltration (UF).

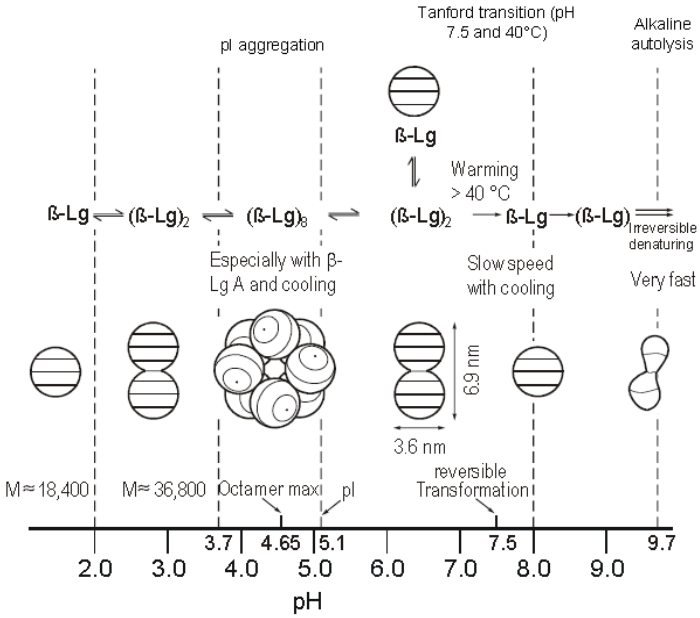


Figure 1: The influence of the pH and the temperature on the molecular state of β-Lg showing the influence of pH and temperature on oligomer, dimer and monomer states.

Schmidt and Poll [1] showed that native bovine α-La is resistant to tryptic digestion, while native β-Lg is degradable. Consequently, Konrad and Kleinschmidt [2] described a procedure in which a combination of membrane technology and selective trypsinolysis of the permeate yielded α-La of 90-95% in purity. In this method, only 15% of the original α-La was recovered with hydrolysis at 42°C and pH 7.7.

Enzymes hold potential as a means of obtaining products with minimum by-products. The current methods used to separate α-La and β-Lg yield a product that is invariably denatured. The influence of enzyme types, the hydrolysis pH and temperature on enzyme kinetics during whey protein hydrolysis is well characterised [3]. Likewise, Creamer et al [4] found out that trypsinolysis of β-Lg was dependent on the genetic variants of β-Lg. Meanwhile, the influence of the pH and temperature on β-Lg is well characterised (Fig. 1) [5]. It is known that although it exists in dimeric forms in the physiological conditions of milk, it aggregates into

octamers at pH 4.65. The dimeric form breaks to monomers upon warming to temperatures above 40°C or at pH values above 7.5, the so-called Tanford transition [6]. The conformational change brought about by the Tanford transition provides a structural basis for pH-dependent chemical and physical phenomena [7] and influences the enzyme-substrate interaction kinetics.

We have shown that the hydrolysis environment exerts remarkable influence on the trypsin hydrolysis pattern in bovine β-Lg [8]. Therefore, we modified the approach by Konrad and Kleinschmidt [2] in order to investigate the influence of the hydrolysis conditions on the recovery of high throughput native α-La. It was our hypothesis that environmental conditions in terms of temperature and pH away from the enzyme optima should allow for a better control of the hydrolysis process such that the preferential hydrolysis of β-Lg would take place, while α-La remained unaffected. Most enzyme hydrolysis approaches are done around an enzyme declared or determined optimum pH and/or temperature conditions. Our group has sought to think "outside the box", by investigating potentials that exists away from optimum pH, temperature and enzyme concentrations.

The influence of the pH and temperature on the structure of β-Lg, the main protein in WPI, has been characterised extensively. The effects are summarised in Fig. 1. The most prominent influence is attributed to the so-called Tanford transition involving the dimer-monomer transition [6, 9]. This transition was postulated to provide the most prominent driving force to the manner of interaction of trypsin and β-Lg and hence ease or resistance to hydrolysis under the investigation conditions.

Hydrolysis at pH 7.0

Hydrolysis at 25°C and pH 7.0 (Fig. 2) for 6 hr to a degree of hydrolysis equivalent to 8.15% resulted in a mixture of 72.19% α-La, 60.23% β-Lg B and 19.13% β-Lg A. Even after 8 hr of hydrolysis, some 69.27% α-La, 54.55% β-Lg B and 10.48% β-Lg A could be detected at an elevated DH of 9.38%. At 30°C and pH 7.0 for 6 hr (DH = 10.12%) yielded 63.56%, 34.01% and 2.00% α-La, β-Lg B and β-Lg A, respectively. Hydrolysis at 37°C, the temperature optimum for trypsin, recorded an improved hydrolysis of β-Lg over the lower temperatures (25 and 30 °C). At pH 7.0, the hydrolysis of β-Lg A proceeded rapidly in the first 5 min (DH = 3.87%) leaving some 46.64%. At the same time, 81.01% and 70.36% of α-La and β-Lg B, respectively, could still be detected. After 4 hr of hydrolysis (DH = 11.11%), only 33.50% α-La remained with some 2.73% β-Lg B and 0.91% β-Lg A. During hydrolysis at 50°C, and pH 7.0, in 2.5 min (DH = 2.81%), 57.67% of α-La remained in the reaction as compared to 43.54% and 10.63% of β-Lg B and β-Lg A, respectively. In 10 min hydrolysis, equivalent to a DH of 5.68%, no more β-Lg A was detectable as compared to 21.23% and 0.72% of α-La and β-Lg B, respectively.

Hydrolysis at pH 7.8

When hydrolysis was performed at 25°C and pH 7.8 (Fig. 3), all the β-Lg A was depleted in 6 hr (DH = 7.51%) with 66.19% α-La and 0.18% of the original β-Lg B. Hydrolysis at 30°C pH 7.8 took 6 hr (DH = 8.22%) hydrolysis to reach 55.81% α-La with no β-Lg detectable. During hydrolysis at 37°C and pH 7.8 (optimum conditions for trypsin), after 45 min hydrolysis to DH = 6.88%, no more β-Lg was detectable while 45.03% of α-La remained. Trypsinolysis at 50°C and pH 7.8, condition which favoured complete Tanford transition to monomeric β-Lg showed complete depletion of β-Lg A in 5 min (DH = 4.10%) while some 9.03% and 3.34% α-La and β-Lg B, respectively, remained.

Hydrolysis at pH 8.5

Hydrolysis at 25°C and pH 8.5 led to a rapid depletion of β-Lg in 2 hr (DH = 6.71%), with 67.87% of α-La and no more β-Lg proteins. In all hydrolyses conditions, this combination also marked the best condition for the maximal recovery of α-La with no residual β-Lg proteins, a possibility for a near 100% purity after the anticipated membrane fractionation. Hydrolysis at 30°C and pH 8.5 showed that the β-Lg proteins were depleted in 1 hr hydrolysis to a DH of 7.05% during which instant only 40.33% of α-La was detectable. Hydrolysis at 37°C and pH 8.5, which condition we postulate complete dissociation of dimeric β-Lg proteins to monomers (Figure 1), there was complete depletion of β-Lg in 10 min (DH = 5.31%) hydrolysis, whereas some 44.29% of α-La remained. More rapid hydrolysis was witnessed at 50°C and pH 8.5. The lactoglobulins were depleted in 5 min hydrolysis to a DH of 4.61% with only 7.99% α-La remaining. At 50 °C and pH 8.5, β-Lg exists as complete monomers.

Taulier and Chalikian [9] reported that above the Tanford transition pH of 7.5, there was a 5 to 10% increase in the protein hydration and a loosening of the interior packing of β-Lg as reflected in a 12% increase in its intrinsic compressibility. This increased hydration and loosening of the protein interior improves trypsin penetration resulting in increased susceptibility of β-Lg. The remarkable difference in the susceptibility of β-Lg B and β-Lg A over that of α-La was confirmed in our work. Notably, the pH provided important influence in breaking the dimers to monomeric β-Lg. The monomeric forms favoured improved hydration and trypsin penetration. α-La was generally less susceptible to trypsin than the β-Lg.

The rate of trypsinolysis of the β-Lg depended on the genetic variants (A and B) and resembled the earlier findings of Creamer et al. [4] who reported that the genetic variant β-Lg A was more susceptible to trypsinolysis than β-Lg B. The possible protein recoveries as a function of the pH and temperature are summarised in Figure 2, which shows that 25°C favoured high resistance by α-La to trypsinolysis whereas at elevated temperatures both α-La and β-Lg were easily attacked by trypsin with little chance to control the process.

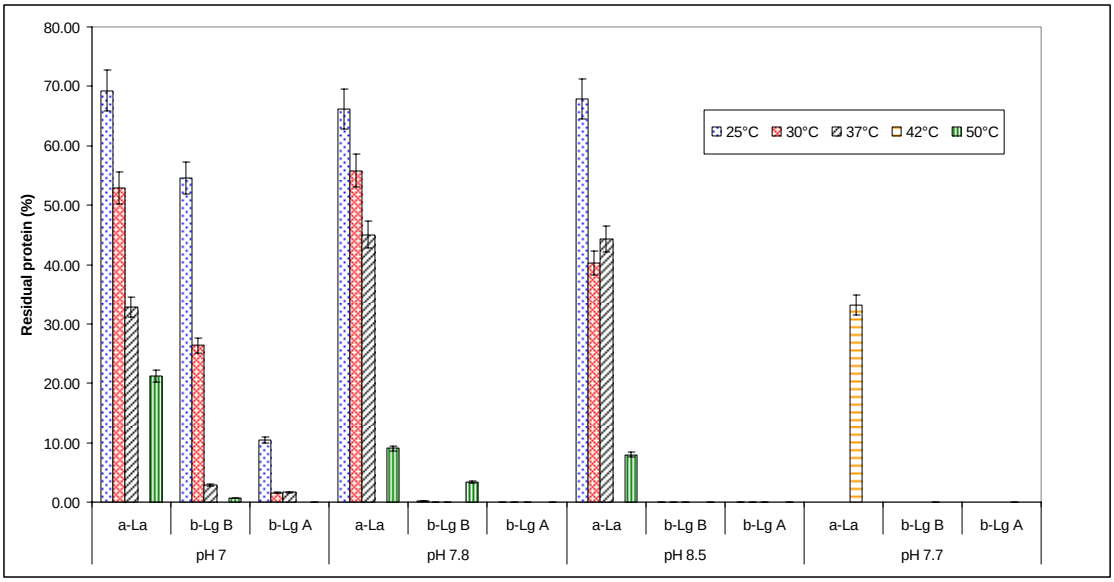


Figure 2: A summary of the relationship between the pH, temperature and recovery of the proteins in whey showing relative resistance of α-lactalbumin (α-La), β-lactoglobulin (β-Lg A) and β-lactoglobulin B (β-Lg B)

Hydrolysis of WPI by trypsin showed relative resistance of α-La. Furthermore, hydrolysis of β-Lg depended on the genetic variants, with β-Lg A being generally more susceptible to trypsinolysis than β-Lg B. The dependence on the trypsinolysis temperature and pH of the resistance of α-La implicates the influence of the Tanford transition conditions (>40°C and pH >7.5) on the improved hydrolysis of β-Lg. The highest possible recovery of native α-La (≅ 68.0%) was offered by hydrolysis at 25°C and pH 8.5. At this combination of conditions, trypsin was operating under a 'temperature stress' while the pH of 8.5 promoted the dimer-to-monomer dissociation of β-Lg. The lowest recovery of pure α-La (8.0%) was possible at 50°C and pH 8.5. Our approach offers the possibility to produce pure native α-La at elevated quantities. There is the possibility to obtain α-La without any denaturing owing to the mildness of the temperature (25°C) and pH (8.5).

References

[1] D.G. Schmidt, J.K. Poll, Enzymatic hydrolysis of whey proteins. Hydrolysis of α-lactalbumin and β-lactoglobulin in buffer solutions by proteolytic enzymes, *Neth. Milk Dairy J.* **45** (1991) 225–240.

[2] G. Konrad, T. Kleinschmidt, A new method for isolation of native a-lactalbumin from sweet whey, *Int. Dairy J.* **18** (2008) 47.

[3] F. Camacho, P. Gonzalez-Tello, E.M. Guadix, Influence of enzymes, pH and temperature on the kinetics of whey protein hydrolysis, *Food Sci Technol Int* **4** (1998) 79.

[4] L.K. Creamer, H.C. Nilsson, M.A. Paulsson, C.J. Coker, J.P. Hill, R. Jimenez-Flores, Effect of genetic variation on the tryptic hydrolysis of bovine β-lactoglobulin A, B, and C, *J. Dairy Sci.* **87** (2004) 4023.

[5] H. Pessen, J.M. Purcell, H.M. Farrell Jr, Proton relaxation rates of water in dilute solutions of β-lactoglobulin. Determination of cross relaxation and correlation with structural changes by the use of two genetic variants of a self-associating globular protein, *Biochim. Biophys. Acta* **828** (1985) 1.

[6] C. Tanford, L.G. Bunville, Y. Nozaki, The reversible transformation of β-lactoglobulin at pH 7.51, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 4032.

[7] B.Y. Qin, M.C. Bewley, L.K. Creamer, H.M. Baker, E.N. Baker, G.B. Jameson, Structural basis of the Tanford transition of bovine β-lactoglobulin, *Biochemistry* **37** (1998) 14014.

[8] S.C. Cheison, M. Schmitt, E. Leeb, T. Letzel, U. Kulozik, Influence of the temperature and the degree of hydrolysis on the peptide composition of trypsin hydrolysates of β-lactoglobulin: Analysis by LC-ESI-TOF/MS, *Food Chem.* **121** (2010) 457.

[9] N. Taulier, T.V. Chalikian, Characterization of pH-induced transitions of β-lactoglobulin: Ultrasonic, densimetric, and spectroscopic studies, *J. Mol. Biol.* **314** (2001) 873.

Einfluss einer thermisch induzierten Denaturierung auf die tryptische Hydrolyse von β-Lactoglobulin

Impact of heat-induced denaturation on tryptic hydrolysis of β-lactoglobulin

Elena Leeb, Seronei Cheison

Der Markt funktioneller Lebensmittel ist einer der absatzreichsten Bereiche in der Lebensmittelindustrie. Neben Probiotika nehmen zunehmend andere funktionelle Inhaltsstoffe an Bedeutung zu. Zu diesen zählen unter anderem auch bioaktive Peptide.

Bisher konnten bereits bei einer Vielzahl an unterschiedlichen Peptiden verschiedene positive technologische sowie physiologische Wirkungen nachgewiesen werden. Zu den biofunktionellen Eigenschaften zählen beispielsweise die Senkung des Bluthochdrucks durch Inhibierung des ACE-Systems sowie antiinflammatorische und antioxidative Eigenschaften.

Eine günstige Quelle zur Gewinnung bioaktiver Peptide stellen Milchproteine dar. Sowohl Caseine als auch Molkenproteine wurden als Ausgangssubstrate für unterschiedliche funktionelle Peptide identifiziert. Zudem ist deren Einsatz in Lebensmitteln, aufgrund ihrer natürlichen Quelle Milch, als gesundheitlich unbedenklich einzustufen und ihre Deklaration unproblematisch.

Jedoch ist bis heute die gezielte Gewinnung spezifischer Peptide aus Milchproteinen technologisch nur schwer realisierbar. Ein neuer Verfahrensansatz liegt in der enzymatischen Hydrolyse. Dabei wird die Tatsache genutzt, dass Enzyme an nur für sie spezifischen Schnittstellen innerhalb eines Proteins Peptidbindungen spalten. Dies ist zum einen abhängig von der Aminosäuresequenz des katalytischen Zentrums des Enzyms oder der darin gebundenen Metallkationen im Fall der Metalloenzyme und zum anderen von der Zugänglichkeit des Enzyms zu den möglichen Schnittstellen.

Bisher jedoch vollkommen unbeachtet ist die Tatsache, dass durch eine Vorbehandlung des Substrats die Zugänglichkeit des Enzyms zu den möglichen Schnittstellen verändert werden kann.

Dieser Effekt soll am Modellsubstrat β-Lactoglobulin (β-Lg) untersucht werden. Dieses Molkenprotein wurde aus zwei Gründen ausgewählt: Zum einen stellt β-Lg ein geeignetes Ausgangssubstrat für viele unterschiedliche bioaktive sowie technofunktionelle Peptide dar. Zum anderen kann durch thermische Behandlung dieses Protein irreversible denaturiert werden. Durch den Einfluss von Hitze kann eine Umstrukturierung in der Quartär-, Tertiär- und Sekundärstruktur des Proteins erreicht werden. Bei der thermisch induzierten Denaturierung kommt es zur Exposition der im nativen Zustand dem Inneren zugewandten hydrophoben Gruppen. Durch diese Umgestaltung in der Konformation des Proteins werden Änderungen in der Zugänglichkeit des Enzyms zu den theoretisch möglichen Schnittstellen erwartet. Ziel der Untersuchungen ist es, durch eine thermische Vorbehandlung des Substrats gezielt Einfluss auf die enzymatische Hydrolyse und den daraus resultierenden Peptiden zu nehmen.

Daher waren zunächst Untersuchungen zum Einfluss der Milieubedingungen auf das Denaturierungsverhalten notwendig. Bereits bekannt ist der Einfluss des pH-Werts auf die Konformation des nativen β-Lg. Am physiologischen pH-Wert der Milch (pH 6,8) liegt das Molekül als Dimer vor und dissoziiert mit zunehmend basischerem pH-Wert zum Monomer (ab pH 7,5). Gegensätzlich dazu wird durch zunehmend saureren pH-Wert die Aggregation der Dimere zu Oktameren induziert. Oktamere liegen bei einem pH Wert zwischen 4 und 5 vor. Abhängig vom pH-Wert lassen sich für β-Lg unterschiedliche Denaturierungskinetiken bestimmen. Dazu wurde eine 5 %ige β-Lg -Lösung auf die pH-Werte 4, 6.8 und 8 eingestellt und bei 80 °C für 2 Stunden erhitzt. Die Bestimmung des Denaturierungsgrads (DG) erfolgte über die Konzentrationsbestimmung des nativen β-Lg mittels RP-HPLC. Über die Abnahme des nativen β-Lg im zeitlichen Verlauf kann unter Anwendung der folgenden Berechnung der DG in % kalkuliert werden.

$$DG = 1 - C_t/C_0 * 100$$

C_t: β-Lg Konzentration zum Zeitpunkt t

C_0: β-Lg Konzentration vor der thermischen Behandlung

In Abbildung 1 ist das Denaturierungsverhalten der β-Lg Lösungen mit den pH-Werten 4, 6.8 und 8 dargestellt. Dabei wurden die pH-Werte der Lösungen so gewählt, dass das globuläre Protein entweder als Monomer (pH 8), Dimer (pH 6,8) oder Oktamer (pH 4) vorliegt.

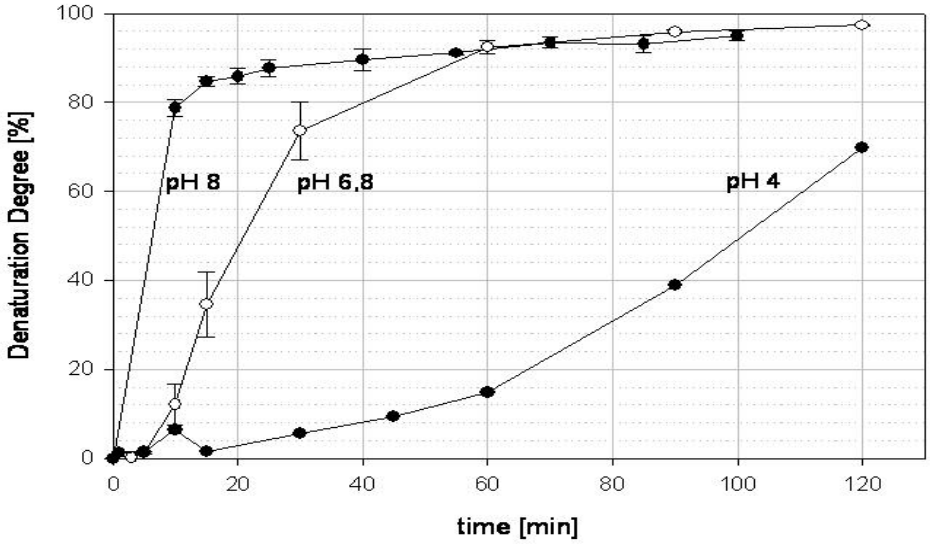


Abb. 1: Thermisch induzierte Denaturierung von β-Lg als 5 %ige Lösung mit den pH-Werten 8 (●), 6.8 (○) und 4 (●) im zeitlichen Verlauf

Deutlich aus der Abbildung zu erkennen sind die Unterschiede im Denaturierungsverhalten der β-Lg Konformere bei unterschiedlichen pH-Werten. β-Lg denaturiert unter gleichen Versuchsbedingungen wesentlich schneller, wenn es als Monomer oder Dimer vorliegt. Bei einem pH-Wert von 4, bei dem β-Lg als Oktamer vorliegt, wurde ein langsameres Denaturierungsverhalten des Proteins beobachtet. Die Unterschiede in den Denaturierungskinetiken können auf die unterschiedliche Anzahl der freien reaktiven Gruppen bei den verschiedenen Konformationen zurückgeführt werden. Als Monomer weist β-Lg eine größere Anzahl an freien reaktiven Gruppen auf, die untereinander wechselwirken können, als Dimer. Dimere wiederum weisen eine größere Anzahl an freien funktionellen Gruppen auf als Oktamere. Zudem kann davon ausgegangen werden, dass mit sinkendem pH-Wert die irreversible Denaturierung aufgrund steigender Stabilität des reversibel denaturierten Intermediats steigt.

Da es Ziel der Untersuchungen ist, gezielt Einfluss auf die resultierenden Peptide nach enzymatischer Hydrolyse durch eine thermischen Behandlung des β-Lg zu nehmen und diese auch zu benennen, wurden die Bedingungen für die folgenden Hydrolysen so gewählt, dass das Protein als Monomer vorliegt. Wird β-Lg in nativer sowie denaturierter Form hydrolysiert und werden die entstandenen Peptide miteinander verglichen, sind Rückschlüsse zu den Änderungen in der Sekundär- sowie Tertiärstruktur durch die thermische Denaturierung möglich.

Da sowohl das Substrat als auch der pH-Wert der Hydrolysen somit festgelegt sind, ist die Wahl des Enzyms eingeschränkt. Es wurde eine Hydrolase gewählt, die in einem pH-Bereich ab 7,5 ihr Reaktionsoptimum besitzt und bei deren Temperaturoptimum keine Äderungen in der Konformation des β-Lg zu erwarten waren.

Daher wurde für die folgenden Hydrolysen die Protease Trypsin gewählt. Sie besitzt ihre Reaktionsoptima bei einem pH-Wert von 7,8 und einer Temperatur von 38 °C. Trypsin ist ein spezifisch spaltendes Enzym, das an den C-terminalen Peptidbindungen der Aminosäuren Arginin und Lysin spaltet. Bei einer Hydrolyse des β-Lg durch Trypsin ergeben sich somit 18 theoretisch mögliche Schnittstellen.

In ersten Untersuchungen wurde sowohl natives als auch vollkommen denaturiertes β-Lg bis zum maximal möglichen Hydrolysegrad hydrolysiert und die resultierenden Peptide mittels Massenspektrometrie identifiziert.

In Tabelle 1 sind die identifizierten Peptide der tryptischen Hydrolyse aufgelistet. Es ist ersichtlich, dass durch eine Denaturierung des Proteins eine neue Schnittstelle für das Enzym ermöglicht und die Zugänglichkeit des Enzyms zu vier möglichen Schnittstellen verhindert wird.

Tabelle 1: Liste der Identifizierten Peptide

Identifiziertes Peptid	Sequenz	Natives β-Lg	Denaturiertes β-Lg
f(1-8)	LIVTQTMK	+	+
f(9-14)	GLDIQK	-	+
f(15-40)	VAGTWYSLAMAASDISLLDA QSAPLR	+	+
f(41-60)	VYVEELKPTPEGDLEILLQK	+	-
f(71-75)	IIAEK	+	+
f(92-100)	VLVLDTDYK	+	-
f(132-138)	FDK	+	-
f(139-141)	ALK	+	+
f(142-148)	ALPMHIR	+	+
f(149-162)	LSFNPTQLEEQCHI	+	+
f(61-69)→f(149-162)	WENGECAQK→ LSFNPTQLEEQCHI	+	-

In folgenden Untersuchungen sind die Hydrolysen des nativen sowie denaturierten β-Lg zu unterschiedlichen Hydrolysegraden geplant, um zusätzlich die Affinität des Enzyms zu den unterschiedlichen möglichen Schnittstellen innerhalb des nativen sowie denaturierten Proteins zu bestimmen.

Dissertationen

Santivarangkna, C: Inactivation of *Lactobacillus helveticus* during Vacuum Drying and the Mechanism of Sorbitol in Protection of the Cells, 19. Februar 2009

Diplom- und Masterarbeiten

Bauer, Simon: Einfluss der Trocknungsprozessparameter der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung auf verschiedene Lebensmittel-relevante Bakterienkulturen

Baun, Stefan: Reaktionskinetische Betrachtungen bei der Inaktivierung von Mikroorganismen mit flüssigem oder gasförmigem Wasserstoffperoxid auf Packstoffoberflächen

Bernhard, Thomas: Proteinadsorption an Membranoberflächen

Djuarev, Sardorbek: Isothermische und nicht-isothermische Untersuchungen der hitzeinduzierten Denaturierung von ß-Lactogloblulin unter Berücksichtigung des Einflusses von pH-Wert und Proteingehalt

Schorr, Petra: Effect of whey protein fractions on the functionality of heat and shear treated WPC

Steidele, Elisabeth: Mikroverkapselung bioaktiver Pflanzenstoffe mittels Emulsionsverfahren: Optimierung der Verkapselungsmethode und Charakterisierung der erzeugten Kapseln

Semester- und Bachelorarbeiten

Braunegger, Tobias: Einflüsse kolloidaler Wechselwirkungen auf die Mikrofiltration

Buck, Annika: Einfluss der Zugabe von Transglutaminase-behandeltem Magermilchpulver auf die Struktur von säureinduzierten Milchprotein-Gelen und Magermilchjogurt

Gobler, Henrica: Nachweis und Quantifizierung des durch Transglutaminase gebildeten Isopeptids N^e-(y-Glutamyl)-L-Lysin mittels High Performance Liquid Chromatography-Methode

Heckler, Franziska: Einfluss von Transglutaminase behandeltem Natriumcaseinat auf die Eigenschaften von O/W-Emulsionen

Hofmann, Ann-Sophie: Einfluss der Gefrierparameter auf die Überlebensrate von *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

Hubensteiner, Stefan: Fraktionierung von glyokosyliertem und nicht glykosylierten Caseinomacropeptid aus Molke mittels Membranadsorptionschromatographie und Untersuchung verschiedener Verblockungseffekte der Membran

Jungwirth, Tanja: Trocknungs- und Lagerstabililtät mikroverkapselter probiotischer Keime

Marx, Melanie: Vitamingehalte von E(xtended) S(helf) L(ife)-Milch

Meyer, Wiebke: Einfluss der Mikroverkapselung auf die Überlebensrate von *Bifidobacterium animalis spp. Lactis* (Bb12) während der Gefriertrocknung und Lagerung

Neuhofer, Kathrin: Enzymatische Hydrolyse von Caseinomakropeptid – Einfluss unterschiedlicher Prozessbedingungen auf entstehende Peptidmuster

Osterroth, Isabel: Partialhydrolyse von κ-Casein durch Chymosin und deren Auswirkung auf das Reassoziationsverhalten von Caseimizellen unter Hochdruck

Schreck, Heidemarie: Entkeimungsfiltration von Milch: Einfluss und Zusammenspiel von Membrancharakteristika und mikrobiellen Eigenschaften

Schmitt, Meike: Impact of temperature on the hydrolysis of ß-lactoglobulin by trypsin

Seibl, Anna: Einfluss von Starterkulturen auf die Stabilität glykosylierter Milchproteine in fermentierten Milchprodukten

Steinhauer, Tim: Milchproteinfraktionierung mittels Gradientenmembranen

Vogt, Susanne: Einfluss der Mikroverkapselung auf die Überlebensrate von *Symbiotika* während deren Trocknung und Lagerung

Wagner, Anne: Einfluss der Zugabe von Transglutaminase-behandeltem Magermilchpulver auf die Struktur und die Eigenschaften von Magermilchjogurts

Würzbauer, Maria: Einfluss des Homogenisierverfahrens und der Prozessführung auf die Dispersität sowie das Aggregationsverhalten von Milchfettkugeln

Vorträge

Bauer, S, Behr, J, Kulozik, U, Först, P: Vergleich der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung mit der Standard-Gefriertrocknung bei der Präparation von Starter- und probiotischen Kulturen, 27. Jahrestagung der Biotechnologen, Mannheim, 7.-10. September 2009

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP I: Untersuchungen zur Gelbildung. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/DFG Cluster: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Göttingen, 27./28. Januar 2009

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Verkapselung von Heidelbeerextrakt mittels modifizierten Molkenproteingelen. 4. Symposium Funktionelle Lebensmittel, Kiel, 23./24. April 2009.

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Acidic whey protein gels for encapsulation of bioactive plant compounds. 5th International Symposium on Food Rheology and Structure ISFRS, Zürich, 15.-18. Juni 2009

Betz, M: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP II: Optimierung der Verkapselungsmethode /AP III: Untersuchungen zur physikalischen Stabilität der Kapseln. Doktorandentreffen im Rahmen des AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen; AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Berlin, 22./23. Juni 2009

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Food-grade particles following pharmaceutical objectives, 8th World Congress of Chemical Engineering, Montreal, 23.-27. August 2009

Betz, M, Kulozik, U: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP II: Optimierung der Verkapselungsmethode /AP III: Untersuchungen zur physikalischen Stabilität der Kapseln. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/DFG Cluster: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Bonn, 23./24. September 2009

Betz, M: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. AP IV. Coating der Mikrokapseln und Stabilisierung des bioaktiven Inhaltsstoffes. Doktorandentreffen im Rahmen des AiF/DFG Cluster Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen; AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Dortmund, 14./15. Dezember 2009.

Cheison S C, Leeb, E, Kulozik, U: Influence of the temperature and the degree of hydrolysis on the peptide composition of trypsin hydrolysates of b-lactoglobulin: Analysis by ESI-TOF/MS, Milchkonferenz 2009, Wien, Österreich, 17./18. September 2009

Daimer, K, Kulozik, U: Steigerung der Funktionalität von Eigelb durch enzymatische und thermische Behandlung, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 24. März 2009

Först, P, Santivarangkna, C, Kulozik, U: Eine 1H NMR und FTIR Studie zum Schutzeffekt von Sorbit bei der Vakuumtrocknung eines probiotischen Modellmikroorganismus, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 24. März 2009

Först, P, Higl, B, Bauer, S, Kulozik, U: Evaluation of a low temperature vacuum drying process for starter cultures with regard to survival and storage stability, Achema 2009, Frankfurt/Main, 11.-15. Mai 2009

Först, P, Bauer, S, Wiesner, B, Behr, J: Prozesstechnische und biologische Faktoren bei der Trocknung von Starter- und probiotischen Kulturen, 9. Hochschultag des Wissenschaftszentrums Freising-Weihenstephan, 26. Juni 2009

Först, P, Santivarangkna, C, Bauer, S, Kulozik, U: A novel drying technique for starter and probiotic cultures, Biotech2009, Wädenswil, Schweiz, 29. Juni 2009

Först, P, Santivarangkna, C: Interactions between processing and formulation during drying of lactic acid bacteria. 2nd International DOM Symposium on Microbial Formulation, Uppsala, Schweden, 1./2. Dezember 2009

Guyot, C, Lauber, S, Kulozik, U: Einfluss von Transglutaminase-behandeltem Milchproteinpulver auf die Eigenschaften von Magermilchjoghurt, Milchkonferenz 2009, Wien, Österreich, 17./18. September

Guyot, C, Lauber, S, Kulozik, U: Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt, 5th International Symposium on Food Rheology and Structure - ISFRS 2009, Zürich, Schweiz, 17. Juni 2009

Guyot, C, Kulozik, U: Optimierung der Proteinquervernetzung durch Transglutaminase in gerührtem Joghurt, 3. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses AIF/FEI 15044 N am 30.06.2009 in Weihenstephan

Heidebach, T, Kulozik, U: Food protein based particles as delivery systems for bioactive substances, 8 World Congress of Chemical Engineering 2009, Montreal, Canada.

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins, 4 IDF Dairy Science & Technology Week 2009, Rennes, Frankreich

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Novel methods for the microencapsulation of probiotic cells by means of enzymatic gelation of milk proteins, Milk Conference 2009, Wien, Österreich

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Mikroverkapselung von probiotischen Keimen, Seminar fermentierte Milchprodukte, Milchwirtschaftlicher Verband Baden-Württemberg e.V. 2009, Universität Hohenheim

Heidebach, T, Betz, M, Kulozik, U: Mikroverkapselung von Antioxidantien und Mikroorganismen in Milchproteinmatrices – Neue Erkenntnisse zum Schutz von sensitiven biologischen Materialien, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung 2009, Freising

Heidebach, T, Kulozik, U: Mikroverkapselung probiotischer Keime mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Milchproteinen, 3. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/FEI-Forschungsvorhaben AIF-FV 15327 N, TU-München, Freising, 2009

Heinrich, M; Kulozik, U: Enzymatic Hydrolysis of kappa-Casein under High Hydrostatic Pressure, Milk Conference, Wien, Österreich, 17./18. September 2009

Karasch, S, Kulozik, U: Influencing factors on the homogenisation result and the aggregation of milk fat globules: Techniques - Process - Raw material properties, Milchkonferenz 2009, Wien, Österreich, 17./18. September 2009

Karasch, S, Kulozik, U: Größenklassierung von nativen Milchfettkugeln, Verfahrensalternativen und daraus resultierende funktionelle Eigenschaften, Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft, Sitzung der Fachgruppe Milchlipide, Frankfurt/Main, 17. März 2009

Kaufmann, V: Prozessoptimierung zur Herstellung von länger haltbarer Frischmilch (ESL) unter Verwendung von thermischen und Membranverfahren, 3. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses AIF/FEI 15047 N, Freising-Weihenstephan, 19. Juni 2009

Kaufmann, V, Kulozik, U: ESL-Milch: Neueste Daten zur Qualität in Abhängigkeit von den Verfahrensvarianten Hocherhitzung bzw. Pasteurisation/Mikrofiltration, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 01./02. Oktober 2009

Kaufmann, V: Abreicherung von Mikroorganismen aus komplexen Produkten im Spannungsfeld zwischen Sterilfiltration und Permeation wertgebender Stoffe, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kreuß, M: Isolierung von minoren bioaktiven Komponenten mittels membrangekoppelter Chromatographie aus komplexen Medien im Direct-Capture-Modus, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Structure-Function Relationship of Sweet Whey Caseinomacropeptide Glycosylation from a Technological Point of View, 4th IDF Dairy Science Technology Week Rennes, Frankreich, 19.-24. April 2009

Kreuß, M, Demmer, W: (Tandemvortrag) Isolierung von bioaktiven Peptiden aus Molke mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie, 27. Jahrestagung der Biotechnologen, DECHEMA, Mannheim, 8.-10. September 2009

Kreuß, M, Strixner, T: Structure-function relationship of sweet whey caseinomacropeptide glycosylation from a technological point of view, Milchkonferenz 2009, Wien, Österreich, 17.-18. September 2009

Kühnl, W, Piry, A, Kulozik, U: Einfluß kolloidaler Wechselwirkungen auf die Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 24. März 2009

Kühnl, W, Kulozik, U: Möglichkeiten zur Steigerung von Flux und Standzeit von Membrananlagen – Beispiel Mikrofiltration zur Fraktionierung von Casein und Molkenprotein, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 1./2. Oktober 2009

Kühnl, W, Piry, A, Grein, T, Ripperger, S, Kulozik, U: Influence of colloidal interactions on the microfiltration of milk: A surface energy approach, Euromembrane 2009, Montpellier, Frankreich, 7.-9. September 2009

Kühnl, W: Fouling und Deckschichtbildung: Physikalische Hintergründe und Lösungsansätze, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kühnl, W: Chemisch-physikalische Wechselwirkungen zwischen Produktinhaltsstoffen und Membranmaterialen, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kühnl, W: Neue Membran-, Modul- und Verfahrenskonzepte zur Minimierung der Deckschichtbildung, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kulozik, U: Mikroverkapselung von sensitiven bioaktiven Substanzen in Proteinmatrices zur Anwendung in Lebensmitteln, 6th Forum Life Science 2009, Pharma Development – Food and Nutrition – Industrial Biotechnology, TUM, Garching, 18./19. März 2009

Kulozik, U, Heidebach, T, Betz, M, Tolkach, A: Micro-encapsulation Process Technologies for Sensitive Ingredients and their Application in Food Systems, Achema, Frankfurt/Main, 11. Mai 2009

Kulozik, U: Neue Verfahren zur Mikro- und Nanoverkapselung sensitiver Stoffe, 9. Hochschultag des Wissenschaftszentrums Freising-Weihenstephan, 26. Juni 2009

Kulozik, U: Membrantrenntechnik - Verfahrensoptionen, Grenzschichtphänomene, Vorhersagbarkeit der Trennleistung, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kulozik, U: Zellretention durch Membrantechnik bei kontinuierlichen mikrobiellen Fermentationen: Modulsysteme und optimierte Verfahrenstechnik, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kulozik, U: Trennverfahren im Vergleich - Grundlagen und Kriterien zur Auswahl und Anwendung, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kulozik, U: Neue Wege der Gestaltung von Milchprodukten: Möglichkeiten der Veredelung durch gezielte Beeinflussung der Funktionalität von Milch- bzw. Molkenproteinen, 39. Wissenschaftlicher Beirat des MIV, Hamburg, 13. November 2009

Kulozik, U: Neue Erkenntnisse zur Reinigung und Lebensdauer von Membranen, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Kulozik, U: Optimierung der Trennleistung durch verfahrenstechnische Ansätze und Membranauswahl zur Fraktionierung von Proteinen, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009
Piry, A: Kritischer und limitierender Flux entlang von Membranen: Definitionen, Zusammenhänge und daraus abgeleitete Möglichkeiten der Prozessoptimierung für die Praxis, 7. Wangener Fachtagung, Wangen/Allgäu, 29./30. April 2009

Santivarangkna, C: Protective mechanism of Sugar in Drying Formulation during Drying of Lactic Acid Bacteria, 2nd International DOM Symposium on Microbial Formulation, Uppsala, Sweden, 1./2. Dezember 2009

Santivarangkna, C: Inactivation of Starter Cultures during Vacuum Drying and Mechanisms of Sugars in Protection of the Cells, Milk Conference, Wien, Österreich, 16./17. September 2009

Strixner, T, Kulozik, U: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula. 1. AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF 16009 N, Freising, 19. November 2009

Strixner, T, Kulozik, U: Fractionation of egg yolk components and their technological functionality. Technology-Seminar „Separation and fractionation processes in food and biotechnology “, Freising, 29./30. Oktober 2009

Strixner, T, Kreuß, M, Kulozik, U: Structure-function relationship of sweet whey caseinomacropeptide glycosylation from a technological point of view. Milchkonferenz, Wien, 17./18. September 2009

Tolkach, A, Toro-Sierra, J, Kulozik, U: Partikelwechselwirkungen während thermischer Denaturierung von ß-Lactoglobulin unter Berücksichtigung der Scherung: Modellierung der Phänomena, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23. März 2009

Tolkach, A, Toro-Sierra, J, Kulozik, U: Modelling of microparticulation process of whey proteins: development and validation of a novel model based on the phenomena of their thermal denaturation, 5th International Technical Symposium on Food, Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, Potsdam, 31. August - 3. September 2009

Tolkach, A, Toro-Sierra, J, Kulozik, U: Thermally induced particle formation in whey protein concentrates, Modelling for process optimisation, IDF World Dairy Summit 2009 Berlin, 20.-24. September 2009.

Toro-Sierra, J, Tolkach, A, Kulozik, U: Modelling for the aggregation of ß-Lg under shear conditions, Milk Conference Wien, Österreich, 17.-18. September 2009.

Toro-Sierra, J: Isolation and enrichment of single substances from complex products using milk and whey as an example, Technologieseminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

Toro-Sierra, J: AiF – FV 15834 N „Herstellung und funktionelle Eigenschaften von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 9. November 2009 in Freising-Weihenstephan.

Posterpräsentationen

Aschenbrenner M, Kulozik U, Först P: Continuous in-situ capture of water content during freeze-drying, Biotech2009, Wädenswil, Schweiz, 29./30. Juni 2009

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Technological Aspects of Anthocyanin Utilisation in Functional Foods, 44. DGQ-Tagung, Freising-Weihenstephan, 16./17.März 2009

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Whey Protein Gels for the Encapsulation of Bilberry Extract, Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23.-25. März 2009.

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Encapsulation of bilberry extract by means of acidic whey protein gels. Milk Conference, Wien, 17./18. September 2009

Cheison S C, Leeb, E, Kulozik, U: Influence of temperature and the DH on b-lactoglobulin Trypsinolysis, 6th Forum Life Science 2009, Pharma Development – Food and Nutrition – Industrial Biotechnology, TUM, Garching, 18./19. März 2009

Cheison S C, Leeb, E, Kulozik, U: Influence of hydrolysis buffer type and concentration on b-lactoglobulin Trypsinolysis patterns, IDF World Dairy Summit, Berlin, 21.-24. September 2009

Guyot, C, Kulozik, U: Enzymatic protein cross-linking and textural effects in stirred type yoghurt systems, ANUGA FoodTec 2009, Köln, 10.-13. März 2009

Guyot, C, Lauber, S., Kulozik, U: Einfluss von Transglutaminase-behandeltem Milchproteinpulver auf die Eigenschaften von Magermilchjoghurt, Milk Conference Wien, Östereich, 17./18. September 2009

Guyot, C, Lauber, S, Kulozik, U: Influence of Transglutaminase treated Milk Powders on the Properties of Skim Milk Yoghurt, IDF World Dairy Summit 2009, Berlin, 20.-24. September 2009

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Enzymatic gelation for the microencapsulation of sensitive functional additives in milk protein matrices, 5th International Symposium on Food Rheology and Structure ISFRS, Zürich, 15.-18. Juni 2009.

Heidebach, T, Kulozik, U: Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins, Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23.-25. März 2009.

Kaufmann, V, Kulozik, U: Haltbarkeitsrelevante und -begrenzende Faktoren bei ESL-Milch, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23. März 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Development of a preparative ion exchange process for the separation of individual fractions of caseinomacropeptide using membrane adsorption, IDF/DIAA Functional Dairy Foods 2009, Melbourne, Australien, 24.-26. Februar 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Techno-functional properties of glycosylated and non-glycosylated fractions of caseinomacropeptide, IDF/DIAA Functional Dairy Foods 2009, Melbourne, Australien, 24.-26. Februar 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Development of a preparative ion exchange process for the separation of individual fractions of caseinomacropeptide using membrane adsorption, Anuga Food Tech Messe 2009, Köln, 10.-13. März 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Structure-function relationship of caseinomacropeptide glycosylation from a technological point of view, 6th Forum Life Science 2009: Pharma Development – Food and Nutrition – Industrial Biotechnology, TUM, Garching, 18./19. März 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Development of a preparative ion exchange process for the separation of individual fractions of caseinomacropeptide using membrane adsorption, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23.-25. März 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Fraktionierung hochwertiger Proteinkomponenten mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie am Beispiel Caseinomacropeptid, DECHEMA-VDI-GVC Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23.-25. März 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Structure-function relationship of caseinomacropeptide glycosylation from a technological point of view, 8th Carbohydrate Bioengineering Meeting, Ischia/Neapel, Italien, 10.-13. Mai 2009

Kühnl, W, Piry, A, Kulozik, U: Milkproteinfactionation using gradient membranes, IDF world dairy summit, Berlin, 21.-24. September 2009

Leeb, E, Cheison, S, Kulozik, U: Influence of the glycosylation of Caseinomacropeptide on the hydrolysis by α-Chymotrypsin at different hydrolysis conditions, Milchkonferenz 2009, Wien, Österreich, 17./18. September 2009

Santivarangkna, C, Kulozik, U, Först, P: Inactivation of Starter Cultures during Vacuum Drying and Mechanisms of Sugars in Protection of the Cells, BioTech2009, Waedenswil, Switzerland, 29-30. Juni 2009

Siegert, N, Tolkach, A, Kulozik, U: Prozessstabilität glykosylierter Milchproteine, ANUGA FoodTec 2009, Köln, 10.-13. März 2009

Siegert, N, Tolkach, A, Kulozik, U: Prozesseinflüsse auf die Stabilität glykosylierter Milchproteine, GVC-Fachausschusssitzung Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 23.-25. März 2009

Siegert, N, Tolkach, A, Kulozik, U: Process stability of sialo-glycoproteins of milk using the example of Caseinomacropeptid; IDF Techn Week, Rennes, Frankreich, 19.-24. April

Siegert, N, Tolkach, A, Kulozik, U: Process stability of sialo-glycoproteins regarding the carbohydrate side chains 8th Carbohydrate Bioengineering Meeting (CBM8), Ischia, Italien, 10.-13. Mai 2009

Siegert, N, Tolkach, A, Kulozik, U: Process stability of sialo-glycoproteins of milk using the example of Caseinomacropeptid, Milk Conference, Wien, Österreich 17.-18. September 2009

Siegert, N, Tolkach, A., Kulozik, U: Process stability of sialo-glycoproteins of milk using the example of Caseinomacropeptid, IDF World Dairy Summit 2009, Berlin, 20.-24. September 2009

Strixner, T, Daimer, K, Brümmer-Rolf, A, Kulozik, U: Neue Substratfunktionalitäten durch Vorbehandlung und neue Prozesse in der Emulgiertechnologie, ANUGA FoodTec 2009, Köln, 10.-13. März 2009

Toro, J, Kulozik, U, Tolkach, A: Modelling of aggregates formation by thermally induced denaturation of ß-Lactoglobulin: Effect of shear rate, 4th Dairy Science and Technology Week, Rennes, Frankreich, 19.-24. April 2009

Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V. 01./02. Oktober 2009 in Freising-Weihenstephan

Technologie-Seminar „Trenn- und Fraktionierverfahren in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising, 29./30. Oktober 2009

AiF-FV 15047 N „Prozessoptimierung zur Herstellung von länger haltbarer Frischmilch (ESL) unter Verwendung von thermischen und Membranverfahren“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 20. Juni 2009 in Freising-Weihenstephan

AiF -FV 15187 N „Funktionalität und Stabilität einzelner Fraktionen von Caseinomakropeptid sowie deren Beeinflussung durch Prozesse“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 21. Juli 2009 in Freising-Weihenstephan

AiF - FV 15327 N „Mikroverkapselung probiotischer Keime mittels enzymatisch induzierter Gelbildung von Milchproteinen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 15. Dezember 2009 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 15611 „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 27/28. Januar 2009 in Göttingen

AIF-FV 15611 „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 23/24. September 2009 in Bonn

AiF-FV 15616 N „Entwicklung eines Niedertemperatur-Vakuumtrocknungsverfahrens zur Herstellung von Starterkulturen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 28. Oktober 2009 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 15834 N „Herstellung und funktionelle Eigenschaften von individuell mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 9. November 2009 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16009 N „Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 19. November 2009 in Freising-Weihenstephan

Typprüfungen

Coldelite/Carpigiani, Bologna/Italien, Technische Begutachtung der Speiseeismaschine Pastomaster RTX/L als Mich-Dauererhitzer für die Herstellung von Speiseeis auf Rohmilchbasis im Oktober 2009.

Exkursionen

09.01.2009	Fachexkursion mit 26 Studierenden im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik zur Fa. Sandoz, Kundl, Österreich
11.-12.03.2009	Fachexkursion zur ANUGA FoodTec mit 32 Studenten der Studiengänge Technologie und Biotoechnologie der Lebensmittel und Bioprozesstechnik
01.-05.06.2009	Fachexkursion mit 25 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Stuttgart-Heidelberg)
01.-05.06.2009	Fachexkursion mit 37 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Bielefeld-Münster)

Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien

Folgende Gymnasien werden im Rahmen des TUM – Programms „Partnerschaft Schule“ betreut:

Dom-Gymnasium, Freising	OStD Manfred Röder
Staatliches Gymnasium, München-Moosach	OStD Dr. Peter Riedner
Katharinen-Gymnasium, Ingolstadt	OStD Dr. Reinhard Kammermayer
Gnadenthal-Gymnasium, Ingolstadt	OStD Kurt Müller

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Mitglied im Editorial Board von International Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V.
- Mitglied im Technologieausschusses des Verbandes Deutscher Marktmolkereien (VDM)
- Geschäftsführer des Departments für Ingenieurwissenschaften für Lebensmittel und nachwachsende Rohstoffe (seit November 2007)
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet (DECHEMA, VDI) im Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der AiF

Besucher

11.09.2009: Frau Dr. Raquel Zuñiga von der Privatuniversität ITESO, Mexiko

15.09.2009: Dr. P. P. Chakrabarti, Lipid Science & Technology Division, Indian Institute of Chemical Technology Hyderabad , India

12.10.2009: Prof. Rajka Boanić, Universität Zagreb, Kroatien

21.12.2009: Dr. Ali Abas Wani, School of Technology, Department of Food Technology, Islamic University, India

Veröffentlichungen

Betz, M, Tolkach, A, Kulozik, U: Acidic whey protein gels for encapsulation of bioactive plant compounds. In: *Proc. 5th Int Symposium on Food Rheology and Structure (ISFRS)*, E Windhab, P Fischer (eds.), Zürich, 188-191, 2009

Cheison, S.C, Zhang, S.B, Wang, Z, Xu, S.Y: Comparison of a modified spectrophotometric and the pH-stat methods for determination of the degree of hydrolysis of whey proteins hydrolysed in a tangential-flow filter membrane reactor, Food Research International, 42, 91,-97, 2009

Daimer, K, Kulozik, U: Impact of a thermal treatment at different pH on the adsorption behaviour of untreated and enzyme-modified egg yolk at the oil-water interface. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 75(1) 19-24, 2009
Daimer, K, Kulozik, U: Oil-in-water emulsion properties of egg yolk: Effect of enzymatic modification by phospholipase A2. Food Hydrocolloids, 23(5) 1366-1373, 2009

Först, P, Kulozik, U: A low resolution 1H NMR study to investigate the protective mechanism of sorbitol during vacuum drying of a probiotic micro-organism. Belton, P. (Hrsg.) Magnetic Resonance in Food Science: Challenges in a Changing World, Royal Society of Chemistry, 2009

Grein, T, Kühnl, W, Piry, A, Kulozik, U, Ripperger, S: Vorteilhafte Anwendungen von Gradientenmembranen zur Querstromfiltration. Filtrieren und Separieren, 3(23) 146-149, 2009

Guyot, C, Lauber, S, Kulozik, U: Effect of transglutaminase-treated milk powders on properties of skim milk yoghurt. In: *Proc. 5th Int Symposium on Food Rheology and Structure (ISFRS)*, E Windhab, P Fischer (eds.), Zürich, 400-403, 2009

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. Food Hydrocolloids, 23(7) 1670-1677, 2009

Heidebach, T: Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. International Dairy Journal, 19(2), 77-84, 2009

Heidebach, T, Först, P, Kulozik, U: Mikroverkapselsung von probiotischen Keimen mittels Labenzym, Deutsche Milchwirtschaft, 22(60), 864-866, 2009

Heidebach, T, Kulozik, U: Enzymatic gelation for the microencapsulation of sensitive functional additives in milk protein matrices. In: *Proc. 5th Int Symposium on Food Rheology and Structure (ISFRS)*, E Windhab, P Fischer (eds.), Zürich, 558-559, 2009

Heinrich, M, Kulozik, U: Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln – Auswirkungen auf Milch und ihre Inhaltsstoffe, Deutsche Milchwirtschaft 6(60), 220-224, 2009

Heinrich, M, Kulozik, U: Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln – Auswirkungen auf Milch und ihre Inhaltsstoffe, Ernährung/Nutrition 33(12), 505-515,2009

Kaufmann, V, Scherer, S, Kulozik, U: Stoffliche Veränderungen in Konsummilch durch haltbarkeitsverlängernde Verfahren, Deutsche Milchwirtschaft 60(7), S. 262-266, 2009

Kreuß, M, Krause, I, Kulozik, U: Influence of glycosylation on foaming properties of bovine caseinomacropeptide. Int Dairy J, 19(12) 715-720, 2009

Kreuß, M, Strixner, T, Kulozik, U: The effect of glycosylation in the interfacial properties of bovine caseinomacropeptide. Food Hydrocolloids, 23(7) 1818-1826, 2009

Kreuß, M, Kulozik, U: Separation of glycosylated caseinomacropeptide at pilot scale using membrane adsorption in direct-capture mode. J Chromatography A, 12(19) 50, 8771-8777, 2009

Kulozik, U: Novel approaches for the separation of dairy components and manufacture of dairy ingredients. Dairy Derived Ingredients, Vol. 1, Ch. 1, 3-23, M Corredig (ed.), Woodhead Publ. Ltd/CRC Press, Boca Raton, 2009

Kuropatwa, M, Kulozik, U, Tolkach, A: Impact of pH on the interactions between whey and egg white proteins as assessed by the foamability of their mixtures. Food Hydrocolloids, 23(8) 2174-2181, 2009

Metwalli, E, Moulin, JF, Gebhardt, R, Cubitt, R, Tolkach, A, Kulozik, U, Müller-Buschbaum, P: Hydration Behavior of Casein Micelles in Thin Film Geometry: A GISANS Study. Langmuir, 7(25) 4124-4131, 2009

Prakash, BS, Paul, V, Kliem, H, Kulozik, U, Meyer, HD: Determination of oxytocin in milk of cows administered with oxytocin. Analytica Chimica Acta, 636(1) 111-115, 2009

Santivarangkna, C, Kulozik, U, Kienberger, H, Först, P: Changes in membrane fatty acids of *Lactobacillus helveticus* during vacuum drying with sorbitol. Letters Appl Microbiol, 49, 516-521, 2009

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik und Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung

Adresse

Weihenstephaner Steig 22
TU München-Weihenstephan
D-85350 Freising

Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung
Giggenhauser Str. 35
D- 85354 Freising

Telefon: 0 81 61/491-124
Telefax: 0 81 61/491-222
Internet: www.ivv.fraunhofer.de
E-Mail: info@ivv.fraunhofer.de

Personal:

Leitung: Prof. Dr. Horst-Christian Langowski
Inhaber des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik

Tel. 0 81 61/491-101
Fax 0 81 61/491-111
E-Mail: horst-christian.langowski@ivv.fraunhofer.de

Forschung

Verbesserter Qualitätserhalt von Käseschnittflächen in optimierten transparenten Verpackungen

Carolin Hauser, Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik TUM und Fraunhofer IVV

1 Problemstellung

Die Konsumenten schätzen portionierten Käse in Form von Stücken, Abschnitten oder Scheiben. Dazu sollten Käsestücke attraktiv verpackt und im Handel gut sichtbar präsentiert werden, was sich nur mit transparenten Verpackungsfolien realisieren lässt. Unter diesen Bedingungen ist ein optimaler Frischeerhalt nicht immer gewährleistet, da es insbesondere an den Schnittflächen der Käse zu Qualitätsverlusten wie Überwachsen des Käses mit dem eigenen Schimmelrasen (Weichschimmelkäse), Austrocknen, Farbveränderungen und lichtbedingten Geschmackseinbußen kommt. Neuartige Verpackungsfolien könnten hier eine deutliche Verbesserung bringen.

Ziel unseres Projekts war, spezifische Folien zu optimieren und zu testen, die mögliche Qualitätsverluste zu vermeiden helfen und dennoch eine transparente Präsentation der Schnittflächen erlauben.

Besonders auffällig und beim Konsumenten unerwünscht ist bei Schimmelkäsesorten das Überwachsen der Schnittflächen mit dem käseeigenen Schimmel. Das Überwachsen ist im Prinzip nicht zu vermeiden, da beim Schneiden Sporen aus der Rinde bzw. dem Überzug auf die Schnittfläche verschleppt werden und die Schnittfläche, die ein geeignetes Substrat darstellt, kontaminiert wird. Unser Ziel ist, hier eine der Schnittfläche anliegende antimikrobiell wirkende Folie einzusetzen, die lebensmittelrechtlich für Käse zulässige Konservierungsstoffe enthält. Daneben soll die Verpackungsfolie auch weitere Schutzfunktionen erfüllen, damit die Käseschnittflächen in ihrer Qualität hochwertig bleiben. Probleme bilden hier bekanntlich das Austrocknen der Schnittflächen sowie das Ausbleichen unter Licht und weitere lichtinduzierte geschmackliche Veränderungen. Käse unterliegt wie alle Milchprodukte einem deutlichen Lichteinfluss. Da dieser Prozess durch Riboflavin fotosensibilisiert ist, wird er durch sichtbares Licht angeregt und ist in transparenter Verpackung grundsätzlich nicht zu vermeiden. Man müsste dazu undurchsichtige oder farbige Filterfolien einsetzen [1], doch sind diese weniger attraktiv für den Konsumenten. Undurchsichtige Folien erlauben keinen Blick auf das Produkt, farbige Folien werden vom Konsumenten nicht akzeptiert und sind lebensmittelrechtlich nicht ganz unbedenklich, da sie für den Konsumenten eine Produktfarbe gewissermaßen vortäuschen könnten. Daher bleibt nur die Möglichkeit eines partiellen Lichtschutzes im UV-Bereich. Ein UV-Filter in der transparenten Folie könnte zumindest partiellen Schutz bieten, den Energieeintrag auf das Produkt reduzieren und das Ausbleichen sowie oxidative Vorgänge in der Fettkomponente des Käses verlangsamen.

2 Projektziel

Spezielle Folien für den Qualitätserhalt von Käseschnittflächen sollten im Labormaßstab hergestellt und an verschiedenen Beispielen von Käseprodukten getestet werden.

- Antimikrobiell aktive Folien gegen das Überwachsen von Schnittflächen mit käseeigenem Schimmel
- Antimikrobiell aktive Folien gegen das Anwachsen käsefremden Kulturschimmel auf eigentlich schimmelfreien Schnittkäsescheiben
- UV-Filterfolien gegen Geschmacksveränderungen durch autoxidative Sauerstoffzehrung an Käsescheiben
- UV-Filterfolien gegen UV-bedingte Farbveränderungen an Käsescheiben.

3 Lösungsweg

Abschnitte aus Weißschimmelkäse (Camembert) und Schnittkäse (Gouda jung) sollen für die Anwendung antimikrobieller Folien eingesetzt werden, Scheiben von Schnittkäse (Gouda jung) und Scheiben von Schmelzkäse (Sorte „Toast“) für die Anwendung von UV-Filterfolien.

Einsatz von antimikrobiell aktiven Verpackungsfolien gegen das Überwachsen der Käseschnittfläche

Zur Verpackung von Käsestücken bzw. –scheiben wurden LDPE-Folien ausgewählt und auf Käseoberflächen getestet. Zunächst wurde produktseitig die antimikrobiell aktive Lackschicht aufgebracht. Dafür eignet sich Polyvinylacetat als Lackgrundstoff, ein für die Verwendung im Lebensmittelbereich zugelassener Stoff. Dieser wurde in einem geeigneten Lösungsmittel zusammen mit dem antimikrobiellen Agens gelöst. Als Konservierungsstoff wird Sorbinsäure in geeigneter Konzentration in den flüssigen Lack eingebracht. Sorbinsäure ist als konventioneller Konservierungsstoff in der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung (ZZulV) [2] geregelt. Nach § 5 Abs. 1 i.V.m. Anl. 5 Teil A Liste 2 ZZulV ist dieser Konservierungsstoff für abgepackten und geschnittenen Käse und nicht reifenden Käse bis zu einer Höchstmenge von 1000 mg/kg, für Schmelzkäse sogar bis 2000 mg/kg zugelassen. Somit darf dieser antimikrobiell wirkende Stoff nach der neuen EG-Verordnung über aktive und intelligente Materialien [3] auch in aktive Verpackungsmaterialien integriert und zur Käseverpackung verwendet werden. Die erforderliche Menge an Sorbinsäure kann durch den Einbau in eine aktive Folie drastisch unter die zulässige Höchstmenge gesenkt werden, da sie nur an der Oberfläche des Lebensmittels wirken muss. Der Lack wird im Labormaßstab hergestellt, mittels Handrakelversuchen in dünnen Schichten auf die Basisfolie aufgetragen und anschließend getrocknet. In der Anwendung diffundiert die Sorbinsäure nach einem Releasemechanismus auf anliegende Lebensmittelschichten. Die auf die Käseschnittfläche maximal übergehende Konzentration bleibt um ein Vielfaches unter der für Käse zulässigen Konzentration liegen.

Um die Wirksamkeit antimikrobiell aktiver Folien gegen das Überwachsen der Schnittfläche mitkäseeigenen Kulturschimmel zu untersuchen, wurden Stücke eines Weichkäses mit Weißschimmel mit diesen Folien verpackt und in klimatisierten Lagerräumen bei 5 °C gelagert. Aktive und nicht aktive Folien wurden stets in Parallelversuchen geprüft. Das Überwachsen bzw. Freibleiben der Oberflächen von Weißschimmel wurde fotografisch dokumentiert.

Um die Wirksamkeit der antimikrobiellen Folie das Auskeimen und Anwachsen käsefremden Kulturschimmels auf eigentlich schimmelfreien Käsesorten zu untersuchen, wurden Goudascheiben mit ca. 500 Sporen des Schimmelpilzes *Penicillium roquefortii* durch Versprühen einer Sporensuspension künstlich verkeimt und anschießend mit einer antimikrobiell beschichteten LDPE-Folie abgedeckt wurden. Die Proben wurden so bei 23 °C in klimatisierten Lagerräumen gelagert. Aktive und nicht aktive Folien wurden stets in Parallelversuchen geprüft. Das Überwachsen bzw. Freibleiben der Oberflächen von Blauschimmel wurde fotografisch dokumentiert.

Einsatz von UV-Filtern gegen autoxidative Sauerstoffzehrung und Farbveränderungen von Käsescheiben

Um den Einfluss von UV-Licht auf die Käsesorten zu testen, wurden die Messzellen mit Plexiglasscheiben mit einer Absorptionskante zwischen 373 und 392 nm, welche als UV-Filter dienen sollten, ausgestattet.

Für Lagertests werden Käsescheiben in Sauerstoffmesszellen mit verschiedenen Deckgläsern (Abb.1) in klimatisierten Lichtlagerräumen unter Handelsbeleuchtung gelagert.

Der Einfluss des UV-Filters auf die fotooxidative Reaktivität der Käseoberfläche wird in spezifischen Messzellen untersucht, die auch im Vorlaufprojekt „Anforderungen an die Verpackung zum Qualitätserhalt von UHT-Milch“ [4] zum Einsatz kamen. Die Messzellen sind mit einer definierten Menge an Sauerstoff gefüllt (2% oder 20%). Dabei wird die Geschwindigkeit der Saueraufnahme der Käsematrix unter Licht und im Dunkeln gemessen. Dies wurde mittels nicht-invasiver Fluoreszensmesstechnik durchgeführt. Volle Belichtung wird durch Quarzdeckgläser simuliert, welche das komplette UV-Vis-Spektrum durchlassen. Zur Simulation von UV-Filter-Folien wurden Plexiglasscheiben herangezogen mit einer Absorptionskante zwischen 373 und 392 nm. So konnte ein Vergleich zwischen Verpackungsfolien mit und ohne Filter simuliert werden.

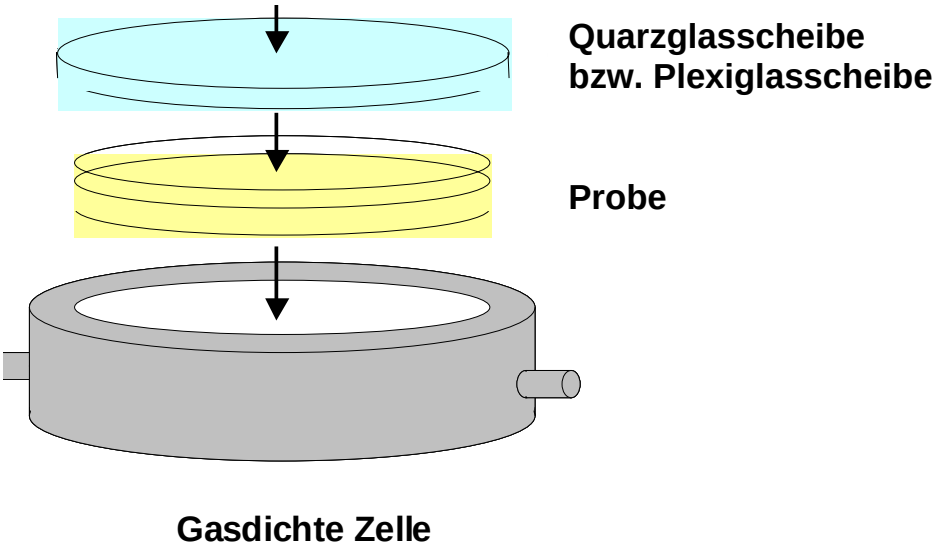


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Sauerstoffmesszelle zur Bestimmung der Oxidationskinetiken

Als weiteres Qualitätskriterium wurden die Farbveränderungen durch den Lichteinfluss mit einem speziellen Farbmessgerät im L*a*b-Bereich dokumentiert. Durch eine Gruppe von drei Fotodioden am Chromameter kann die Farbe der Käseoberfläche direkt in L*a*b Werten angezeigt werden. Hierbei gibt der L*-Wert den Bereich schwarz bis weiß, der a*-Wert den Bereich grün bis rot und der b*-Wert den Bereich zwischen blau und gelb an. Bei diesen Versuchen wurde stets die Differenz der jeweiligen Probe zum Anfangszustand vor der Belichtung gemessen. Da bei der Veränderung der Käsefarbe jedoch der gesamte Farbbereich von Interesse ist, wurden diese Differenzen dann in einen Wert ΔEa*b umgerechnet, wobei

$$\Delta E\, a*b = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

3 Ergebnisse

Einsatz von antimikrobiell aktiven Verpackungsfolien gegen das Überwachsen der Käseschnittfläche

Nach 4 Wochen Lagerzeit konnte die aktive Verpackungsfolie mit einer flächenbezogenen Sorbinsäurekonzentration von ca. 0,7 g / m² das Überwachsen der Weichkäseschnittfläche gegenüber einer Vergleichsfolie um den Faktor 4 unterdrücken.

Die aktive Verpackungsfolie mit einer flächenbezogen Sorbinsäurekonzentration von ca. 2,8 g / m² konnte ein Auskeimen der Schimmelsporen um mehr als 3 Wochen verhindern, wohingegen bei der Vergleichsfolie ohne Sorbinsäure schon nach 7 Tagen ein deutliches Auskeimen sichtbar wurde.

Einsatz von UV-Filtern gegen autoxidative Sauerstoffzehrung und Farbveränderungen von Käsescheiben

Um den oxidativen Einfluss des UV-Lichts auf Käseflächen zu ermitteln, wurden Käsescheiben von Schmelzkäse und Gouda in spezielle Messzellen mit einer definierten Sauerstoffanfangskonzentration von 2% eingelagert und über einen längeren Zeitraum unterschiedlich belichtet. Der Schmelzkäse wurde verwendungsgemäß bei 23 °C und der Gouda bei 5 °C gelagert. Als Messgröße diente dabei die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Käsematrix, die unter UV-durchlässigen Materialien, unter zusätzlichen UV-Filtern und dunkel gelagert wurde. Da der autoxidative Sauerstoffverbrauch selbst im Dunkeln zu geringen Anteilen stattfindet, wurde die Sauerstoffzehrungsdifferenz zur unbelichteten Probe zur Auswertung herangezogen.

UV-Filter mit einer Absorptionskante zwischen 373 und 392 Nanometern Lichtwellenlänge konnten die UV-bedingte Sauerstoffaufnahme durch Autoxidation sowohl von Schmelzkäsescheiben nach einer Woche Lagerzeit und 23 °C Umgebungstemperatur, als auch Goudascheiben nach 3 Wochen Lagerzeit und 5 °C Umgebungstemperatur bei einer Sauerstoffanfangskonzentration von jeweils 2 % bis zur Hälfte verringern (Abb.2).

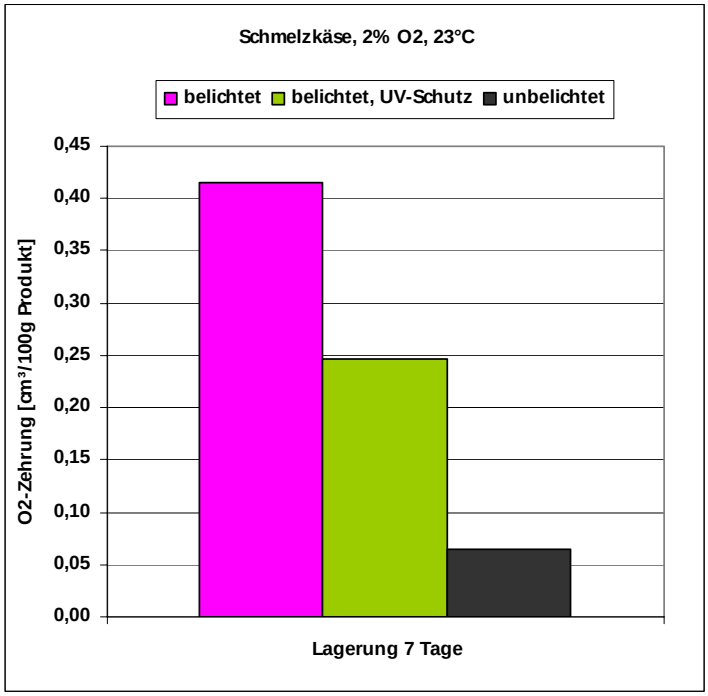


Abb. 2: Sauerstoffzehrung unterschiedlich belichteter Schmelzkäsescheiben nach 1 Woche Lagerung bei 2 % Anfangssauerstoffgehalt und 23 °C

Außerdem konnten diese UV-Filter die UV-bedingte Farbveränderung sowohl von Schmelzkäsescheiben nach einer Woche Lagerzeit und 23 °C Umgebungstemperatur, als auch Goudascheiben nach 5 Wochen Lagerzeit und 5 °C Umgebungstemperatur bei einer Sauerstoffanfangskonzentration von jeweils 2 % bis zur Hälfte verringern (Abb.3).

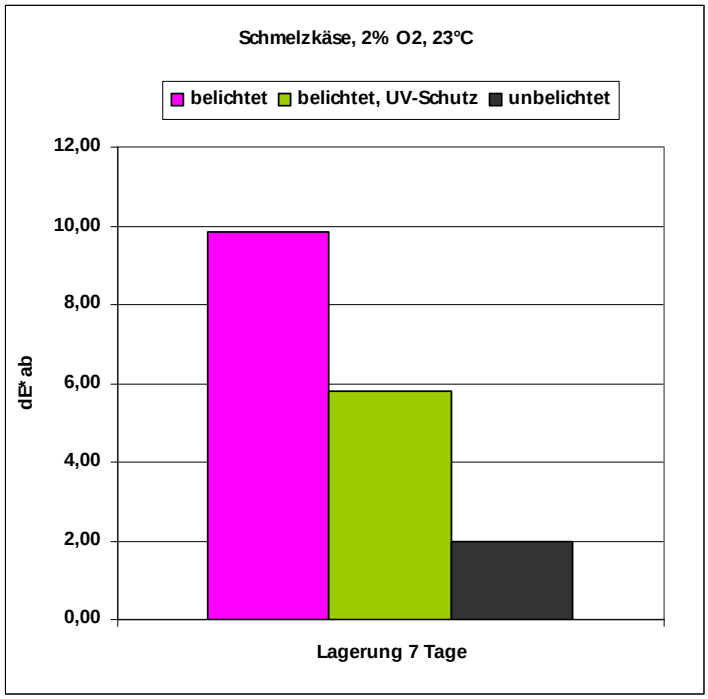


Abb. 3: Farbveränderung unterschiedlich belichteter Schmelzkäsescheiben nach 1 Woche Lagerung bei 2 % Anfangssauerstoffgehalt und 23 °C

4 Schlussfolgerungen

Antimikrobiell aktive Folien können das Auskeimen von käseeigenen und -fremden Schimmelsporen auf der Schnittfläche verzögern. Hierbei ist der Einsatz des unbedenklichen Konservierungsstoffes Sorbinsäure in nur sehr geringen Mengen nötig.

Zusätzlich kann durch den Einsatz von UV-Filtern in der Verpackung die durch Autoxidation aufgenommene Sauerstoffmenge und die durch licht induzierte Farbveränderung bis um die Hälfte verringert werden.

5 Literatur

1) Goldhan, G.; Rieblinger, K.: Natural dyes for optimum light protection of sensitive foods. In: European Food & Drink Review 3/69 (2002) S. 71-72

2) Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu technologischen Zwecken vom 29. Januar 1998. BGBl. 1, 230, letzte Änderung vom 30.1.2008. BGBl. 1, 132

3) Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27.Oktober 2004 über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen

4) Danzl, W.; Rieblinger, K.: Anforderungen an die Verpackung zum Qualitätserhalt von UHT-Milch; Jahresbericht der milchwissenschaftlichen Forschung Weihenstephan, 2008

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

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

Geschäftsführung:
Michael Betz, Thomas Strixner
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3855 -2507
Telefax: 08161-71-4384
Email: gf@verband-weihenstephan.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Verbandsinformation 2009 (Stand 31.12.2009)

Mitglieder insgesamt: 1445 (Vorjahr: 1.357)

Mitgliedsbeitrag: 20,00 Euro pro Jahr

Versammlungen: Vorstandssitzung am 17.03.2009
Vorstandssitzung am 30.09.2009
Mitgliederversammlung am 01.10.2009

Vor dem Hintergrund der Neueinführung des mit der Lebensmitteltechnologie verwandten Studienganges Bioprozesstechnik und der sich dadurch abzeichnenden Veränderung der Mitgliederstruktur wurde im Rahmen der Mitgliederversammlung 2009 die Umbenennung in „Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.“ beschlossen. Die Namenserweiterung ermöglicht die zukunftsorientierte Öffnung des Verbandes für neue Mitglieder verwandter Fachbereiche bei gleichzeitiger Betonung der milchwirtschaftlichen Wurzeln des Verbandes.

Geförderte Exkursionen

Lehrstuhlexkursionen:

10.03.2009 unter Leitung von Prof. Dr. Carola Kuss mit 52 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan-Triesdorf zur ANUGA FoodTec in Köln.

11.03.-12.03.2009 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 24 Studenten zur ANUGA FoodTec in Köln.

11.03.-12.03. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 9 Studenten zur ANUGA FoodTec in Köln.

11.05.-14.05. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 12 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan-Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Niederbayern und Schwaben.

12.05.-15.05. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 19 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan-Triesdrof zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Heidelberg und Heilbronn.

01.06.-05.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 36 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Münster und Kassel.

01.06.-05.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 32 Studenten zu Betrieben der pharmazeutischen Industrie im Raum Stuttgart und Mannheim.

02.06.-06.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Maschinen- und Apparatekunde (Prof. Dr. Karl Sommer) der TUM mit 41 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Stuttgart, Frankfurt, Kulmbach.

26.10.-29.10.2009 unter Leitung von Prof. Dr. Rehmann mit insgesamt 16 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan-Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in den Großraum Sachsen.

Privatexkursionen:
Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2009 erstmalig auch eigeninitiativ organisierte Exkursionen 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 zweiten Mal wurde in diesem Jahr zusätzlich zum Preis „herausragender Diplom-/Masterarbeiten“ ein Preis für die beste Bachelorarbeit und die beste Doktorarbeit verliehen.

Der mit 500 € dotierte Preis für die beste Bachelorarbeit wurde in diesem Jahr zweimal verliehen. Im Fachbereich Lebensmitteltechnologie erhielt **Frau B. Sc. Susanne Charlotte Dold** aus Elzach den Preis für Ihre Bachelorarbeit zum Thema „Lipase-katalysierte Hydrolysen Ester sekundärer Alkohole“.

Im Fachbereich Biochemie wurde der Preis an **Frau B. Sc. Angelika Kroemer** aus Fürstenfeldbruck für Ihre Bachelorarbeit zum Thema „Cholesterinmetabolismus beim Rind: Expression wichtiger Gene während des Laktationszyklus“ verliehen.

Der zum 14. 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 01. Oktober 2009 an **Frau M. Sc. Oxana Tyapkova** aus Tschita, Russland verliehen. In ihrer Arbeit beschäftigte sie sich mit „Untersuchungen zur Charakterisierung bestrahlungsinduzierter geruchsaktiver Substanzen aus Polypropylen“.

Den zum zweiten Mal vergebenen Preis für herausragende Doktorarbeiten (2000 €) erhielt **Herr Dr. rer. nat. Chalat Santivarangkna** aus Bangkok, Thailand. Er schloss seine Dissertation mit dem Titel „Inactivation of *Lactobacillus helveticus* during Vacuum Drying and the Mechanism of Sorbitol in Protection of the Cells“ am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie mit magna 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

Für seine langjährige verdienstvolle Tätigkeit in der milchtechnologischen Forschung und Lehre an der TU München/Weihenstephan erhielt Herr Josef Kammerlehner, Freising die silberne Ehrennadel der TU München. Die Ehrung erfolgte durch den Dekan des Wissenschaftszentrums Weihenstephan, Prof. Dr. Gerhard Wenzel.

Neben den studentischen Preisträgern werden bereits seit vielen Jahren langjährige Mitglieder des Verbandes anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung geehrt.

In diesem Jahr konnte Herrn Georg Hörmann, Emmingen und Herrn Wolfgang Nehrig, Bayerisch Eisenstein zu ihrer 40jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Professor Langowski überreichte den anwesenden Jubilaren einen Krug mit der Aufschrift: „Zur Erinnerung an Weihenstephan“.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-/Bachelorarbeiten, Diplom-/Masterarbeiten, sowie Doktorarbeiten von Verbandsmitgliedern

Präambel

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1400 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für herausragende Studien-/Forschungsleistungen die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Semester- oder Bachelorarbeit: 500 €
- Diplom- oder Masterarbeit: 1000 €
- Doktorarbeit: 2000 €

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

- Der/die Ausgezeichnete muss Mitglied beim Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. sein.
- Es muss sich um eine herausragende Arbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtnote handeln.
- Die Arbeit muss thematisch aus einem milchwirtschaftlichen, bio- oder lebensmitteltechnologischen Forschungsbereich kommen.

Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular bei der Geschäftsstelle des Verbands der Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. zu folgenden Daten eingereicht:

- Semester- oder Bachelorarbeit: bis 30. April
- Diplom- oder Masterarbeit: bis 30. Juni
- Doktorarbeit: bis 30. Juni

Die Arbeit darf als ältestes Datum (Abgabetermin beim Lehrstuhl) den 30. April/Juni des Vorjahres tragen. Der Preis für die Semester-/Bachelorarbeit wird am Weihenstephaner Hochschultag verliehen. Die Preise für Diplom-/Master- und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Verbandsvorstand ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der TUM und der Fachhochschule Weihenstephans. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidaten den Bedingungen dieser Verleihungsrichtlinien entsprechen, prüft die eingereichten Unterlagen und benennt die Preisträger. Sie ist berechtigt, sich Beurteilungen von dritter Seite zu beschaffen und Kandidaten zur persönlichen Beurteilung einzuladen. Die Entscheidung der Jury ist unanfechtbar. Ein Rechtsanspruch auf Zuerkennung eines Preises besteht nicht.

Antragsformulare finden sich auf der Homepage des Verbandes oder können beim Geschäftsführer des Verbands angefordert werden.

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

Adresse

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik – WZW
Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising

Telefon: 08161-71-4205
Telefax: 08161-71-4384

Vorstand

1. Vorsitzender	Prof. Dr. Jakob Stöckl
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Hans Schraml
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Timo Winkelmann
Geschäftsführer	Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik

Zweck und Ziele der Fördervereinigung

Die Fördervereinigung wird getragen von ca. 70 Mitgliedsunternehmen aus der Milch- und Lebensmittelindustrie. Die Vereinigung hat die Aufgabe, insbesondere die milchwissenschaftliche Forschung an der TU München in ihrer ganzen Breite zur Fortentwicklung der gesamten Milch- und Lebensmittelwirtschaft zu fördern. Die Vereinigung verfolgt ausschließlich und unmittelbar gemeinnützige Zwecke im Sinne des Abschnitts steuerbegünstigte Zwecke der Abgabenordnung. Sie sucht dies zu erreichen durch:

- Bereitstellung von Mitteln für Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, insbesondere der milchwissenschaftlichen Forschung,
- Förderung des Nachwuchses durch Stipendien,
- ständigen Gedanken- und Erfahrungsaustausch mit der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, den land- und milchwirtschaftlichen Organisationen, wissenschaftlichen Gesellschaften, Anstalten und Instituten des In- und Auslandes, durch Tagungen und Vorträge.

Unterstützt werden die am Campus Weihenstephan milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen in Form von Mitteln für neue Forschungsgebiete entweder direkt milchbezogen oder auch auf die Lebensmitteltechnologie allgemein bzw. für spezifische Ausstattungen. Oftmals werden dadurch Vorarbeiten initiierbar, die später zu öffentlich geförderten, vorwettbewerblich durchgeführten Gemeinschaftsforschungsprojekten führen, so dass die bereit gestellten Mittel mehrfach multipliziert werden. Die Vergabe der Forschungsmittel bzw. die Auswahl der beantragten Vorhaben nimmt der Vorstand vor, wobei ein aus dem Mitgliederkreis gewähltes Kuratorium mit 12 Industrievertretern den Vorstand berät. Die Kuratoriumsmitglieder haben eine Amtszeit von 3 Jahren.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
"Verbesserter Qualitätserhalt von Käseschnittflächen in optimierten transparenten Verpackungen"
Abteilung Mikrobiologie
"Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in natürlichen Habitaten"
Abteilung Physiologie
"Methodenentwicklung zur Gewinnung von Euterepithelzellen aus der Milch - Etablierung einer Primärzellkultur als Mastitis- und Funktionsmodell"
Abteilung Technologie
„Fraktionierung von bioaktiven Fettkugelmembran-Bestandteilen“ (Fortsetzung)
Nachwuchsforschergruppe *Bioaktive Peptide und Proteintechnologie*
"Establishment of Peptide Analysis Protocols by Maldi-Tof-MS/MS"

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die öffentlich durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) geförderten Forschungsprojekte im Rahmen der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“, die über den Arbeitskreis für industrielle Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) ausgeschrieben werden. An derartigen Vorhaben beteiligen sich Mitglieder der Fördervereinigung unter Einsatz von Mitgliedsbeiträgen regelmäßig, so dass eine enge Anbindung der Wissenschaft an industrierelevante Fragestellungen gewährleistet ist.

Beitragsordnung

1. Unternehmen

Mindestbeitrag	500,00 €	bis 10 Mio. € Umsatz
	1.000,00 €	über 10 - 50 Mio. € Umsatz
	2.500,00 €	über 50 - 125 Mio. € Umsatz
	3.750,00 €	über 125 - 250 Mio. € Umsatz
	5.000,00 €	über 250 Mio. € Umsatz

2. Einzelmitglieder

Mindestbeitrag 100,00 €

Informationstransfer - Mitgliederinformation

Ein wichtiges Hilfsmittel zum Informationsaustausch ist der **"Wissenschaftliche Jahresbericht",** der mit Unterstützung der Vereinigung zusammengestellt wird. Neben diesem Bericht sind auch regelmäßige Rundschreiben ein wesentlicher Beitrag zur Informationspolitik der Vereinigung.

Außerdem wurde in den letzten Jahren jährlich eine **Informationsveranstaltung „Weihenstephan von innen – die milchwissenschaftlich forschenden Institute stellen sich vor“** durchgeführt, um die Mitglieder oder interessierte Unternehmen über die Aktivitäten und Möglichkeiten zur Nutzung der Einrichtungen in Weihenstephan zu informieren. An diesem Konzept zur Interaktion mit den Mitgliedern soll weiterhin festgehalten werden.

Ferner führt die Fördervereinigung gemeinsam mit dem `Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologen e.V.´ die „**Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung“** durch, die sich als Branchentreffpunkt mit ca. 230-250 Teilnehmern einen festen Platz im Austausch zwischen Forschung und Industrie erarbeitet hat, jedoch Wert auf branchenübergreifende Beiträge legt.

Im Rahmen von spezifischen Aktivitäten werden regelmäßig **Transferseminare** für Technologie- bzw. Wissensübertragung angeboten, zu denen die Mitglieder und Interessierte gesondert eingeladen werden. Die Institute bieten jederzeit **Beratung** auch für unternehmensspezifische Fragestellungen (Technologie- bzw. Investitionsentscheidungen, Produktions- und Absatzoptimierung, Krisenmanagement) an.

Ferner steht die Fördervereinigung in engem Kontakt mit Industrieverbänden wie dem Milchindustrie-Verband (MIV) und dem Verband Deutscher Maschinen- und Anlagenbau e.V. (VDMA), die als Multiplikatoren wirken und Forschungsergebnisse in ihre jeweiligen Netzwerke hineintragen.
Interessierte Neumitglieder können das nachstehend abgedruckte Beitrittsformular verwenden.

Vereinigung zur Förderung der
Milchwissenschaftlichen Forschung
an der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan e.V.

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik - WZW
85354 Freising, Weihenstephaner Berg 1
Telefon: 0 81 61 / 71 42 05
Telefax: 0 81 61 / 71 43 84
Bankverbindung: Sparkasse Freising
Konto 171 876 - BLZ 700 510 03

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

Ich (wir) erkläre(n) meinen (unseren) Beitritt zur Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. ab ..... und werde(n) gemäß Satzung/Beitragsordnung einen jährlichen Förderungsbeitrag von € .....……..... leisten. Die Bedingungen der Mitgliedschaft sind mir (uns) aus den mir (uns) übermittelten Satzungen der Vereinigung bekannt.

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ....….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

Der technische Teil des wissenschaftlichen Jahresberichtes will den Leserkreis auch in diesem Jahr über Neuigkeiten in der milchwirtschaftlichen Technologie informieren und auf neue Produkte und Angebote von Milch verarbeitenden Unternehmen hinweisen. Die Herausgeber danken den im Folgenden aufgeführten Firmen, die zu diesem Zweck eine Anzeige zur Verfügung gestellt haben und den Druck des Jahresberichtes unterstützten.

Verzeichnis der Fachfirmen

		Seite
1.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	167
2.	Bayernland eG, Nürnberg	171
3.	J. Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	168
4.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	166
5.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	173
6.	GKC Dr. Öttl & Partner GmbH, Eching/Kronwinkl, Ndb.	175
7.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	174
8.	GQM mbH, Landshut	165
9.	Hofmeister Champignon Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	168
10.	Hochland AG, Heimenkirch	170
11.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	174
12.	Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	165
13.	TÜV SÜD Management Service GmbH, München	169
14.	Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen	172
15.	Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	170